

**КВИЧАНСКИЙ АЛЕКСЕЙ АНДРЕЕВИЧ**

**ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ,  
АССОЦИИРОВАННЫХ С НЕЙРОВОСПАЛЕНИЕМ И РЕАКЦИЕЙ НА  
СТРЕСС, У КРЫС В МОДЕЛИ НЕОНАТАЛЬНОГО  
ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА**

1.5.5 – физиология человека и животных

**ДИССЕРТАЦИЯ**  
на соискание учёной степени  
кандидата биологических наук

Научный руководитель:

к.ф.-м.н. Большаков Алексей Петрович

Научный консультант:

д.б.н. проф. Гуляева Наталия Валерьевна

Москва - 2022

<b>1. Оглавление</b>	
1. Оглавление.....	2
2. Введение.....	4
2.1. Актуальность проблемы .....	4
2.2. Научная новизна.....	5
2.3. Теоретическая и практическая значимость .....	6
2.4. Положения выносимые на защиту.....	6
2.5. Степень достоверности и апробация результатов.....	7
2.6. Публикации.....	7
2.7. Личный вклад автора .....	7
2.8. Структура и объем диссертации .....	8
3. Обзор литературы .....	9
3.1. Модели депрессивно-подобных состояний на лабораторных животных.....	9
3.1.1. «Острые модели».....	10
3.1.2. Модели склонности к депрессивно-подобному состоянию .....	14
3.1.3. Взаимосвязь развития тревожно- и депрессивно-подобного поведения у подопытных животных .....	19
3.2. Современные представления о патогенезе депрессивных состояний.....	20
3.2.1. Моноаминовая теория депрессии и ее теории-наследники.....	20
3.2.2. Нарушения работы стресс-реализующих систем.....	22
3.2.3. Нейровоспаление.....	34
3.2.4. Влияние ГКС на иммунный компонент патогенза депрессивных расстройств .....	60
3.3. Влияние пола на чувствительность к развитию депрессивно-подобных состояний.....	65
4. Цель и задачи.....	69
5. Материалы и методы .....	70
5.1. Животные.....	70
5.2. Экспериментальные процедуры.....	70
5.3. Исследование поведения .....	71
5.3.1. Тест «предпочтение сахарозы».....	71
5.3.2. Тест «вынужденное плавание» .....	72
5.4. Биохимический и молекулярно-биологический анализ .....	72
5.4.1. Подготовка ткани мозга для изучения экспрессии генов.....	72
5.4.2. Количественная ПЦР «в реальном времени» .....	72
5.4.3. Иммуноферментный анализ (ИФА) .....	74

5.4.4.	Вестерн-блоттинг .....	75
5.5.	Статистика .....	75
6.	Результаты .....	76
6.1.	Развитие депрессивно-подобного поведения и изменения экспрессии генов и их белковых продуктов у взрослых крыс под действием НПС .....	76
6.1.1.	Поведение взрослых крыс .....	76
6.1.2.	Исследования биохимических и молекулярно-биологических показателей у взрослых крыс. ....	78
6.1.3.	Исследование специфичных для отделов гиппокампа изменений экспрессии генов, сопряженных со стресс-реактивностью и нейровоспалением в латентном периоде развития депрессивно-подобного состояния у ювенильных крыс в возрасте 18 суток .....	98
6.1.4.	Исследование специфичных для отделов гиппокампа изменений экспрессии генов, сопряженных со стресс-реактивностью и нейровоспалением в латентном периоде развития депрессивно-подобного состояния у молодых крыс в возрасте 30 суток.....	102
7.	Обсуждение полученных результатов .....	120
7.1.	Эффекты НПС у животных в возрасте 18 суток .....	122
7.2.	Эффекты НПС у молодых животных в возрасте 30 суток .....	123
7.3.	Эффекты НПС у взрослых животных в возрасте 107 суток .....	126
7.4.	Гипотетический механизм формирования долгосрочных эффектов НПС .....	128
8.	Заключение .....	131
9.	Выводы.....	132
10.	Список сокращений и условных обозначений .....	132
11.	Список публикаций по теме диссертации .....	133
12.	Список использованной литературы.....	134

## 2. Введение

### 2.1. Актуальность проблемы

В настоящее время большое депрессивное расстройство является одним из наиболее распространенных в мире заболеваний. По данным ВОЗ, каждый третий житель благополучных стран пережил депрессивное расстройство, а до 10% населения находится в состоянии депрессии выраженными невротическими и психотическими проявлениями [Kupfer, Frank, Phillips, 2012]. В клинической практике принято диагностировать депрессию по выраженности таких симптомов, как подавленное и сниженное настроение, повышенная утомляемость, двигательная заторможенность, сниженный темп мышления, ангедония, чувство вины, нарушения способности к целесообразной деятельности, нарушения сна [Kupfer, Frank, Phillips, 2012]. В массовом представлении основным симптомом данных расстройств является сниженное и подавленное настроение, на основе которого данное заболевание исходно было охарактеризовано как меланхолия. Ближе к современности было показано, что в ходе развития заболевания вначале нарушаются стресс-реактивность и общий психологический тонус, а только потом развиваются эмоциональные нарушения. Еще одним немаловажным симптомом депрессивных расстройств является т.н. «депрессивный реализм» - изменение субъективных оценок успешности выполнения задач. В отличие от здоровых испытуемых, пациенты, страдающие от депрессии, не демонстрируют оптимистично-завышенных прогнозов. Эпидемиологические исследования показали вклад неблагоприятных условий среды, в частности, психологического стресса, генетических факторов. Кроме того, показана коморбидность расстройств депрессивного спектра с рядом соматических заболеваний, таких как хронические воспалительные заболевания, дефицит витамина Д, гипотиреоз, синдром Иценко-Кушинга и ряд других.

Попытки лечения и профилактики депрессивных состояний предпринимались с момента появления медицины как области знания, однако, неясность патогенеза вынуждала использовать неспецифические методики, найденные эмпирическим или полуэмпирическим путем. Среди таких методик можно перечислить психотерапию,

терапию экстрактами ряда ядовитых растений, депривацию сна, электросудорожную терапию. В то же время, было известно, что большая часть фармакологических агентов, вызывающих эйфорию и улучшение настроения (алкоголь, опиаты, психостимуляторы, каннабиноиды) не давали явного терапевтического эффекта. В 1950-х годах в ходе «психофармакологической революции» было открыто специфическое антидепрессантное действие ряда соединений, таких как имипрамин и ипрониазид, что позволило начать изучение физиологических механизмов, нарушение работы которых специфически приводит к развитию депрессивных состояний. Достаточно быстро было установлено, что эти соединения приводят к повышению концентрации моноаминовых нейромедиаторов (главным образом, серотонина и норадреналина) путем нарушения обратного захвата этих медиаторов или при помощи ингибирования моноаминоксидазы – фермента, утилизирующего эти вещества. В то же время было выяснено, что основными мишенями антидепрессантов являются структуры лимбической системы, главным образом миндалина и гиппокамп. В дальнейшем, в рамках борьбы с побочными действиями антидепрессантов были разработаны селективные ингибиторы обратного захвата серотонина, норадреналина, а также селективные ингибиторы обратного захвата обоих медиаторов. Эти классы препаратов до настоящего времени остаются основой антидепрессантной терапии [Pereira, Hiroaki-Sato, 2018].

На основании этих данных начались специфические исследования материального субстрата патогенеза депрессивных состояний. В дальнейшем, было выяснено, что от 20 до 45% пациентов, получающих терапию антидепрессантами, вообще не приходят к состоянию стабильной ремиссии [Kirsch, 2014], что вынуждает искать альтернативные пути патогенеза депрессивных расстройств, в частности, связанных с нарушениями стресс-реактивности и аутоиммунными поражениями ЦНС.

Данная работа посвящена изучению развития изменений экспрессии генов, ассоциированных с реакцией на стресс и с нейровоспалением, в ЦНС неполовозрелых, молодых и взрослых крыс обоих полов, подвергнутых индукции депрессивно-подобного состояния неонатальным провоспалительным стрессом (НПС)..

## **2.2. Научная новизна**

Впервые были показаны межполовые различия в эффективности индукции депрессивно-подобного поведения неонатальным провоспалительным стрессом – в то

время, как у самцов развивалось депрессивно-подобное поведение, поведение самок не менялось.

Впервые в данной модели было продемонстрировано развитие признаков нейровоспаления в виде повышения экспрессии мРНК *Ilf* у взрослых самцов на фоне развития депрессивно-подобного поведения под действием неонатального провоспалительного стресса. Эти изменения были неотличимы от развивающихся под действием поведенческого стресса в тесте вынужденного плавания.

Впервые в данной модели было показано, что НПС приводит к изменению характера реакции на острый стресс у взрослых животных: у самцов исчезало влияние острого поведенческого стресса (ПС) на экспрессию мРНК *Ilf* в гиппокампе, а у самок появлялось влияние ПС на концентрацию глюкокортикоидного (ГР) и минералокортикоидного (МР) рецепторов во фронтальной коре.

Впервые в данной модели было показано дифференциальное влияние НПС на экспрессию мРНК *Crh*, *Cx3cl1* (фракталкина), *Cx3cr1* в дорсальном (ДГ) и вентральном (ВГ) отделах гиппокампа молодых самцов и *Nr3c1* в ДГ и ВГ молодых самок в возрасте, когда депрессивно-подобное поведение еще не проявляется.

### **2.3. Теоретическая и практическая значимость**

Теоретическая значимость данной работы заключается в расширении современных представлений о патогенезе депрессивных расстройств, наблюдаемых в модели неонатального провоспалительного стресса. Была изучена возрастная динамика развития изменений экспрессии мРНК генов, ассоциированных с реакцией на стресс и нейровоспалением, в том числе и для возрастов в которых депрессивно-подобное поведение еще не проявляется. Эти данные могут быть использованы при разработке патогенетически-обоснованных методик профилактики, диагностики и лечения расстройств депрессивного спектра.

### **2.4. Положения выносимые на защиту**

1. У самцов крыс, перенесших неонатальный провоспалительный стресс, в возрасте трех месяцев развивается спонтанное депрессивно-подобное состояние, сопровождающееся хроническим воспалением в гиппокампе

2. У молодых самцов крыс в возрасте 30 суток, не обнаружено нейровоспаления, но зафиксированы специфичные для отделов гиппокампа изменения экспрессии генов фракталкина и его рецептора, а также генов, сопряженных со стрессорным ответом. Эти изменения могут указывать на механизмы формирования нарушений, которые лежат в основе патогенеза депрессивно-подобного поведения у крыс более старшего возраста.

## **2.5. Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность полученных результатов определяется значительным и достаточным для статистического анализа числом наблюдений, использованием в работе современных молекулярно-биохимических методов анализа, применением адекватных методов статистического анализа.

Материалы диссертации были представлены на: XX Школе-конференции молодых ученых по физиологии высшей нервной деятельности и нейрофизиологии ИВНДиНФ РАН (31.10.2016 – 01.11.2016, Москва), конференции «Биомембраны 2018» (01.10.2018 – 05.10.2018, Долгопрудный).

## **2.6. Публикации**

По теме диссертации опубликовано 4 печатных работы, все в рецензируемых журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации и международных журналах, индексированных в базе Web of Science/Scopus.

## **2.7. Личный вклад автора**

Автор участвовал в разработке дизайна и протоколов исследования, постановке задач и обосновании выводов. Автор принимал участие в проведении поведенческого тестирования, подготовке биологического материала, анализе экспрессии мРНК,

концентраций кортикостерона, цитокинов, рецепторов глюкокортикостероидов, в структурах мозга крыс. Самостоятельно проведены обработка и статистический анализ полученных данных.

## **2.8. Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 149 страницах машинописного текста, содержит 3 таблицы и иллюстрирована 50 рисунками. Диссертация состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, описание материалов и методов, результаты исследования, обсуждение результатов исследования, заключение, выводы, список сокращений и условных обозначений, список публикаций по теме диссертации, список литературы. Библиографический указатель содержит 3 отечественных и 315 зарубежных источников литературы.



### 3. Обзор литературы

#### 3.1. Модели депрессивно-подобных состояний на лабораторных животных

Для изучения патогенеза депрессивно-подобных состояний применяют различные модели на лабораторных животных. Наиболее часто используют модели на основе помещения животного в обстановку, вызывающую неизбежный психоэмоциональный стресс, фармакологической имитации стресса, генетические модели на линиях животных, спонтанно склонных к депрессивно-подобным состояниям и модели, основанные на индукции нейровоспаления. Эти модели могут быть разделены на две основные группы, выделяемые по дизайну эксперимента. Первая группа - «острые» модели, в которых под действием стресса различной модальности (обычно поведенческий стресс, его фармакологическая имитация или воспаление) происходит индукция депрессивно-подобного поведения. Вторая группа - модели, в которых происходит индукция склонности к депрессивно-подобному поведению либо на основе генетических нарушений (специально выведенные линии животных и трансгенные линии), либо происходит программирование склонности к депрессивно-подобному поведению у животных, перенесших стрессирующее воздействие задолго до тестирования.

Вторую группу моделей стоит выделить особо, поскольку данная группа экспериментальных парадигм ценна потенциальной возможностью для трансляции на современные благополучные общества, где, несмотря на невысокий уровень повседневного стресса, наблюдают широкое распространение расстройств депрессивного спектра. Можно предположить, что именно программирование склонности к депрессии факторами окружающей среды, лежит в основе роста заболеваемости в развитых странах [Friedrich, 2017].

В моделях животные, как правило, помимо нарушений поведения, демонстрируют нарушения функционирования ГГН-оси, стресс-реализующих систем мозга, контроля нейровоспалительной реакции [Stepanichev и др., 2014].

### **3.1.1. «Острые модели»**

К моделям, основанным на стрессировании подопытных животных, можно отнести модели вынужденного плавания и подвешивания за хвост (также используемые для оценки депрессивно-подобных нарушений, вызванных в других парадигмах), модель хронического умеренного стресса, модель социального поражения, модель выученной беспомощности, модели на основе фармакологической имитации стресса и на основе индукции нейровоспаления.

#### ***3.1.1.1. Модели вынужденного плавания и подвешивания за хвост.***

Данные модели были разработаны для тестирования антидепрессантов в конце 1970-х годов. Известные в то время антидепрессанты – ингибиторы моноаминоксидазы (МАО) и обратного захвата серотонина снижали время иммобильности в этих тестах. В то же время, ряд соединений, например, психостимуляторы, транквилизаторы, антихолинэргические препараты, которые достоверно не обладают антидепрессантной активностью на людях, вызывали у подопытных животных ложноположительные антидепрессантно-подобные эффекты в данных тестах. Ряд используемых в клинике селективных ингибиторов обратного захвата серотонина может давать ложноотрицательные результаты при классической постановке теста. Эффективность однократного введения исследуемого вещества (например, флуоксетина) также является мишенью для критики данной модели, поскольку, у пациентов развитие целевых эффектов антидепрессантов требует достаточно длительного курса приема препарата. В то же время, обе эти парадигмы широко используются в качестве теста для изучения эффективности индукции депрессивно-подобного состояния в других экспериментальных моделях [Slattery, Cryan, 2012; Bogdanova и др., 2013].

#### ***3.1.1.2. Модель хронического стресса иммобилизации***

В данной модели хронический стресс иммобилизации вызывает депрессивно-подобное поведение у подопытных животных. В большинстве работ, животных каждый день на протяжении как минимум недели помещают в небольшой прозрачный цилиндр с отверстиями для дыхания. Невозможность покинуть контейнер вызывает стрессорный

ответ. При многократном ежедневном повторении, по-видимому, происходит истощение адаптивных возможностей организма подопытного животного, что может приводить к развитию депрессивно-подобного состояния, купируемого антидепрессантами [Buynitsky, Mostofsky, 2009]. В то же время для хронического стресса иммобилизации показано снижение выраженности стрессорного ответа, у подопытных животных по мере увеличения количества сессий т.е. происходит привыкание к воздействию [Santos, Benini, Crestani, 2020]. Продолжительность сессии иммобилизации драматически влияет на результаты эксперимента. В работе Dang и др. ежедневная 5-минутная иммобилизация на протяжении 4 недель не вызывала депрессивно- и тревожно- подобного поведения у мышей и, более того, оказывала прекондиционирующее действие, ускоряя выздоровление животных после введения бактериального липополисахарида (ЛПС) [Dang и др., 2019].

### ***3.1.1.3. Модель индукции депрессии хроническим умеренным непредсказуемым стрессом***

В данной модели животное подвергают регулярным стрессирующим воздействиям различной модальности (мокрые опилки, наклонный пол клетки, громкий шум, мигающее или постоянное освещение, непродолжительная депривация воды и пищи и т.д.). Каждое из этих воздействий как таковое не вызывает депрессивно-подобного поведения, но в сочетании они через 5-7 недель приводят к развитию нарушений поведения, купируемых антидепрессантами [Willner, 2017]. Примерно через неделю после прекращения стрессирования, поведение крыс возвращается к норме [Grippe, Beltz, Johnson, 2003].

### ***3.1.1.4. Модель стресса социального поражения***

В данной модели в роли стрессирующего воздействия используют неизбежное предъявление агрессивной особи экспериментальному животному. Ежедневное повторение такого стресса вызывает развитие депрессивно-подобного поведения. Развивающееся состояние может быть скорректировано антидепрессантами [Hollis, Kabbaj, 2014]. В литературе не было найдено данных о сроках обращения развития депрессивно-подобного поведения, однако известно, что тревожно-подобное поведение угасает через 3 недели после прекращения стрессирования [Zhang и др., 2016].

### **3.1.1.5. Модель выученной беспомощности**

В данной модели экспериментальных животных помещают в клетку, из которой те не могут выбраться, после чего подвергают периодическому электротоку малой интенсивности. При тестировании выработки выученной беспомощности животных помещают в клетку, из которой они могут выбраться, после чего также подвергают электротоку малой интенсивности. Считают, что выученная беспомощность успешно выработана в том случае, когда экспериментальный объект не пытается прекратить воздействие тока в течение длительного времени. Данную модель активно используют при исследованиях антидепрессантов и патофизиологии депрессивных состояний [Vollmayr, Gass, 2013]. У большинства животных, подвергнутых стрессу в данной парадигме, происходит восстановление нормального поведения через месяц после прекращения стрессирования. Однако у 20% особей происходит развитие долговременных изменений поведения, несмотря на прекращение обучения в парадигме выученной беспомощности [Cheng и др., 2018].

### **3.1.1.6. Модели на основе стрессирования животных – заключение.**

Данный класс моделей позволяет вызвать депрессивно-подобное поведение и набор физиологических изменений у подопытных животных, подобно тому, как неблагоприятные условия среды вызывают депрессию у людей. С другой стороны, для многих моделей показано достаточно быстрое восстановление нормального состояния у экспериментальных объектов, в то время как для пациентов, страдающих от депрессии, характерно стабильное состояние, не всегда нормализующееся после удаления стрессогенных факторов окружающей среды. Данные модели широко и достаточно успешно используют для тестирования антидепрессантов, однако, вероятно, данные о патогенезе депрессии, полученные на данных моделях, могут быть слабо валидными при трансляции на организм человека.

### **3.1.1.7. Модели индукции депрессивно-подобного состояния при помощи медиаторов ГГН-оси**

Депрессивно-подобное поведение может быть вызвано фармакологической имитацией стресса – системным или локальным введением адренокортикотропного гормона (АКТГ) или глюкокортикостероидов (ГКС). В этом случае подопытные животные демонстрируют депрессивно-подобное поведение [Sterner, Kalynchuk, 2010; Antunes и др., 2015]. Депрессивно-подобное состояние, вызываемое ГКС, может быть подвергнуто коррекции при помощи классического курса антидепрессантов [Pereira и др., 2019].

В моделях на животных введение АКТГ используется для индукции депрессивно-подобных состояний путем хронического введения. В результате данного воздействия, в сыворотке животных закономерно возрастает концентрация кортикостерона. В данной модели наблюдается ограниченная эффективность кратковременной (3 дня) терапии трициклическими антидепрессантами, что может указывать на то, что в данном случае в основе депрессивно-подобных состояний у подопытных животных лежат механизмы, независимые от серотониновой передачи в лимбической системе, или лежащие на более высоких уровнях регуляции. Однако стоит помнить, что классический курс антидепрессантов должен длиться не менее 2 недель, поэтому трактовка данных о неэффективности антидепрессантов может быть подвергнута сомнению. Такие модели позволяют изучать роль нарушения работы ГГН-оси в патогенезе расстройств депрессивного спектра, однако, побочные эффекты от используемых веществ могут затруднять интерпретацию полученных данных [Antunes и др., 2015].

Хроническое употребление кортикостерона крысами приводит к немонотонной зависимости глубины нарушений поведения от продолжительности введения медиаторов ГГН-оси. В работе Ding и др. было показано, что хроническое введение кортикостерона вызывает индукцию депрессивно-подобного поведения у крыс на 7 и 21 дни приема с периодом улучшения на 14 день [Ding и др., 2018]. Данные о стойкости развивающихся нарушений после прекращения введения медиаторов ГГН-оси не найдены.

### **3.1.1.8. Модели, основанные на индукции нейровоспаления**

Индукция нейровоспаления также вызывает депрессивно-подобное поведение у животных. Принято говорить о продромально-подобном поведении, которое наблюдают в

ответ на системное или локальное введение провоспалительных агентов (ЛПС, культуры бактерий) а также провоспалительных цитокинов. ЛПС взаимодействует с рецептором TLR4, экспрессированном на многих популяциях клеток организма, в частности, на большинстве клеток иммунной системы. Далее, по-видимому, активация иммунной системы приводит к повышению концентрации провоспалительных цитокинов в системном кровотоке, что индуцирует нейровоспалительную реакцию, которая приводит к индукции депрессивно-подобного поведения у животных [Dunn, Swiergiel, Beaugeraige De, 2005]. Стойкость развившихся нарушений сильно зависит от выбранных условий эксперимента. В случае однократного интраперитонеального введения здоровым мышам умеренной дозы ЛПС (500 мкг/кг), депрессивно-подобное поведение становится детектируемым через 1-2 часа и исчезает через сутки после введения [Dang и др., 2019]. В случае введения в лапу мыши полного адьюванта Фрейнда, депрессивно-подобное поведение детектируют даже через 2 недели после введения. Только через 3 недели после введения, поведение экспериментальных мышей перестает отличаться от поведения мышей из контрольной группы [Laumet и др., 2020].

### **3.1.2. Модели склонности к депрессивно-подобному состоянию**

#### **3.1.2.1. Генетические модели депрессии**

Исторически первыми генетическими моделями депрессии были селективно выведенные линии животных, у которых выявили склонность к проявлению депрессивно-подобного поведения. Наиболее известными из них являются крысы линий Wistar–Kyoto и Flinders Sensitiverat Line. Непосредственный патогенез в этих случаях неизвестен.

С развитием техник создания трансгенных животных, были созданы модели мышей, нокаутных по ряду генов [Massart, Mongeau, Lanfumeu, 2012]. Особенный интерес представляют работы, в которых использовали мышей, нокаутных по генам, относящимся к системе стресс-реактивности, в частности, *Crhr1* и *Nr3c1*. У таких мышей точно известно генетическое нарушение, а появление обусловленных нокаутов позволило минимизировать возможность адаптации животных к нокауту в ходе онтогенеза. В последние годы был опубликован ряд работ, в которых использовали прогрессивный подход локального нокаута гена ГР (*Nr3c1*) в различных областях ЦНС. Большая часть работ посвящена эффектам делеции ГР в структурах переднего мозга при помощи Cre-

рекомбинации в клетках с активным промотором СаМКII $\alpha$  (возбуждающих нейронов неокортекса). У таких животных нокаут локален и производится в ограниченной популяции клеток, что позволяет минимизировать побочные эффекты генетической манипуляции [Czéh и др., 2016].

Не только функции рецепторов ГКС, но также функции их адапторных белков и ферментов метаболизма ГКС являются предметом для изучения методами генетической инженерии. В работе Gao и др. для изучения роли эффектов оверактивации ГР использовали трансгенных мышей, в которых был оверэкспрессирован адапторный белок AAPL2. Эти животные демонстрировали хроническую, спонтанную и независимую от стресса активацию ГР, детектируемую по его фосфорилированию, накопление его мишени SGK1. У таких мышей наблюдали депрессивно-подобное поведение: наблюдалось повышение времени иммобильности в тестах вынужденного плавания и подвешивания за хвост, избегание центра открытого поля, но при этом не снижалось потребление сахарозы, т.е. не нарушалось гедонистическое поведения. Кроме того, эти животные демонстрировали снижение интенсивности нейрогенеза [Gao и др., 2018]. В работе Slattery и др. для индукции депрессивно-подобного поведения в модели вынужденного плавания использовали нокаут по гену 11- $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназы 1 [Slattery, Uzunov, Cryan, 2015].

### ***3.1.2.2. Модель депривации материнского поведения***

В данной модели для индукции депрессивно-подобного поведения используют периодическое отлучение новорожденных детенышей от самки или индукцию нарушения родительского поведения (прежде всего, родительского ухода). Данное воздействие вызывает сильный стресс у подопытных животных и не до конца установленным способом приводит к нарушению функционирования эндокринной системы (в частности, ГГН-оси), иммунной и нервной системы во взрослом возрасте. Для данной модели не характерна высокая воспроизводимость – в различных работах описывают различный набор депрессивно- и тревожно-подобных поведенческих нарушений, детектируемый у подопытных животных [Marso и др., 2015].

### **3.1.2.3. Модель индукции депрессивно-подобного состояния неонатальным введением фармакологических агентов**

В ряде работ используют введение новорожденным животным различных фармакологических агентов со сложным спектром действия, что приводит к формированию депрессивно-подобного поведения у животных более старших возрастов. Так, в работе Bhagya и др. вводили нейролептик кломипрамин, после чего наблюдали снижение предпочтения сахарозы и когнитивные нарушения у 3-месячных животных [Bhagya и др, 2008]. В работе Zubkov и др. использовали неонатальное введение дипротина А - ингибитора дипептидилпептидазы. У экспериментальных животных детектировали депрессивно-подобное поведение на 1, 2 и 3 месяцы постнатального развития [Zubkov и др., 2017].

### **3.1.2.4. Модель индукции депрессивно-подобного состояния неонатальным провоспалительным стрессом**

Раннее программирование патологических изменений в организме взрослых животных при помощи неонатального провоспалительного стресса (НПС) широко используют для моделирования ряда патологий. Для этого, в организм животных, обычно в первую неделю после рождения, вводят вещества, эффективно вызывающие воспалительный ответ – ЛПС из различных штаммов бактерий, поли-І:С, культуры бактерий. Воспалительный ответ в ходе раннего онтогенеза приводит к программированию нарушений функционирования иммунной, эндокринной и нервной систем у взрослых животных.

НПС приводил к развитию периферического воспаления, нейровоспаления и ответу ГГН-оси у неонатальных животных. Между самцами и самками крыс в данной парадигме не было выявлено разницы по концентрации медиаторов воспаления ГКС, но наблюдали зависимую от пола реакцию микроглии – снижение количества микроглиоцитов в гиппокампе самцов и повышение в гиппокампе самок [Claypoole, Zimmerberg, Williamson, 2017]. Можно предположить, что этот эффект может лежать в основе дифференциальной чувствительности самцов и самок к индукции нарушений во взрослом возрасте [Walker и др., 2009].



В работе Shanks и др. было показано, что крысы, перенесшие НПС, демонстрировали большую базальную секрецию кортикостерона и более выраженный ответ ГГН-оси на стрессирование при помощи звуковой стимуляции. Помимо нарушения работы ЦНС и ГГН-оси, эти крысы демонстрировали нарушения работы иммунной системы. Базовая интенсивность пролиферации спленоцитов у таких крыс не отличалась от спленоцитов, выделенных из крыс контрольной группы. Имобилизационный стресс приводил к снижению скорости пролиферации спленоцитов из крыс, подвергнутых НПС. В модели индукции экспериментального артрита такие крысы демонстрировали меньшее увеличение объема лапы [Shanks и др., 2000]. Можно предположить, что НПС приводил не только к нарушению функций ГГН-оси, но и нарушению рецепции ГКС в тканях экспериментальных животных. Функционирование иммунной системы было нарушено у мышей, перенесших НПС. В работе Barth и др. было показано, что молодые крысы, перенесшие НПС демонстрируют снижение секреции ИЛ-6, ИЛ-10, ФНО $\alpha$  клетками иммунной системы в ответ на каррагинан *ex vivo*. У взрослых мышей наблюдали аналогичное снижение секреции только ИЛ-6 и ФНО $\alpha$ , и только у самок [Barth и др., 2016]. В работе Walker и др. было показано, что НПС во взаимодействии со стрессом иммобилизации во взрослом возрасте приводил к нарушению выработки антител у крыс [Walker, Hodyl, Hodgson, 2009]. Эффекты НПС потенцируются стрессом социальной изоляции, так в работе Павловой и др. было показано повышение тревожности у самок крыс в данной парадигме [Павлова и др., 2021] Таким образом, можно заключить, что НПС приводит к программированию широкого спектра нарушений во взрослом возрасте. Нарушения работы ГГН-оси и иммунной системы на периферии могут оказывать прямое и не прямое действие на системы реакции на стресс в ЦНС и на систему нейровоспаление, что может вызывать депрессивно-подобное нарушения работы ЦНС.

В работе Walker и др. было показано, что НПС приводил к повышению тревожности у взрослых самцов крыс, но не приводил к аналогичным изменениям у самок. В то же время, не было выявлено влияния пола на повышение концентрации кортикостерона в плазме крови у крыс под влиянием сочетания НПС и стресса иммобилизации во взрослом возрасте. В отличие от концентрации кортикостерона, экспериментальные воздействия не влияли на концентрацию АКТГ в плазме крови [Walker и др., 2009]. В следующей работе этих же авторов было показано значимое повышение концентрации ИЛ-1 $\beta$  и ФНО $\alpha$  в гиппокампе крыс, под действием сочетания НПС и стресса иммобилизации [Walker, Nakamura, Hodgson, 2010]. Несмотря на повышение тревожности у крыс, подвергнутых НПС, у таких животных не обнаружено изменений

импульсивного поведения [Груздева и др., 2021]. В работе Sominsky и др. было показано повышение степени активации микроглии в зубчатой фасции гиппокампа у взрослых крыс после поведенческих тестов под действием перенесенного НПС [Sominsky и др., 2012]. В то же время, в работе Kohman и др. были получены парадоксальные данные о регуляции нейровоспаления у мышей, перенесших НПС. В отличие от контрольных животных, экспериментальные мыши демонстрировали меньшую склонность к повышению экспрессии мРНК ИЛ-1 $\beta$  в гиппокампе и неокортексе в ответ на введение ЛПС во взрослом возрасте. Кроме того, такие мыши хуже обучались активному избеганию [Kohman и др., 2008]. Можно предположить, что различия в последствиях поведенческого и провоспалительного стресса могут быть объяснены межвидовыми различиями. Кроме того, можно предположить, что НПС по-разному действует на механизмы, лежащие в основе индукции нейровоспаления поведенческим стрессом и системным воспалением.

В работе Liang и др. было показано, что мыши, перенесшие НПС, в возрасте 85 дней после рождения, демонстрируют тревожно- и депрессивно-подобное поведение. Авторы ассоциируют это с нарушением созревания нейронов в зубчатой фасции гиппокампа, опосредованной нарушением экспрессии рецепторов ГАМК в гиппокампе и активацией астроцитов [Liang и др., 2019]. В работе Majidi и др. была показана возможность использования миноциклина для предотвращения развития нарушений поведения, стресс-реактивности и развития нейровоспаления у мышей, перенесших НПС [Majidi, Kosari-Nasab, Salari, 2016]. Эти данные позволяют предположить, что нейровоспаление играет важную роль в патогенезе нарушений, вызванных НПС.

Сходные результаты были получены при использовании других моделей, в которых использовали индукцию воспаления у неонатальных животных. Так в работе Babri и др. НПС при помощи ФНО $\alpha$  программировали развитие депрессивно-подобного поведения у взрослых мышей [Babri, Doosti, Salari, 2014].

Однако при использовании культуры живых бактерий для индукции НПС у крыс были получены парадоксальные результаты. Введение культуры бактерий на 4 день постнатального развития, приводило к снижению чувствительности взрослых крыс к индукции депрессивно-подобного поведения и снижению выброса кортикостерона в ответ на электрошок [Wilbo и др., 2008]. Механизмы, лежащие в основе этого эффекта остаются малоизученными. Можно предположить, что реакция иммунной системы на цельных бактерий приводит к корректному завершению воспалительной реакции, что предотвращает будущие нарушения работы нервной, эндокринной и иммунной систем.

В большинстве работ, в которых была использована модель индукции депрессивно-подобных состояний при помощи НПС, как правило, были изучены либо ранние события (у неонатальных животных, непосредственно после НПС), либо нарушения, выявляемые у животных с развившимися нарушениями поведения. Относительно немногие работы посвящены событиям, происходящим в организме молодых крыс и предшествующим развитию депрессивно-подобного состояния. В работе Sidor и др. было показано, что НПС приводит к нарушению экспрессии ряда рецепторов серотонина и ферментов синтеза и метаболизма серотонина в неокортексе, миндалине и гиппокампе молодых крыс [Sidor и др., 2010]. Те же авторы в следующей работе показали также изменение экспрессии мРНК КРГ и его рецепторов, а также ГР в этих же структурах, наблюдаемые у животных возрастом 14-17 суток, но не наблюдаемые у животных возрастом 30 суток [Amath, Foster, Sidor, 2012]. Таким образом, развитие в онтогенезе нарушений системы нейровоспаления и системы стресс-реактивности у животных, перенесших НПС изучены недостаточно. В частности, в литературе не было найдено данных о роли системы фракталкина, ФНО $\alpha$ , ИЛ-6 в патогенезе у таких животных. Также не найдено данных о возможном дифференциальном влиянии НПС на дорсальный и вентральный отделы гиппокампа.

### **3.1.3. Взаимосвязь развития тревожно- и депрессивно-подобного поведения у подопытных животных**

Для ряда моделей, например, для модели стресса социального поражения, характерно последовательное развитие сначала тревожно-подобного поведения, позже дополняемого депрессивно-подобным. Аналогично, у пациентов достаточно часто наблюдают коморбидность депрессивных и тревожных расстройств. Вероятно поэтому, во многих работах вместо тестов для оценки депрессивно-подобного поведения, применяют технически более простые тесты для оценки тревожно-подобного поведения, главным образом, исследуют поведение животных в открытом поле. Однако, не для всех моделей депрессивно-подобного поведения показана такая последовательность развития симптоматики. Поэтому, оценка развития депрессивно-подобного и тревожно-подобного поведения у экспериментальных животных должна производиться независимо [Planchez, Surget, Belzung, 2019].

## **3.2. Современные представления о патогенезе депрессивных состояний**

### **3.2.1. Моноаминовая теория депрессии и ее теории-наследники**

Нарушение обмена моноаминов (серотонина, норадреналина, дофамина) в структурах лимбической системы было исторически первым открытым специфическим механизмом формирования депрессивных состояний. Несмотря на то, что открытие антидепрессивных эффектов ингибиторов моноаминоксидазы произошло случайно, дальнейшие исследования привели к появлению нескольких групп препаратов, которые и в настоящее время являются основой лекарственной терапии депрессивных состояний.

Общий принцип работы всех классических антидепрессантов состоит в повышении доступности серотонина и норадреналина для постсинаптической клетки. На практике применяются ингибиторы моноаминоксидазы, селективные и неселективные ингибиторы обратного захвата серотонина и норадреналина. В ходе применения классических антидепрессантов был накоплен массив данных, заставивший критически отнестись к классической концепции, согласно которой депрессивные состояния вызываются нехваткой моноаминов. Минимально эффективная длительность курса классических препаратов составляет 2-4 недели до проявления клинически значимых улучшений состояния пациентов. Однако концентрация серотонина в структурах лимбической системы под действием антидепрессантов восстанавливается значительно раньше, в ходе первой недели приема препаратов [Ruhé, Mason, Schene, 2007]. Кроме того, до 45% пациентов демонстрируют резистентность к терапии, несмотря на формальную фармакологическую эффективность препаратов – побочные эффекты, как правило, наблюдаются и у таких пациентов [Racagni, Popoli, 2008]. Наконец, в прямом эксперименте нарушение синтеза серотонина в ЦНС здоровых испытуемых не приводит к развитию депрессивных состояний и усилению депрессивной симптоматики у больных [Moreno и др., 2010].

В ходе критики моноаминовой концепции депрессии появился ряд дочерних теорий, связанных, прежде всего, с ролью синаптической пластичности и нейрогенеза в регуляции аффективного статуса. Кроме того, были обнаружены механизмы, которые не связаны напрямую с моноаминами, но принимают участие в патогенезе депрессивных расстройств.

### 3.2.1.1. *Нарушение нейрогенеза и нейрональной пластичности*

В ходе патологоанатомических исследований было показано, что у пациентов с большим депрессивным расстройством уменьшается объем гиппокампа за счет уменьшения объема зубчатой фасции изменения формы и представленности основных нейрональных популяций [Stockmeier и др., 2004]. Аналогичные данные были получены и на животных моделях. Индукция депрессии хроническим непредсказуемым стрессом приводит к уменьшению объемов зубчатой фасции и поля СА3 гиппокампа. При этом, зубчатая фасция уменьшается как за счет уменьшения числа новообразованных клеток, как это происходит при абляции нейрогенеза, так и за счет деградации дендритов гранулярных клеток. В отличие от зубчатой фасции, объем поля СА3 уменьшается независимо от нейрогенеза за счет атрофии апикальных дендритов пирамидных клеток в дорсальной части гиппокампа и изменения формы дендритов пирамидных клеток в вентральной части гиппокампа [Schoenfeld и др., 2017].

В большом количестве работ, выполненных на животных, успешное применение антидепрессантов, вызывающее регрессию депрессивно-подобного поведения, возвращало объем зубчатой фасции к норме или нормализовало нейрогенез, а абляция нейрогенеза отменяла эффекты антидепрессантов [Planchez, Surget, Belzung, 2020]. Стоит отметить, что гиппокамп и, особенно, зубчатая фасция гиппокампа неоднородны вдоль продольной (септо-темпоральной у людей и дорсо-вентральной у мелких млекопитающих) оси. Так, в работе Zhang и др. было показано, что в условиях обогащенной среды, дорсальная и вентральная части гиппокампа реагируют неодинаково – в дорсальной части нейрогенез активнее и транскрипционный профиль также значительно отличается от вентральной [Zhang и др., 2018b]. Также транскриптомные и протеомные исследования показали, что реакция на стресс в дорсальной и вентральной частях гиппокампа различаются [Floriou-Servou и др., 2018].

В то же время, существует ряд работ, показывающих, что нарушение нейрогенеза в гиппокампе само по себе не вызывает депрессивно-подобного поведения. Так, Revest и др. показали, что абляция стволовых клеток при помощи оверэкспрессии проапоптотического белка Вах вызывает тревожно-подобное поведение, однако, не вызывает депрессивно-подобного поведения [Revest и др., 2009]. Сходные данные были получены Минеевой и др. при абляции нейрогенеза ионизирующим излучением [Mineyeva и др., 2019]. Нокаут участка генома, кодирующего белок AP2 $\gamma$ , приводит к снижению

интенсивности нейрогенеза, повышению тревожности, но не приводит к развитию депрессивно-подобного поведения [Mateus-Pinheiro и др., 2017].

Помимо увеличения интенсивности нейрогенеза в зубчатой фасции, антидепрессанты увеличивают скорость созревания новых нейронов [Amellem и др., 2017]. Кроме того, антидепрессанты вызывают рост нейритов и образование новых синапсов, влияют на высвобождение медиаторов [Liu и др., 2017]. Было показано нарушение формирования долговременной потенциации в префронтальной коре животных, подвергнутых долговременному стрессу, вызывающему депрессивно-подобное поведение [Goldwater и др., 2009]. Сходные нарушения были выявлены и в гиппокампе [Goldwater и др., 2009]. По современным представлениям, важную роль, как в восстановлении нейрогенеза, так и в восстановлении нейрональной пластичности, играет серотонин- и глутамат-зависимое повышение экспрессии и секреции нейротрофического фактора BDNF [Caviedes и др., 2017]. Кроме того, предполагают, что в реализации эффектов антидепрессантов участвуют такие ростовые факторы, как FGF1, VEGF, NGF, GDNF, IGF1, управляющие ростом нейритов, образованием и стабилизацией новых синапсов [Levy и др., 2018].

Можно заключить, что образование и созревание новых нейронов важно для реализации нормальных, не-депрессивных паттернов поведения. Однако, поскольку абляция нейрогенеза не приводит к развитию депрессивно-подобных состояний, то, вероятно, нарушения нейрогенеза не являются непосредственным патологическим механизмом расстройств депрессивного спектра. В свою очередь, нарушение синаптической пластичности, по-видимому, является одним из конечных звеньев патогенеза депрессии, поскольку, при данном заболевании наблюдают нарушения мышления, аффективного статуса и поведения, т.е. процессов, основанных на функционировании нейронов. На образование и утилизацию синапсов, а также на изменение силы синаптической связи оказывают влияние различные системы мозга, в т.ч. системы, участвующие в реакции на стресс и система нейровоспаления.

### **3.2.2. Нарушения работы стресс-реализующих систем**

#### **3.2.2.1. *Современные представления о работе гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси и стресс-ассоциированных систем головного мозга***

В 1936 году Ганс Селье обратил внимание, что достаточно интенсивные воздействия любой модальности вызывают у подопытных крыс неспецифический стереотипный ответ в виде гиперплазии коры надпочечников, инволюции тимуса и появления мелких кровоизлияний на слизистой оболочке желудка. На основе этих наблюдений была сформулирована концепция общего или неспецифического адаптационного синдрома (ОАС), во-первых, лежащего в основе способности организмов приспосабливаться к меняющимся условиям среды, а во-вторых, при истощении адаптационных возможностей, приводящем к ряду патологических состояний.

По современным представлениям, т.н. гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось (ГГН-ось) является основной системой, отвечающей за запуск ОАС у высших млекопитающих. Функционально она состоит из трех звеньев. Первое звено - нейроны гипоталамуса, которые посылают свои аксоны в переднюю долю гипофиза, где выбрасывают кортикотропин-рилизинг гормон (кортиколиберин, КРГ). Этот гормон воздействует на рецепторы CRHR1 и CRHR2 нейроэндокринных нейронов передней доли гипофиза (второе звено), которые в ответ на это секретируют адренкортикотропный гормон (АКТГ) в системный кровоток. Основной мишенью АКТГ в ходе развития ОАС являются клетки коры надпочечников (третье звено), секретирующие ГКС в системный кровоток. В свою очередь, ГКС вызывают широкий спектр физиологических эффектов, в том числе, снижая секрецию КРГ и АКТГ, тем самым, замыкая петлю обратной связи.

КРГ является нейропептидом, который синтезируют в ЦНС нейроны, относящиеся к различным субпопуляциям [Zeisel и др., 2018]. Он является одним из ключевых стресс-зависимых регуляторов функций ЦНС и ГГН-оси. Данный нейропептид вовлечен в контроль секреции АКТГ гипофизом и в регуляцию синаптической пластичности в различных отделах головного мозга. Исходно КРГ был открыт как фактор, экспрессируемый нейронами паравентрикулярного ядра гипоталамуса и регулирующий экспрессию АКТГ в гипофизе и его секрецию в кровоток [Rooszendaal и др., 2002]. Позже была показана его экспрессия различными популяциями нейронов в коре, гиппокампе, миндалинах и других структурах мозга, не связанная напрямую с регуляцией работы ГГН-оси, но тоже регулируемая уровнем физиологического стресса [Maras, Baram, 2012; Refojo и др., 2011; Rooszendaal и др., 2002]. В частности, показано увеличение синтеза КРГ в миндалинах и ядре ложа конечной полоски под действием кортикостероидов, что способствует консолидации памяти [Rooszendaal и др., 2002], в то время как в паравентрикулярном ядре под действием кортикостероидов синтез этого пептида уменьшается по механизму отрицательной обратной связи [Makino, Gold, Schulkin, 1994].

Таким образом, можно предположить, что поскольку экспрессия КРГ в различных структурах ЦНС регулируется противоположным образом, то нейроны, секретирующие данный пептид, выполняют в этих структурах напрямую независимые функции.

Рецепторы КРГ принадлежат к суперсемейству рецепторов, сопряженных с G-белками. Оба рецептора КРГ - CRHR1 и CRHR2 экспрессируются главным образом в нейронах [Zeisel и др., 2018]. CRHR1 экспрессируется главным образом на постсинаптических клетках и является важным участником регуляции стабильности синапсов [Chen и др., 2012]. Распределение CRHR2 менее изучено. Показано, что CRHR2 может быть активирован не только КРГ, но и другими пептидными лигандами, в частности, стресскопином и пептидом, родственным стресскопину [Hsu, Hsueh, 2001].

Изменение экспрессии КРГ под действием стресса сложным образом влияет на синаптическую пластичность в гиппокампе и неокортексе. Кратковременный стресс приводит к КРГ-зависимому усилению формирования реакции условно-рефлекторного замирания. На уровне электрофизиологии наблюдают облегчение формирования долговременной потенциации в срезах гиппокампа [Blank и др., 2002]. В свою очередь, хронический стресс вызывает КРГ-зависимое нарушение памяти и снижение синаптической пластичности. В то же время, в результате хронической активации CRHR1 в гиппокампе происходит нарушение синаптической пластичности, разрушение дендритных шипиков и снижение обучаемости [Chen и др., 2013; Liao и др., 2014]. Функции CRHR2 остаются менее изученными, вероятно, из-за его меньшей экспрессии в гиппокампе и коре [Zeisel и др., 2018], однако, показана его роль в регуляции тревожности [Radulovic и др., 2000] и зависимого от стресса обмена серотонина в прилежащем ядре [Donner и др., 2016]. Вероятно, как и для других компонентов стресс-реализующих систем, кратковременная активация рецепторов КРГ приводит к мобилизации организма и повышению его адаптивных возможностей, а хроническая – истощению способности организма к адаптации. Непосредственные механизмы, лежащие в основе этих эффектов, остаются малоизученными.

Секреция КРГ нейронами паравентрикулярного ядра гипоталамуса приводит к секреции АКТГ нейронами гипоталамуса в системный кровоток. В то же время, в ЦНС не зафиксировано экспрессии его рецептора никакими клетками, за исключением васкулярных лептоменингеальных клеток [Zeisel и др., 2018], следовательно, можно предположить, что АКТГ прямо не регулирует функции ЦНС.



Основной пул рецепторов АКТГ находится в корковом веществе надпочечников, где под действием АКТГ происходит секреция ГКС в системный кровоток. ГКС представляют из себя семейство молекул стероидов, различающихся боковыми группами и физиологической активностью. Основную физиологическую активность имеют 2 соединения – кортизол и кортикостерон. У людей основным ГКС является кортизол, а у крыс и мышей – кортикостерон, при этом в организме человека кортикостерон вырабатывается минорно и человеческие рецепторы глюкокортикостероидов имеют низкую аффинность к нему. Аналогичная ситуация для кортизола наблюдается у мелких млекопитающих, у которых основным кортикостероидом является кортикостерон, а кортизол минорен. Большая часть ГКС, секретиремых в кровь, нековалентно связывается с белками-переносчиками, в т.ч. с альбумином и со специфическим кортикостероид-связывающим глобулином (КСГ, серпин-а6). При этом у здоровых индивидов большая часть ГКС в крови находится в комплексе с КСГ, имеющим наномолярную  $K_d$  по отношению к кортикостероидам [Hammond, 2016]. Уже в локальном кровотоке ГКС могут высвобождаться под действием различных факторов, таких как повышение температуры и действие выделяемых тканями протеаз, которые специфически разрезают одну из петель четвертичной структуры КСГ, что приводит к снижению его аффинности к ГКС [Henley, Lightman, Carrell, 2016]. В ходе диффузии в ткани, ГКС проходят через клетки сосудистого эндотелия, которые экспрессируют 11- $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназу 2, которая превращает ГКС в их физиологически неактивные 11 $\beta$ -деоксипроизводные (кортизон и 11 $\beta$ -деоксикортикостерон). Уже в тканях-мишенях они снова подвергаются превращению в физиологически активные вещества под действием 11- $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназы 1 [Shearer, Wytvoll, Holmes, 2019]. Инактивация ГКС в тканях происходит как при помощи 11- $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназы 2, так и при помощи ряда ферментов, вызывающих необратимую инактивацию молекул ГКС [Dineen, Stewart, Sherlock, 2019; Melcangi, 1993].

Высшие млекопитающие имеют в геноме 2 рецептора, для которых показана активация под действием ГКС – Nr3c1 (глюкокортикоидный рецептор, GR) и Nr3c2 (минералокортикоидный рецептор, MR). Эти рецепторы близкородственны и имеют сходную структуру. На N-конце находится т.н. NTD (от англ. N-terminal domain), ответственный за связывание с корегуляторами. Эти домены отличаются у GR и MR. Далее находится ДНК-связывающий DBD (от англ. DNA-binding domain), одинаковые у обоих рецепторов. На C-конце последовательно находятся промежуточный, т.н. «шарнирный» домен, называемый в литературе HingeDomain и лиганд-связывающий домен LBD (от

англ. Ligand-bindingdomain). С-концевые домены достаточно консервативны и сходны у ГР и МР [Gomez-Sanchez, Gomez-Sanchez, 2014]. Несмотря на то, что каноническим лигандом МР принято считать альдостерон, этот рецептор имеет аффинность к кортикостерону приблизительно в 10 раз выше, чем ГР, поэтому, при прочих равных условиях, в покое ГР минимально активирован ГКС, в отличие от МР [Spencer и др., 1990]. ГР относится к генам с множественными промоторами, что относительно редко встречается в геноме высших млекопитающих. В настоящее время описано как минимум 9 промоторов ГР, активность которых, по-видимому, сложным образом регулируется. В частности, показана регуляция активности этих промоторов метилированием в разных типах клеток в различных физиологических состояниях [Turecki, Meaney, 2016]. Помимо альтернативных промоторов, для ГР известны как минимум 2 сплайс-формы, отличающиеся по аминокислотному составу, экспрессируемые в клетках человека, мыши и крысы [Pujols и др., 2002]. Альтернативные промоторы МР изучены значительно хуже, для него только методами догеномной эпохи показано существование двух вариантов с альтернативными стартами транскрипции [Zennaro, Menuet Le, Lombès, 1996], а информации относительно сплайс-форм не было найдено.

Ингибиторы ГР и МР – мифепрестон (RU-486) и спиронолактон являются важными инструментами для изучения физиологических и клеточных функций этих рецепторов и применяются во множестве работ. Однако надо помнить, что ни один из этих ингибиторов не является высокоспецифичным, и они оба обладают побочными действиями. Так, для мифепрестона показано ингибирование прогестеронового рецептора приблизительно той же концентрацией, а андростеронового рецептора концентрацией всего в 40 раз большей, чем та, которая является ингибирующей для ГР [Wilkinson и др., 2008]. Оба ингибитора, как и естественные стероидные гормоны, являются липидами, поэтому, определение их истинной концентрации в районе действия может оказаться нетривиальной задачей, поскольку они, будучи липидами, могут накапливаться в неполярной фазе мембран клеток, а также в других липофильных компартментах, таких как жировые капли адипоцитов и миелиновые оболочки.

Для генов обоих рецепторов ГКС известно, что их продукты могут функционировать в клетке как цитоплазматические или мембранно-ассоциированные рецепторы. В настоящее время, цитоплазматический пул рецепторов изучен значительно лучше. В этом случае, рецепторы находятся в цитоплазме клеток в комплексе с белками-шаперонами семейства HSP. После связывания с проникшим через плазматическую мембрану лигандом, рецепторы транспортируются в ядро, где димеризуются и начинают

выполнять функцию транскрипционного фактора, связываясь с ДНК и собирая на себе комплекс белков, регулирующих сборку транскрипционного аппарата. Специфические области связывания непосредственно ГР и МР принято называть GRE (от англ. Glucocorticoid response element). Области связывания ГР и МР на хромосомах частично перекрываются, но известны и специфичные для каждого рецептора сайты. Кроме того, показано кооперативное распознавание GRE, специфичных для МР, факторами транскрипции семейства NeuroD, чего не наблюдается для GRE, специфичных для ГР или неспецифичных по отношению к сродству к ГР и МР [Weert van и др., 2017]. Известен ряд генов, экспрессия которых регулируется ГР и МР в головном мозге. Вероятно, главной геномной функцией ГКС является регуляция режимов функционирования клеток при помощи изменения экспрессии транскрипционных факторов. В настоящее время показано влияние активации ГР и МР при помощи эндогенных и синтетических ГКС на экспрессию таких факторов как Jun, семейств Sox и Bcl, Sall1, NFκB. Кроме того, ГКС изменяют экспрессию генов, вовлеченных в энергетический метаболизм, синтез и рецепцию нейромедиаторов, регуляцию формы клеток [Juszczak, Stankiewicz, 2018]. Таким образом, активация цитоплазматического пула ГР и МР запускает относительно медленные, но очень выраженные изменения функционального статуса клеток-мишеней.

Помимо цитоплазматических рецепторов, известен пул МР и ГР, локализованных в околочелюбном пространстве и вызывающих быстрые неканонические эффекты при активации. Для изучения таких рецепторов используют дексаметазон, кортикостерон или альдостерон, ковалентно пришитые к носителям, не проникающим через мембрану клеток, главным образом, к бычьему сывороточному альбумину. Принято считать, что большинство «быстрых» эффектов ГКС на клетки, не исчезающих под действием ингибиторов транскрипции и трансляции, обусловлены негеномными эффектами мембранно-ассоциированных ГР и МР. Вероятно, функции околочелюбных ГР и МР критически зависят от молекулярного контекста, а следовательно и от типа клеток, в котором они экспрессированы. Стоит отметить, что большая часть работ, посвященных механизмам функционирования мембранно-ассоциированных рецепторов ГКС выполнена на культурах линейных клеток, а данные о молекулярных механизмах работы таких рецепторов в ЦНС в литературе практически не представлены [Lösel и др., 2003].

Оба рецептора ГКС экспрессируются многими клетками в организме. Принято считать, что активация ГР приводит к запуску ОАС, а МР участвует в регуляции водно-солевого баланса в организме. В ЦНС функции этих рецепторов отличаются от того, что наблюдается в остальном организме. ГР экспрессируется большинством клеток головного

мозга, МР экспрессируется многими субпопуляциями нейронов, астроцитами и олигодендроцитами, но не экспрессируется микроглией [Zeisel и др., 2018]. В ЦНС оба эти рецептора, вероятно, активируются ГКС, поскольку экспрессия ферментов, необходимых для синтеза альдостерона из неактивных предшественников в ЦНС показана главным образом для ядра тракта одиночного пути и гипоталамуса, где замыкается петля обратной связи регуляция давления крови [Joëls, Kloet de, 2017].

В организме ГКС секретируются отдельными пиками, формируя ультрадианный ритм. У крыс существует приблизительно часовой цикл выброса кортикостерона, регулируемый активацией или ингибированием ГГН оси. Сигнальная трансдукция в ответ на пики выброса кортикостерона зависит от динамического взаимодействия с ГР и МР [Lightman и др., 2008]. Принято считать, что эффекты низких базальных концентраций эндогенных ГКС опосредованы МР из-за их более высокой аффинности. Низкоаффинные глюкокортикоидные рецепторы играют ключевую роль при высоких концентрациях эндогенных ГКС (при стрессе или дневных пиках выброса) [Pariante, Lightman, 2008]. Вероятно, оптимальная функция ГКС реализуется при их средних концентрациях, в то время как гипер- и гипосекреция приводит к негативным последствиям [Kloet de и др., 1998].

ГКС сложным образом регулируют функции ЦНС. Наиболее изучено влияние активации ГР и МР на синаптическую пластичность и электрофизиологические свойства нейронов коры и гиппокампа. Принято считать, что кратковременное увеличение концентрации ГКС в плазме крови (и, вероятно, в тканях ЦНС) приводит к облегчению долговременной потенциации, что улучшает обучаемость подопытных животных в моделях обучения, сопряженных со стрессом. В то же время, хроническая избыточная секреция ГКС приводит к обратному эффекту [Madalena, Lerch, 2017]. В частности, Liston и др. показали, что суточные колебания концентрации ГКС в крови необходимы для формирования новых дендритных шипиков. Также было показано, что при интрацеребральной инъекции кортикостерона, активация ГР в коре мышей снижает формирование новых шипиков, а ингибитор ГР - мифепристон отменяет этот эффект. Альдостерон, являющийся специфическим агонистом МР, при введении аналогичным способом, запускает формирование новых шипиков и этот эффект снижается под действием спиронолактона – ингибитора МР, а также ингибиторов транскрипции и трансляции – актиномицина Д и анизомицина [Liston и др., 2013]. Аналогичные эффекты были получены при исследовании кратко- и долговременной обработке культур нейронов ГКС [Lesuis и др., 2020]. Исходя из этих данных, можно предположить, что значительная

часть влияния кратковременного повышения концентрации ГКС на синаптическую пластичность обусловлена ГР и МР, экспрессируемых нейронами, а не является вторичными эффектами активации рецепторов ГКС на других типах клеток. В то же время, как минимум, часть эффектов долговременного повышения концентрации ГКС в модели посттравматического стрессорного расстройства отменяется при нокауте ГР в клетках сосудистого сплетения, вообще не лежащих в ткани мозга [Kertser и др., 2019].

### ***3.2.2.2. Участие стресс-реализующих систем в патогенезе депрессивных расстройств***

Практика показывает, что большая часть человечества достаточно успешно переносит неблагоприятные воздействия окружающей среды, не демонстрируя появления стабильной депрессивно-подобной симптоматики. Аналогичные эффекты наблюдают и в моделях на животных, что приводит к необходимости повышать интенсивность воздействия для обеспечения воспроизводимых результатов. При этом, стресс, переносимый человеком или животным в экспериментальной модели, приводит к активации стресс-реализующих систем, что, в свою очередь, приводит, как к кратковременным изменениям физиологических параметров (частота сердечных сокращений, концентрации гормонов и метаболитов в крови), так и к долговременным изменениям функционирования нервной, эндокринной и иммунной систем. По-видимому, основной функцией стресс-реализующих систем является запуск ОАС для повышения устойчивости организма к неблагоприятным условиям окружающей среды [Dudek и др., 2021].

Во многих исследованиях показано, что умеренный стресс повышает переносимость последующих воздействий. В моделях социальной изоляции, депривации материнского поведения и хронического умеренного стресса наблюдается колоколообразная зависимость дальнейшей чувствительности к стрессу от интенсивности перенесенного воздействия. Особи, подвергнутые воздействию средней интенсивности, демонстрируют большую устойчивость, чем наивные, или подвергнутые критическому стрессу [Russo и др., 2012].

Механизмы формирования устойчивости к стрессу являются предметом для изучения.

В ряде работ показано, что разовое введение высоких доз ГКС предотвращает развитие постстрессорных расстройств у людей [Kearns и др., 2012].

Известен ряд параметров, отличающих устойчивых животных от животных, склонных к развитию депрессивно-подобных состояний в моделях стресса социального поражения и хронического умеренного стресса. Среди наиболее важных – меньшая концентрация провоспалительных сигнальных молекул и клеток в периферическом кровотоке, более высокий уровень экспрессии ГР в ЦНС, нормальные суточные колебания концентрации ГКС в периферическом кровотоке, изменения экспрессии большого количества генов в зубчатой фасции гиппокампа [Dudek и др., 2021; Gururajan и др., 2019; Nasca и др., 2019; Russo и др., 2012].

Особый интерес представляют данные о влиянии перенесенного стресса на повышение устойчивости подопытных животных к воздействиям, не затрагивающим психическую сферу напрямую. Так в работе Dang и др. было исследовано влияние ежедневного непродолжительного стресса иммобилизации на чувствительность мышей к нарушениям, вызываемым инъекцией ЛПС. Подопытные животные демонстрировали не только менее выраженное депрессивно-подобное поведение, но и повышение устойчивости организма мышей к индукции нейровоспаления [Dang и др., 2019].

Можно предположить, что в моделях, основанных на программировании склонности к развитию депрессивно-подобных состояний, у подопытных животных нарушается работа механизмов, запускающих ОАС в ответ на стресс. В этом случае, относительно слабые воздействия в ходе повседневной жизни особи, равно как и стресс в ходе тестирования на депрессивно-подобное поведение провоцируют развитие нарушений функционирования ЦНС.

В настоящее время накоплен массив данных об участии стресс-реализующих систем мозга в патогенезе депрессивных расстройств.

#### 3.2.2.2.1. Вклад ГГН-оси

Первые исследования такого рода были начаты, когда было открыто общее нарушение регуляции работы ГГН-оси у пациентов с депрессивными расстройствами. Было показано, что у пациентов сглажены суточные колебания концентрации кортизола в крови, при этом в часы минимума продукции кортизола его уровень у больных выше, чем

у здоровых индивидов, а в часы максимума – заметно ниже. Реакция ГГН-оси на стресс у пациентов также отличается от наблюдаемой у здоровых людей – реакция пациентов на стресс, как правило, более выраженная. На основе этого эффекта была разработана методика т.н. дексаметазонового теста на депрессию, в ходе которого испытуемому внутривенно вводят раствор дексаметазона – высокоактивного агониста ГР и менее активного агониста МР, после чего смотрят динамику концентрации кортизола в плазме крови. У здоровых испытуемых естественная продукция кортизола закономерно снижается по механизму обратной связи. У людей, страдающих от депрессии, в этом случае продукция кортизола возрастает, что указывает на нарушения регуляции работы ГГН-оси [Keller и др., 2006]. При этом, ГР и МР по-разному вовлечены в патологическую регуляцию продукции кортизола у людей. Jurgena и др. показали, что у пациентов, страдающих от депрессивных расстройств, преднизолон в дозировке эквивалентной дексаметазону, вызывает снижение продукции кортизола, и не дает достоверных различий от здоровых испытуемых. Предполагают, что это может быть вызвано тем, что в отличие от дексаметазона, преднизолон активирует ГР и МР в равной степени [Jurgena и др., 2006].

Позже был обнаружен вклад наследственности в склонность к патологическому стрессорному ответу. У людей были выявлены корреляции между полиморфизмами ГР и развитием депрессии, сопровождающейся нарушением работы ГГН-оси [Schatzberg и др., 2014].

Исследования нарушений работы ГГН-оси показали, что уже на самых высоких уровнях регуляции – в паравентрикулярном ядре гипоталамуса, у пациентов с большим депрессивным расстройством повышается экспрессия мРНК КРГ [Raadsheer и др., 1995]. Аналогичные данные получены и при моделировании расстройств депрессивного спектра на животных. Оверэкспрессия КРГ при помощи лентивирусных векторов в центральном ядре миндалина мышей привела к развитию депрессивно-подобного поведения, к повышению синтеза КРГ в паравентрикулярном ядре гипоталамуса и к нарушению негативной регуляции секреции кортикостероидов [Keen-Rhinehart и др., 2009]. Однако нарушение регуляции синтеза ГКС под действием стресса не было показано в аналогичной модели в других работах [Regev и др., 2011].

Принято считать, что следующий уровень регуляции ГГН-оси также вовлечен в патологический процесс при депрессии. У пациентов наблюдают ассоциированность повышенной концентрации АКТГ в плазме крови и эндогенной депрессии, более того, повышенная концентрация АКТГ в крови считается основанием для негативного прогноза

эффективности лечения заболевания [Choi и др., 2018]. Вероятно, АКТГ не влияет на ЦНС напрямую, поскольку, клетки ЦНС практически не экспрессируют рецепторы АКТГ [Zeisel и др., 2018]. Хроническое введение АКТГ вызывает развитие депрессивно-подобного поведения у подопытных животных. В данной модели у мышей наблюдали снижение концентрации BDNF и NGF, повышение концентрации кинуреновой кислоты и активности индоламин-2,3-диоксигеназы, но не наблюдали изменения концентрации триптофана и серотонина в гиппокампе. В данной модели внутрижелудочковое введение нейропептида NPY приводит к снижению выраженности депрессивно-подобного состояния, а также к снижению концентрации кортикостерона в крови (хотя и не до уровня контрольных животных), нормализации концентрации серотонина и нейротрофинов в ЦНС [Antunes и др., 2015]. В этой же модели кетамин и рапастинель быстро (по итогам одного дня применения) подавляли развившееся депрессивно-подобное состояние. При этом стойкое повышение концентрации кортикостерона и АКТГ в сыворотке крыс наблюдали даже на 15 день после прекращения введения АКТГ независимо от терапии [Pereira и др., 2019]. Вероятно, АКТГ не является прямой причиной развития депрессивно-подобных состояний, но является важным передаточным звеном в работе ГКАС, в т.ч. и при нарушениях регуляции ее работы. Кроме того, повышенная концентрация АКТГ является важным диагностическим маркером нарушений работы ГКАС, даже в условиях временных фармакологически скомпенсированных нарушений поведения.

ГКС вовлечены в ряд патологических процессов, протекающих в ЦНС. Типичным клиническим примером гиперсекреции ГКС, приводящим к различным патологиям, является синдром Иценко-Кушинга [Sharma, Nieman, 2011]. Данный синдром часто ассоциирован с психопатологией, причем спектр наблюдаемых у пациентов расстройств поведения охватывает патологии от тяжелой депрессии до мании [Pereira, Tiemensma, Romijn, 2010]. Важно, что длительный подъем уровня ГКС может вызывать сниженную чувствительность или резистентность рецепторов к ГКС [Rodriguez и др., 2016]. В целом и целом, резистентность к ГКС может быть вызвана нарушениями в различных уровнях сигнального каскада ГКС: нарушенная экспрессия ГР, нарушенное связывание ГКС с их рецептором, нарушенная транслокация в ядро, нарушенная кофакторная активность [Vandewalle и др., 2018].

#### 3.2.2.2.2. Другие стресс-реализующие системы ЦНС



В ходе патогенеза расстройств депрессивного спектра, нарушается и работа стресс-реализующих систем мозга, не являющихся частью ГГН-оси. Известные нарушения начинаются с самых верхних уровней работы стресс-реализующих систем – с системы КРГ и его рецепторов в неокортексе и гиппокампе. В переднем мозге КРГ является важным стрессовым медиатором и нарушение его рецепции может быть компонентом патогенеза аномальной стресс-реактивности, наблюдающейся у пациентов с депрессией. У пациентов, страдающих от депрессии, но получивших эффективную терапию антидепрессантами, наблюдалась повышенная концентрация КРГ в спинномозговой жидкости [Banki и др., 1992]. Было показано, что у пациентов с депрессией, совершивших суицид, повышена экспрессия мРНК обоих рецепторов КРГ в отделах фронтальной коры [Merali и др., 2004]. На животных моделях был исследован ряд механизмов, лежащих в основе таких нарушений. Было показано, что мыши после временной оверэкспрессии КРГ в молодом возрасте, демонстрируют депрессивно-подобное поведение и повышенную экспрессию мРНК CRHR1 в коре и гиппокампе, но не в базолатеральной миндалине и гипоталамусе. Экспрессия возвращалась к уровню здоровых животных под действием антидепрессанта имипрамина. В то же время, эти мыши имели суточные колебания кортикостерона, неотличимые от наблюдающихся у здоровых животных [Kolber и др., 2010]. Ху и др. показали, что CRHR1 вовлечены в патогенез развития депрессивно-подобного поведения у крыс, подвергшихся действию синтетических ГКС в пренатальном периоде. У этих крыс меняется уровень метилирования промоторов CRHR1 в гиппокампе, а применение специфического ингибитора CRHR1 в раннем возрасте возвращает поведение крыс к параметрам контрольной группы [Ху и др., 2018].

Нейроны, экспрессирующие КРГ в миндалине, также вовлечены в реакцию на стресс. Так было показано, что активация нейронов центрального ядра миндалина, экспрессирующих КРГ, приводит к повышению уровня тревожности (вплоть до прекращения выглядываний в открытые рукава ПКЛ) и одновременному снижению воспроизведения гиппокамп-зависимых поведенческих актов (количества входов в целевой рукав Y-образного лабиринта) [Paretkar, Dimitrov, 2018]. В том же центральном ядре миндалина, системное введение кортикостерона вызывает повышение экспрессии мРНК КРГ, в отличие от паравентрикулярного ядра гипоталамуса. При этом, при введении крысам кортикостерона до обучения условнорефлекторному замиранию, наблюдается повышение эффективности обучения [Thompson и др., 2004]. В модели ангедонии, вызванной ранним стрессом, снижение экспрессии КРГ в центральном ядре

миндалины при помощи РНК-интерференции у отдельных крыс вызывало повышение потребления сахарозы [Bolton и др., 2018].

Однако прошедшие испытания антагонистов рецепторов КРГ для лечения тревожных и депрессивных состояний у взрослых пациентов оказались практически безуспешными [Spierling, Zorrilla, 2017]. Неэффективность данных препаратов можно объяснить гетерогенностью клеток, экспрессирующих рецепторы КРГ. Так, Refojo и др. показали, что нарушение экспрессии CRHR1 в глутаматергических нейронах оказывает противотревожное действие и усиливает синаптическую передачу в гиппокампе, в то время как нарушение экспрессии CRHR1 в дофаминергических нейронах повышает тревожность и снижает секрецию дофамина в коре мышей [Refojo и др., 2011]. В случае одинакового действия антагонистов на эти клетки, явные эффекты маловероятны.

### ***3.2.2.3. Нарушения работы стресс-реализующих систем – заключение***

Таким образом, можно заключить, что системы, отвечающие за реакцию организма на стресс, эволюционно ориентированы на защиту организма от развития депрессивно-подобных состояний. Однако по мере увеличения интенсивности и/или продолжительности стресса, или при развитии изменении режима функционирования организма, их активация начинает приводить к обратным эффектам. По-видимому, это можно объяснить неадекватной работой механизмов компенсации стресса, подобно тому, как на периферии долговременный прием ГКС или стресс провоцируют изъязвление слизистой желудка и снижение прочности соединительной ткани [Sapolsky, 2021; Yasir, Sonthalia, 2019].

### **3.2.3. Нейровоспаление**

Реакцией нейровоспаления называют специфическую форму воспаления, характерную для центральной нервной системы. Ее характеризует повышение экспрессии провоспалительных медиаторов (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО $\alpha$ ) и функциональная активация клеток микроглии. Данная реакция впервые была описана как возникающая в ответ на различные повреждения мозга, такие как травмы, токсические повреждения, гипоксию и инфекции. Однако позже было показано, что нейровоспалительная реакция может

запускаться и физиологическими внутренними мозговыми стимулами и является необходимой для нормального функционирования ЦНС.

Эффективность нестероидных противовоспалительных препаратов и других иммуносупрессоров при лечении депрессии, как изолированно, так и в сочетании с классическими антидепрессантами, является важным доказательством участия нейровоспаления в патогенезе депрессивных расстройств. Более того, противовоспалительная терапия позволяет лечить даже состояния, резистентные к классическим антидепрессантам [Colpo и др., 2018]. В то же время, существуют отдельные работы, выполненные на лабораторных животных, показывающие снижение эффективности антидепрессантов в тестах вынужденного плавания и подвешивания за хвост под действием противовоспалительных препаратов. Более того, показано повышение экспрессии провоспалительных цитокинов в мозге крыс под действием циталопрама, отменяемое ибупрофеном [Warner-Schmidt и др., 2011]. Стоит отметить, что в таких работах использовали крыс, у которых не было индуцировано депрессивно-подобное состояние. Можно предположить, что в действительности в этой работе пролит свет на механизм формирования побочных эффектов антидепрессантов и потенциальные методики коррекции этих побочных эффектов.

В последние 10 лет накоплено большое количество данных о регуляции реакции нейровоспаления. Достаточно твердо установлена важность баланса концентрации в тканях мозга провоспалительных (в частности, ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО $\alpha$ ) и противовоспалительных (в частности, ИЛ-10) медиаторов иммунной системы, вырабатываемых клетками иммунной и нервной систем. ИЛ-1 $\beta$  и ФНО $\alpha$  являются основными провоспалительными медиаторами в случае острой воспалительной реакции, при различных повреждениях мозга, вызываемых травмами, инвазией бактерий и вирусов, ишемизацией и эпилептической активностью. Их экспрессирует большинство клеток, представленных в мозге, в зависимости от условий микроокружения и функционального статуса клеток, но главными продуцентами в патологических условиях являются клетки микроглии [Estes, McAllister, 2014]. Принято считать, что вышедшая из под контроля нейровоспалительная реакция приводит к снижению нейрогенеза в гиппокампе и нарушению синаптической передачи и синаптической пластичности. В то же время, физиологическая выработка провоспалительных иммунных медиаторов, в частности, ИЛ-1 $\beta$  является необходимой для нейрональной пластичности и нормального функционирования памяти [Estes, McAllister, 2014]. По-видимому, в нормальных условиях нейровоспаление необходимо в том числе для адаптации организма к факторам

окружающей среды, но в случае неадекватной реакции, адаптивность пропадает [Raison, Capuron, Miller, 2006].

В настоящее время накоплен массив данных о том, что система нейровоспаления также участвует в патогенезе депрессивных состояний во взаимодействии со стресс-реализующими системами организма.

### **3.2.3.1. Классические провоспалительные цитокины**

ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО $\alpha$  принято называть основными провоспалительными цитокинами. Экспрессия и секреция данных белков увеличивается практически во всех случаях запуска воспалительной программы. Основными продуцентами данных белков являются клетки иммунной системы, но и неиммунные клетки тканей также способны к секреции провоспалительных цитокинов. В ЦНС основными продуцентами ИЛ-1 $\beta$  и ФНО $\alpha$  являются клетки микроглии. Парадоксально, но в интактном мозге взрослых мышей, значительная часть мРНК ИЛ-6 экспрессируется клетками эпендимы [Zeisel и др., 2018].

Цитокины, циркулирующие в системном кровотоке, оказывают действие на ткани ЦНС и на поведение. Согласно данным метаобзоров, в крови пациентов, страдающих от депрессии, повышена концентрация ИЛ-6, ФНО $\alpha$  и ряда других цитокинов по сравнению со здоровыми индивидуумами. Этот эффект обращается под действием антидепрессантов [Köhler и др., 2017]. Аналогичные события наблюдаются и в крови животных в экспериментальных моделях депрессии [Lu и др., 2017a]. В то же время, показано, что имипрамин в ходе коррекции депрессивно-подобного состояния не снижает продукцию цитокинов в селезенке мышей, подвергнутых социальному стрессу, но снижает концентрацию провоспалительных цитокинов в плазме крови и экспрессию мРНК провоспалительных цитокинов клетками микроглии [Ramirez, Sheridan, 2016]. При этом, циркулирующие в крови клетки иммунной системы, выделенные из больных, страдающих от фармакорезистентной депрессии, демонстрируют парадоксальную чувствительность к антидепрессантам – данные препараты повышают продукцию ИЛ-6 в клетках, провоспалительно активированных *in vitro*, в отличие от клеток, выделенных из здоровых испытуемых [Kubera и др., 2004]. Системное введение ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ФНО $\alpha$  вызывает депрессивно-подобное поведение и сходные с депрессией нарушения обмена нейромедиаторов у экспериментальных животных [Maes, Song, Yirmiya, 2012].

Показана возможность как активного, так и пассивного транспорта цитокинов из кровотока в ЦНС через ГЭБ. Известно, что TNF $\alpha$  может быть активно перенесен через ГЭБ, при этом, процесс активируется в случае острого воспаления и зависит от рецепторов TNF $\alpha$  [Osburg и др., 2002]. Для других провоспалительных цитокинов также показана возможность транспорта через ГЭБ по механизму, способному к насыщению, что позволяет предположить отличность процесса от свободной диффузии [Banks, 2015]. Эти факты позволяют предположить, что возможен контролируемый локальный транспорт цитокинов через ГЭБ от клеток в просвете кровеносных сосудов, являющихся локальными продуцентами цитокинов в микродоменах мозга.

Кроме переноса цитокинов через ГЭБ, возможен и синтез цитокинов клетками эндотелия сосудов, индуцированный внешними стимулами. Известно, что эндотелиоциты в мозге здоровых мышей способны синтезировать многие провоспалительные цитокины [Zeisel и др., 2018]. Культуры клеток эндотелия демонстрируют способность секретировать цитокины после введения ЛПС [Verma и др., 2006].

### 3.2.3.1.1. ИЛ-1 $\beta$

#### 3.2.3.1.1.1. *Общие сведения о функциях ИЛ-1 $\beta$*

ИЛ-1 $\beta$  является одним из первых цитокинов, вырабатываемых клетками в ответ на повреждение или в ответ на активацию паттерн-распознающих рецепторов, в частности, группы Toll-подобных рецепторов. Как было указано выше, клетки микроглии являются основными продуцентами данного белка в головном мозге. Минорная экспрессия данного белка показана для ряда популяций нейронов (главным образом, для нейронов неокортекса и гиппокампа), а так же для астроцитов и олигодендроцитов [Zeisel и др., 2018]. Экспрессия ИЛ-1 $\beta$  в ЦНС повышается не только в ответ на явное повреждение ткани (наблюдаемое при инфекциях, черепно-мозговых травмах и инсультах) [Zhang и др., 2018a], но и в ответ на существенно менее грубые воздействия, например, при психофизиологическом стрессе [Muhie и др., 2017]. Даже относительно мягкий стресс, испытываемый подопытными животными в ходе обучения в парадигмах условно-рефлекторного замирания, приводит к повышению экспрессии мРНК этого цитокина. При этом, экспрессия мРНК ИЛ-1 $\beta$  регулируется сложным образом – нокаут

рецептора IL-1R1, равно как и оверэкспрессия естественного ингибитора IL-Ra неизвестным образом предотвращают этот эффект [Goshen и др., 2007].

В геноме высших млекопитающих присутствуют 2 специфических рецептора данного цитокина IL-1R1 и IL-R2, из которых только IL-R1 способен вызывать дальнейшую передачу сигнала внутрь клетки. Кроме того, в рецепторный комплекс функционально входят IL-Ra–естественный антагонист рецептора и IL-1RAcP–коррецептор, критически важный для передачи сигнала [Maes, Song, Yirmiya, 2012]. Активация рецептора IL-1R1 приводит к активации каскада фосфорилирования, завершающегося активацией транскрипционного фактора NF-κB [Coleman, Crews, 2018]. Многие клетки ЦНС экспрессируют данный рецептор, в частности, ряд популяций нейронов, астроциты, олигодендроциты, эпендима и эндотелий сосудов. Однако его экспрессия микроглией находится на крайне низком уровне [Zeisel и др., 2018]. Вероятно, Iba1-позитивные клетки, непосредственно чувствительные к ИЛ-1β, являются макрофагами ткани мозга [Liu и др., 2019b]. Несмотря на это, микроглия отвечает активацией на повышение концентрации ИЛ-1β в паренхиме ЦНС, вероятно, ощущая последствия рецепции этого цитокина чувствительными к нему клетками. Полный набор механизмов, лежащий в основе данного явления, неизвестен, но показано, что нейропептид Y является одним из промежуточных сигнальных факторов, участвующих в реализации чувствительности микроглии к ИЛ-1β [Ferreira и др., 2010].

### **3.2.3.1.1.2. Роль ИЛ-1β в патогенезе депрессивных расстройств**

Показана роль однонуклеотидных полиморфизмов в гене ИЛ-1β у человека, которые на фоне детского стресса и неблагоприятного окружения, приводят к повышению риска расстройств депрессивного спектра [Kovacs и др., 2016]. Кроме того, показано, что лимфоциты из периферической крови пациентов, страдающих от большого депрессивного расстройства, демонстрируют повышенную экспрессию мРНК ИЛ-1β, IL-1R1 и IL-1Ra [Rizavi и др., 2016].

Выделение ИЛ-1β в ликвор из сосудистых сплетений с последующей рецепцией клетками эпендимы или абсорбцией в ткань мозга может быть еще одним путем проникновения этого цитокина в мозг. В работе Liu и др. было показано, что внутрижелудочковое введение ИЛ-1β приводит к повышению тревожности у мышей, критически зависимому от рецептора IL-1R1, экспрессируемого клетками эпендимы и

сосудистого сплетения (но не эндотелия обычных сосудов). Кроме того, введение ИЛ-1 $\beta$  в желудочки мозга мышей вызывает депрессивно-подобное поведение и развитие нейровоспаления в неокортексе [Tianzhu, Shihai, Juan, 2014]. В то же время, в работе Devorak и др. было продемонстрировано снижение представленности мРНК этого цитокина в сосудистых сплетениях пациентов, страдавших депрессией и совершивших суицид [Devorak и др., 2015]. Можно предположить, что в отличие от ЦНС экспериментальных животных, в ЦНС пациентов произошла компенсация повышенной экспрессии или истощение пула клеток-продуцентов этого цитокина.

В работе Liu и др. было изучено влияния индукции депрессии при помощи хронического умеренного стресса на экспрессию ИЛ-1 $\beta$  и IL-1Ra в гиппокампе самцов и самок мышей. Стресс привел к повышению экспрессии мРНК ИЛ-1 $\beta$  в гиппокампах самцов, но не самок, в то время как снижение экспрессии мРНК IL-1Ra было выявлено в гиппокампах самок, но не самцов [Liu и др., 2019a].

Ряд интересных данных был получен при изучении трансгенных мышей. Мыши, нокаутные по гену IL-1R1 демонстрируют устойчивость к индукции депрессивно-подобного поведения хроническим умеренным стрессом, у них не наблюдается нарушения нейрогенеза, повышения концентрации кортикостерона в плазме крови [Goshen и др., 2008]. Оверэкспрессия IL-1Ra [Goshen и др., 2008], равно как и его интрацеребровентрикулярное введение [Maier, Watkins, 1995] защищает подопытных животных от развития депрессивно-подобного поведения в моделях хронического умеренного стресса и неизбежного электрошока, соответственно. Аналогичные эффекты были получены при изучении влияния хронического умеренного стресса на мышей, нокаутных по гену NLRP3 [Su и др., 2017]. NLRP1 также критически важен для индукции депрессивно-подобного поведения хроническим стрессом [Song и др., 2020]. По-видимому, снижение экспрессии этого белка участвует в реализации антидепрессантных эффектов кетамина [Arıcıoğlu и др., 2020]. Эти данные позволяют заключить, что проведение сигнала от ИЛ-1 $\beta$  критически важно для индукции депрессивно-подобных состояний, в том числе и в моделях стресса, не связанных напрямую с индукцией соматического воспаления.

Парадоксальный результат был получен Wakabayashi и др.. В их работе был показан защитный эффект нокаута IL-1Ra в ходе развития депрессивно-подобного состояния под действием хронического умеренного стресса. Авторы предполагают, что этот эффект может быть объяснен адаптацией организма подопытных животных к

изначально повышенному уровню сигнализации через IL-1R1. Повышенная экспрессия адренорецепторов в мозге животных может быть одним из механизмов, лежащих в основе этого эффекта [Wakabayashi и др., 2011]. В более современных работах не было найдено исследований этого эффекта.

Показано, что рекрутирование микроглией макрофагов, продуцирующих ИЛ-1 $\beta$ , является важным компонентом патогенеза при развитии тревожности, вызванной стрессом социального поражения [McKim и др., 2018].

Система ИЛ-1 $\beta$  участвует в реализации эффектов классических антидепрессантов. Данные препараты снижали концентрацию ИЛ-1 $\beta$  и компонентов инфламмасом в гиппокампе и фронтальной коре крыс в модели индукции депрессии пренатальным стрессом [Trojan и др., 2019]. Аналогичное снижение концентрации этого цитокина в головном мозге и плазме крови наблюдали при купировании флуоксетином развития депрессивно-подобного поведения у мышей в модели хронического умеренного стресса. Более того, у мышей, подвергнутых стрессу и действию флуоксетина, концентрация ИЛ-1 $\beta$  в головном мозге и в плазме крови оказалась ниже, чем у мышей из контрольной группы [Lu и др., 2017b]. Во множестве работ, выполненных на культурах клеток микроглии, было показано, что антидепрессанты оказывают противовоспалительное действие на эти клетки [Kalkman, Feuerbach, 2016]. Кроме того, можно предположить, что антидепрессанты могут оказывать и не прямое действие, нивелируя те факторы, которые приводят к активации микроглии в ходе патогенеза депрессивно-тревожных расстройств.

Можно заключить, что в норме ИЛ-1 $\beta$  является важным регулятором работы ЦНС. Вероятно, он начинает играть патологическую роль в случае нарушения регуляции его синтеза и поступления в ЦНС.

### **3.2.3.1.2. ИЛ-6**

#### **3.2.3.1.2.1. Общие сведения об ИЛ-6**

Изначально ИЛ-6 был открыт как фактор, вызывающий окончательное созревание В-лимфоцитов в плазматические клетки, продуцирующие антитела. Позже было показано, что он участвует во множестве процессов в иммунной системе и является цитокином с плеойотропными свойствами. С одной стороны, он участвует в запуске программы



острого воспаления, с другой – вызывает созревание лимфоцитов и переход воспаления в хроническое состояние. На периферии данный цитокин, помимо регуляции работы иммунной системы, принимает участие в реакции на стресс, обеспечивая подготовку организма к реализации программы «бей-беги» [Qing и др., 2020].

Практически единственным продуцентом ИЛ-6 в интактном головном мозге здоровых мышей являются активированные клетки микроглии, при этом экспрессия мРНК цитокина находится на очень низком уровне. Кроме того показана кратно большая экспрессия мРНК ИЛ-6 в клетках эндимы спинного мозга [Zeisel и др., 2018]. Показана индуцированная воспалением экспрессия этого цитокина культурами перicyтов [Matsumoto и др., 2018]. Культуры клеток эндотелия сосудов демонстрируют асимметричную секрецию ИЛ-6 при стимуляции ЛПС – секреция в просвет сосуда достоверно ниже, чем в аблюменальную сторону, вероятно соответствующую паренхиме ЦНС [Verma и др., 2006]. Несмотря на данные о крайне низком уровне экспрессии мРНК гена ИЛ-6 в большинстве клеток головного мозга, в литературе представлены данные о физиологически значимых эффектах нокдауна этого гена. Так, нокдаун в зоне CA1 гиппокампа крыс при помощи вирусной трансдукции приводит к снижению устойчивости подопытных животных к индукции депрессивно-подобного поведения в модели хронического воспаления и развитию спонтанного нейровоспаления [Wang и др., 2019].

В рецепторный комплекс ИЛ-6 входят 2 рецептора. Первый – ИЛ-6Ра представлен в виде 2 изоформ – трансмембранной и растворимой. Трансмембранная форма имеет внутриклеточный домен, вероятно, регулирующий передачу сигнала от рецепторного комплекса внутрь клетки. Не имеющая такого домена растворимая изоформа может быть как синтезированной на матрице сплайс-варианта мРНК с альтернативным коротким С-концом, так и быть изначально экспонированной в виде полноразмерного белка на мембране клеток с последующим протеолизом внеклеточной части с образованием зрелого растворимого рецептора. Второй рецептор ИЛ-6–передатчик сигнала ИЛ-6 (gp130), является трансмембранным белком, основным передатчиком сигнала. Для передачи сигнала от ИЛ-6 необходимо его связывание с ИЛ-6Ра (растворимым или трансмембранным) и gp130. При этом последствия, наступающие при формировании комплексов трансмембранного ИЛ-6Ра и gp130 и растворимого ИЛ-6Ра и gp130, драматически различаются [Chalaris и др., 2011]. Непосредственные различия между классическим и транс-сигнальным каскадами не были найдены в литературе, но показано, что классический каскад ассоциирован с переходом воспаления в хроническую стадию, а транс-сигнальный – с острым воспалением, что может лежать в основе плейотропности

действия данного цитокина [Rose-John, 2012]. В ЦНС мышей наиболее выражена экспрессия ИЛ-6Ра в клетках иммунной системы, клетках сосудов, перицитах, клетках эндими, на невысоком уровне детектируется в различных популяциях нейронов. Gr130 относительно интенсивно экспрессируют моноаминергические и холинергические нейроны, его экспрессия на невысоком уровне характерна для большинства субпопуляций клеток ЦНС [Zeisel и др., 2018]. Таким образом, относительно немногие клетки ЦНС могут проводить сигнал от ИЛ-6 по классическому пути, но практически все клетки ЦНС могут участвовать в транс-сигнализации.

Молекулярные механизмы действия ИЛ-6 на мозг остаются малоизученными. Показано, что мыши, нокаутные по гену транскрипционного фактора STAT3, который является участником сигнального каскада ИЛ-6, устойчивы к развитию депрессивно-подобного поведения и снижению экспрессии серотонинового транспортера в гиппокампе [Kong и др., 2015]. Кроме того, показано, что ИЛ-6 непосредственно повышает провоспалительную активность микроглии [Prat, Biernacki, Antel, 2005]. Позже было показано, что нокаут STAT3 только в клетках микроглии приводит к аналогичным результатам, что ассоциировано с повышением экспрессии M-CSF глутаматергическими нейронами [Kwon и др., 2017]. Парадоксально, но при этом, концентрация фосфорилированного STAT3 (активного) снижается в гиппокампах крыс под действием хронического умеренного стресса, вызывавшего депрессивно-подобное поведение [Wang и др., 2019]. По-видимому, эффекты ИЛ-6 в ЦНС определяются тем, какие клетки и при помощи каких сочетаний рецепторов были подвергнуты действию этого цитокина.

### **3.2.3.1.2.2. Роль ИЛ-6 в патогенезе депрессивных расстройств**

Повышенную концентрацию ИЛ-6 наблюдают в периферическом кровотоке пациентов, страдающих от депрессии [Colpo и др., 2018], при этом у пациентов-женщин она выше, чем у пациентов-мужчин [Birug и др., 2017]. Известно нарушение метилирования промоторных областей гена ИЛ-6 у больных, страдающих от депрессии [Ryan и др., 2017]. Лимфоциты пациентов, страдающих от большого депрессивного расстройства, демонстрируют повышенный уровень экспрессии мРНК ИЛ-6 [Rizavi и др., 2016]. Известны мутации гена ИЛ-6Ра у людей, которые вызывают снижение функциональной активности этого рецептора и ассоциированы со сниженным риском развития депрессивных расстройств [Khandaker и др., 2018]. В отличие от крови, в

цереброспинальной жидкости пациентов страдающих от депрессии, концентрация этого цитокина снижена [Colpo и др., 2018]. В то же время, при индукции экспериментального воспаления у людей, концентрация ИЛ-6 в спинномозговой жидкости повышается. При этом у испытуемых выявляют депрессивно-подобное поведение [Engler и др., 2017]. Таким образом, данные о функции ИЛ-6 в мозге людей противоречивы. Вероятно, эффекты накопления этого цитокина в ЦНС определяются составом рецепторного комплекса, главным образом, доступностью рИЛ-6Ра. Так, показано, что у пациентов, страдающих от депрессии в сыворотке крови повышено содержание белка рИЛ-6Ра, этот эффект особенно выражен у пациентов с фармакорезистентной депрессией [Sowa-Kucma и др., 2018].

Накопление белка ИЛ-6 в мозге крыс наблюдали в модели выученной беспомощности [Chourbaji и др., 2006]. В работе Ramirez и др. было показано, что экспрессия мРНК ИЛ-6 возрастает в микроглии мышей, подвергнутых хроническому стрессу, а 24-дневный курс имипрамина снижает экспрессию до нормальных значений. В данной работе выделяли микроглию из цельных мозгов, поэтому, специфичность этой реакции относительно отделов мозга не была изучена. С другой стороны, выраженность изменений позволяет заключить, что в данной экспериментальной парадигме либо изменяется состояние микроглии во многих отделах мозга, либо, если изменения локальные, то они очень сильные [Ramirez и др., 2015]. Аналогично, флуоксетин предотвращал накопление белка ИЛ-6 в гиппокампах мышей, подвергнутых хроническому умеренному стрессу [Tianzhu, Shihai, Juan, 2014]. Аналогичное накопление белка ИЛ-6 наблюдали и в коре крыс в модели выученной беспомощности. В той же работе показан и обратный эффект – введение ИЛ-6 в желудочки головного мозга мышей, равно как и его оверэкспрессия, вызывали развитие депрессивно-подобного состояния и индуцировали нейровоспаление. Более того, интрацеребровентрикулярное введение ИЛ-6 снижало антидепрессантную эффективность флуоксетина [Sukoff Rizzo и др., 2012]. В то же время, интрацеребровентрикулярное введение растворимой формы gp130 (sgp130), предотвращало развитие вызванного интраперитонеальным введением ЛПС продромально-подобного синдрома у мышей [Burton, Sparkman, Johnson, 2011]. Исходя из этих данных, можно предположить, что транс-сигнализация критически важна для реализации провоспалительного действия ИЛ-6 на мозг.

Изучено влияние нокаута ИЛ-6 на стресс-реактивность животных. В работе Chourbaji и др. было показано, что мыши, нокаутные по гену этого цитокина, не отличались от мышей дикого типа в тесте «открытое поле», но демонстрировали

устойчивость к развитию депрессивно-подобного поведения в модели выученной беспомощности [Chourbaji и др., 2006]. В работе Niraula и др. было показано, что нокаут гена ИЛ-6 приводил к снижению тревожности у мышей в модели социального стресса. Нокаут не повлиял на рекрутирование моноцитов в прелимбическую кору, а также стресс-зависимые изменения морфологии и количества микроглиоцитов. Несмотря на отсутствие влияния на морфологическую картину, в обогащенной фракции CD11b<sup>+</sup>-клеток наблюдали зависимое от ИЛ-6 и стресса повышение экспрессии мРНК ИЛ-1 $\beta$ . Транскрипционный профиль моноцитов, выделенных из мозга нокаутных животных, также достоверно отличался от животных дикого типа, были выявлены и взаимодействия эффектов стресса и нокаута [Niraula и др., 2019].

В то же время, у экспериментальных животных было показано участие данного цитокина в защите мозга от стресса. Так, экспрессия мРНК ИЛ-6 снижалась в поле СА1 гиппокампа крыс в моделях индукции депрессии как хроническим умеренным стрессом, так и хроническим воспалением. Экспрессия возвращалась к уровню контрольных животных в ходе успешной коррекции депрессивно-подобных состояний флуоксетином. Оверэкспрессия ИЛ-6 в гиппокампе при помощи аденовирусной трансдукции защищала крыс от развития депрессивно-подобного поведения. Нокаут этого гена при помощи трансдукции малых РНК приводил к усилению апоптоза и развитию нейровоспаления в гиппокампе с последующим развитием депрессивно-подобного поведения [Wang и др., 2019]. Оверэкспрессия гена ИЛ-6 в GFAP<sup>+</sup>-клетках мышей приводила к снижению выраженности депрессивно-подобного поведения в тесте вынужденного плавания, но не в тесте подвешивания за хвост [Roberts и др., 2019]. Интерпретация данных, полученных на данной линии мышей может быть затруднена тем, что еще при создании этой линии животных был выявлен ряд достаточно грубых патологий ЦНС [Campbell и др., 1993], что позволяет предположить, что влияние данной генетической манипуляции на поведение животных в тестах является артефактом, а не следствием измененной стресс-реактивности.

У мышей, подвергнутых стрессу иммобилизации, вызывающему депрессивно-подобное поведение, повышается концентрация ИЛ-6 в крови, неокортексе и гиппокампе [Voorhees и др., 2013]. Экспрессия этого цитокина в микроглии мышей, подвергнутых поведенческому стрессу, снижается под действием имипрамина, параллельно с нормализацией поведения [Ramirez и др., 2015]. В работе Liu и др. было изучено влияние индукции депрессии при помощи хронического умеренного стресса на экспрессию ИЛ-6 в

гиппокампе самцов и самок мышей. Стресс привел к повышению экспрессии мРНК ИЛ-6 в гиппокампах самок и самцов [Liu и др., 2019a].

В ряде работ были исследованы эффекты введения используемых в клинике препаратов на основе антител против рецепторов ИЛ-6 на течение депрессивных состояний. Использование Тоцилизумаба в качестве иммуносупрессанта в трансплантологии выявило его антидепрессантное действие [Chahal и др., 2018]. Испытания на пациентах, страдающих от депрессии на фоне артрита, показали, что Тоцилизумаб снижает выраженность депрессивной симптоматики [Tiosano и др., 2020]. Парадоксальные результаты были получены группой Zhang и др.. Они подтвердили, что внутривенное введение антител против ИЛ-6Ра защищает мышей от индукции депрессивно-подобного состояния социальным стрессом. Однако интрацеребровентрикулярное введение данных антител не защищало подопытных животных. Авторы предполагают, что показанные ими эффекты можно объяснить различной ролью ИЛ-6Ра в ЦНС и на периферии. Стоит отметить, что в данной работе поведенческие эксперименты были проведены в течение 4 дней после введения антител через интрацеребровентрикулярную канюлю. Повреждение ткани неокортекса и оболочек головного мозга в ходе операции могло спровоцировать развитие депрессивно-подобного поведения, замаскировав эффекты введения антител [Zhang и др., 2017].

Таким образом, вероятно, базальная продукция ИЛ-6 в мозге и его транспорт через ГЭБ с периферии важны для нормального функционирования ЦНС. Доступность рИЛ-6Ра определяет активные пути рецепции этого цитокина, что, вероятно, и определяет его продепрессивное или противодепрессивное действие.

### **3.2.3.1.3. ФНО $\alpha$**

#### **3.2.3.1.3.1. Общие сведения о ФНО $\alpha$**

Изначально ФНО $\alpha$  был открыт как вещество, вызывающее гибель клеток в культуре. В настоящее время показано, что он обладает плеiotропными свойствами – с одной стороны, он вызывает программируемую гибель клеток, с другой - является индуктором пролиферации и дифференцировки клеток иммунной системы.

Основным источником ФНО $\alpha$  в ЦНС здоровых мышей являются клетки иммунной системы – микроглия и макрофаги. Кроме того, показана минорная экспрессия в ряде популяций нейронов и астроглиальных клеток [Zeisel и др., 2018]. Несмотря на крайне низкий уровень экспрессии мРНК данного цитокина неиммунными клетками мозга, его пул в этих клетках играет роль в физиологии животных. В частности, нокаут в GFAP<sup>+</sup>-клетках приводит к снижению чувствительности подопытных животных к небольшим дозам антидепрессантов [Duseja и др., 2015].

Клетки синтезируют ФНО $\alpha$  в виде трансмембранного белка, экспонируемого во внеклеточную среду в виде гомотримера. Далее, внеклеточная часть полипептида подвергается отщеплению путем специфического протеолиза [Ma, Zhang, Valoch, 2016].

Известно 2 рецептора ФНО $\alpha$  – TNFR1 и TNFR2. Они представляют из себя белки, относящиеся к семейству рецепторов, сопряженных с «доменами смерти». Трансмембранная форма ФНО $\alpha$  может активировать оба этих рецептора, в то время как растворимая – только TNFR1 [Grell и др., 1995]. В ЦНС наиболее выражена экспрессия этих рецепторов клетками иммунной системы, но глия и клетки сосудов также достаточно активно экспрессируют TNFR1, а минорная экспрессия обоих рецепторов свойственна большинству популяций клеток мозга [Zeisel и др., 2018]. Принято считать, что активация этих рецепторов, как правило, приводит к активации различных сигнальных каскадов. Активация TNFR1 приводит к активации TRADD и в дальнейшем, в зависимости от локального окружения приводит к индукции апоптоза или активации белков TRAF1 и TRAF2, что, как полагают, приводит к активации MAP-киназ и транскрипционного фактора NF $\kappa$ B, что вызывает деление и дифференцировку клеток-мишеней. TNFR2 не способен связываться с TRADD, но также способен связываться с TRAF1 и TRAF2, что, вероятно, определяет его способность вызывать пролиферацию и дифференцировку и неспособность индуцировать апоптоз клеток-мишеней [Wajant, Siegmund, 2019].

Оба рецептора, TNFR1 и TNFR2, участвуют в транспорте ФНО $\alpha$  из кровотока в ткань ЦНС через ГЭБ. Непосредственные механизмы, лежащие в основе этого эффекта, неясны. Показано, что клетки млекопитающих могут интернализировать комплекс из цитокина с любым из рецепторов, после чего выбрасывать наружу цитокин [Pan и др., 2007a]. Нокаут каждого из этих рецепторов приводит к снижению транспорта, а двойной нокаут приводит к его прекращению [Pan, Kastin, 2002]. Можно предположить, что перенос ФНО $\alpha$  через ГЭБ происходит путем транцитоза после связывания с рецепторами [Pan и др., 2007b].

Роль ФНО $\alpha$  в нормальном функционировании ЦНС остается малоизученной.

Исследования, выполненные на нокаутных мышах, показали, что у мышей, нокаутных по гену *Tnf* наблюдали менее выраженное депрессивно- и тревожно- подобное поведение. Кроме того, у этих мышей была повышена концентрация серотонина и его предшественников в гиппокампе, таламусе, продолговатом мозге [Yamada и др., 2000]. Нокаут ФНО $\alpha$  приводил к изменению морфогенеза отделов гиппокампа у новорожденных мышей, снижению тревожности, ускорению обучения и увеличению концентрации NGF в гиппокампе у взрослых мышей [Golan и др., 2004]. Вместе с тем, поскольку нокаут генов был неспецифичен относительно субпопуляций клеток, нельзя сделать вывод, какие клетки являются непосредственными мишенями ФНО $\alpha$  в описанных случаях.

### 3.2.3.1.3.2. Роль ФНО $\alpha$ в патогенезе депрессивных состояний

Показана ассоциированность ряда однонуклеотидных полиморфизмов гена *Tnf* у пациентов с развитием депрессии [Mihailova и др., 2016]. Было выявлено снижение экспрессии мРНК TNFR2 в поле Бродмана 46 в коре головного мозга пациентов, страдавших от депрессии и совершивших суицид [Dean и др., 2013]. Лимфоциты пациентов, страдающих от большого депрессивного расстройства, демонстрируют повышенный уровень экспрессии мРНК ФНО $\alpha$ , TNFR1и TNFR2 [Rizavi и др., 2016]. Успешное купирование депрессивных состояний при помощи антидепрессантов приводит к снижению концентрации ФНО $\alpha$  в сыворотке крови пациентов [Himmerich и др., 2006; Ma, Zhang, Baloch, 2016]. Помимо повышенной концентрации ФНО $\alpha$ , наблюдаемой при депрессии, в сыворотке крови пациентов наблюдают также повышенную концентрацию растворимых изоформ обоих рецепторов этого цитокина [Lopes и др., 2020].

В последние годы появились работы, описывающие эффекты ингибиторов цитокиновой сигнализации на течение депрессии. Так, Mehta и др. показали, что длительное внутривенное введение инфликсимаба (моноклональных антител к ФНО $\alpha$ ) приводит к улучшению состояния у части пациентов с депрессивными расстройствами даже без приема антидепрессантов. Наблюдали ожидаемые изменения транскрипционного профиля лимфоцитов. При этом, у пациентов были исключены воспалительные, инфекционные, эндокринные и неврологические заболевания, т.е., депрессия не являлась прямым следствием соматической патологии [Mehta и др., 2013]. Аналогичные данные были получены и на мышинной модели депрессии, вызванной хроническим умеренным

стрессом [Karson и др., 2013]. Можно предположить, что, как и в вышеописанном случае с изменением метилирования промоторов ГР и МР в лейкоцитах пациентов, в случае анти-ФНО $\alpha$  терапии, мишенями выступили немозговые клетки, потому как маловероятно проникновение значимого количества антител в ЦНС пациентов с исключенными тяжелыми патологиями (и, следовательно, целостным ГЭБ). В исследовании Raison и др. не было показано эффективного влияния кратковременной (3 инъекции) терапии на течение резистентной депрессии, но было показано снижение концентрации С-реактивного белка, что дает основания предполагать высокую чувствительность клеток ЦНС и ГЭБ к концентрации свободного ФНО $\alpha$  в крови, превышающую таковую у клеток периферической иммунной системы, секретирующих С-реактивный белок [Raison и др., 2013].

Множественные исследования на экспериментальных животных показали, что ФНО $\alpha$  снижает концентрацию моноаминов в структурах мозга, участвующих в патогенезе расстройств депрессивного спектра. Этот эффект реализуется как за счет усиления обратного захвата моноаминов, так и за счет нарушения их синтеза [Ma, Zhang, Valoch, 2016]. Мыши, нокаутные по генам, кодирующим ФНО $\alpha$  и TNFR2, демонстрируют сниженную тревожность в приподнятом крестообразном лабиринте, и не демонстрируют депрессивно-подобного поведения в тесте вынужденного плавания [Samara и др., 2013]. Нокаут гена TNFR1 предотвращал развитие депрессивно-подобного поведения, нарушения экспрессии белков, ассоциированных с синаптической пластичностью и нейрогенеза в гиппокампе у мышей под действием неврогенной боли, вызванной защемлением бедренного нерва. В этой же работе было показано снижение экспрессии TNFR2 в гиппокампе у таких мышей, предотвращаемое нокаутом гена TNFR1. Нокаут не повлиял на повышение экспрессии ФНО $\alpha$  под действием неврогенной боли [Dellarole и др., 2014]. Эти данные позволяют предположить, что трофическая поддержка через TNFR2 важна для нормального функционирования гиппокампа и она подавляется при активации TNFR1.

В работе Klaus и др. был проведен анализ влияния на поведение системного повышения концентрации ФНО $\alpha$  в крови и оверэкспрессии его мРНК в отделах мозга мышей при помощи трансдукции аденоассоциированным вирусным вектором. Авторами было показано, что механизмы обратной связи снижают продукцию данного цитокина в ответ на введение экзогенного, поэтому, обеспечить долговременное повышение его системной концентрации невозможно. Введение ФНО $\alpha$  при помощи ежедневных интраперитонеальных инъекций вызывало снижение потребления сахараина,



восстанавливается через 48 часов после последней инъекции. Аналогичные эффекты после установки подкожной микропомпы быстро исчезали, вероятно, организм подопытных животных адаптировался и снижал реакцию. Оверэкспрессия этого белка в мозге при помощи лентивирусной трансдукции не вызывала снижения потребления сахараина, но усиливала формирование реакции условно-рефлекторного замирания. Аналогичные эффекты вызывало введение вектора в ткань медиального гиппокампа. Введение вектора в миндалину приводило к нестойкому снижению потребления сахарозы и усилению формирования реакции условно-рефлекторного замирания. Кроме того, авторы отметили развитие микроглиоза в миндалине после введения вектора [Klaus и др., 2016]. Разовое введение ФНО $\alpha$  приводило к еще более кратковременному нарушению поведения – уже через 4 часа после инъекции потребление сахарозы возвращалось к контрольному уровню, а изменения поведения в тестах вынужденного плавания и подвешивания за хвост не были выявлены [Biesmans и др., 2015]. Отсутствие достоверных различий в тестах вынужденного плавания и подвешивания за хвост можно объяснить тем, что ФНО $\alpha$  потенциально мог снижать время иммобильности в данных тестах непосредственно после введения и на момент тестирования эффект уже исчез [Warner-Schmidt и др., 2011]. Таким образом, выраженность эффектов центрального и периферического повышения концентрации ФНО $\alpha$  различаются, что может указывать на то, что часть звеньев патологической роли этого цитокина при депрессии находятся вне ЦНС.

В работе Lopes и др. было обнаружено повышение концентрации ФНО $\alpha$  в гиппокампе мышей, развивающееся синхронно с депрессивно-подобным поведением в ходе индукции экспериментального аутоиммунного артрита. Интрацеребровентрикулярное введение антител к ФНО $\alpha$  предотвращало развитие депрессивно-подобного поведения и снижало ощущаемую животным боль [Lopes и др., 2020]. Аналогичные результаты были получены в работе Kaster и др. в модели индукции депрессивно-подобного поведения интрацеребровентрикулярного введения ФНО $\alpha$  [Kaster и др., 2012]. В работе Cheng и др. было показано долговременное повышение концентрации белка ФНО $\alpha$  в гиппокампе животных, у которых сформировалось хроническое депрессивно-подобное состояние в модели выученной беспомощности [Cheng и др., 2018].

В работе Liu и др. было изучено влияния индукции депрессии при помощи хронического умеренного стресса на экспрессию ФНО $\alpha$  в гиппокампе самцов и самок мышей. Стресс привел к повышению экспрессии мРНК ФНО $\alpha$  в гиппокампе самок через

сутки после прекращения стрессирования, но не повлиял на экспрессию у самцов [Liu и др., 2019a].

Рекрутирование клеток иммунной системы в ЦНС является важной частью патогенеза депрессивных расстройств. В работе D'Mello и др. было показано, что рецептор TNFR1 критически важен для рекрутирования микроглией макрофагов в ЦНС в ходе развития нейровоспаления, вызванного системным периферическим воспалением [D'Mello, Le, Swain, 2009].

Таким образом, ФНО $\alpha$  является важным регулятором функций ЦНС. Непосредственно в тканях мозга он, действуя через рецептор TNFR2, обеспечивает нормальный нейрогенез. Поскольку данный рецептор активируется только трансмембранной изоформой ФНО $\alpha$ , можно предположить, что индукция нейрогенеза происходит контактным путем от соседней клетки. Рецептор TNFR1 необходим для нормальной синаптической пластичности и в то же время, вероятно, для элиминации избыточных новообразованных клеток в зубчатой фасции гиппокампа. Выход сигнализации через эти рецепторы из-под контроля, например, при превышении концентрации растворимого ФНО $\alpha$  в тканях мозга, приводит к развитию депрессивно-подобного поведения. Непосредственные молекулярные механизмы, лежащие в основе этого явления неясны, но известно, что опосредованные ФНО $\alpha$  нарушения синаптической пластичности и угнетение нейрогенеза ассоциированы с развитием депрессивно-подобного поведения.

### **3.2.3.2. Противовоспалительные цитокины**

#### **3.2.3.2.1. ИЛ-10**

Наличие мРНК IL-10 в тканях ЦНС является предметом для дискуссии [Zeisel и др., 2018], но его белок представлен в мозге и является мощным противовоспалительным медиатором [Pisanu и др., 2014]. Большинство работ, показывающих его экспрессию в ткани мозга, сделаны на мышах [Laumet и др., 2018]. В то же время, ряд популяций клеток иммунной системы (главным образом, Treg, Th2, M2-макрофаги) секретируют белок ИЛ-10. Такие клетки могут населять оболочки головного мозга и секретировать этот цитокин в локальный кровоток, или вызывать его прямую диффузию в паренхиму мозга из капилляров [Laumet и др., 2018; Wu, Zhang, Nakanishi, 2005]. В норме ГЭБ здоровых

мышей является крайне слабо проницаемым для белка ИЛ-10, вероятно, по механизму пассивной диффузии [Kastin, Akerstrom, Pan, 2003]. Данные о проницаемости ГЭБ крыс для ИЛ-10 не были найдены. Можно предположить, что в ЦНС мышей присутствуют клетки (вероятно, клетки иммунной системы), способные секретировать данный цитокин. Даже у тех видов, ЦНС которых не содержит продуцентов ИЛ-10, в ряде случаев, вероятно возможна локальная возможность увеличения проницаемости ГЭБ для поступления ИЛ-10 в ткань мозга для регуляции иммунных процессов, происходящих в ней.

Рецепторный комплекс ИЛ-10 состоит из гетеротетрамера двух пар рецепторов – IL10R1 и IL10R2, из которых только IL-10R1 специфичен к ИЛ-10, а IL10R2 является низкоаффинным кофактором ряда цитокинов [Walter, 2014]. Невысокий уровень экспрессии мРНК этих рецепторов характерен для большинства субпопуляций клеток мозга [Zeisel и др., 2018].

ИЛ-10 является важным противовоспалительным регулятором. Активация его рецепторов приводит к снижению выработки провоспалительных медиаторов и снижению активации микроглии. В то же время, многие провоспалительные стимулы вызывают повышение его экспрессии и накопление в тканях ЦНС [Lobo-Silva и др., 2016].

У людей показана ассоциированность ряда однонуклеотидных полиморфизмов в гене ИЛ-10 с развитием депрессии [Mihailova и др., 2016]. Увеличение экспрессии мРНК ИЛ-10 наблюдали в коре пациентов, страдавших от депрессии, но не получавших терапии антидепрессантами, *post mortem* [Shelton и др., 2011].

В работе Liu и др. было изучено влияния индукции депрессии при помощи хронического умеренного стресса на экспрессию ИЛ-10 в гиппокампе самцов и самок мышей. Стресс привел к снижению экспрессии мРНК ИЛ-10 в гиппокампе самок, но не повлиял на экспрессию у самцов [Liu и др., 2019a]. В работе Mesquita и др. были выявлено зависимое от пола мышей влияние такого нокаута на поведение. Самки нокаутных мышей демонстрировали депрессивно-подобное и тревожно-подобное поведение по сравнению с самками дикого типа. Самцы демонстрировали только тревожно-подобное поведение. Оверэкспрессия ИЛ-10 и его интраперитонеальное введение снижали выраженность тревожно-подобного поведения у самцов и не влияли на поведение самок. В работе не было выявлено влияния нокаута гена ИЛ-10 на долговременную память и содержание других цитокинов в мозге мышей [Mesquita и др., 2008].

В модели депрессии, вызванной хроническим стрессом иммобилизации, у мышей наблюдали снижение концентрации ИЛ-10 в крови на 21 день. Подкожное введение рекомбинантного белка этого цитокина приводило к нормализации поведения животных [Voorhees и др., 2013]. Сходные результаты были получены Worthen и др. на мышах в модели выученной беспомощности. Было показано, что в ответ на стресс в гиппокампе мышей увеличивается количество IL-10<sup>+</sup>CD45<sup>int</sup>-клеток, а у мышей со сформированной выученной беспомощностью это количество снижается, но все равно остается выше, чем у контрольных животных. Интраназальное введение ИЛ-10 предотвращало индукцию выученной беспомощности [Worthen и др., 2020]. В работе Laumet и др. была изучена роль ИЛ-10 и Т-лимфоцитов, продуцирующих этот интерлейкин в выздоровлении мышей после однократной индукции периферического воспаления при помощи ЛПС. Периферическое воспаление вызывало повышение экспрессии мРНК ИЛ-10 в префронтальной коре таких мышей. Интраназальное введение антител против ИЛ-10 замедляло угасание депрессивно-подобного поведения, индуцированного периферическим воспалением. Парадоксально, но введение таких антител снижало экспрессию мРНК ИЛ-10 в префронтальной коре мышей, подвергнутых воспалительному стрессу [Laumet и др., 2018].

Таким образом, ИЛ-10 является важным регулятором функций ЦНС в норме и при патологических условиях. Он обеспечивает контроль нейровоспалительной реакции в норме и ее угасание при восстановлении животного после неблагоприятных условий. В то же время, известна и патологическая роль ИЛ-10. В работе Ну и др. было показано, что сигнализация при помощи ИЛ-10 критически важна для хронической иммуносупрессии, вызываемой хроническим стрессом иммобилизации [Ну и др., 2014]. Можно предположить, что такое общее угнетение функционирования иммунной системы на периферии нарушит регуляцию функций ЦНС при помощи иммунной системы.

### **3.2.3.2.2. Фракталкин (CX3CL1) и его рецептор CX3CR1**

#### **3.2.3.2.2.1. Общие сведения о фракталкине и его рецепторе**

Особая роль принадлежит системе фракталкина (CX3CL1). Этот цитокин синтезируется главным образом в центральной нервной системе. Нейроны являются основными продуцентами фракталкина, но также показан минорный синтез фракталкина некоторыми субпопуляциями нейробластов и клетками эпендимы [Zeisel и др., 2018].

Фракталкин экспонируется на поверхности клеток в виде функционально активного трансмембранного белка, которых может подвергаться протеолитическому расщеплению с образованием растворимой формы, вероятно, без изменения способности активировать его рецептор [Sheridan, Murphy, 2013]. В гиппокампе крыс по мере старения снижается концентрация растворимой формы фракталкина, но при этом не изменяется представленность его мРНК. Это позволяет предположить, что концентрация трансмембранной формы может увеличиваться с возрастом [Bachstetter и др., 2011].

Рецептор фракталкина (CX3CR1) относится к семейству рецепторов хемокинов и представляет из себя рецептор, сопряженный с G-белками. Данные рецепторы являются специфическими маркерами клеток микроглии и практически не экспрессируются другими клетками в ЦНС [Zeisel и др., 2018]. Фракталкин регулирует функциональное созревание макрофагов и их превращение в функционально активную микроглию в эмбриональном и раннем постнатальном периоде гиппокампа и барелл-кортекса [Hoshiko и др., 2012; Pagani и др., 2015; Paolicelli и др., 2011; Prinz, Priller, 2014]. В то же время, у мышей, нокаутных по рецептору фракталкина, наблюдается умеренное повышение количества клеток микроглии в субвентрикулярной зоне в раннем постнатальном онтогенезе [Ueno и др., 2013]. Во взрослом мозге, известен более широкий спектр функций фракталкина. Показано, что у животных, нокаутных по рецептору фракталкина, повышена провоспалительная реактивность тканей ЦНС и микроглия находится в активированном состоянии [Cardona и др., 2006]. Предполагают, что в зрелом мозге фракталкин является противовоспалительным медиатором, обеспечивающим отрицательную обратную связь от нейронов к микроглии [Rogers и др., 2011]. В то же время, известно, что рецептор фракталкина регулирует миграцию моноцитов через ГЭБ и их активацию в ходе развития нейровоспалительной реакции в ряде моделей патологий, и подавление этого процесса снижает интенсивность нейровоспаления [Hellwig и др., 2016; Lee и др., 2010; Ridderstad Wollberg и др., 2014; Tang и др., 2014; Tremblay, Sierra, 2014]. Введение растворимого фракталкина в гиппокамп вызывает активацию микроглии [Hughes и др., 2002]. Таким образом, наблюдается двойственный характер регуляции нейровоспалительной реакции фракталкином. Можно предположить, что растворимая форма фракталкина может выступать в качестве локального провоспалительного агента, привлекающего клетки иммунной системы в очаг воспаления через ГЭБ, в то время как трансмембранная форма может выступать в качестве негативного иммунного регулятора.

Помимо влияния на нейровоспалительную реакцию, фракталкин регулирует нейрофизиологические свойства клеток ЦНС. Передача сигнала через CX3CR1

необходима для нормальных нейрогенеза [Rimmerman, Schottlender, Yirmiya, 2015] и синаптической пластичности [Werneburg и др., 2017; Wu и др., 2015].

Поскольку CX3CR1 экспрессируется практически исключительно клетками иммунной системы, можно предположить, что влияние фракталкина на синаптическую пластичность и нейрогенез являются непрямым и опосредовано микроглией и/или макрофагами головного мозга.

### **3.2.3.2.2.2. Роль системы фракталкина в патогенезе депрессивных расстройств**

У людей повышение концентрации фракталкина в плазме крови может служить биомаркером развития депрессивных состояний [Oliveira Miranda и др., 2017].

Trojan и др. изучали влияние применения антидепрессантов на взрослых крыс в модели индукции депрессивно-подобного состояния при помощи пренатального стресса. Экспрессия мРНК фракталкина снизилась во фронтальной коре, а мРНК *Cx3cr1* снизилась как в гиппокампе, так и во фронтальной коре под действием пренатального стресса. Представленность белков фракталкина и CX3CR1 под действием пренатального стресса снизилась в обеих структурах. Антидепрессантное действие тианептина сопровождалось возвращением экспрессии мРНК обоих генов к нормальным значениям. Флуоксетин также вернул к нормальному уровню экспрессию мРНК фракталкина в неокортексе. Аналогичные эффекты были выявлены и для концентраций белков. Венлафаксин не оказал достоверного влияния, равно как и специфического антидепрессантного действия в данной модели [Trojan и др., 2017].

Значительная часть экспериментальных работ выполнена на трансгенных мышах, нокаутных по гену *Cx3cr1*. Транскриптомное исследование показало, что профиль экспрессии микроглии таких мышей претерпевает изменения, в частности, снижается экспрессия мРНК генов главного комплекса гистосовместимости и в разные стороны меняется экспрессия мРНК цитокинов. Однако эти эффекты невелики по амплитуде изменений. Транскриптом микроглии таких мышей в молодом (2 месяца) возрасте обнаруживает сходство с транскриптомом взрослых мышей дикого типа. Транскриптомная реакция микроглии на интраперитонеальное введение ЛПС у нокаутных мышей и мышей дикого типа отличается незначительно. Однако на уровне морфологии, микроглия нокаутных молодых мышей демонстрирует большую активацию по сравнению с диким типом. Этот эффект не наблюдают у взрослых мышей [Gyoneva и др., 2019]. Такие мыши демонстрируют большую чувствительность к индукции депрессивно-

подобного поведения, вызванного введением бактериальных липополисахаридов [Wynne и др., 2010].

В модели депрессии, вызванной хроническим умеренным стрессом, были получены противоположные результаты. Мыши, нокаутные по гену *Cx3cr1*, показывали большую устойчивость к неблагоприятной окружающей среде – у них в меньшей степени развивалось депрессивно-подобное поведение, активация микроглии, накопление провоспалительных цитокинов в плазме крови и в гиппокампе [Liu и др., 2020]. У таких мышей в норме тела микроглиоцитов крупнее, чем у мышей дикого типа. При этом хронический умеренный стресс вызывает одинаковое уменьшение количества микроглиоцитов и одинаковые изменения их морфологии в зубчатой фации гиппокампа мышей дикого типа и нокаутных мышей. [Rimmerman и др., 2017]. В работе Milior и др. не было показано изменения количества клеток микроглии в CA1 под действием хронического умеренного стресса. При этом было показано, что нокаут гена CX3CR1 предотвращает не только активацию микроглии и развитие депрессивно-подобного поведения, но и изменения электрофизиологических свойств нейронов в зоне CA1 гиппокампа под действием хронического умеренного стресса. В то же время, нокаут не предотвращал повышения концентрации кортикостерона в плазме стрессированных мышей [Milior и др., 2016].

Нарушение рекрутирования моноцитов из системного кровотока в ЦНС может быть одним из механизмов, лежащих в основе изменения чувствительности животных с нокаутом гена *Cx3cr1* к воздействию стресса. Так, Wohleb и др. показали, что под действием социального стресса у мышей по мере развития тревожно-подобного поведения наблюдается проникновение периферических макрофагов в периваскулярное пространство и паренхиму ЦНС. Эти эффекты ассоциированы с повышением экспрессии мРНК провоспалительных цитокинов. Макрофаги из животных-доноров, подвергнутых социальному стрессу и нокаутных по генам *Cx3cr1* и *Ccr2* демонстрировали меньшую способность проникать в ЦНС животных-реципиентов дикого типа, чем из животных дикого типа. Это соотносится с тем, что макрофаги из нокаутных животных менее эффективно вызывали тревожно-подобное поведение. Однако наличие макрофагов в кровотоке и экспрессия провоспалительных факторов в отделах мозга не зависели от нокаута генов этих хемокинов [Wohleb и др., 2013]. В то же время, Lehmann и др. показали, что в моноциты из мышей, гетерозиготных по нокауту *Cx3cr1* и *Ccr2* практически не проникают в ЦНС в результате острого и хронического стресса, оставаясь в оболочках и в периваскулярном пространстве [Lehmann и др., 2016]. Исследования

транскриптомов микроглии выявили ассоциированность повышенной экспрессии генов, продукты которых участвуют в обеспечении проникновения моноцитов через ГЭБ, с повышенной чувствительностью к стрессу у мышей [Lehmann и др., 2018].

Ślusarczyk и др. исследовали влияние интрацеребровентрикулярной инъекции фракталкина на поведение и процессы нейровоспаления в коре и гиппокампе крыс, подвергнутых пренатальному стрессу. Ими было показано, что фракталкин предотвращает развитие тревожно-подобного поведения, повышения экспрессии мРНК и накопления белка ИЛ-18 и ФНО $\alpha$  в коре и гиппокампе, а также сборку инфламмосом в коре животных [Ślusarczyk и др., 2016].

Данные о функции фракталкина и его рецептора позволяют предположить, что система фракталкина и его рецептора участвует в активации микроглии в гиппокампе и в развитии нейровоспаления в ответ на поведенческий стресс, что неизвестным способом влияет на формирование депрессивно-подобного поведения. Можно предположить, что в основе этого лежит изменение интенсивности нейрогенеза и синаптической пластичности в гиппокампе. Двойственность функций фракталкина проявляется и в моделях тревожно-депрессивных расстройств. Нокаут гена *Cx3cr1*, равно как и введение растворимой изоформы фракталкина облегчает состояние подопытных животных.

В то же время, нокаут гена рецептора фракталкина не влияет на работу ГГН-оси в модели хронического умеренного стресса. Этот факт позволяет предположить не прямое действие ГГН-оси и кортикостероидов из системного кровотока на поведение животных. Можно предположить, эти эффекты опосредуются микроглией и/или периферическими иммунными клетками.

### **3.2.3.3. *Микроглия и другие моноциты***

#### **3.2.3.3.1. Общие сведения о функциях моноцитов в ЦНС**

В настоящее время накоплены данные о регуляции функций мозга клетками иммунной системы как в норме, так и в патологических условиях, однако, механизм этой регуляции остается ограниченно ясным. Известен спектр клеток, регулирующих нейровоспаление, известен спектр сигнальных молекул, важных для этой регуляции, но не до конца понятно, как эти молекулы попадают к своим мишеням – нейронам и клеткам микроглии в ЦНС.



Микроглиоциты являются резидентными специфичными для ЦНС клетками миелоидного ряда. Они мигрируют в ЦНС на ранних стадиях онтогенеза, начиная с пренатального периода развития организма. Во взрослом мозге клетки микроглии выполняют ряд важных функций – защищают мозг от патогенов, выделяют цитокины, участвуют в осуществлении синаптической пластичности и регуляции нейрогенеза [Thion, Garel, 2017]. В частности, в ряде работ было показано, что в культуре микроглии повышает интенсивность пролиферации и увеличивает выживаемость, а также дифференцировку по нейрональному типу и миграцию нейрональных стволовых клеток мышей [Gemma, Bachstetter, 2013].

Принято говорить о статусе активации микроглии, выделяя покоящуюся (ветвистую) и активированную (амебоидную) микроглию. Эти подтипы микроглии были выделены на основе морфологических признаков – соотношения размеров сомы и отростков, характеристик ветвления отростков [Hendrickx и др., 2017]. Далее, морфологические типы были ассоциированы с профилями экспрессии [Zeisel и др., 2018] и сигнальными каскадами, активными в клетках [Kaminska, Mota, Pizzi, 2016].

Макрофаги являются наиболее близкой к микроглии группой экзогенных клеток, регулирующих функции мозга в ходе нейровоспаления. Показана способность макрофагов проникать в ЦНС через ГЭБ в ходе различных патологических процессов, после чего принимать участие в развитии нейровоспаления [Vogel и др., 2015].

### **3.2.3.3.2. Роль моноцитов в патогенезе депрессивных расстройств**

Накоплен пул данных, описывающих участие микроглии в патогенезе депрессивных расстройств и других стресс-ассоциированных патологий. Деплеция микроглии предотвращает индукцию выученной беспомощности у мышей [Worthen и др., 2020]. У животных, подвергнутых хроническому стрессу, вызывающему депрессивно-подобные состояния, наблюдается изменение формы клеток микроглии, повышение их количества и экспрессии маркера микроглии Iba-1 в префронтальной коре, миндалине и поле СА3 гиппокампа [Tuнаn и др., 2010]. В работе Milior и др. не наблюдали изменения количества клеток микроглии в зоне СА1 гиппокампа, но зафиксировали изменение их морфологии [Milior и др., 2016]. В то же время, было показано, что в зубчатой фасции гиппокампа в аналогичных условиях количество клеток микроглии снижается по сравнению с контрольными животными [Kreisel и др., 2014]. Gong и др. показали, что при

индукции депрессивно-подобного поведения у мышей стрессом социальной изоляции, этот эффект вызван апоптозом клеток микроглии. Миноциклин приводил к исчезновению этого эффекта. Социальная изоляция и воспаление, вызванное системным введением умеренных доз (100 мкг/кг) ЛПС или цитокина M-CSF оказывали взаимно обратное действие на развитие микроглиоза в зубчатой фасции гиппокампа, равно как депрессивно- и тревожно- подобного поведения [Gong и др., 2018]. Снижение количества клеток микроглии наблюдали и в зубчатой фасции дорсального гиппокампа в модели условно-рефлекторного замирания, что может свидетельствовать об сходных механизмах формирования аффективного поведения и аффективно-ассоциированной обстановочной памяти [Chaaya и др., 2019]. В модели индукции депрессивно-подобного поведения при помощи введения интерферона- $\alpha$ , животные из экспериментальной группы разделились на устойчивых и не устойчивых к воздействию. У неустойчивых животных активация микроглии была ассоциирована с индукцией поведенческого синдрома, в отличие от устойчивых животных, у которых не наблюдали ни активации микроглии, ни нарушения поведения. При этом содержание ФНО $\alpha$  в плазме крови у устойчивых и неустойчивых животных достоверно не различалось и было достоверно выше, чем у животных контрольной группы [Wachholz и др., 2016].

Количество клеток активированной микроглии в гиппокампе мышей в модели стресса социального поражения снижалось под действием антидепрессанта имипрамина [Ramirez, Sheridan, 2016]. Эти данные были подтверждены в работе Iwataи др. на модели выученной беспомощности. Кроме того, было показано, что имипрамин и флувоксамин не снижали количество активированных клеток микроглии в гиппокампе интактных мышей [Iwata и др., 2016]. Можно предположить, что несмотря на прямое противовоспалительное действие классических антидепрессантов на микроглиальные клетки, выявляемое в работах на культурах клеток, *in vivo* антидепрессанты либо действуют на активированную микроглию непрямо, либо базовый уровень активации микроглии обеспечивается настолько мощными механизмами, что эффективности терапевтических доз антидепрессантов не хватает для обеспечения выраженного эффекта.

Непосредственные мишени, на которые влияет активация микроглии при депрессии, неизвестны. Помимо выделения цитокинов, влияющих на клетки мозга, микроглия привлекает макрофаги из периферического кровотока при помощи хемокина CCL2 [D'Mello, Le, Swain, 2009].

Необходимо учитывать, микроглия человеческого мозга имеет ряд особенностей,

накладывающих ограничения на трансляцию данных, полученных на мелких грызунах. В частности, человеческая микроглия, в отличие от микроглии мелких грызунов, практически не экспрессирует TLR4 – основной рецептор бактериальных липополисахаридов. При этом, периферические мононуклеоциты крови человека экспрессируют этот рецептор аналогично остальным видам млекопитающих. Экспрессия МНСII на клетках человеческой микроглии *in vitro* не снижается под действием TGFβ1, в отличие от микроглии мелких грызунов. Наконец, человеческая микроглия *in vitro* значительно менее чувствительна к интерферону-γ, чем микроглия грызунов [Smith, Dragunow, 2014].

При анализе данных о свойствах микроглии стоит учитывать то, что микроглия и макрофаги головного мозга могут быть сходными фенотипически (морфология клеток, экспрессия Iba1), но являются онтогенетически независимыми субпопуляциями [Utz и др., 2020]. Существует ряд маркеров, различающих эти популяции. Главным функциональным различием между микроглией и макрофагами может служить способность экспрессировать МНСII и презентировать антигены. Способность микроглии к этому является предметом для дискуссии. В то же время, нет сомнений, что макрофаги способны презентировать антигены и этот процесс неизвестным образом является компонентом иммунной регуляции функций ЦНС [Mrdjen и др., 2018].

Wohleb и др. показали, что проникновение моноцитов в ЦНС значительно повышалось при взаимодействии стресса социального поражения и воспаления, вызванного введением ЛПС. Это сопровождалось тревожно-подобным поведением, активацией микроглии и увеличением ее численности, а также радикальным увеличением экспрессии мРНК провоспалительных факторов в микроглии и моноцитах мозга [Wohleb и др., 2012]. При этом, элиминация микроглии после социального стресса снижала внедрение моноцитов в ткань гиппокампа, что сопровождается снижением экспрессии мРНК ИЛ-1β и тревожно-подобного поведения. Репопуляция микроглии возвращала эффекты стресса [Weber и др., 2019]. Удаление селезенки за 8 дней до социального стресса также снижала чувствительность мышей к социальному стрессу, вероятно, за счет уменьшения количества макрофагов, циркулирующих в кровотоке, а также за счет снижения их способности проникать в ЦНС [Wohleb и др., 2014]. Нарушение миграции моноцитов в ЦНС при помощи антител к гликопротеинам, управляющим хоумингом, предотвращала развитие продромального-подобного синдрома в ходе системного воспаления [D’Mello, Le, Swain, 2009]. Моноциты крови через 5 дней после внедрения в гиппокамп под действием болевого стресса сохраняли морфологию, отличную от

морфологии резидентной микроглии, отличаясь как формой клеток, так и способностью части клеток экспрессировать МНСII [Brevet и др., 2010]. Большая часть работ такого рода была выполнена на самцах, однако, и для самок показаны аналогичные эффекты стресса [Yin и др., 2019]. Несмотря на то, что наиболее изучено рекрутирование моноцитов в ЦНС при помощи медиаторов, выделяемых микроглией, неиммунные клетки мозга тоже вносят вклад в этот процесс. Транквилизатор клоназепам предотвращает увеличение количества и площади клеток иммунной системы в мозге мышей, подвергнутых стрессу социального поражения. К сожалению, авторы работы не производили детального анализа влияния клоназепама на миграцию клеток, но косвенные данные, приведенные в работе позволяют предположить, что миграция макрофагов в ЦНС снижается [McKim и др., 2018].

Таким образом, для макрофагов показана способность к непосредственной миграции через ГЭБ в патологических условиях, после чего они могут становиться резидентными клетками и секретировать цитокины в окружающую среду.

#### **3.2.4. Влияние ГКС на иммунный компонент патогенза депрессивных расстройств**

Клетки иммунной системы могут участвовать в патогенезе депрессивных расстройств, будучи мишенью кортикостероидов. Глюкокортикостероиды известны как мощные противовоспалительные медиаторы, эффективно подавляющие иммунный ответ как на локальном (в тканях), так и на системном (в лимфоидных органах) уровнях. Их применяют в клинической практике для купирования острых и хронических воспалительных процессов. Клетки иммунной системы экспрессируют как ГР, так и МР. В большинстве случаев, активация этих рецепторов приводит к угнетению активности иммунных клеток и индукции апоптоза в лимфоцитах [Cain, Cidlowski, 2017]. Однако в ряде ситуаций возможны воспалительные процессы, устойчивые к ГКС. В частности, известны хронические воспалительные заболевания дыхательных путей, вызываемые минорной популяцией Th-17-лимфоцитов [McKinley и др., 2008]. По-видимому, эти клетки, в отличие от других Т-лимфоцитов, демонстрируют значительно большую устойчивость к индукции апоптоза, и, следовательно, их активность меньше подавляется глюкокортикостероидами [Banuelos и др., 2016].

У пациентов с депрессивными расстройствами не только повышена концентрация провоспалительных цитокинов в плазме крови, но и выявлена устойчивость продукции этих цитокинов к снижению под действием ГКС [Perrin и др., 2019].

В тканях ЦНС наблюдают парадоксальные эффекты ГКС. В настоящее время достаточно твердо установлено, что во многих экспериментальных моделях хроническое и острое системное введение ГКС или повышение их выработки организмом приводит к развитию нейровоспаления или облегчению его развития под действием различных факторов. В частности, показано, что поведенческий стресс повышает провоспалительную активность ткани мозга в ответ на системное введение бактериальных липополисахаридов (ЛПС) [Frank, Watkins, Maier, 2015]. Также хорошо известна корреляция между развитием нейровоспаления при депрессивных состояниях и повышенной концентрации ГКС в крови пациентов с расстройствами депрессивного спектра и в ткани мозга у животных в моделях депрессии [Frank, Watkins, Maier, 2015; Piskunov и др., 2016]. Прямой эксперимент демонстрирует, что само по себе системное введение дексаметазона вызывает у крыс депрессивно-подобное поведение [Skupio и др., 2015]. Кроме того, показано, что хроническое системное введение дексаметазона потенцирует индукцию депрессии умеренным мягким стрессом и этот эффект нивелируется противовоспалительным агентом аспирином [Bhatt и др., 2016]. Известны и отдельные молекулярные механизмы, лежащие в основе этих эффектов. В частности, показано, что в периферических мононуклеоцитах больных эндогенной депрессией накапливаются инфламмосомы NLRP3, что, вероятно, вызывает повышение концентрации ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-18 в крови. Эти параметры приближаются к уровню здоровых людей под действием антидепрессанта амитриптилина [Uchihara и др., 2016]. Аналогичные эффекты наблюдали в микроглии гиппокампа экспериментальных животных как в моделях хронического стресса, так и в модели индукции депрессивно-подобных состояний при помощи введения ГКС [Feng и др., 2019; Frank и др., 2014; Yue и др., 2017]. Еще одной возможной мишенью для ГКС может быть система CD200:CD200r, при помощи которой нейроны негативно регулируют активность микроглии. Под действием стресса или системного введения экзогенных ГКС экспрессия гена cd200r в лимбической системе снижается. Кроме того, в тех же условиях повышается экспрессия провоспалительного медиатора HMBG1 [Frank и др., 2019]. Молекулярные механизмы, лежащие в основе вышеперечисленных эффектов, являются предметом для интенсивного изучения в настоящее время.

Относительно неплохо изучена роль ГР в реализации этих эффектов. Интрацеребровентрикулярное хроническое введение ингибитора ГР мифепристона снижает действие интрацеребровентрикулярно вводимого ИЛ-1 $\beta$  в модели индукции депрессивно-подобного поведения при помощи нейровоспаления. Кроме того, в данной

модели мифепристон предотвращает повышение концентрации кортикостерона в сыворотке крови. Экспериментальные процедуры влияют на функционирование миндаины. Под действием мифепристона отменяются эффекты ИЛ-1 $\beta$  на накопление про-формы и зрелого BDNF, GDNF, а также их рецептора p75, что может указывать на механизмы регуляции ГКС нейрональной пластичности при помощи нейровоспаления. Состояние нейровоспалительной системы также меняется. Так мифепристон частично снижает вызванное ИЛ-1 $\beta$  накопление ФНО $\alpha$ , и отменяет изменения накопления ИЛ-6, но не предотвращает повышение экспрессии мРНК CD11b, хотя и снижает накопление его белкового продукта [Zhang и др., 2018b]

Изучение специфической делеции, нарушающей нормальное функционирование гена ГР в микроглии, привело к результатам, плохо укладывающимся в традиционные представления о регуляции нейровоспаления ГКС. Так, Carrillo-DeSauvage и др. показали, что в этом случае наблюдается активация микроглии и ускорение ее пролиферации, снижается устойчивость ЦНС к введению ЛПС [Carrillo-De Sauvage и др., 2013]. В модели социального стресса, вызывающей увеличение концентрации ГКС плазме крови мышей, наблюдают повышение устойчивости клеток костного мозга и селезенки к ГКС [Wohleb и др., 2014]. Кроме того, у адренэктомированных крыс по сравнению с ложноперирированными животными, в покое наблюдается резкое увеличение доли активированных клеток микроглии в зубчатой фасции [Battista и др., 2006]. Известно, что разовое пульсовое введение кортикостерона приводит к снижению экспрессии провоспалительного цитокина CCL2 в сосудистом сплетении, а системное введение кортикостерона отменяет развитие нейровоспаления под действием интрацеребровентрикулярного введения ФНО $\alpha$  [Kertser и др., 2019]. Можно предположить, что эффекты активации ГР зависят от того, на каких клетках он экспрессирован.

В то время, как роль ГР в развитии нейровоспаления относительно изучена, роль МР в регуляции воспаления в ЦНС неясна. В литературе не было найдено работ, в которых была прямо изучена роль этих рецепторов. Наиболее изучена роль МР в регуляции нейровоспаления при артериальной гипертензии и вызванных ей инсультах. Известно, что при артериальной гипертензии наблюдают ассоциированность нейровоспаления с активацией МР. У линии крыс со спонтанной гипертензией наблюдают повышенный уровень экспрессии МР и нейровоспаления в гиппокампе [Вросса и др., 2019]. В то же время известно, что развитие воспаления у таких крыс опосредуется МР эндотелия сосудов, которые могут быть активированы

альдостероном [Dinh и др., 2016a]. Можно предположить, что в данной модели нейровоспаление праймируется чувствительным к альдостерону эндотелием сосудов, а не клетками ЦНС, а увеличение экспрессии МР является следствием уже развившегося нейровоспаления. Эта гипотеза подтверждается работой Bay-Richter и др., в которой показано, что системное введение альдостерона облегчает развитие нейровоспаления во фронтальной коре после системного введения бактериального липополисахарида [Bay-Richter и др., 2012]. Данный агонист МР неактивен в этом отделе мозга [Joëls, Kloet de, 2017], но может активировать МР в клетках эндотелия или на периферии. Предполагают, что защитная роль спиронолактона при инсультах обусловлена его действием на стенки сосудов и предотвращением миграции клеток иммунной системы в паренхиму ЦНС [Dinh и др., 2016b].

На примере ряда моделей поражения мозга на мышах было обнаружено, что нарушение функционирования МР, в том числе и в клетках иммунной системы вне мозга, оказывает защитный эффект. Показано, что делеция МР в LysM-положительных клетках (клетках миелоидного ряда) приводит к уменьшению размера зоны инфаркта и снижению интенсивности нейровоспаления в модели окклюзии среднемозговой артерии [Friele и др., 2011]. Микроглия является основной популяцией клеток мозга здоровых мышей, которая может быть затронута данной делецией, но микроглиоциты в мозге взрослых мышей практически не экспрессируют МР [Zeisel и др., 2018]. Montes-Cobos, E. и др. показали, что аналогичная делеция облегчает течение экспериментального аутоиммунного энцефалита у мышей. В этой же работе было показано, что этот эффект может не быть специфически связан с тканями ЦНС, поскольку у таких мышей была нарушена функциональность всей иммунной системы [Montes-Cobos и др., 2017]. Таким образом, в настоящее время в литературе не представлено данных, позволяющих однозначно утверждать, что МР, экспрессируемый клетками ЦНС, регулирует процессы нейровоспаления.

Несмотря на то, что ГКС эффективно проникают через ГЭБ, эффекты системного применения ГКС и их локального введения в мозг (например, интраназально), могут драматически различаться. Так, интраназальное введение дексаметазона защищает мышей от развития нейровоспаления под действием системного введения ЛПС, в отличие от интраперитонеального введения дексаметазона в той же дозе [Meneses и др., 2017]. Введение дексаметазона в зубчатую фасцию гиппокампа усиливает нейрогенез, в отличие от вышеописанного снижения нейрогенеза под действием системного введения того же вещества [Culig и др., 2017].

Выработка простагландинов в зубчатой фасции крыс подавляется при увеличении секреции кортикостерона надпочечниками при остром воспалительном процессе, вызванном введением ЛПС, при этом снижается интенсивность нейрогенеза. Более того, в данном случае нейрогенез нормализуется под действием мифепристона [Ma и др., 2017]. Стоит отметить, что простагландины традиционно считаются провоспалительными медиаторами, их выработка, вероятно, прямо снижается, под действием ГКС.

Таким образом, наблюдается зависимость влияния глюкокортикостероидов на нейровоспалительные процессы от способа их введения. Можно предположить, что при системном введении, ГКС запускают механизмы, которые приводят к развитию нейровоспаления путем, независимым от тех, которые запускаются при прямом действии ГКС на нервную ткань. Одним из таких механизмов может быть дифференциальная чувствительность про- и противовоспалительных лимфоцитов к ингибированию их функций и запуску апоптоза под действием ГКС [Banuelos, Lu, 2016], вследствие чего нарушается баланс концентраций про- и противовоспалительных медиаторов в ЦНС, что может приводить к развитию нейровоспаления [Oberstein и др., 2018].

#### **3.2.4.1. Возможный вклад влияния ГКС на клетки иммунной системы вне мозга**

В настоящее время в литературе представлены данные о том, что нарушения регуляции экспрессии и функционирования ГР и МР вне мозга также могут быть компонентом патогенеза депрессивных расстройств. В частности, было показано, что нарушение метилирования промоторных областей ГР в лейкоцитах периферической крови наблюдается у многих больных с расстройствами депрессивного и тревожного спектра. Однако данные, приведенные в разных исследованиях, могут противоречить друг другу. Так, Турка *et al* показали, что у индивидов, перенесших в детстве стрессогенные ситуации, равно как и у пациентов с расстройствами депрессивного спектра достоверно снижается уровень метилирования CpG-островков ряда промоторов ГР, в частности, промотора 1fГР [Турка и др., 2016]. Сходные данные были получены Bustamante и др., однако, в этом исследовании детский стресс был ассоциирован с повышением метилирования первых четырех канонических промоторов ГР, а депрессивные расстройства были ассоциированы со снижением метилирования промоторов 5-13. В то же время, изменения экспрессии гена ГР в периферических мононуклеоцитах крови не было выявлено [Bustamante и др., 2016]. Эти исследования были сделаны в США. В то же время, исследования проведенные в КНР



и Таиланде показали повышение метилирования тех же промоторов при депрессивных расстройствах, что может быть признаком культуральных и/или популяционных различий [Nantharat и др., 2015; Wang и др., 2017a]. Эти данные могут представлять интерес в связи с результатами последних исследований в области регуляции проникновения иммунных клеток в ЦНС при стрессе.

В работе Avitsur и др. было показано снижение чувствительности к кортикостерону спленцитов мышей, у которых произошла индукция депрессивно-подобного поведения в модели стресса социального поражения [Avitsur, Stark, Sheridan, 2001].

Kertser и др. показали, что часть широко известных эффектов ингибиторов ГР как стресс-протекторов, воспроизводятся на мышах путем генетической делеции гена ГР в сосудистом сплетении головного мозга при помощи технологии CRE-Lox. При этом, непосредственно в ткани ЦНС данная делеция не происходила. Одновременно не происходило и проникновение противовоспалительных лимфоцитов в ткань гиппокампа в ответ на повышение концентрации кортикостерона в плазме крови, как при эмоционально-болевым стрессе, вызванном неизбежным воздействием электрического тока, так и при потреблении кортикостерона с водой [Kertser и др., 2019]. По-видимому, в данной модели была нарушена экспрессия ГР в клетках иммунной системы и в тканях хороидного сплетения, что неизвестным в настоящее время образом влияло на способность этих противовоспалительных лимфоцитов проникать в ЦНС, или на способность клеток хороидного сплетения регулировать этот процесс.

Можно предположить, что неадекватная работа ГГН-оси приводит к нарушению регуляции функционирования клеток иммунной системы на периферии, что приводит к неадекватному регулированию нейровоспаления, что проявляется, в том числе, в виде расстройств депрессивного спектра.

### **3.3. Влияние пола на чувствительность к развитию депрессивно-подобных состояний**

Количество выявляемых случаев расстройств депрессивного спектра у женщин превышает аналогичное количество у мужчин практически в 2 раза [Wittchen и др., 2011]. Эту закономерность принято ассоциировать как с социальными факторами, так и с особенностями физиологии женщин, в частности, с колебаниями концентраций стероидов

в крови в ходе менструального цикла, зависимой от пола реакции иммунной системы на стресс [Slavich, Sacher, 2019; Bekhbat, Neigh, 2018].

Большая часть экспериментальных работ посвящена изучению физиологии самцов лабораторных животных. В то же время, самцы и самки демонстрируют неодинаковую склонность к развитию депрессивно-подобных состояний в различных моделях. Тест вынужденного плавания является широко используемым при изучении депрессивно-подобного поведения. Его используют как в качестве метода для оценки эффективности других воздействий, так и в качестве самостоятельного теста для изучения поведения животных в условиях стресса. Интактные самки, как правило, демонстрируют большую базовую иммобильность в этом тесте, но выраженность отличий от самцов зависит от глубины сосуда, фаз светового дня и эструса, условий содержания животных. В модели кратковременного хронического умеренного стресса самки демонстрируют большую восприимчивость и более выраженные нарушения поведения, в тесте вынужденного плавания и ангедонию. В случае продолжительного стрессирования, самцы оказываются более чувствительными. В то же время, в модели выученной беспомощности самки демонстрируют меньшую латентность избегания болевого воздействия, чем самцы. В модели индукции депрессивно-подобного поведения провоспалительными стимулами, у самок, как правило, не выявляли развития нарушений поведения в тестах вынужденного плавания и подвешивания за хвост. В то же время, развитие ангедонии в тесте предпочтения сахарозы у самцов и самок, как правило, не отличалось. Можно предположить, что кажущаяся меньшая эффективность индукции депрессивно-подобного поведения у самок в стрессирующих тестах при помощи нейровоспалительных моделей, является следствием базальной склонности самок подопытных животных к такому поведению [Ma и др., 2019]. Таким образом, наступает насыщение и нейровоспаление не оказывает достоверного эффекта.

Механизмы, лежащие в основе межполовых различий, являются предметом для интенсивного изучения.

Влияние ГГН-оси на развитие депрессивно-подобного поведения отличалось у самцов и самок мелких грызунов. В то время как у самцов во многих работах наблюдали корреляцию между концентрацией кортикостерона в сыворотке крови и депрессивно-подобным поведением, у самок такую корреляцию не обнаруживали. Этот эффект имел как прямую, так и обратную направленность. Поведенческий стресс и индукция воспаления влияла на концентрацию ГКС в сыворотке крови самцов и не влияла на самок,

а введение кортикостероидов индуцировало депрессивно-подобное поведение у самок слабее, чем у самцов [Kokras и др., 2020].

Во множестве работ показана дифференциальная чувствительность самцов и самок к индукции нейровоспаления, как периферическими провоспалительными стимулами, так и поведенческим стрессом. В частности, в работе Liu и др. было изучено влияния индукции депрессии при помощи хронического умеренного стресса на экспрессию мРНК различных про- и противовоспалительных регуляторов в гиппокампе самцов и самок мышей. Стресс привел к снижению экспрессии мРНК ИЛ-10 и IL-1Ra в гиппокампе самок, но не повлиял на экспрессию у самцов, что может являться причиной меньшей устойчивости самок к индукции депрессивно-подобного поведения. Повышение экспрессии мРНК ИЛ-1 $\beta$  было выявлено только в гиппокампе самцов, а ФНО $\alpha$  – только в гиппокампе самок. Экспрессия ИЛ-6 была повышена в гиппокампах самцов и самок [Liu и др., 2019a]. В работе была выявлена большая устойчивость самцов по сравнению с самками к развитию нарушения поведения в тесте вынужденного плавания после интраназального введения ЛПС. Этот эффект сопровождался большей экспрессией ФНО $\alpha$  и ИЛ-6 в гиппокампах самок. Накопление кортикостерона в сыворотке крови самок было более выраженным в результате экспериментальных воздействий. Межполовые различия были особенно значимы при сочетании введения ЛПС и теста вынужденного плавания [Tonelli, Holmes, Postolache, 2008].

Различия в количестве и функциональном состоянии клеток микроглии могут лежать в основе дифференциальной склонности самцов и самок к развитию нейровоспалительной реакции. Так, в работе Schwarz и др. были показаны межполовые различия в представленности субпопуляций микроглии, наблюдаемые в различных отделах ЦНС крыс, начиная с периода пренатального развития и до наступления половой зрелости. В ЦНС самок даже в норме наблюдали более активированную микроглию. Авторы соотносили различия в представленности подтипов микроглии с различиями в экспрессии про- и противовоспалительных медиаторов [Schwarz, Sholar, Bilbo, 2012]. В работе Bollinger и др. было показано, что микроглия самцов и самок в орбитофронтальной коре, базолатеральной миндалине и в дорсальном гиппокампе по-разному реагирует на хронический умеренный стресс [Bollinger и др., 2017].

Более высокая концентрация эстрадиола в сыворотке крови самок может быть причиной дифференциальной чувствительности полов к индукции нейровоспаления. Так, в работе Loram и др. было показано, что, хотя микроглиоциты, выделенные из самцов

экспрессируют больше мРНК IL-1 $\beta$ , чем микроглиоциты, выделенные из самок, обработка этих клеток эстрадиолом приводит к снижению экспрессии этого цитокина. Аналогичные данные были получены и при исследовании экспрессии мРНК этого цитокина в гиппокампах подопытных животных [Logan и др., 2012].

Таким образом, механизмы, лежащие в основе дифференциальной чувствительности самцов и самок подопытных животных к развитию депрессивно-подобного поведения, остаются недостаточно изученными. Несмотря на то, что стресс-реактивность и нейровоспаление принято считать взаимосвязанными контурами регуляции функций ЦНС, модели депрессивно-подобных состояний, индуцированные при помощи стресса и при помощи нейровоспаления, вызывают сходные, но отличающиеся эффекты на поведение самцов и самок подопытных животных. Это может быть объяснено как дифференциальной чувствительностью самцов и самок к воспалению, так и малоизученными в настоящее время механизмами сопряжения стресса и нейровоспаления у самок.

#### 4. Цель и задачи

**Цель исследования.** Изучить изменения экспрессии стресс-ассоциированных генов в ходе онтогенеза самцов и самок крыс в модели депрессии, индуцированной неонатальным провоспалительным стрессом

**Задачи исследования:**

1. Изучить развитие депрессивно-подобного состояния у взрослых самцов и самок крыс, перенесших НПС.
2. Изучить вызванные поведенческим стрессом изменения экспрессии генов, ассоциированных с нейровоспалением и стрессорным ответом, в коре и гиппокампе взрослых самцов и самок крыс, перенесших НПС.
3. Изучить дифференциальное влияние НПС на экспрессию генов, ассоциированных с нейровоспалением и стрессорным ответом, в коре, дорсальном и вентральном гиппокампе самцов и самок крыс в возрасте 18 суток
4. Изучить дифференциальное влияние НПС на экспрессию генов, ассоциированных с нейровоспалением и стрессорным ответом, в коре, дорсальном и вентральном гиппокампе самцов и самок крыс в возрасте 30 суток

## 5. Материалы и методы

### 5.1. Животные.

В эксперименте использовали потомство крыс линии Wistar, полученных из питомника "Столбовая". Животных содержали в индивидуальных клетках со свободным доступом к пище и воде. Светлое время суток было установлено с 8:00 до 20:00. День рождения крысы считали 1-м днем постнатального периода (ПНД1). После родов, ограничивали численность выводка 9 особями. На ПНД25 отсаживали родившую самку, выводок разделяли на самцов и самок и содержали группами по 4-5 крыс в клетке. Для экспериментов брали как самцов, так и самок. Всего в работе было использовано 111 животных (15 выводков).

### 5.2. Экспериментальные процедуры.

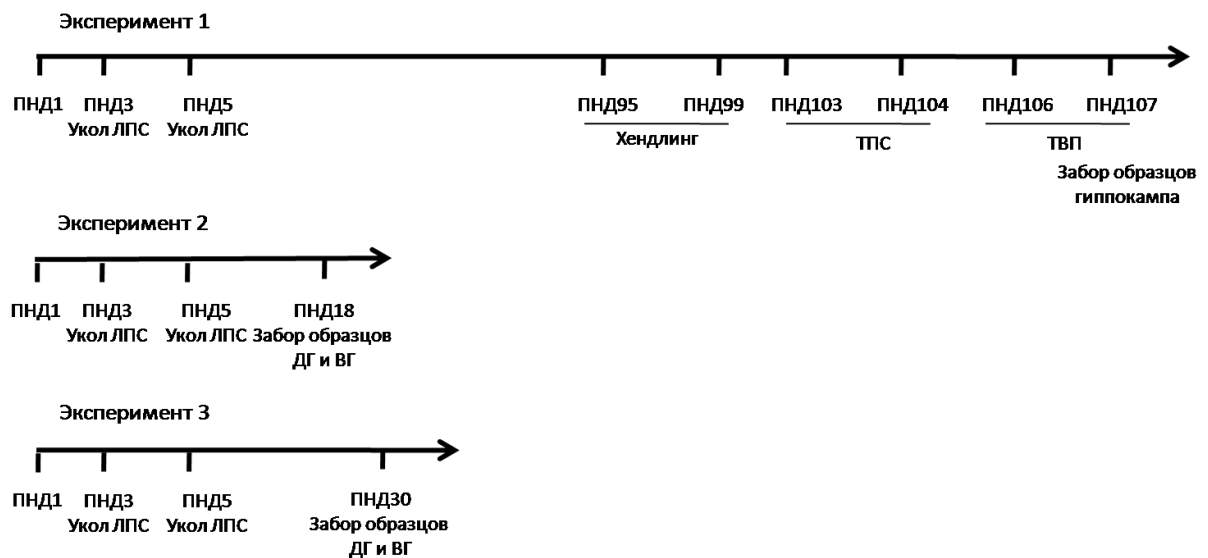
Выводки случайным образом делили на экспериментальные и контрольные. На ПНД3 и ПНД5 животных из экспериментальных выводков подвергали неонатальному провоспалительному стрессу (НПС) путем введения подкожно стерильного раствора ЛПС в изотоническом растворе NaCl (10 мкл/г массы тела 0,05 мг/кг ЛПС из *Escherichiacoli*; серотип O26:B6, Sigma-Aldrich, USA). Крысам из пометов контрольной группы (Контроль) вводили соответствующий объем изотонического стерильного раствора NaCl. Выбранная доза ЛПС не вызывала гибели подопытных животных. Было проведено две серии экспериментов.

В первой серии взрослых животных из 7 выводков, достигших 3-мес. возраста, подвергали хендлингу в течение 4-х дней, после чего делили на две подгруппы. С животными одной подгруппы проводили тесты предпочтения сахарозы (ТПС) и вынужденного плавания (ТВП). Другую подгруппу крыс оставляли в домашних клетках. Через 30 мин после завершения ТВП животных выводили из эксперимента путем декапитации под хлоралгидратным наркозом. Животных, не задействованных в поведенческих тестах, декапитировали в это же время. Образцы тканей из правого

полушария использовали для изучения экспрессии генов, из левого – для иммуноферментного анализа.

Во второй серии ювенильных крыс из 4 выводков в возрасте 18 суток выводили из эксперимента путем декапитации под хлоралгидратным наркозом. У крыс брали отделы мозга из правого полушария (фронтальную кору, дорсальный и вентральный гиппокампы) для изучения экспрессии генов.

В третьей серии молодых крыс из 4 выводков в возрасте 30 суток выводили из эксперимента путем декапитации под хлоралгидратным наркозом. У крыс брали отделы мозга из правого полушария (фронтальную и соматосенсорную кору, дорсальный и вентральный гиппокампы) для изучения экспрессии генов. Аналогичные отделы мозга из левого полушария брали для биохимического анализа.



**Рисунок 1. Схема эксперимента**

## 5.3. Исследование поведения

### 5.3.1. Тест «предпочтение сахарозы»

Крыс предварительно адаптировали к клеткам, в которых проводили тест в течение 1 дня. После этого предъявляли две поилки (с водой и 1% раствором сахарозы соответственно) и регистрировали поведение животных, как описано ранее [Саркисова и др., 2014].

### **5.3.2. Тест «вынужденное плавание»**

Тестирование поведения проводили в прозрачных цилиндрах высотой 40 см и диаметром 20 см («Открытая наука», Россия), наполненных водой с температурой  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ . В день 1 крыс запускали в цилиндры на 15 мин., после чего вынимали, вытирали полотенцем и высушивали под струей теплого воздуха. После этого крыс возвращали в домашние клетки. В день 2 крыс помещали в цилиндры на 5 мин. и их поведение записывали с помощью видеокамеры. В ходе тестирования регистрировали длительность активного периода плавания до первого эпизода иммобильности, общее время иммобильности и время активного плавания. После окончания теста животных высушивали и декапитировали через 30-40 мин. под хлоралгидратным наркозом. Тест вынужденного плавания вызывает острый поведенческий стресс (ПС), что потребовало введения соответствующего контроля

## **5.4. Биохимический и молекулярно-биологический анализ**

### **5.4.1. Подготовка ткани мозга для изучения экспрессии генов**

Через 30 мин после последнего поведенческого теста крыс декапитировали под хлоралгидратным наркозом, мозг вынимали, промывали в ледяном изотоническом растворе NaCl, выделяли гиппокампы (цельные, или ДГ и ВГ по отдельности) из правого полушария и замораживали их в жидком азоте. ДГ считали дорсальную половину гиппокампа вдоль дорсально-вентральной оси, ВГ – вентральную четверть. В случае выделения ДГ и ВГ, остатки ткани гиппокампа не анализировали. Образцы гомогенизировали в реактиве для выделения РНК (ExtractRNA, «Евроген», Россия) в соответствии с рекомендациями производителя и выделяли фракцию тотальной РНК. РНК в ходе работы хранили в виде раствора в деионизованной воде и долговременно – в виде осадка в 80% этаноле.

### **5.4.2. Количественная ПЦР «в реальном времени»**

1 мкг РНК подвергали обработке ДНКазной при помощи набора DNAaseI («ThermoFisherScientific», США) в соответствии с рекомендациями производителя.



Половину обработанной РНК использовали для проведения реакции обратной транскрипции при помощи набора реактивов MMLV RT kit («Евроген»), используя ингибитор РНКаз RNaseInhibitor («New England Biolabs», США), в соответствии с рекомендациями производителей. Использовали эквимольную смесь случайного декапраймера («Евроген», SB002, Россия) и олиго(dT)<sub>15</sub>-праймера («Евроген», SB001, Россия), концентрация каждого праймера в реакционной системе составляла 1 мкМ. После обратной транскрипции полученный продукт разводили в 8 раз деионизованной водой. Вторую половину РНК, обработанной ДНКазой, использовали в качестве отрицательного контроля «без обратной транскрипции». Экспрессию целевых генов анализировали при помощи набора «Готовая смесь для ПЦР qPCRmix-HS SYBR+LowROX» («Евроген», PK156L, Россия) при помощи станции для количественной ПЦР CFX384 Touch («Bio-Rad», США). Праймеры подбирали на основе последовательностей из базы данных NCBI в программном пакете LasergenePrimerSelect. Последовательности праймеров, использованных в работе, приведены в Таблице 1.

**Таблица 1. Последовательности праймеров, использованных в работе**

Ген	Последовательности праймеров (5'–3')	
	Прямой	Обратный
<i>Il1b</i> NM_031512.2	TCTGTGACTCGTGGGATGAT	CACCTTGTGGCTTATGTTCTGTGC
<i>Il6</i> NM_012589.2	GCCACTGCCTCCCTACTTCAC	GACAGTGCATCATCGCTGTTCATAC
<i>Tnf</i> NM_012675.3	GTCCAACTCCGGGCTCAGAAT	ACTCCCCGATCCACTCAG
<i>Il10</i> NM_012854.2	GACAATAACTGCACCCACTTCC	GCATCACTTCTACCAGGTA AAAACTTG
<i>Cx3cl1</i> NM_134455.2	ATCACCACCATCACCACCAAC	GAGGAACACTTTAAACCSTCACAGA
<i>Cx3cr1</i> NM_133534.2	GGACSTCACCATGCCTACCT	CACCAACAGATTCCCCACCAG
<i>Nr3c1</i> NM_012576.2	CAGCAAAATCGAAAAAGCCAGACC	CCCGCCAAAGGAGAAAGCAAGT
<i>Nr3c2</i> NM_013131.1	CCCACGGTCAACCCATTTCCATC	TGTCCTCGCAGCTACCATCA

<i>Crh</i> NM_031019.2	TCTGATCCGCATGGGTGAAGAATACT	GTGGAGTTGGGGGACAGCCGA
<i>Crhr1</i> NM_030999.4	TTGGCAAACGTCCTGGGGTAT	GGATGCGGACAATGTTGAAGAGAAA
<i>Crhr2</i> NM_022714.2	CGA CCC GGA ATG CCT ACA GAG	CAG GGC CAC CAC GGA AAC A
<i>Hprt</i> NM_012583.2	CGTCGTGATTAGTGATGATGAAC	CAAGTCTTTCAGTCCTGTCCATA

В качестве нормировочного гена использовали праймеры к кДНКгена *Hprt*, выбранного по результатам анализа транскриптома гиппокампа крысы [Dobryakova и др., 2018]. Эффективность реакции измеряли для каждого рабочего разведения праймеров методом серийных разведений. Во всех экспериментах эффективность реакции находилась в диапазоне 1,8–2,0. Каждую пробу дублировали, кроме того, для каждой пробы и каждого гена ставили контроль «без обратной транскрипции». Для каждой лунки контролировали температуру плавления продукта ПЦР. Данные на графиках представлены в виде относительного количества:

$$\text{Относительное количество} = \frac{E_i^{\Delta C t_i}}{E_{Hprt}^{\Delta C t_{Hprt}}}$$

#### 5.4.3. Иммуноферментный анализ (ИФА)

Биоматериал выделяли аналогично используемому для изучения экспрессии генов, но из левого полушария. Отделы мозга гомогенизировали на льду в буфере для экстракции растворимых белков (1%-ный NP-40 («Sigma-Aldrich», США) в ФСБ («Пан-Эко», Россия), pH 7,5) при помощи гомогенизатора Поттера 10 ударами пестика при 1000 об./мин. Гомогенат центрифугировали 20 мин при 4 °C и 13200 g. Супернатант отбирали и хранили при –20°C. Концентрацию белка в пробах измеряли при помощи набора Pierce™ BCA ProteinAssay Kit («ThermoFisherScientific», США). Концентрацию растворимой фракции фракталкина, ИЛ-6 и ИЛ-1β в пробах определяли при помощи наборов Rat CX3CL1/Fractalkine DuoSet ELISA («R&D Systems», США), Rat IL-6 Quantikine ELISA Kit, («R&D Systems», США) и Rat IL-1 beta/IL-1F2 DuoSet ELISA («R&D Systems», США) в соответствии с рекомендациями производителя. Для определения уровня кортикостерона

в сыворотке крови и супернатантах отделов мозга использовали наборы для иммуноферментного анализа (DRG, Германия), с помощью которых детектировали как свободный, так и связанный с транспортными белками кортикостерон методом конкурентного ИФА. Каждую пробу дублировали, сигнал детектировали при помощи планшетного ридера HidexSense («Hidex», Финляндия).

#### 5.4.4. Вестерн-блоттинг

Биологический материал выделяли аналогично используемому для ИФА. Образцы супернатантов отделов мозга подвергали электрофоретическому разделению в 8% SDS-PAGE в денатурирующих условиях. Для выявления минерало- (MP) и глюкокортикоидных рецепторов (ГР) мембраны инкубировали с первичными антителами анти-MP (sc-53000, SantaCruzBiotechnology) и анти-ГР (#12041, CellSignaling). Для контроля вариабельности переноса белка с геля на PVDF мембрану проводили инкубацию с антителами анти-Pan-Actin (4968S, CellSignaling) на структурный белок актин, который в дальнейшем использовали для пересчета денситометрических данных, полученных для целевых белков. Связывание вторичных антител детектировали с использованием хемилюминесцентной системы SuperSignalWestFemto (ThermoScientific, USA) и интенсивность сигнала определяли в системе геле-документирования MicroChem4.2 (DNR Bio-ImagingSystemsLtd., Израиль). Денситометрический анализ полученных белковых полос проводили с помощью программного обеспечения к MicroChem 4.2.

#### 5.5. Статистика

Данные о поведении крыс в тесте вынужденного плавания представлены в виде наложения столбчатых диаграмм (среднее  $\pm$  SE) и точечных диаграмм, во всех группах  $n \geq 5$ . Данные о потреблении сахарозы, экспрессии генов и концентрации их белковых продуктов на графиках представлены в виде наложения диаграмм размаха и точечных диаграмм, во всех группах  $n \geq 5$ . Распределение значений переменных в выборке оценивали на соответствие нормальному с помощью критерия Шапиро–Уилка. Достоверность различий в исследовании вынужденного плавания определяли двухфакторным дисперсионным анализом с последующим апостериорным анализом по методу Фишера или Тьюки в зависимости от применимости методов. В качестве факторов для независимых переменных использовали «пол» и «НПС». В исследованиях

потребления сахарозы, экспрессии мРНК и концентрации белков распределение переменных не соответствовало нормальному по критерию Шапиро–Уилка, поэтому достоверность различий между экспериментальными группами выявляли по методу Манна–Уитни с поправкой Бонферрони (3 гипотезы,  $\alpha = 0,017$ ). Расчеты проводили в пакете MS Excel, статистическую обработку данных проводили в программном пакете scipy языка Python 3.7. Графики построены при помощи пакета Seaborn языка Python 3.7.

## **6. Результаты**

### **6.1. Развитие депрессивно-подобного поведения и изменения экспрессии генов и их белковых продуктов у взрослых крыс под действием НПС**

#### **6.1.1. Поведение взрослых крыс**

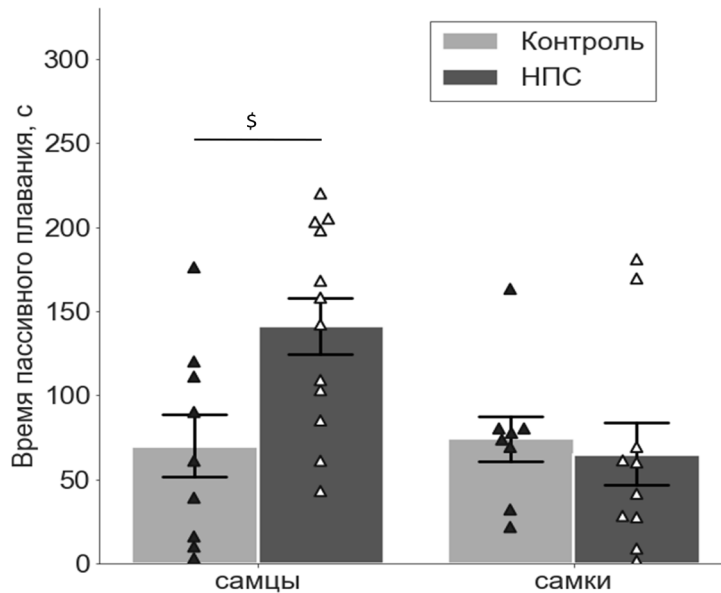
Данные о поведении крыс получены совместно с М.Ю. Степаничевым и А.О. Маноловой

Из предыдущих работ нашей лаборатории известно, что у 1-месячных самцов крыс, подвергнутых НПС, развивается тревожно-подобное поведение, но развития депрессивно-подобного поведения не выявлено. В возрасте 3 месяцев наблюдали развитие депрессивно-подобного поведения у крыс-самцов [Tishkina и др., 2016]. В данном эксперименте мы расширили когорту исследованных животных и включили в нее взрослых крыс обоих полов.

##### **6.1.1.1. Поведение в тесте вынужденного плавания**

Перенесённый НПС приводил к появлению признаков депрессивно-подобного поведения у взрослых крыс в тесте вынужденного плавания. Было выявлено взаимодействие факторов «пол» и «НПС» ( $F(1, 35) = 4,81, p = 0,034$ ). Апостериорное сравнение средних выявило повышение времени пассивного плавания у самцов, подвергнутых НПС (тест Тьюки,  $p = 0,036$ ), но не выявил значимых изменений поведения

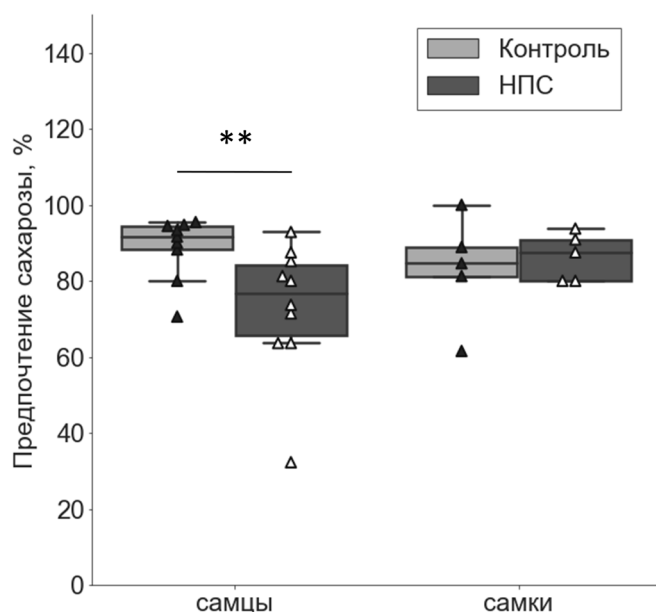
у самок (Рисунок 2). Таким образом, самцы демонстрировали развитие так называемого «поведения отчаяния», которое зачастую интерпретируют как депрессивно-подобное, тогда как самки демонстрировали относительную устойчивость к развитию депрессивно-подобного поведения.



**Рисунок 2.** Время пассивного плавания в тесте «вынужденное плавание» у взрослых крыс. \$ -  $p < 0.05$ , тест Тьюки.

#### 6.1.1.2. Поведение в тесте предпочтения сахарозы

Агедония является центральным симптомом развития депрессивного состояния. У животных состояние агедонии может быть выявлено в ходе предъявления вкусного питья или пищи. Предпочтение сладкого раствора сахарозы в ситуации выбора между сладким питьем и водой отражает развитие агедонии у крыс. Выявлено снижение потребления сахарозы взрослыми самцами, подвергнутыми НПС по сравнению с контрольной группой (тест Манна-Уитни,  $p=0,014$ ). Не было выявлено изменения потребления сахарозы самками, а также межполовых различий у контрольных крыс (Рисунок 3).



**Рисунок 3.** Доля (%) выпитого раствора сахарозы самцами и самками взрослых крыс в тесте «предпочтение сахарозы» в первой серии экспериментов. \*\* -  $p < 0.017$ , тест Манна-Уитни.

### 6.1.1.3. Выводы

Таким образом, у взрослых крыс выявлены межполовые различия во влиянии НПС на депрессивно-подобное поведение. НПС вызывает депрессивно-подобное поведение у самцов крыс, заметное как в тесте ВП, так и в тесте предпочтения сахарозы, т.е., у крыс-самцов оказалось нарушены как реакция на неизбежный стресс, так и гедонистическое поведение. Крысы-самки оказались устойчивы к индукции депрессивно-подобного поведения при помощи НПС.

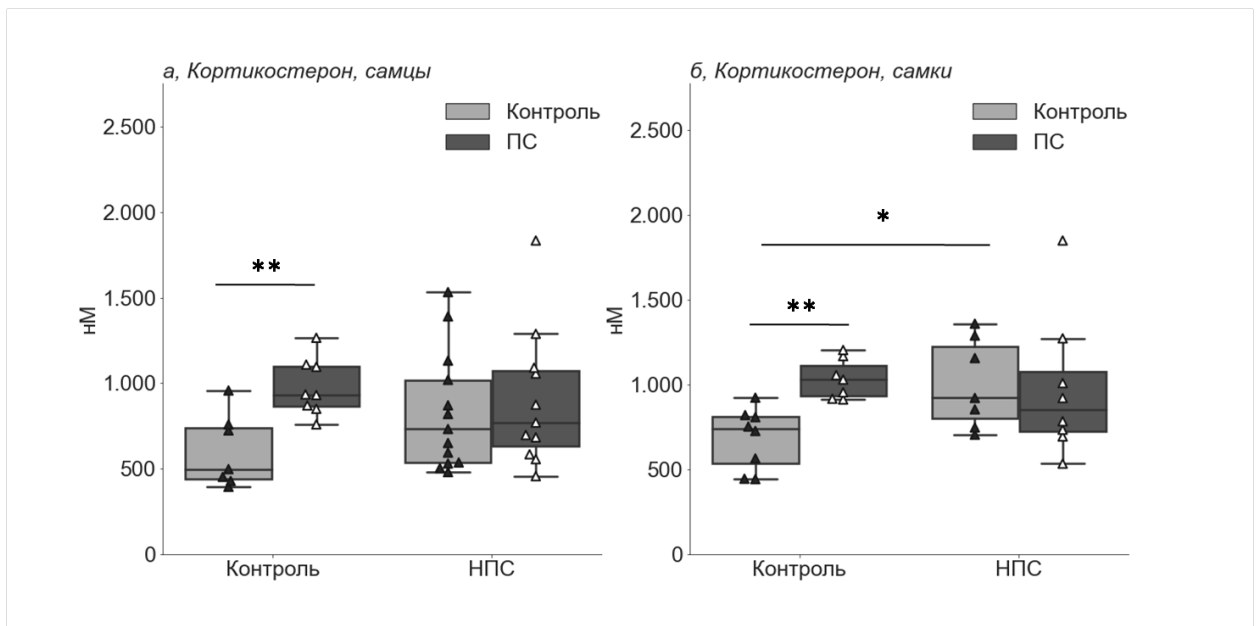
### 6.1.2. Исследования биохимических и молекулярно-биологических показателей у взрослых крыс.

Данные о концентрации кортикостерона и белков в исследованных образцах получены совместно с М.В. Онуфриевым

Для исследования нарушений, лежащих в основе депрессивно-подобного поведения, были исследованы экспрессия мРНК и накопление медиаторов, ассоциированных с нейровоспалением и стресс-реактивностью в крови и отделах головного мозга взрослых крыс.

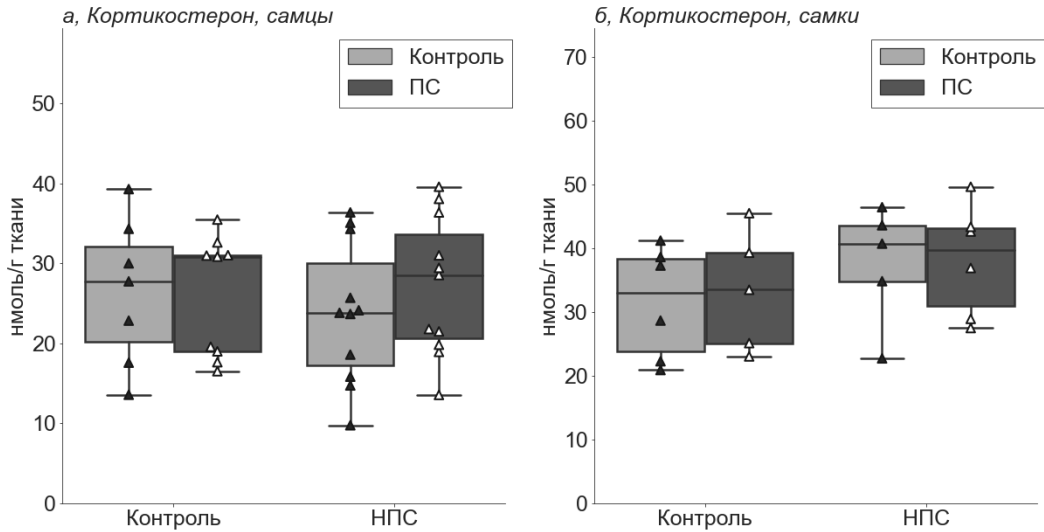
#### 6.1.2.1. Влияние НПС и ПС на концентрацию кортикостерона в крови, гиппокампе и фронтальной коре взрослых крыс

Кортикостерон является одним из важнейших медиаторов ГГН-оси, участвующим в реакции на стресс. ПС вызванный помещением животных в ТВП вызывал повышение концентрации кортикостерона в сыворотке крови в 1,87 раза у самцов ( $p=0,009$ , тест Манна-Уитни) и в 1,39 раза у самок ( $p=0,003$ , тест Манна-Уитни). НПС вызывал тенденцию к повышению концентрации кортикостерона в 1,54 раза у самок ( $p=0,056$ , тест Манна-Уитни) и не вызывал изменений у самцов. По-видимому, НПС изменял реакцию на острый стресс у животных обоих полов, предотвращая повышение концентрации кортикостерона в сыворотке крови, вызванное ПС (Рисунок 4).

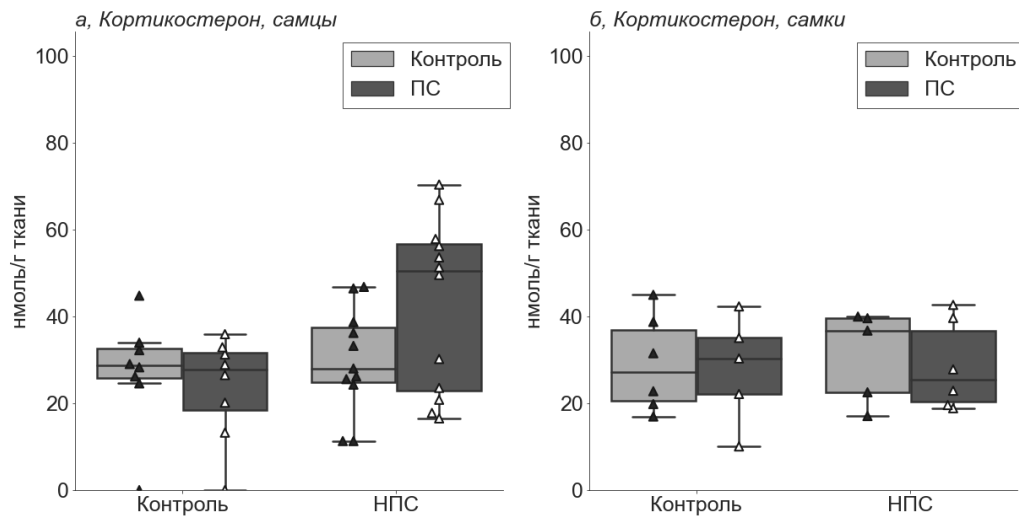


**Рисунок 4. Влияние НПС и ПС на концентрацию кортикостерона в крови взрослых самцов и самок крыс. \* -  $p<0,05$ , \*\* -  $p<0,017$ , тест Манна-Уитни.**

Не было выявлено влияния НПС и ПС на концентрацию кортикостерона в гиппокампе и фронтальной коре самцов и самок взрослых крыс (Рисунки 5, 6).



**Рисунок 5. Влияние НПС и ПС на концентрацию кортикостерона в гиппокампе взрослых самцов и самок крыс.**



**Рисунок 6. Влияние НПС и ПС на концентрацию кортикостерона во фронтальной коре взрослых самцов и самок крыс.**

Таким образом, ПС индуцировал повышенную активность ГГН-оси у взрослых крыс обоих полов, что проявилось в повышенном уровне кортикостерона в крови крыс-самцов и крыс-самок после ПС. Были выявлены различия в действии НПС – отсутствие эффекта у самцов и тенденция к повышению концентрации кортикостерона в сыворотке



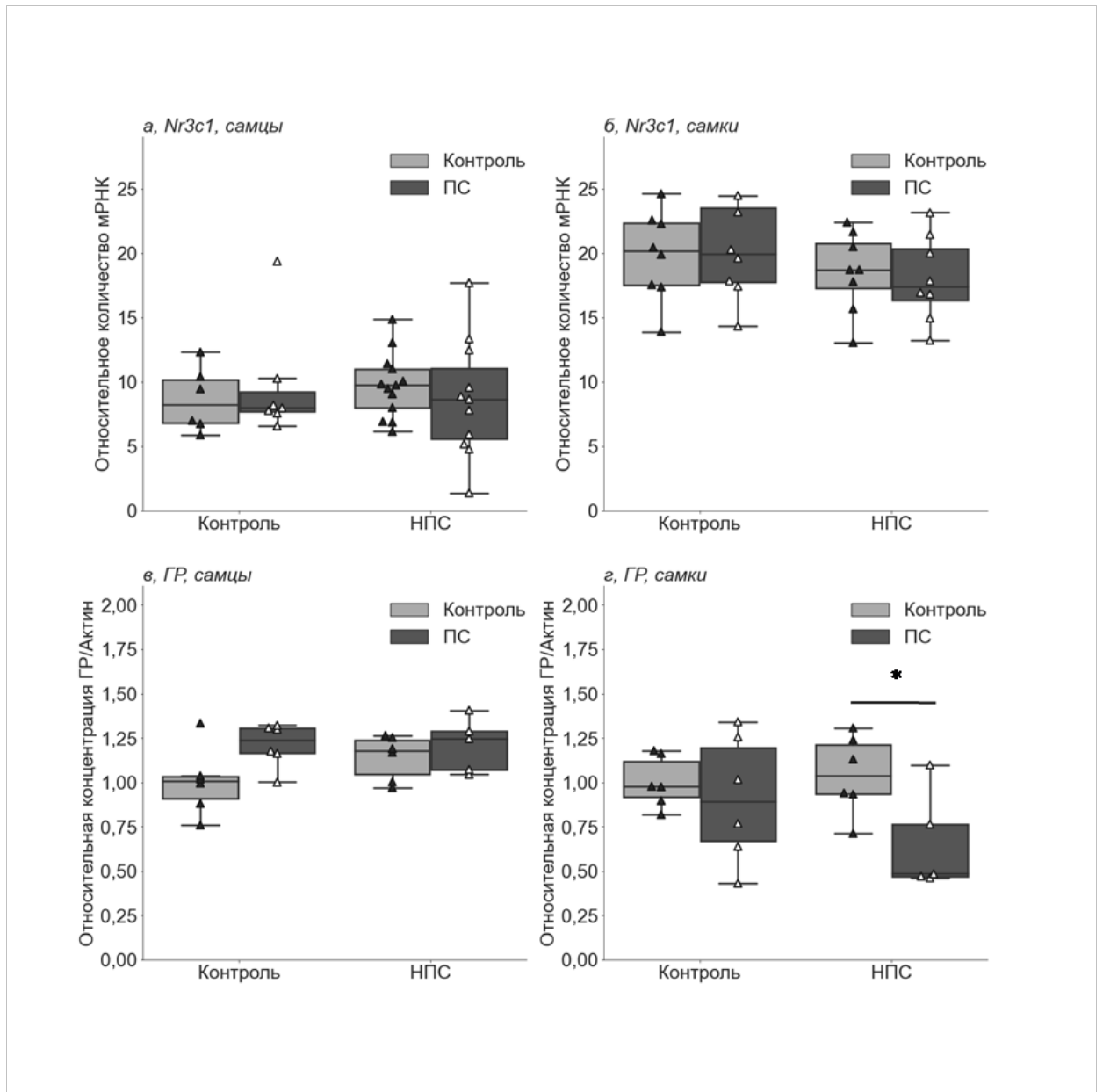
крови у самок. В отличие от контрольных животных, крысы перенесшие НПС не демонстрировали предрасположенности к повышению концентрации кортикостерона в сыворотке после ПС, что может указывать на нарушение стресс-реактивности у животных обоих полов, несмотря на отсутствие нарушения поведения у самок. Несмотря на изменения концентрации кортикостерона в сыворотке крови, влияния НПС и ПС на концентрацию этого гормона в гиппокампе и фронтальной коре не выявлено.

#### **6.1.2.2. Влияние НПС и ПС на уровень экспрессии стресс-ассоциированных генов в гиппокампе и фронтальной коре взрослых крыс.**

Для изучения влияния НПС и ПС на систему реакции на стресс, было изучено влияние этих факторов на экспрессию мРНК *Nr3c1*, *Nr3c2*, *Crh*, *Crhr1*, *Crhr2*, а также на накопление белка ГР и МР во фронтальной коре и гиппокампе самцов и самок крыс.

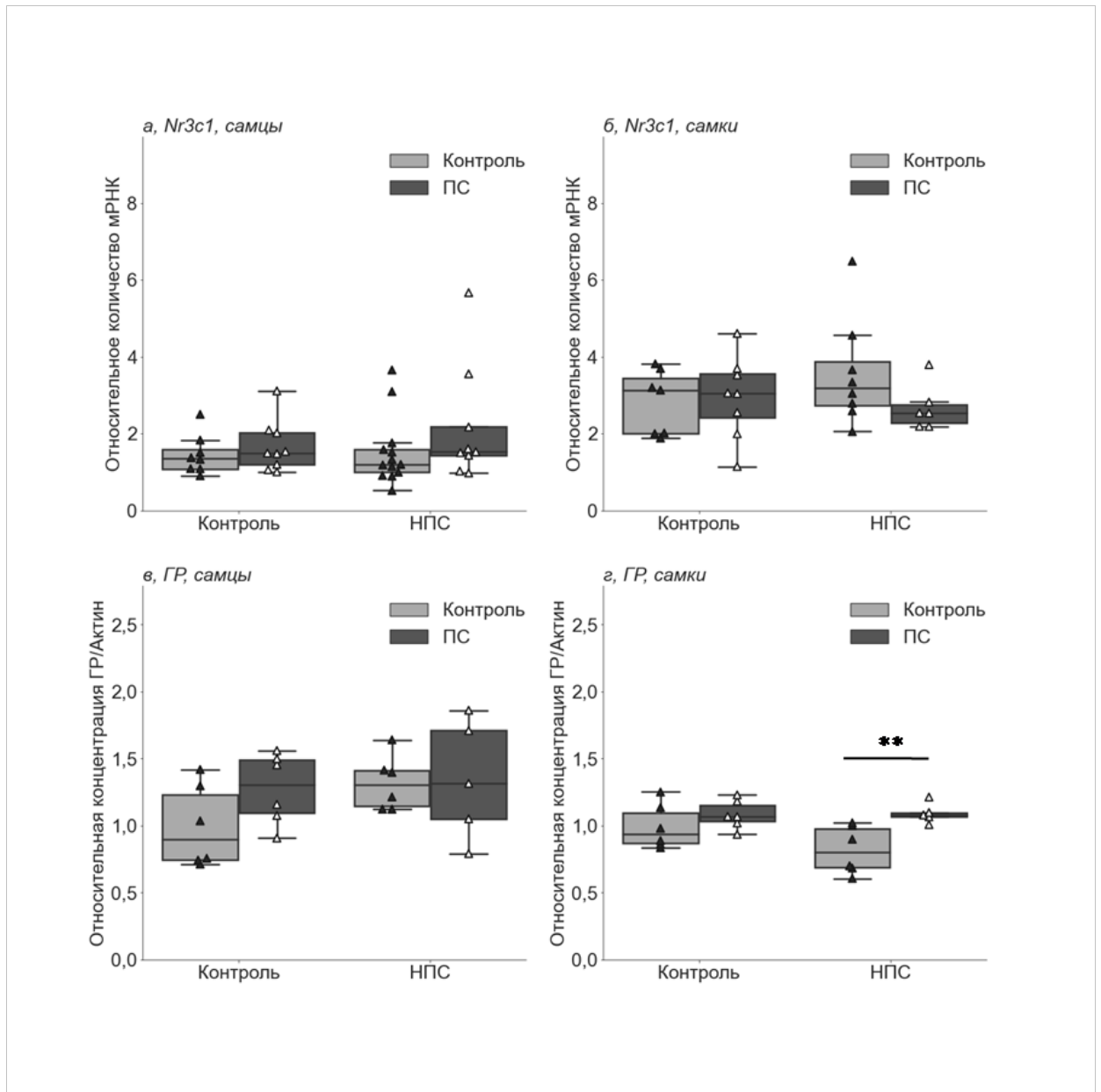
##### **6.1.2.2.1. Влияние НПС на экспрессию мРНК *Nr3c1* в гиппокампе и фронтальной коре взрослых самцов и самок крыс**

Не было выявлено влияния НПС и ПС на относительное количество мРНК *Nr3c1* в гиппокампе самцов и самок взрослых крыс. НПС модифицировал реакцию на острый стресс у самок и приводил к появлению тенденции ( $p=0,03$ , тест Манна-Уитни) к снижению концентрации ГР в гиппокампе самок под действием ПС в 2,12 раза (Рисунок 7).



**Рисунок 7. Влияние НПС и ПС на уровень экспрессии мРНК *Nr3c1* и концентрацию глюкокортикоидных рецепторов (GR) в гиппокампе 3-месячных самцов и самок крыс. \* -  $p < 0,05$ , тест Манна-Уитни**

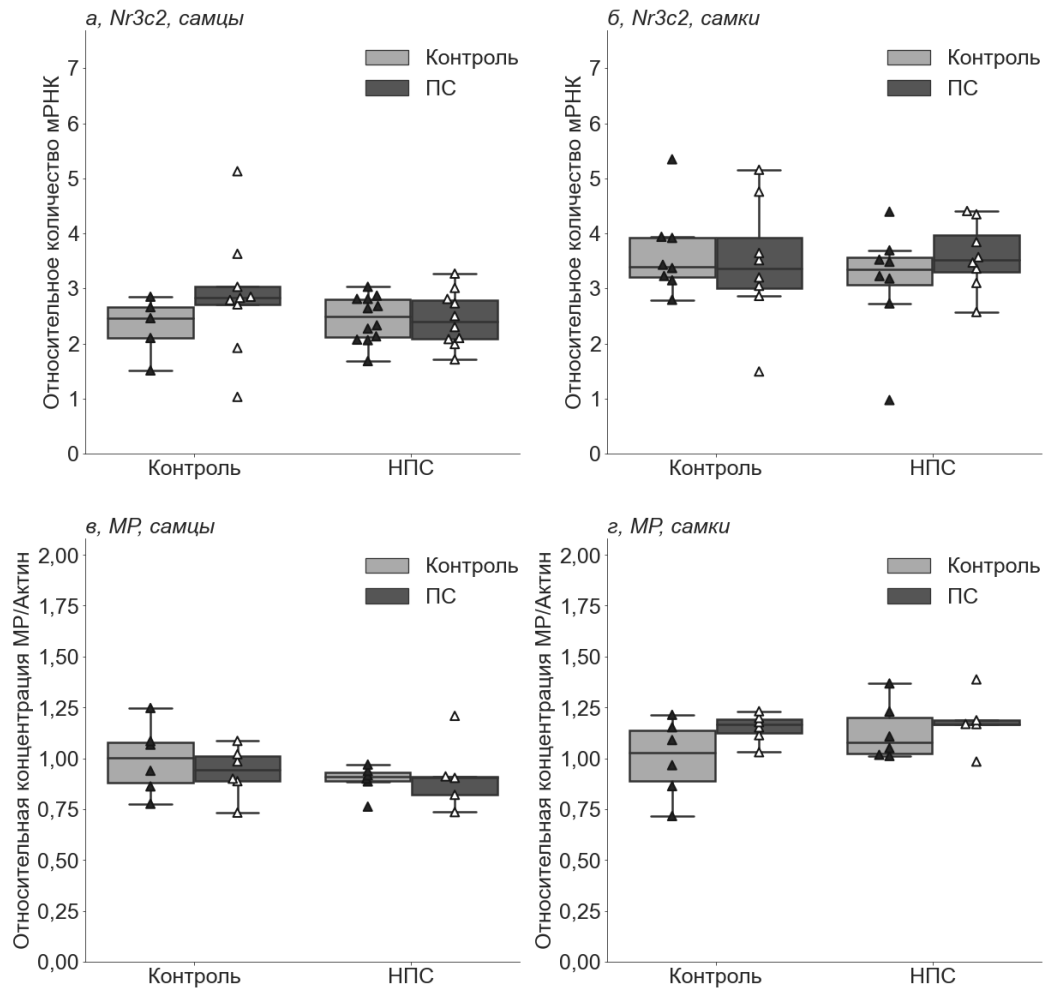
Не было выявлено влияния НПС и ПС на относительное количество мРНК *Nr3c1* во фронтальной коре самцов и самок взрослых крыс. НПС модифицировал реакцию на острый стресс у самок и приводил к повышению в 1,36 раза ( $p = 0,008$ , тест Манна-Уитни) концентрации GR во фронтальной коре самок под действием ПС (Рисунок 8).



**Рисунок 8.** Влияние НПС и ПС на уровень экспрессии мРНК *Nr3c1* и концентрацию глюкокортикоидных рецепторов (ГР) во фронтальной коре взрослых самцов и самок крыс. \*\* -  $p < 0,017$ , тест Манна-Уитни.

#### 6.1.2.2.2. Влияние НПС на экспрессию мРНК *Nr3c2* в гиппокампе и фронтальной коре взрослых самцов и самок крыс

Не было выявлено влияния НПС и ПС на относительное количество мРНК *Nr3c2* и относительную концентрацию белка МР в гиппокампе самцов и самок взрослых крыс (Рисунок 9).

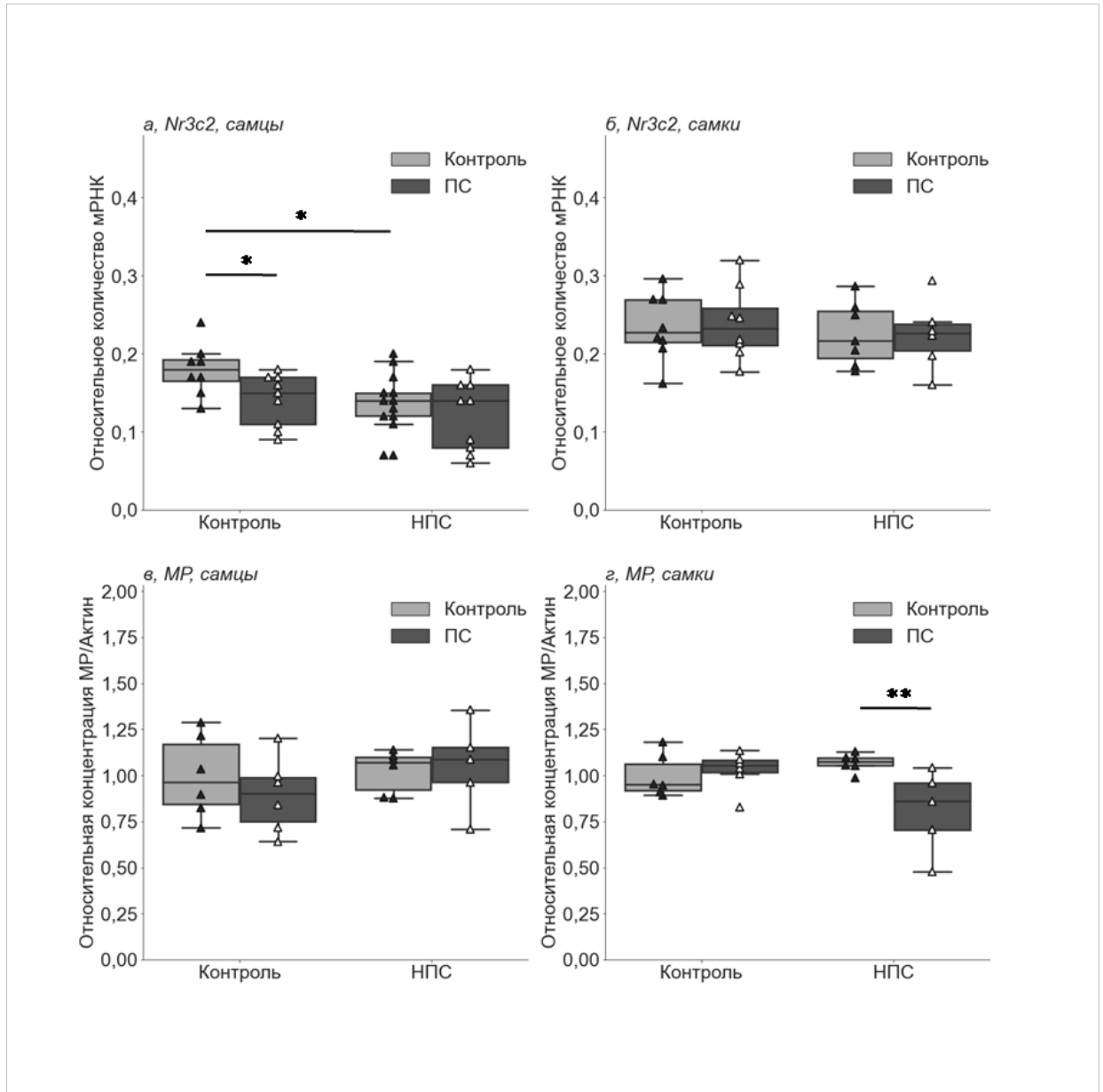


**Рисунок 9.** Влияние НПС и ПС на экспрессию мРНК *Nr3c2* и концентрацию минералокортикоидных рецепторов (MR) в гиппокампе взрослых самцов и самок крыс.

Была выявлена тенденция к снижению экспрессии мРНК *Nr3c2* во фронтальной коре взрослых самцов под действием НПС (в 1,28 раза,  $p=0,021$ ) и ПС (в 1,2 раза,  $p=0,041$ ). НПС модифицировал реакцию на острый стресс у самцов, предотвращая снижение экспрессии мРНК *Nr3c2* под действием ПС во фронтальной коре. Не было выявлено влияния НПС и ПС на экспрессию мРНК *Nr3c2* во фронтальной коре взрослых самок.

Не было выявлено влияния НПС и ПС на концентрацию MR во фронтальной коре взрослых самцов. НПС модифицировал реакцию на острый стресс у самок и приводил к

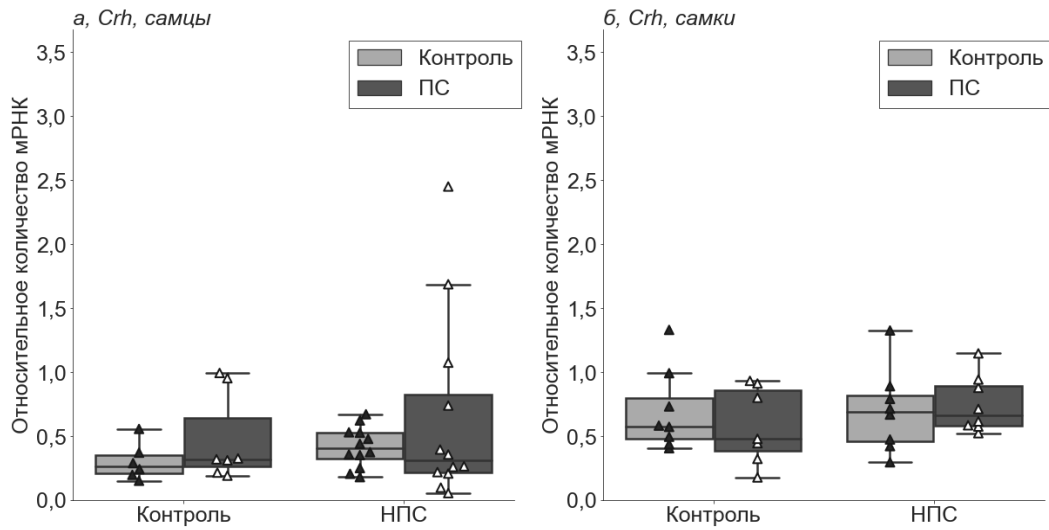
снижению в 1,28 раза ( $p=0,008$ ) концентрации МР во фронтальной коре под действием ПС (Рисунок 10).



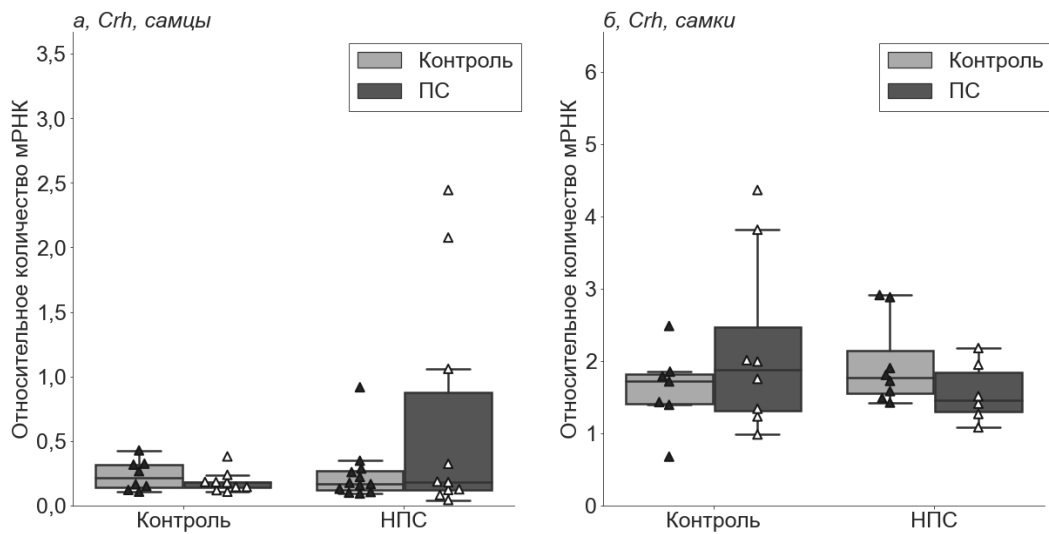
**Рисунок 10. Влияние НПС и ПС на экспрессию мРНК *Nr3c2* и концентрацию минералокортикоидных рецепторов (МР) во фронтальной коре взрослых самцов и самок крыс. \* -  $p<0,05$ , \*\* -  $p<0,017$ , тест Манна-Уитни.**

#### **6.1.2.2.3. Влияние НПС на экспрессию мРНК *Crh* в гиппокампе и фронтальной коре взрослых самцов и самок крыс**

Не было выявлено влияния НПС и ПС на относительное количество мРНК *Crh* в гиппокампе и фронтальной коре самцов и самок взрослых крыс (Рисунки 11, 12).



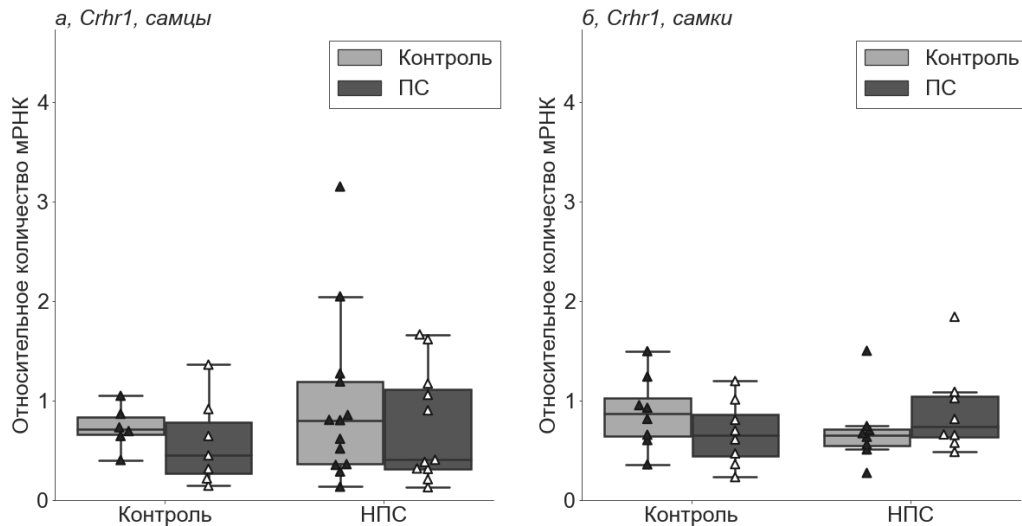
**Рисунок 11. Влияние НПС и ПС на экспрессию мРНК *Crh* в гиппокампе взрослых самцов и самок крыс.**



**Рисунок 12. Влияние НПС и ПС на экспрессию мРНК *Crh* во фронтальной коре взрослых самцов и самок крыс.**

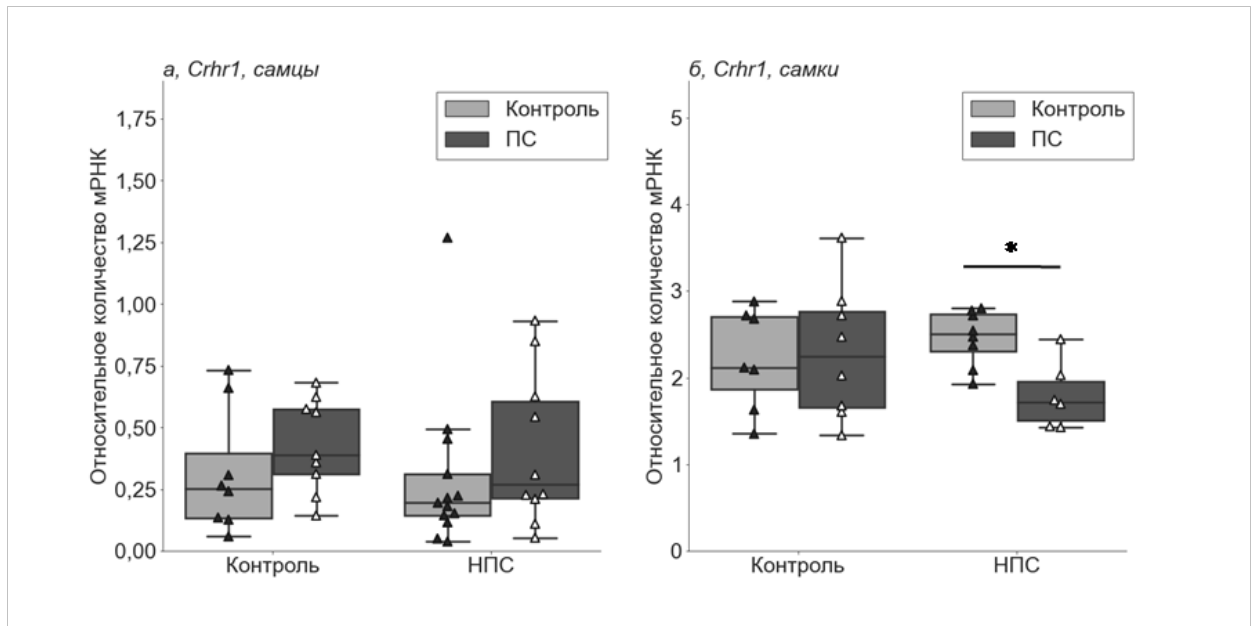
#### 6.1.2.2.4. Влияние НПС на экспрессию мРНК *Crhr1* в гиппокампе и фронтальной коре взрослых самцов и самок крыс

Не было выявлено влияния НПС и ПС на относительное количество мРНК *Crhr1* в гиппокампе самцов и самок взрослых крыс (Рисунок 13).



**Рисунок 13. Влияние НПС и ПС на экспрессию мРНК *Crhr1* в гиппокампе взрослых самцов и самок крыс**

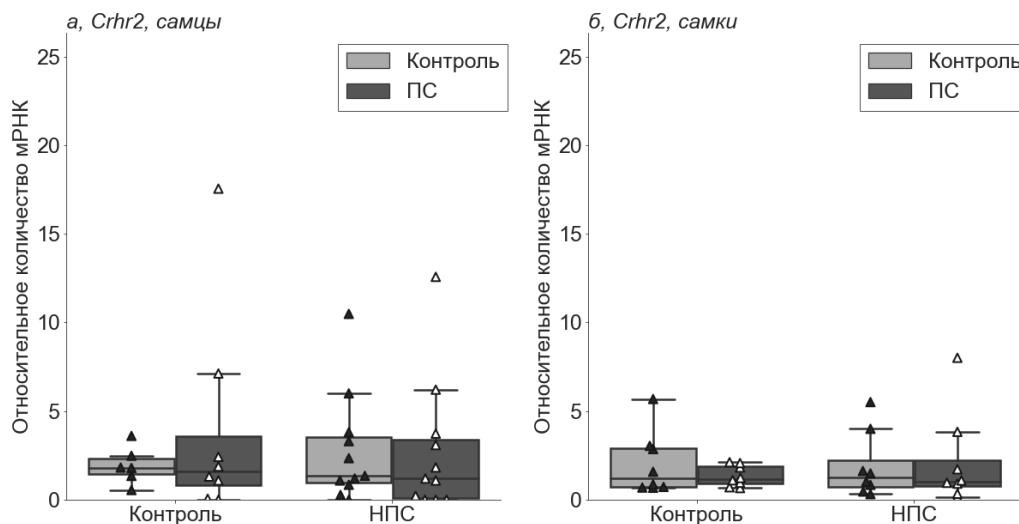
Не было выявлено влияния НПС и ПС на относительное количество мРНК *Crhr1* во фронтальной коре самцов взрослых крыс. НПС модифицировал реакцию взрослых самок на острый стресс и приводилк появлению тенденции к снижению в 1,43 раза ( $p=0,03$ , тест Манна-Уитни) концентрации ГР во фронтальной коре под действием ПС (Рисунок 14).



**Рисунок 14.** Влияние НПС и ПС на уровень экспрессии мРНК *Crhr1* во фронтальной коре самцов и самок крыс. \* -  $p < 0,05$ , тест Манна-Уитни

#### 6.1.2.2.5. Влияние НПС на экспрессию мРНК *Crhr2* в гиппокампе и фронтальной коре взрослых самцов и самок крыс

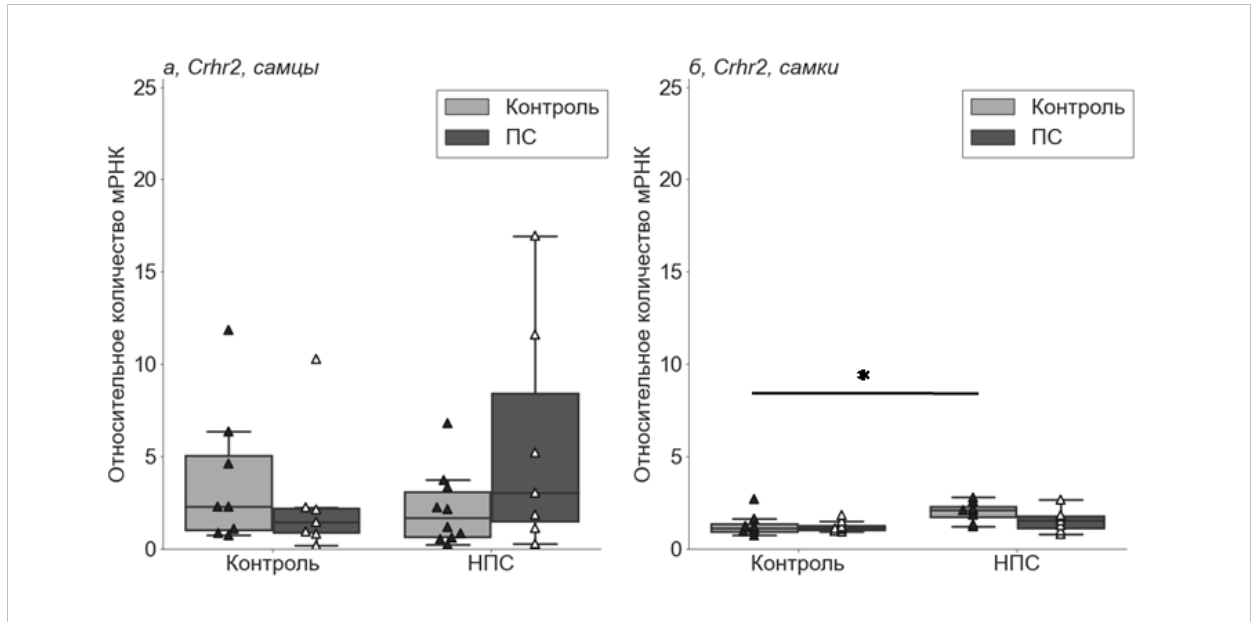
Не было выявлено влияния НПС и ПС на относительное количество мРНК *Crhr2* в гиппокампе самцов и самок взрослых крыс (Рисунок 15).



**Рисунок 15.** Влияние НПС и ПС на экспрессию мРНК *Crhr2* в гиппокампе взрослых самцов и самок крыс



Не было выявлено влияния НПС и ПС на относительное количество мРНК *Crhr2* во фронтальной коре самцов взрослых крыс. Была выявлена тенденция ( $p=0,023$ , тест Манна-Уитни) к повышению в 1,83 раза экспрессии мРНК *Crhr2* во фронтальной коре самок подвергнутых НПС (Рисунок 16).



**Рисунок 16.** Влияние НПС и ПС на уровень экспрессии мРНК *Crhr2* во фронтальной коре самцов и самок крыс. \* -  $p < 0,05$ , тест Манна-Уитни.

#### 6.1.2.2.6. Выводы

Несмотря на отсутствие влияния НПС и ПС на концентрацию кортикостерона в гиппокампе и фронтальной коре подопытных животных, была выявлена тенденция к снижению экспрессии мРНК *Nr3c2* во фронтальной коре самцов под действием как НПС, так и ПС. НПС приводил к исчезновению влияния острого стресса на экспрессию мРНК *Nr3c2*. У самок не было выявлено влияния НПС и ПС на концентрацию белков ГР и МР. У самок не выявлено влияния изолированных НПС и ПС на экспрессию генов рецепторов ГКС, но НПС приводил к появлению влияния острого стресса на экспрессию мРНК ряда генов: тенденции к снижению экспрессии мРНК *Nr3c1* в гиппокампе, повышению концентрации ГР и снижению концентрации МР во фронтальной коре.

Не выявлено влияния НПС и ПС на экспрессию мРНК *Crh* и обоих его рецепторов в гиппокампе и фронтальной коре самцов крыс. У самок крыс не выявлено влияния НПС и ПС на экспрессию мРНК этих генов в гиппокампе. Во фронтальной коре НПС приводил к появлению влияния ПС на экспрессию рецепторов CRH: появилась тенденция к

повышению экспрессии мРНК *Cthr2* и тенденция к снижению экспрессии мРНК *Cthr1* под действием ПС у крыс, подвергнутых НПС.

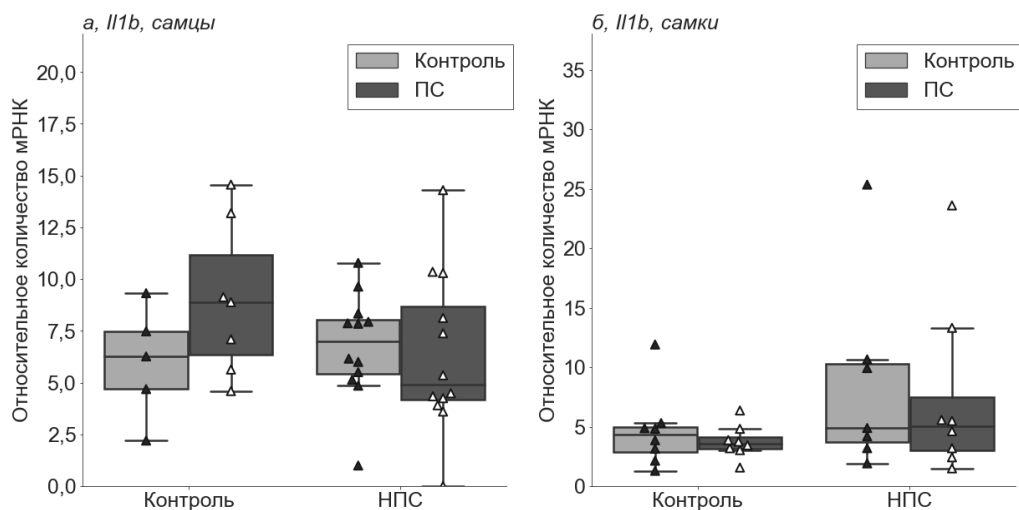
### 6.1.2.3. Влияние НПС и ПС на уровень экспрессии генов, связанных с нейровоспалением в гиппокампе и фронтальной коре взрослых крыс.

Для оценки признаков развития нейровоспаления под действием НПС и ПС было исследовано влияние этих факторов на экспрессию мРНК *Il1b*, *Il6*, *Il10*, *Tnf*, *Cx3cl1*, *Cx3cr1*, а также на концентрацию белка ИЛ-6 в гиппокампе и фронтальной коре взрослых самцов и самок крыс.

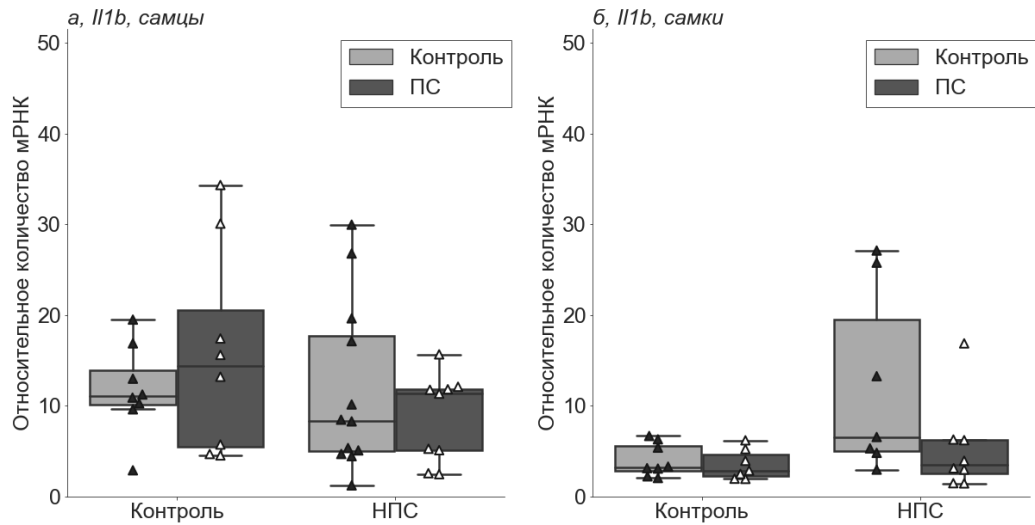
Экспрессия мРНК *Il10* была ниже порога детекции метода во всех образцах.

#### 6.1.2.3.1. Влияние НПС и ПС на экспрессию мРНК *Il1b* в гиппокампе и фронтальной коре взрослых крыс

Не было выявлено влияния НПС и ПС на экспрессию мРНК *Il1b* в гиппокампе и фронтальной коре самцов и самок взрослых крыс (Рисунки 17, 18).



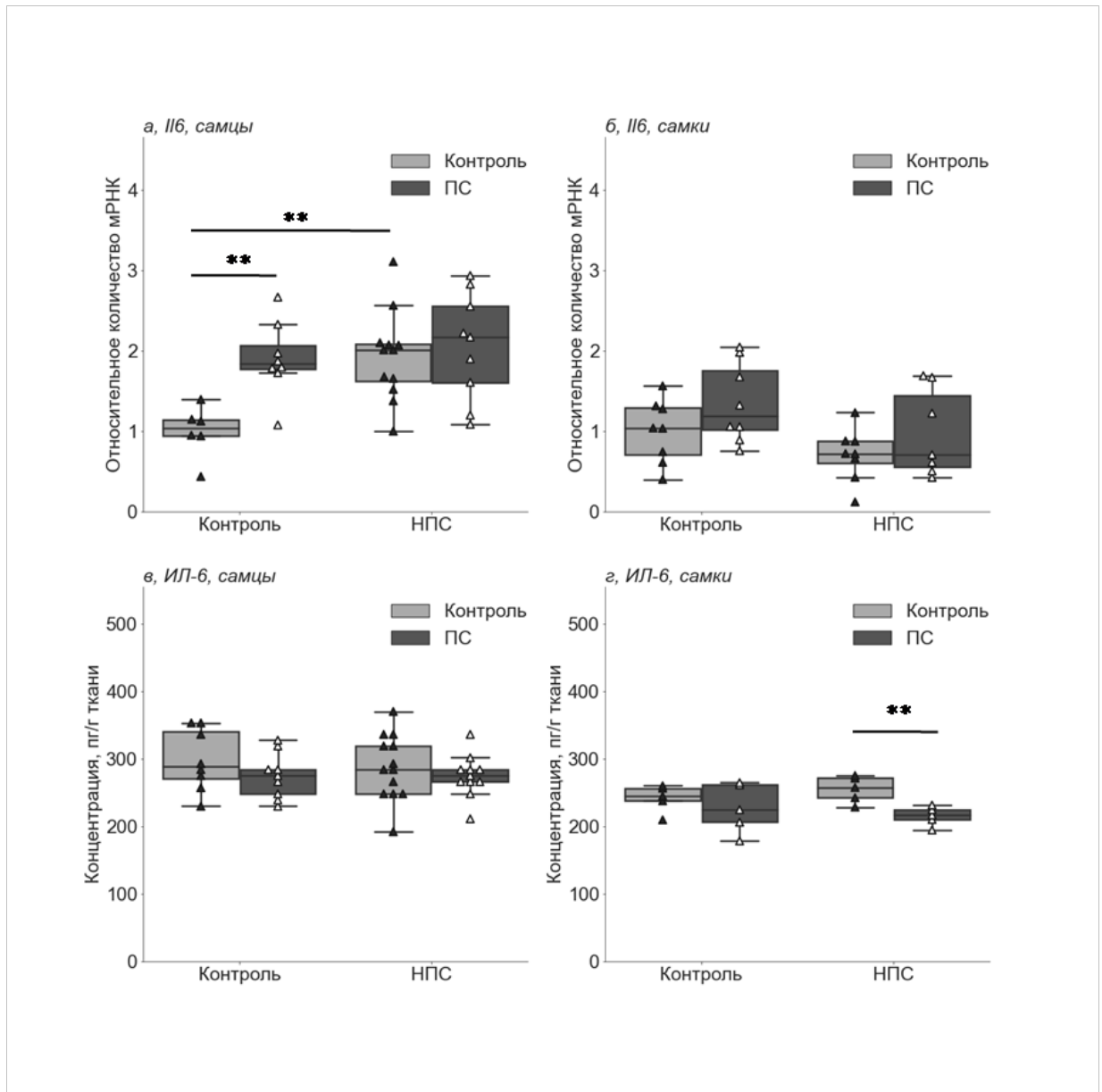
**Рисунок 17. Влияние НПС и ПС на экспрессию мРНК *Il1b* в гиппокампе взрослых крыс**



**Рисунок 18. Влияние НПС и ПС на экспрессию мРНК *Il1b* во фронтальной коре взрослых крыс**

#### 6.1.2.3.2. Влияние НПС и ПС на экспрессию мРНК *Il6* и накопление белка ИЛ-6 в гиппокампе взрослых крыс

Мы обнаружили, что в гиппокампе взрослых самцов крыс, перенесших НПС, экспрессия мРНК *Il6* была выше, чем у контрольных животных независимо от того, были они подвергнуты ПС или нет (увеличение в 1,94 раза  $p=0,008$  и увеличение в 1,77 раза  $p=0,003$ , соответственно; тест Манна-Уитни). Однако этот эффект не сопровождался изменением концентрации белка ИЛ-6 в гиппокампе взрослых самцов. НПС модифицировал реакцию на острый стресс и предотвращал повышение экспрессии мРНК *Il6* в гиппокампе самцов в ответ на ПС. Не было выявлено влияния НПС, ПС и их сочетания на экспрессию мРНК этого цитокина у самок, однако, НПС изменял реакцию на острый стресс у самок и приводил к снижению в 1,2 раза концентрации белка ИЛ-6 в гиппокампе под действием ПС ( $p=0,014$ ) (Рисунок 19).

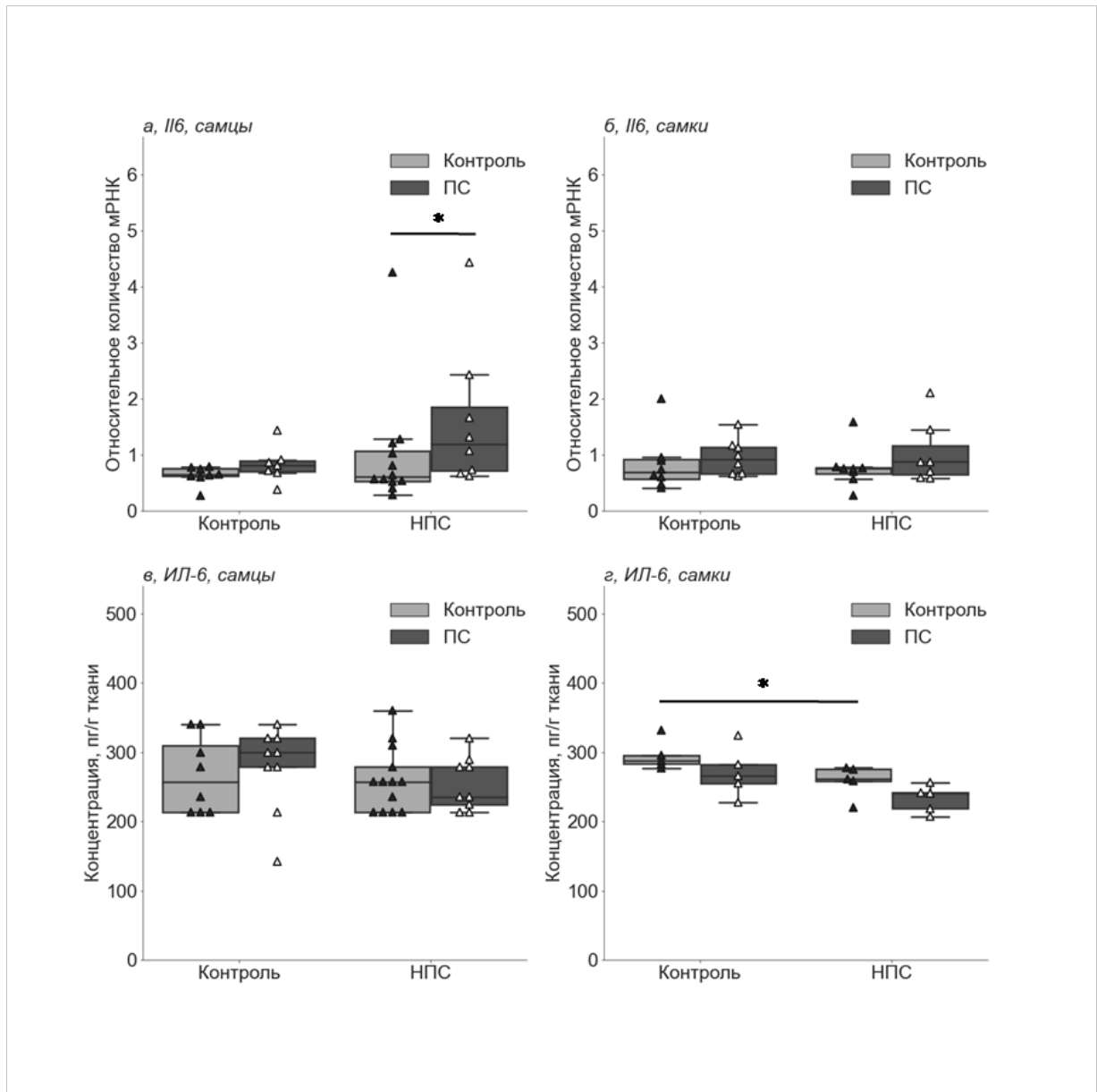


**Рисунок 19. Влияние НПС и ПС на экспрессию мРНК *ИЛ-6* и накопление белка ИЛ-6 в гиппокампе взрослых крыс. \*\* -  $p < 0,017$ , тест Манна-Уитни.**

НПС и ПС не влияли на экспрессию мРНК *ИЛ-6* во фронтальной коре взрослых самцов крыс сами по себе, но НПС изменял реакцию самцов на острый стресс и приводил к появлению тенденции ( $p = 0,025$ , тест Манна-Уитни) к повышению экспрессии в 2,5 раза под действием ПС. Не было выявлено влияния НПС и ПС на экспрессию мРНК *ИЛ-6* во фронтальной коре взрослых самок крыс.

Не было выявлено влияния НПС и ПС на накопление белка ИЛ-6 во фронтальной коре взрослых самцов крыс. Была выявлена тенденция ( $p = 0,021$ ) к снижению экспрессии

мРНК *Il6* в 1,09 раза во фронтальной коре взрослых самок крыс подвергнутых НПС (Рисунок 20).

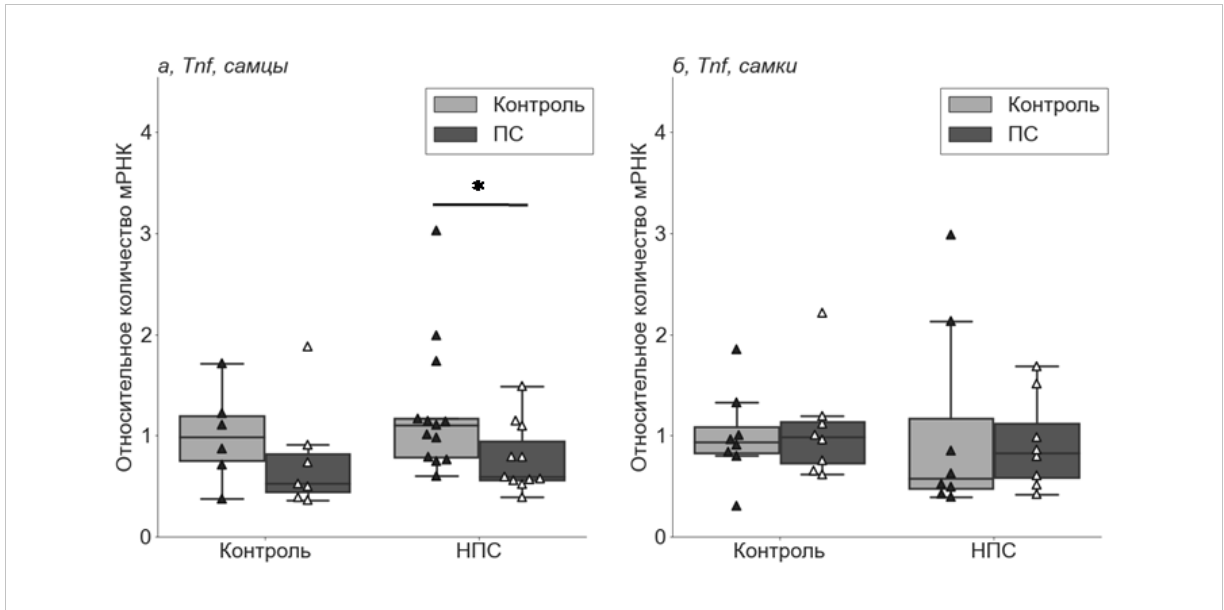


**Рисунок 20. Влияние НПС и ПС на экспрессию мРНК *Il6* и накопление белка ИЛ-6 во фронтальной коре взрослых крыс. \* -  $p < 0,05$ , тест Манна-Уитни.**

#### 6.1.2.3.3. Влияние НПС и ПС на экспрессию мРНК *Tnf* в гиппокампе и фронтальной коре взрослых крыс

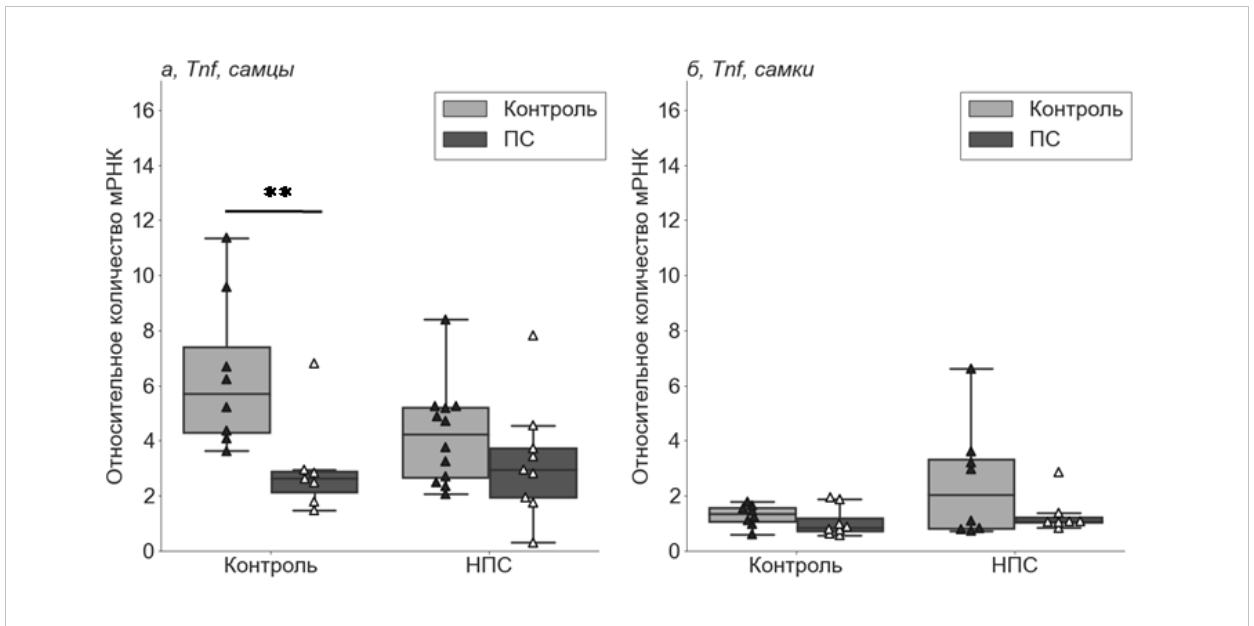
НПС и ПС не приводили к достоверному изменению экспрессии мРНК *Tnf* в гиппокампе взрослых самцов, но НПС изменял реакцию самцов на острый стресс и приводил к появлению тенденции к снижению этого параметра в 1,85 раза под действием

ПС ( $p=0,027$ , тест Манна-Уитни, Рис 3Д). Не было выявлено влияния НПС и ПС на экспрессию мРНК *Tnf* в гиппокампе взрослых самок (Рисунок 21).



**Рисунок 21. Влияние НПС и ПС на экспрессию мРНК *Tnf* в гиппокампе взрослых крыс. \* -  $p < 0,05$ , тест Манна-Уитни**

ПС приводил к снижению в 2,17 раза ( $p=0,012$ , тест Манна-Уитни) экспрессии мРНК *Tnf* во фронтальной коре самцов взрослых крыс. Влияния НПС не было выявлено. Не было выявлено влияния НПС и ПС на экспрессию мРНК *Tnf* во фронтальной коре взрослых самок крыс (Рисунок 22).

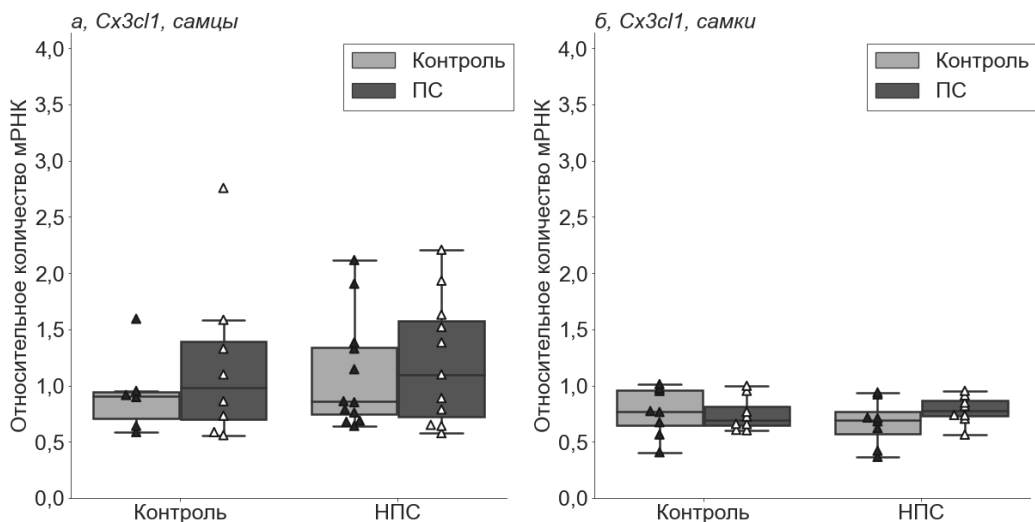


**Рисунок 22.** Влияние НПС и ПС на экспрессию мРНК *Tnf* в фронтальной коре взрослых крыс. \*\* -  $p < 0,017$ , тест Манна-Уитни.

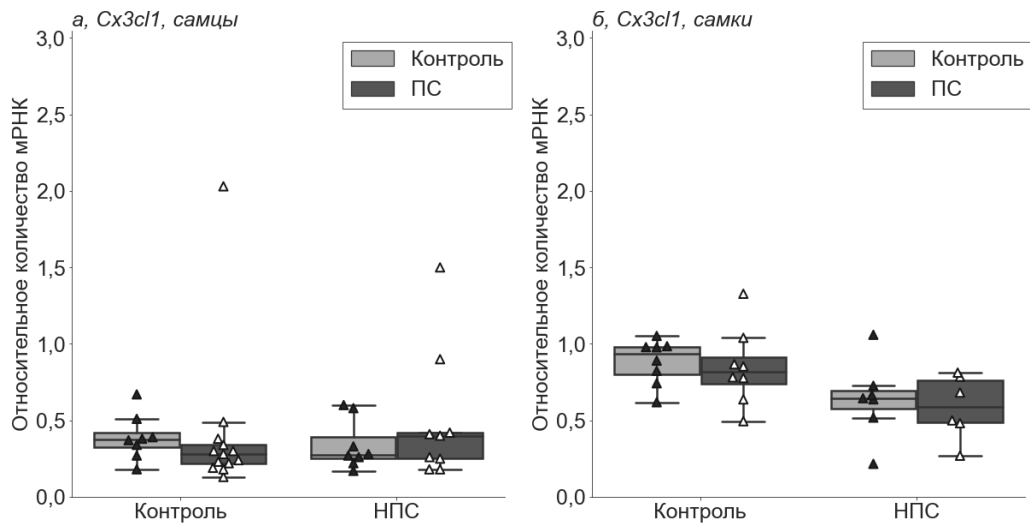
#### 6.1.2.3.4. Влияние НПС и ПС на экспрессию мРНК *Cx3cl1* и *Cx3cr1* в гиппокампе и фронтальной коре взрослых крыс

•

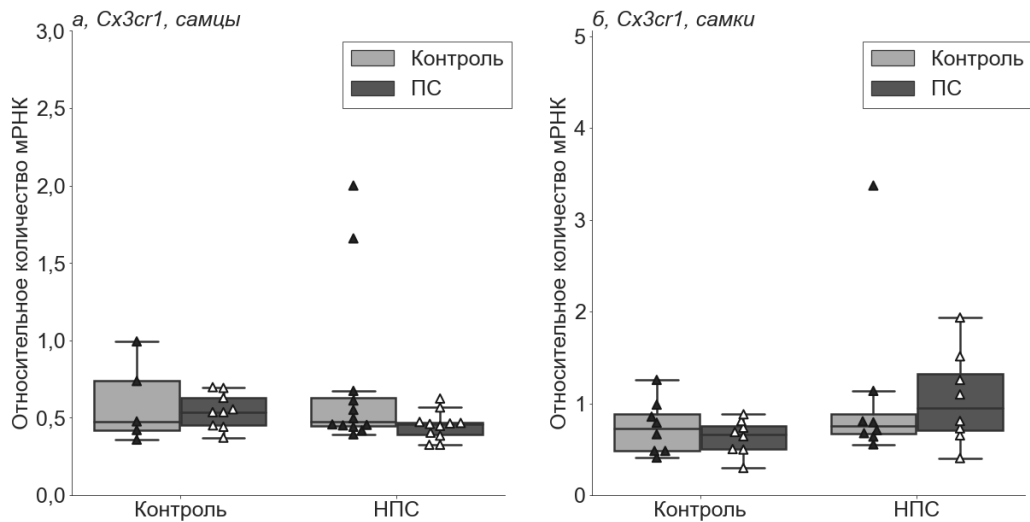
Не было выявлено влияния НПС и ПС на экспрессию мРНК *Cx3cl1* и *Cx3cr1* в гиппокампе и фронтальной коре взрослых самцов и самок крыс (Рисунок 23, 24, 25, 26).



**Рисунок 23.** Влияние НПС и ПС на экспрессию мРНК *Cx3cl1* в гиппокампе взрослых крыс.

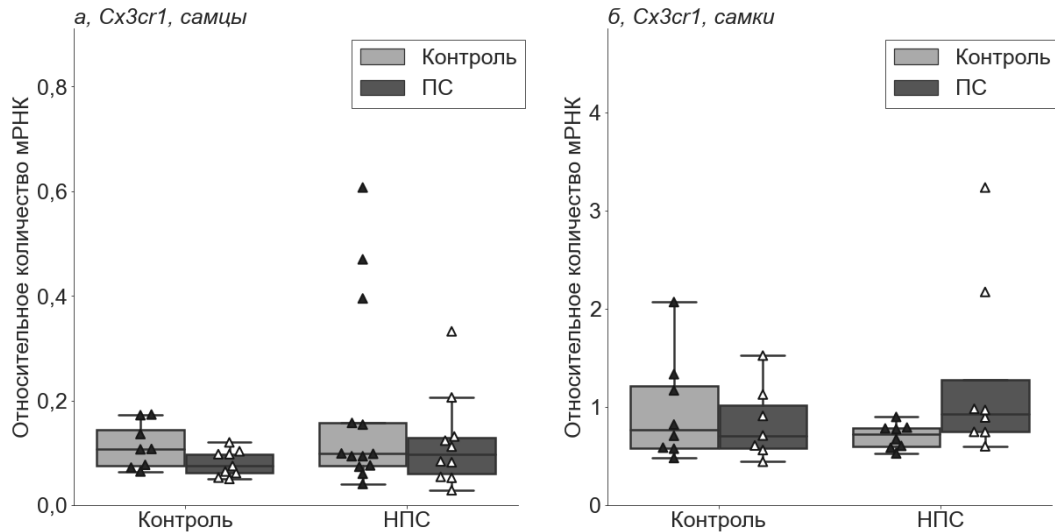


**Рисунок 24. Влияние НПС и ПС на экспрессию мРНК *Sx3cl1* во фронтальной коре взрослых крыс.**



**Рисунок 25. Влияние НПС и ПС на экспрессию мРНК *Sx3cr1* в гиппокампе взрослых крыс.**





**Рисунок 26. Влияние НПС и ПС на экспрессию мРНК *Cx3cr1* во фронтальной коре взрослых крыс.**

#### 6.1.2.3.5. Выводы

Не было выявлено признаков острого нейровоспаления - НПС и ПС не приводили к повышению экспрессии мРНК *I1b*, *Tnf*, *Cx3cr1* в гиппокампе и фронтальной коре подопытных животных. Были выявлены признаки хронического нейровоспаления у самцов – НПС и ПС в равной степени повышали экспрессию мРНК *I1b* в гиппокампе. Во фронтальной коре самцов НПС приводил к появлению тенденции к повышению экспрессии этого гена под действием ПС. Несмотря на это, не было выявлено влияния НПС и ПС на концентрацию белка ИЛ-6 в исследованных структурах самцов крыс. Кроме того, ПС снижал экспрессию мРНК *Tnf* во фронтальной коре самцов крыс. У самок НПС приводил к появлению парадоксальной тенденции к снижению концентрации ИЛ-6 у животных подвергнутых ПС. Этот эффект не сопровождался изменениями экспрессии мРНК *I1b*. Кроме того, у самок была выявлена тенденция к снижению концентрации ИЛ-6 во фронтальной коре под действием НПС, не сопровождающаяся изменениями экспрессии мРНК *I1b*.

#### 6.1.2.4. Выводы

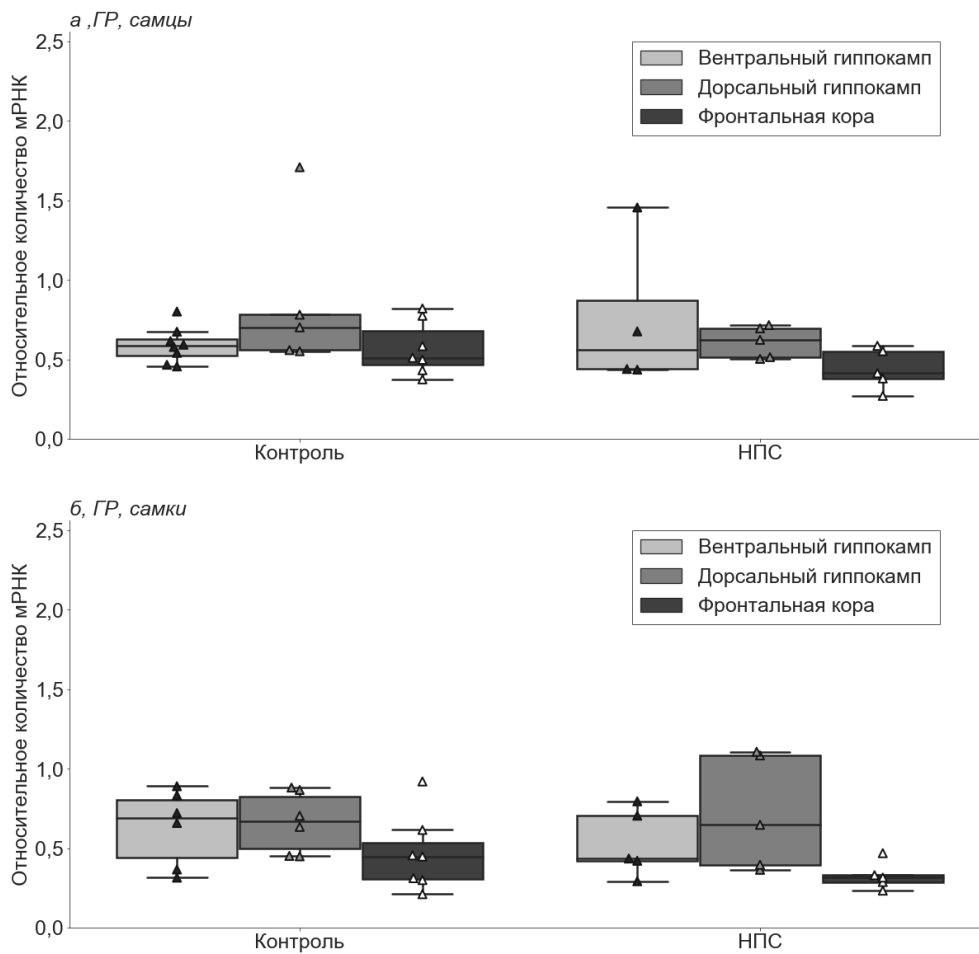
Таким образом, показано, что перенесенный НПС вызывает изменения экспрессии генов, ассоциированных с нейровоспалением и стресс-реактивностью, а также изменение реакции отделов мозга на стресс. Можно предположить, что под действием НПС и самцов развивается хроническое нейровоспаление, проявляющееся в виде увеличения экспрессии мРНК *Ilf*, что сопровождается развитием депрессивно-подобного поведения.

### **6.1.3. Исследование специфичных для отделов гиппокампа изменений экспрессии генов, сопряженных со стресс-реактивностью и нейровоспалением в латентном периоде развития депрессивно-подобного состояния у ювенильных крыс в возрасте 18 суток**

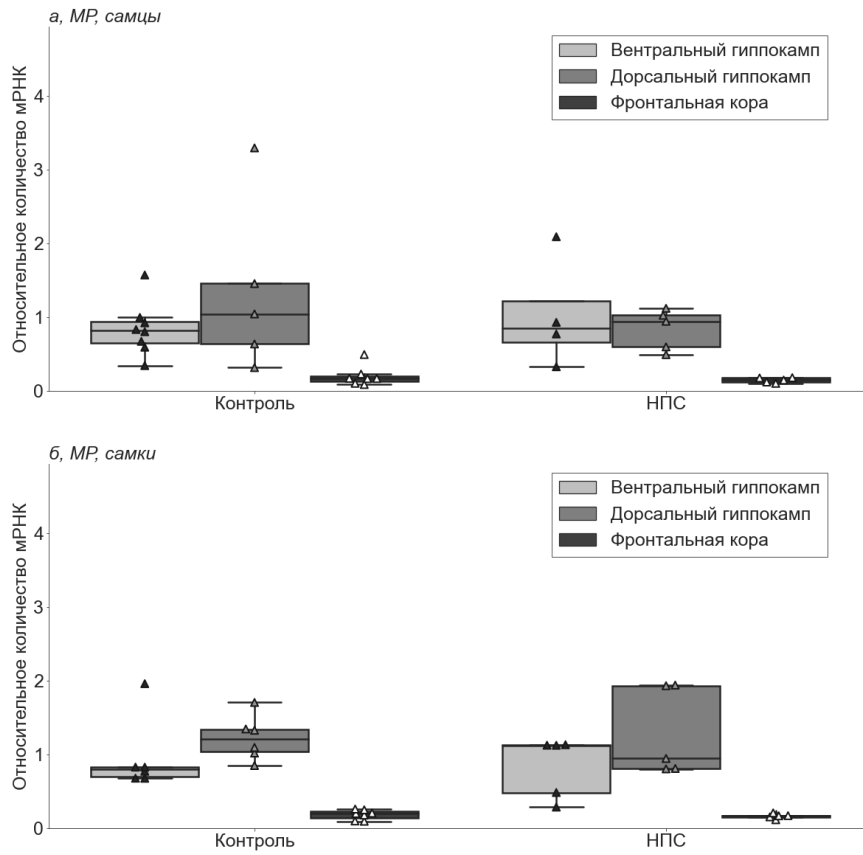
Для изучения возможных механизмов, участвующих в формировании предрасположенности к депрессивно-подобному поведению у взрослых животных, мы изучили влияние НПС на экспрессию генов, ассоциированных со стресс-реактивностью (*Nr3c1*, *Nr3c2*) и нейровоспалением (*Cx3cl1*, *Cx3cr1*) в ДГ и ВГ самцов и самок ювенильных крыс в возрасте 18 суток.

### 6.1.3.1. Экспрессия мРНК *Nr3c1* в ДГ, ВГ и фронтальной коре у ювенильных крыс

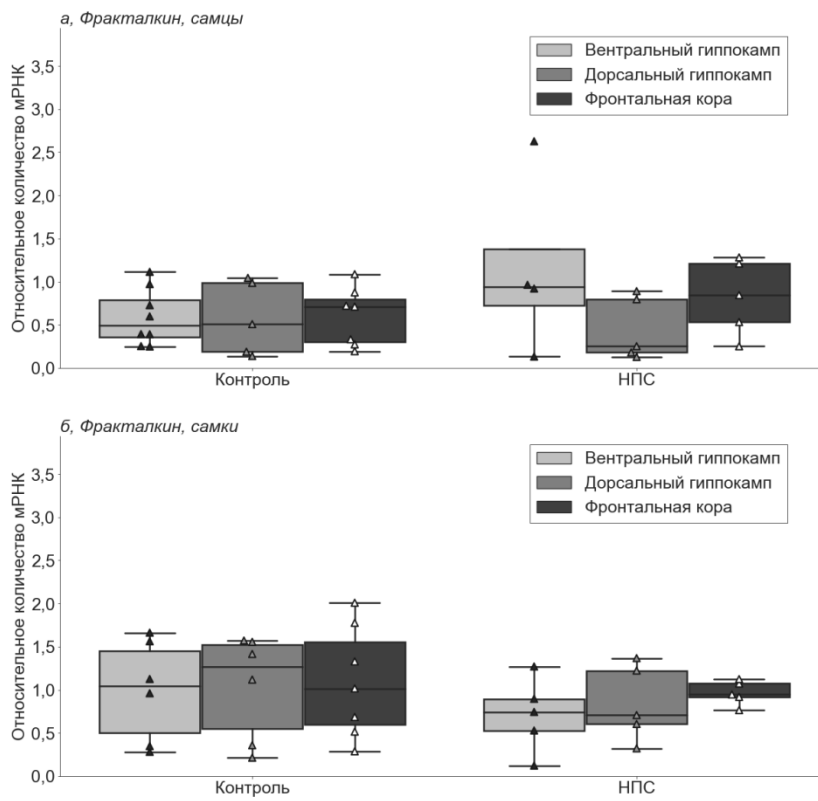
Не было выявлено влияния НПС на экспрессию мРНК *Nr3c1*, *Nr3c2*, *Cx3cl1*, *Cx3cr1* в дорсальном и вентральном гиппокампе а также во фронтальной коре ювенильных самцов и самок крыс (Рисунок 27, 28, 29, 30).



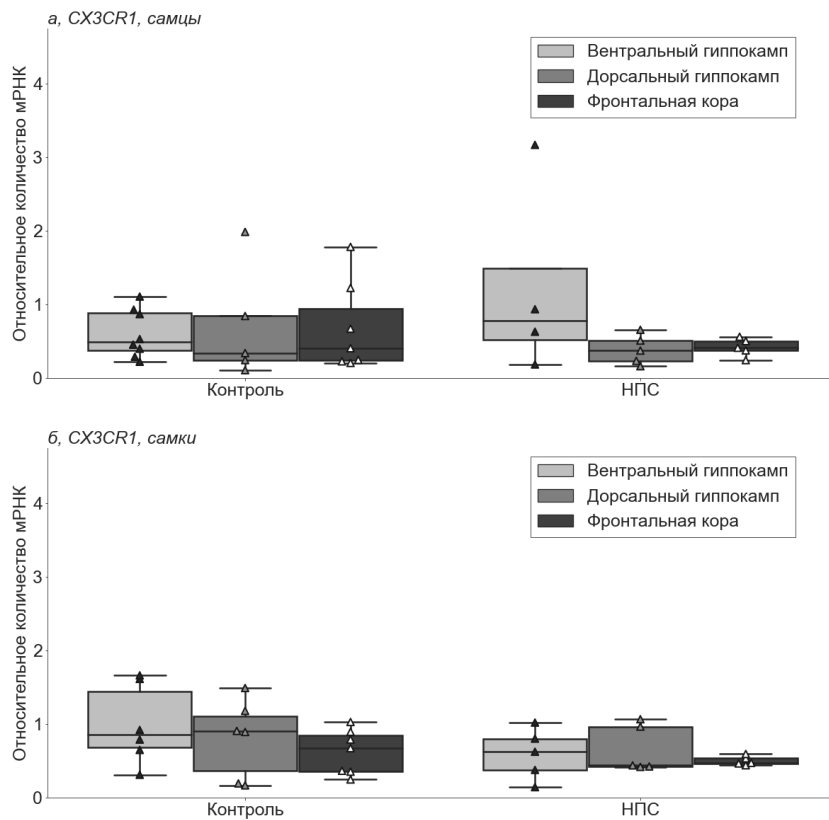
**Рисунок 27. Влияние НПС на экспрессию мРНК *Nr3c1* в ДГ, ВГ и фронтальной коре самцов и самок ювенильных крыс**



**Рисунок 28. Влияние НПС на экспрессию мРНК *Nr3c2* в ДГ, ВГ и фронтальной коре самцов и самок ювенильных крыс**



**Рисунок 29.** Влияние НПС на экспрессию мРНК *Cx3cl1* в ДГ, ВГ и фронтальной коре самцов и самок ювенильных крыс



**Рисунок 30. Влияние НПС на экспрессию мРНК *Cx3cr1* в ДГ, ВГ и фронтальной коре самцов и самок ювенильных крыс**

### 6.1.3.2. Выводы

Не было выявлено влияния НПС на экспрессию исследованных генов в ДГ, ВГ и фронтальной коре ювенильных крыс.

### 6.1.4. Исследование специфичных для отделов гиппокампа изменений экспрессии генов, сопряженных со стресс-реактивностью и нейровоспалением в латентном периоде развития депрессивно-подобного состояния у молодых крыс в возрасте 30 суток

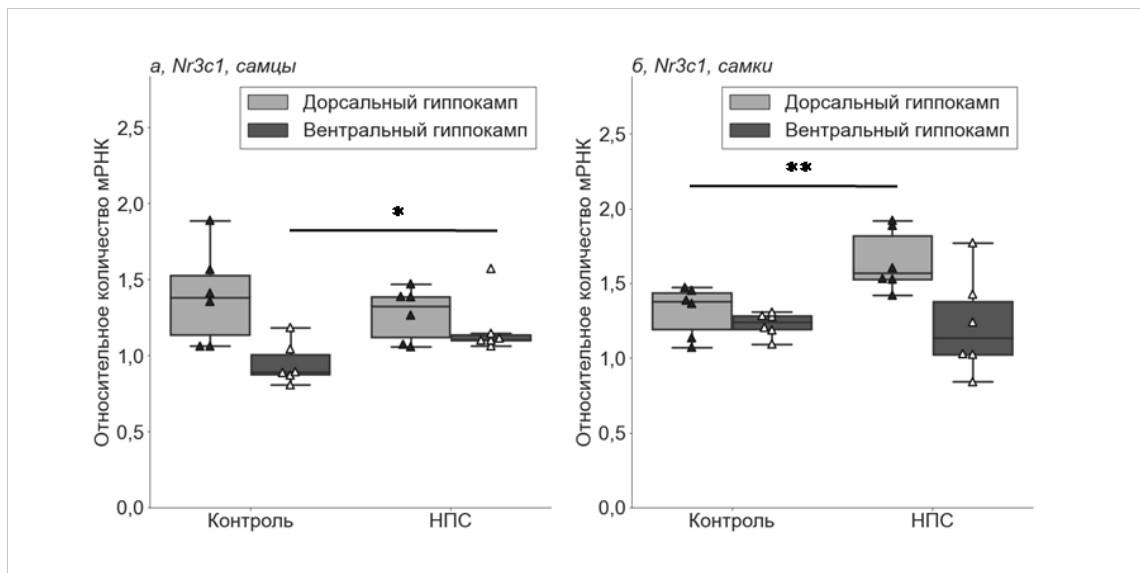
Для выяснения патогенетическим механизмов, было исследовано дифференциальное влияние НПС на экспрессию мРНК этих генов и накопление их белковых продуктов в дорсальном и вентральном отделах гиппокампа, а также в соматосенсорной и фронтальной коре молодых животных в возрасте 30 суток, т.е., во время латентного периода развития депрессивно-подобного состояния.

#### **6.1.4.1. Влияние НПС на уровень экспрессии стресс-ассоциированных генов в ДГ, ВГ, фронтальной и соматосенсорной коре молодых крыс**

Для изучения влияния НПС на систему реакции на стресс, было изучено влияние этих факторов на экспрессию мРНК *Nr3c1*, *Nr3c2*, *Crh*, *Crhr1*, *Crhr2* в ДГ, ВГ, фронтальной и соматосенсорной коре молодых самцов и самок крыс.

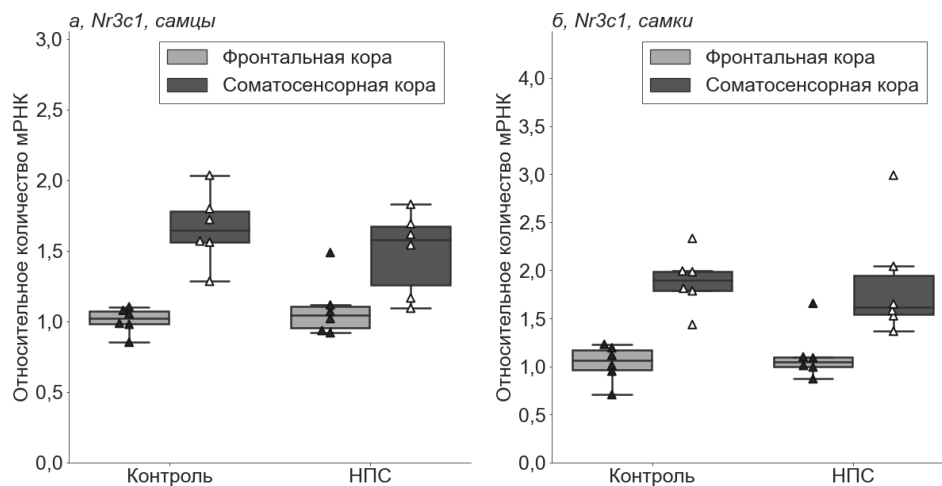
##### **6.1.4.1.1. Влияние НПС на экспрессию мРНК *Nr3c1* в ДГ, ВГ, фронтальной и соматосенсорной коре молодых крыс**

Была выявлена тенденция ( $p=0,045$ , тест Мана-Уитни) к повышению в 1,24 раза экспрессии мРНК *Nr3c1* в ВГ молодых самцов крыс под действием НПС. Было выявлено повышение ( $p=0,013$ , тест Манна-Уитни) в 1,14 раза экспрессии мРНК *Nr3c1* в ДГ молодых самок крыс под действием НПС (Рисунок 31).



**Рисунок 31. Влияние НПС на экспрессию мРНК *Nr3c1* в ДГ и ВГ самцов и самок молодых крыс. \* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,017$ , тест Манна-Уитни.**

Не было выявлено влияния НПС на экспрессию мРНК *Nr3c1* во фронтальной и соматосенсорной коре самцов и самок молодых крыс (Рисунок 32).

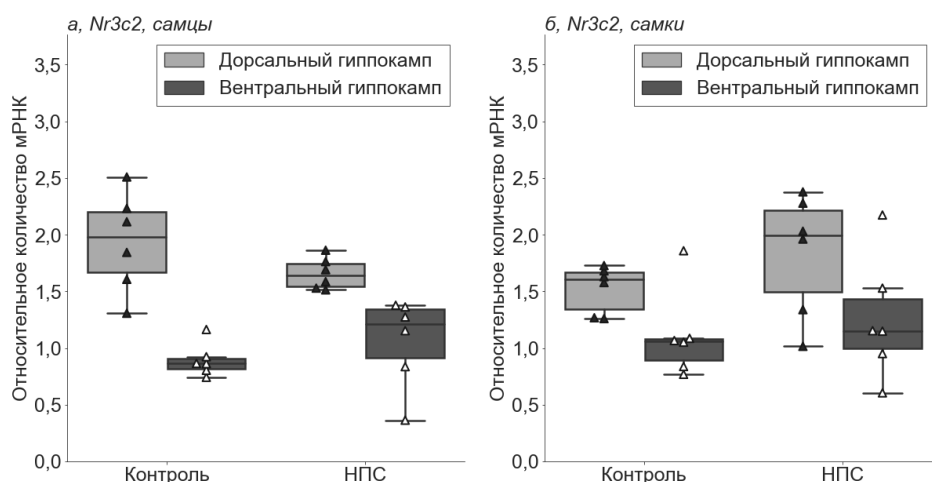


**Рисунок 32. влияние НПС на экспрессию мРНК *Nr3c1* во фронтальной и соматосенсорной коре самцов и самок молодых крыс**

#### 6.1.4.1.2. Влияние НПС на экспрессию мРНК *Nr3c2* в ДГ, ВГ, фронтальной и соматосенсорной коре молодых крыс

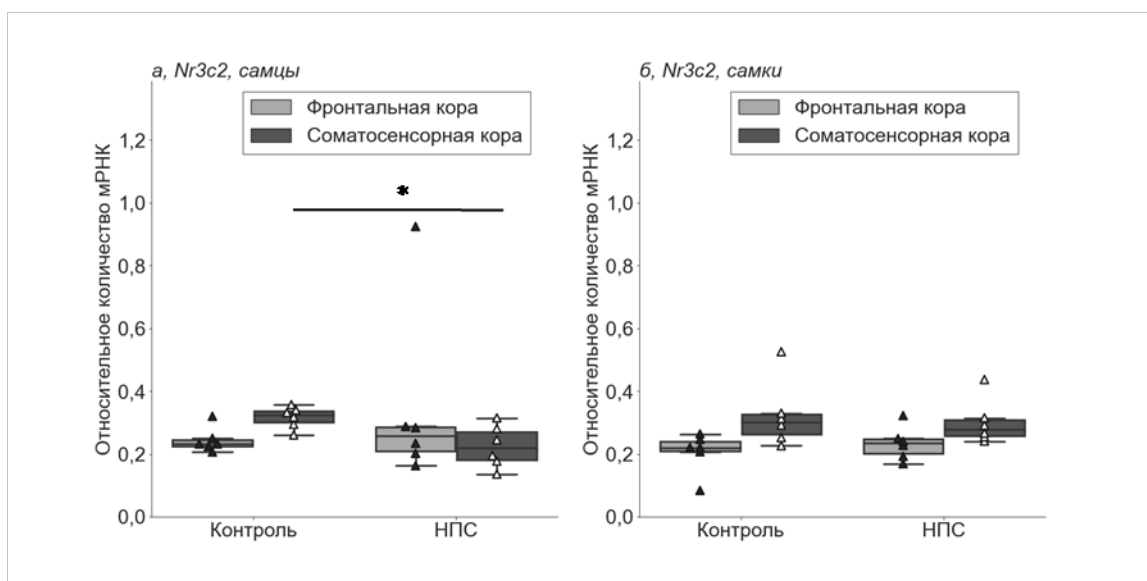


. Не выявлено влияния НПС на экспрессию мРНК *Nr3c2* в ДГ, ВГ молодых самцов и самок крыс (Рисунок 33).



**Рисунок 33. Влияние НПС на экспрессию мРНК *Nr3c2* в ДГ и ВГ самцов и самок молодых крыс**

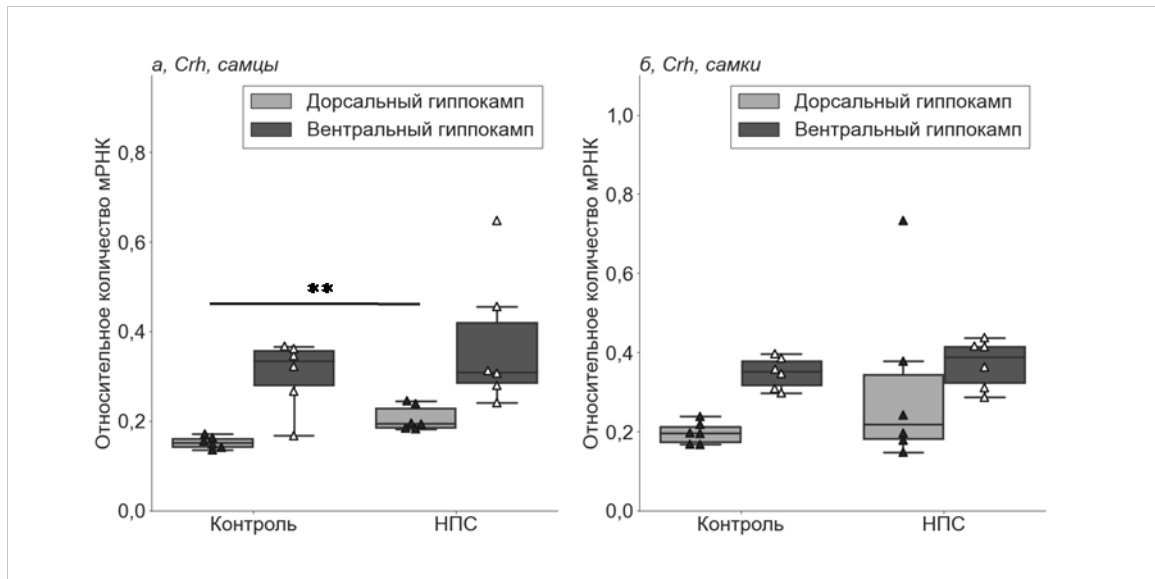
Была выявлена тенденция ( $p=0,02$ , тест Манна-Уитни) к снижению в 1,47 раза экспрессии мРНК *Nr3c2* в соматосенсорной коре молодых самцов под действием НПС. Не выявлено влияния НПС на экспрессию мРНК *Nr3c2* во фронтальной коре молодых самцов и во фронтальной и соматосенсорной коре молодых самок (Рисунок 34).



**Рисунок 34. влияние НПС на экспрессию мРНК *Nr3c2* во фронтальной и соматосенсорной коре самцов и самок молодых крыс. \* -  $p<0,05$ , тест Манна-Уитни.**

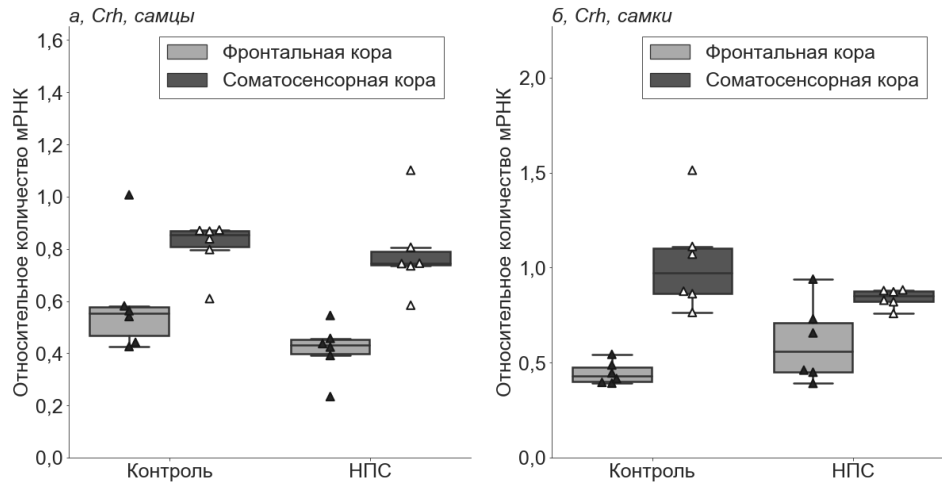
### 6.1.4.1.3. Влияние НПС на экспрессию мРНК *Crh* в ДГ, ВГ, фронтальной и соматосенсорной коре молодых крыс

Было выявлено повышение в 1,28 раза ( $p=0,005$ , тест Манна-Уитни) экспрессии мРНК *Crh* в ДГ молодых самцов крыс под действием НПС. Не выявлено влияния НПС на экспрессию мРНК *Crh* в ВГ молодых самцов и в ДГ и ВГ молодых самок. (Рисунок 35).



**Рисунок 35.** Влияние НПС на экспрессию мРНК *Crh* в ДГ и ВГ молодых самцов и самок крыс. \*\* -  $<0,017$ , тест Манна-Уитни.

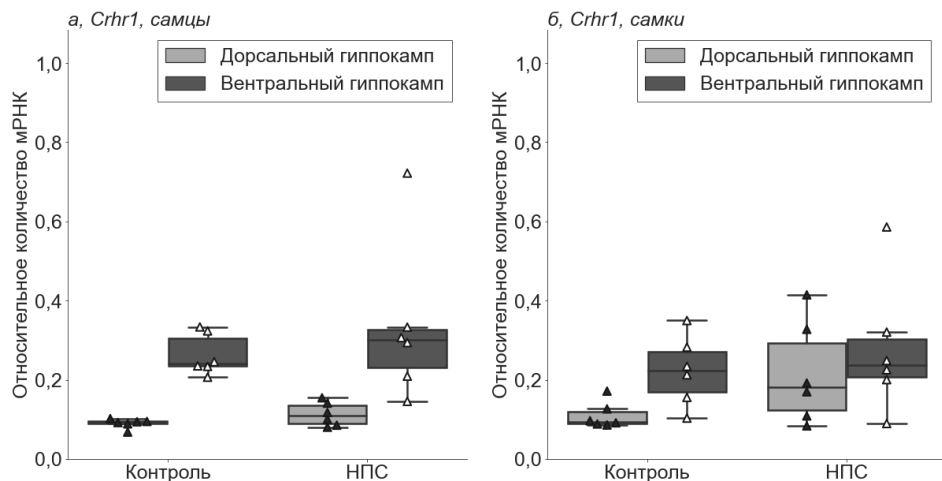
Не было выявлено влияния НПС на экспрессию мРНК *Crh* во фронтальной и соматосенсорной коре самцов и самок молодых крыс (Рисунок 36).



**Рисунок 36.** Влияние НПС на экспрессию мРНК *Crh* во фронтальной и соматосенсорной коре молодых самцов и самок крыс

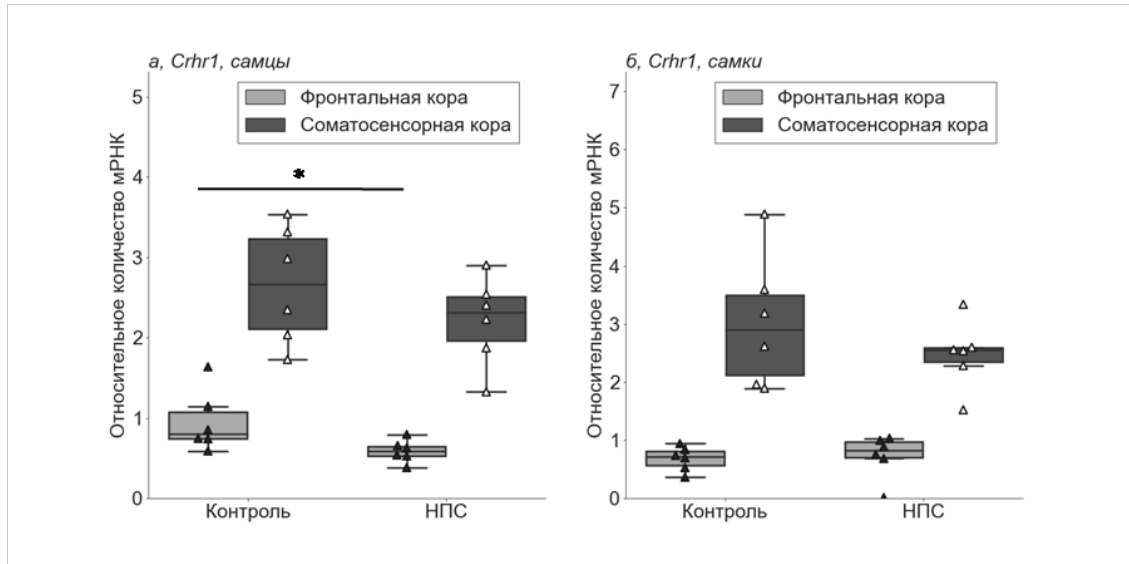
#### 6.1.4.1.4. Влияние НПС на экспрессию мРНК *Crhr1* в ДГ, ВГ, фронтальной и соматосенсорной коре молодых крыс

Не было выявлено влияния НПС на экспрессию мРНК *Crhr1* в ВГ и ДГ молодых самцов и самок крыс (Рисунок 37).



**Рисунок 37.** Влияние НПС на экспрессию мРНК *Crhr1* в ВГ и ДГ молодых самцов и самок крыс.

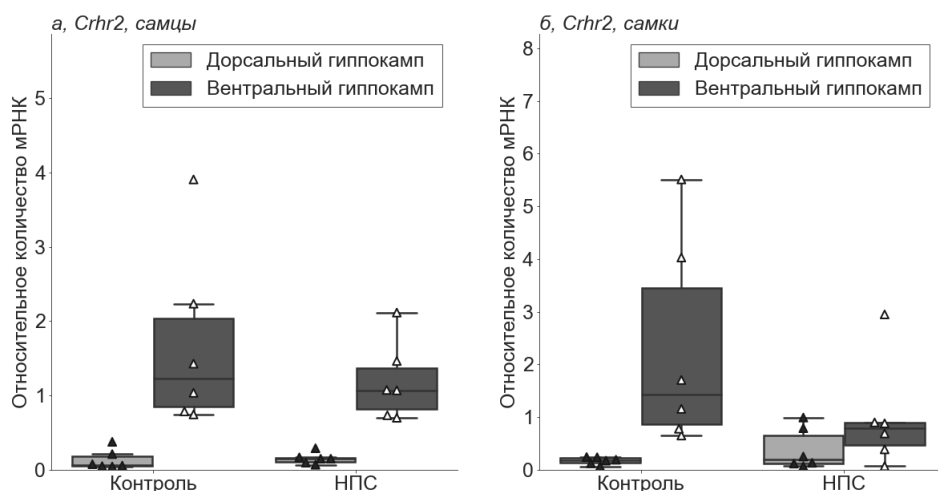
Была выявлена тенденция к снижению в 1,37 раза ( $p=0,045$ , тест Манна-Уитни) экспрессии мРНК во фронтальной коре молодых самцов крыс. Не было выявлено влияния НПС на экспрессию мРНК *Crhr1* в соматосенсорной коре молодых самцов и во фронтальной и соматосенсорной коре молодых самок крыс (Рисунок 38).



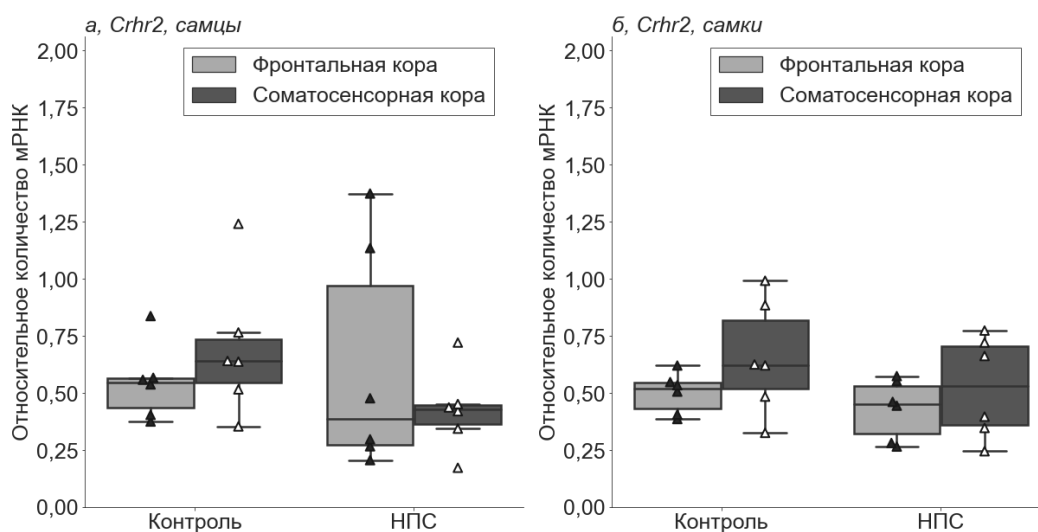
**Рисунок 38. Влияние НПС на экспрессию мРНК *Crhr1* во фронтальной и соматосенсорной коре молодых самцов и самок крыс. \* -  $p < 0,05$ , тест Манна-Уитни.**

#### 6.1.4.1.5. Влияние НПС на экспрессию мРНК *Crhr2* в ДГ, ВГ, фронтальной и соматосенсорной коре молодых крыс

Не было выявлено влияния НПС на экспрессию мРНК *Crhr2* в ДГ и ВГ, а также во фронтальной и соматосенсорной коре молодых самцов и самок крыс (Рисунки 39, 40).



**Рисунок 39.** Влияние НПС на экспрессию мРНК *Crhr2* в ВГ и ДГ молодых самцов и самок крыс



**Рисунок 40.** Влияние НПС на экспрессию мРНК *Crhr2* во фронтальной и соматосенсорной коре молодых самцов и самок крыс

#### 6.1.4.1.6. Выводы

Была показана зависимость влияния НПС на экспрессию рецепторов ГКС от пола крыс. У самцов выявлена тенденция к повышению экспрессии мРНК *Nr3c1* в ВГ, в то время как у самок происходит повышение экспрессии мРНК этого рецептора в ДГ. Не

выявлено влияния НПС на экспрессию мРНК *Nr3c2* за исключением тенденции к повышению его экспрессии в соматосенсорной коре молодых самцов.

НПС приводил к повышению экспрессии мРНК *Crh* в ДГ молодых самцов и к снижению экспрессии его рецептора *Crhr1* во фронтальной коре. Влияния НПС на экспрессию мРНК генов системы КРГ в исследованных отделах мозга молодых самок не выявлено.

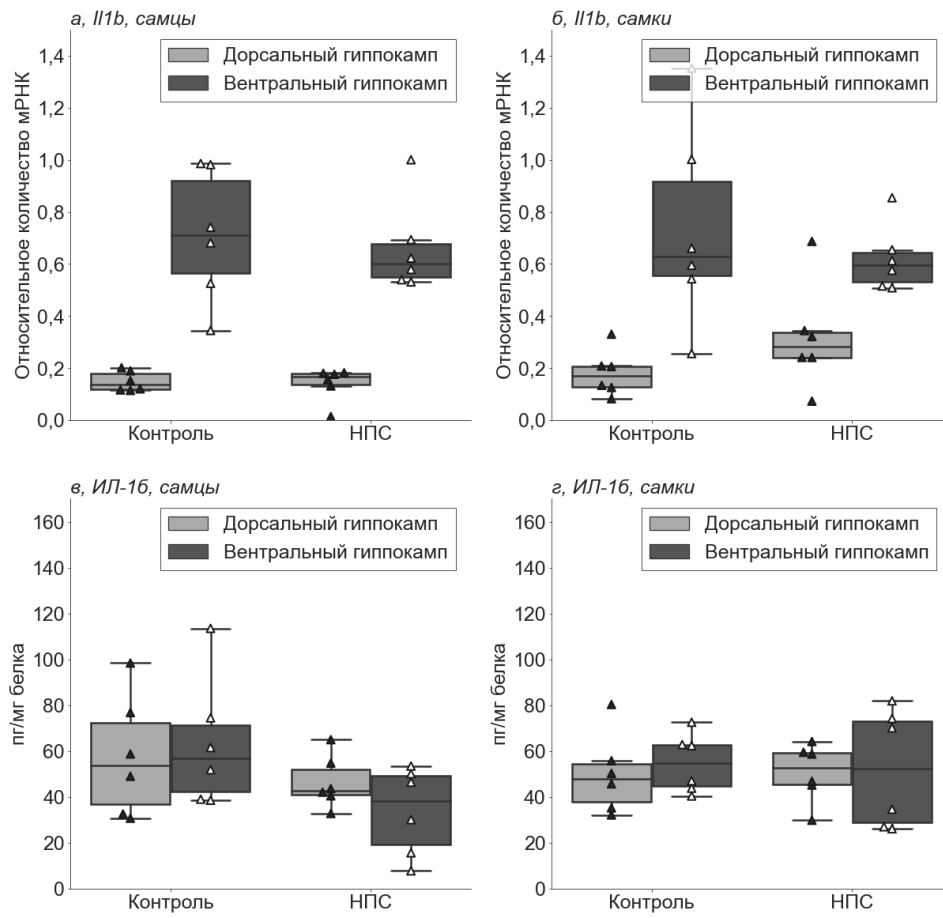
#### **6.1.4.2. Влияние НПС на уровень экспрессии генов, ассоциированных с нейровоспалением, в ДГ, ВГ, фронтальной и соматосенсорной коре молодых крыс**

Для оценки признаков развития нейровоспаления под действием НПС было исследовано влияние этих факторов на экспрессию мРНК *Il1b*, *Il6*, *Il10*, *Tnf*, *Cx3cl1*, *Cx3cr1*, а также на концентрацию белков ИЛ-1 $\beta$  и фракталкина в ДГ, ВГ, фронтальной и соматосенсорной коре молодых самцов и самок крыс.

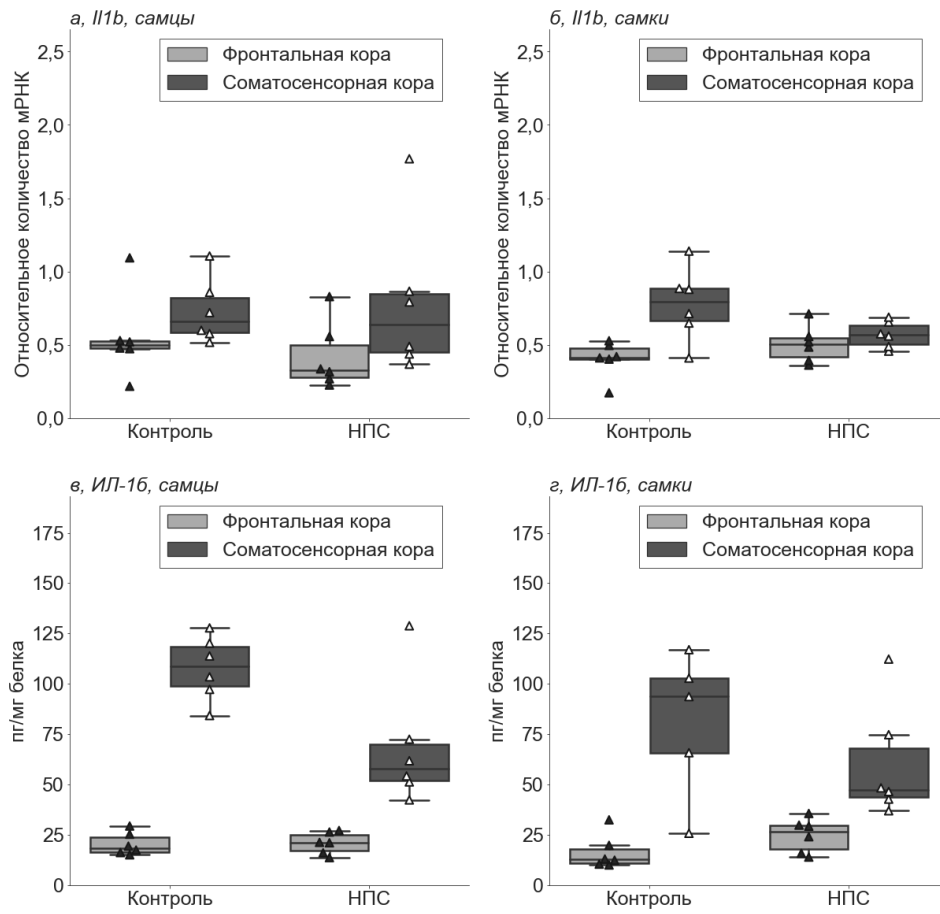
Экспрессия мРНК *Il10* была ниже порога детекции метода во всех образцах.

##### **6.1.4.2.1. Влияние НПС на экспрессию мРНК *Il1b*, *Il6*, *Tnf* и на накопление белка ИЛ-1 $\beta$ в ДГ, ВГ, фронтальной и соматосенсорной коре молодых крыс**

Не было выявлено влияния НПС на экспрессию мРНК *Il1b*, *Il6*, *Tnf* и накопление белка ИЛ-1 $\beta$  в ДГ и ВГ, а также во фронтальной и соматосенсорной коре молодых самцов и самок крыс (Рисунки 41, 42, 43, 44, 45, 46).

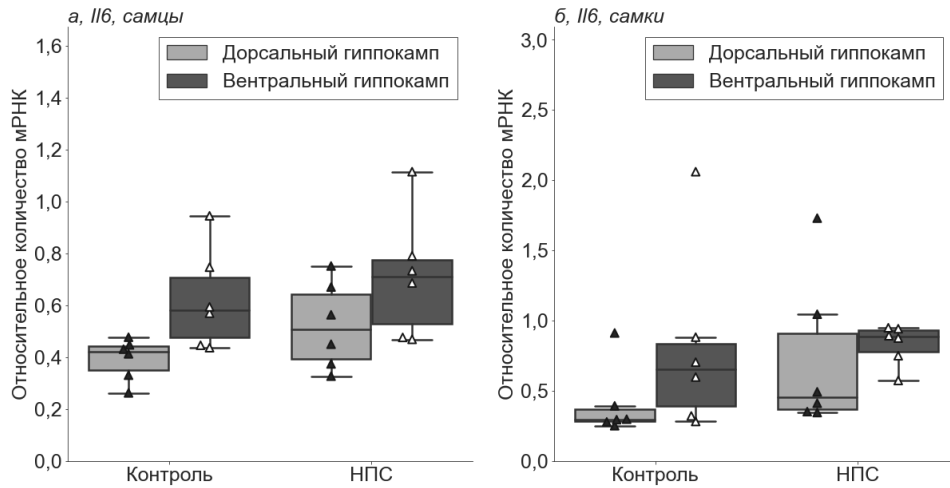


**Рисунок 41.** Влияние НПС на экспрессию мРНК *Il1b* и накопление белка ИЛ-1β в ДГ и ВГ молодых самцов и самок крыс.

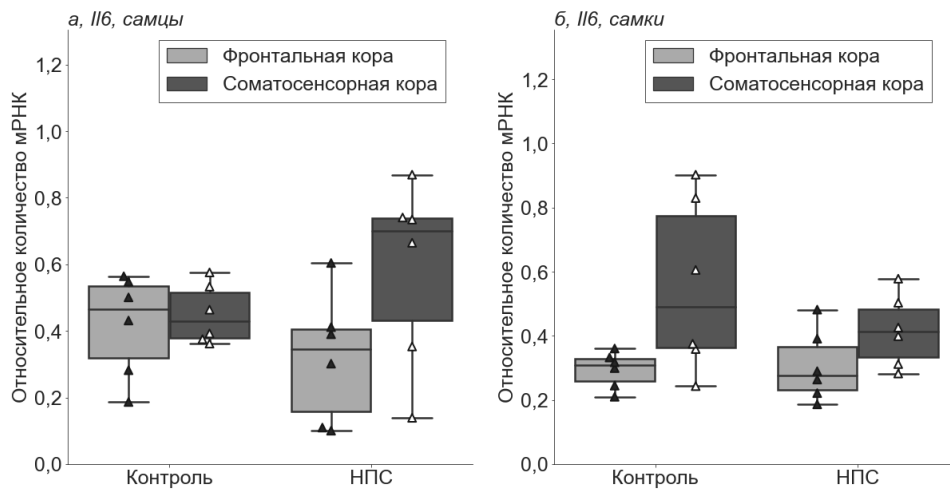


**Рисунок 42.** Влияние НПС на экспрессию мРНК мРНК *Il1b* и накопление белка ИЛ-1 $\beta$  во фронтальной и соматосенсорной коре молодых самцов и самок крыс.

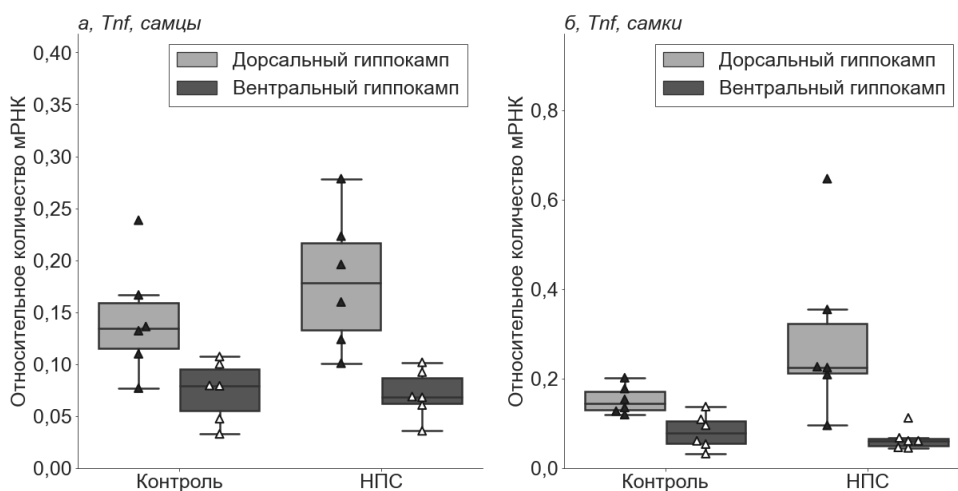




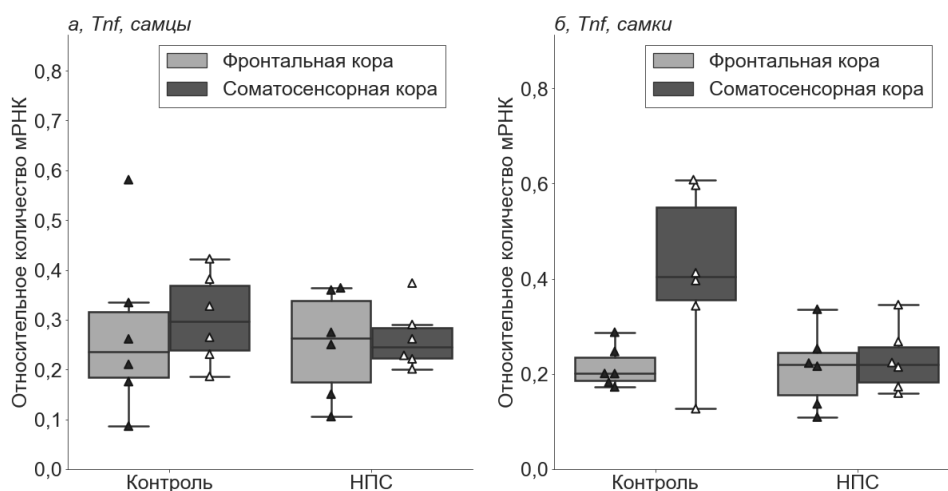
**Рисунок 43.** Влияние НПС на экспрессию мРНК *Il6* в ДГ и ВГ молодых самцов и самок крыс.



**Рисунок 44.** Влияние НПС на экспрессию мРНК *Il6* во фронтальной и соматосенсорной коре молодых самцов и самок крыс.



**Рисунок 45. Влияние НПС на экспрессию мРНК *Tnf* в ДГ и ВГ молодых самцов и самок крыс**

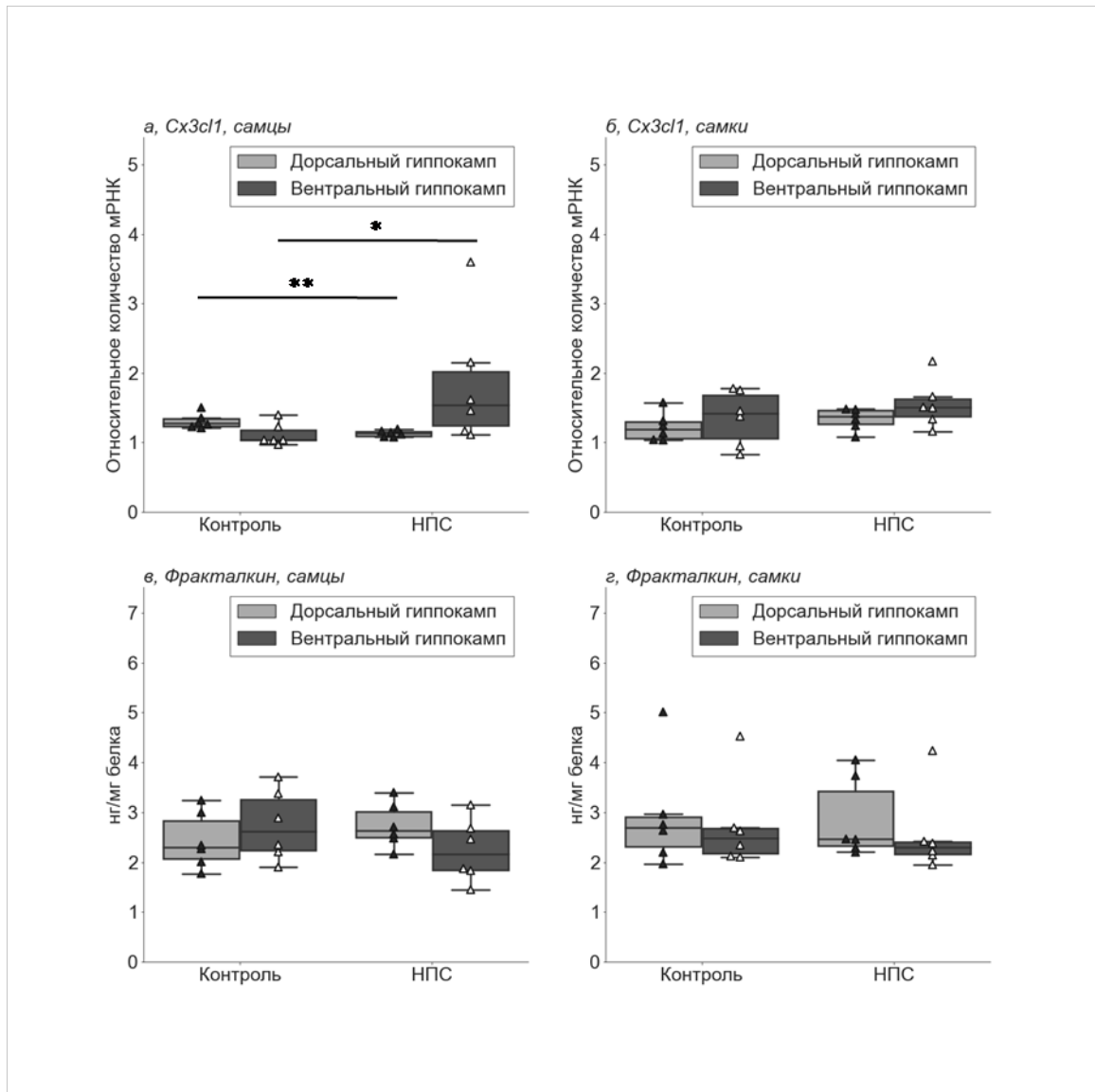


**Рисунок 46. Влияние НПС на экспрессию мРНК *Tnf* во фронтальной и соматосенсорной коре молодых самцов и самок крыс**

#### 6.1.4.2.2. Влияние НПС на экспрессию мРНК *Cx3cl1* и концентрацию белка фракталкина в ДГ, ВГ, фронтальной и соматосенсорной коре молодых крыс

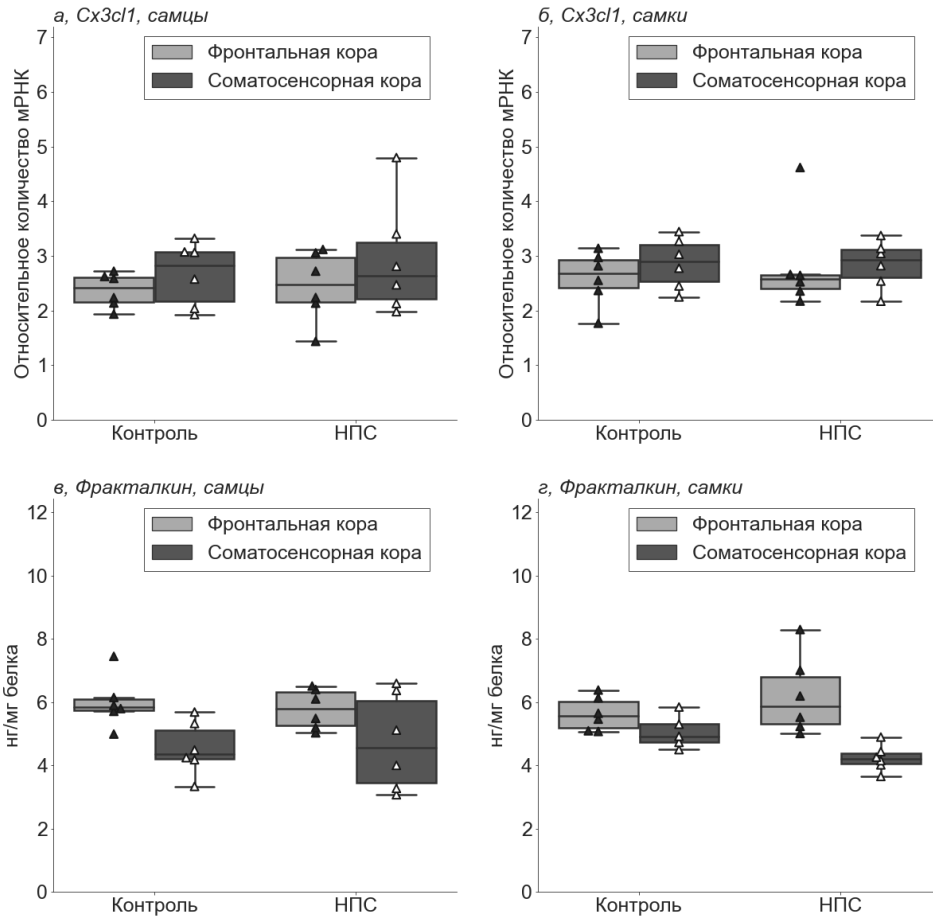
Были выявлены снижение экспрессии мРНК *Cx3cl1* в 1,12 раза в ДГ ( $p=0,005$ , тест Манна-Уитни) и тенденция к повышению экспрессии мРНК *Cx3cl1* в 1,49 раза ( $p=0,03$ , тест Манна-Уитни) в ВГ молодых самцов под действием НПС. Не было выявлено влияния НПС на концентрацию белка фракталкина в ДГ и ВГ молодых самцов. Не было выявлено

влияния НПС на экспрессию мРНК *Cx3cl1* и белка фракталкина в ДГ и ВГ молодых самок (Рисунок 47).



**Рисунок 47.** Влияние НПС на экспрессию мРНК *Cx3cl1* и содержание белка фракталкина в ДГ и ВГ молодых самцов и самок крыс. \* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,017$ , тест Манна-Уитни

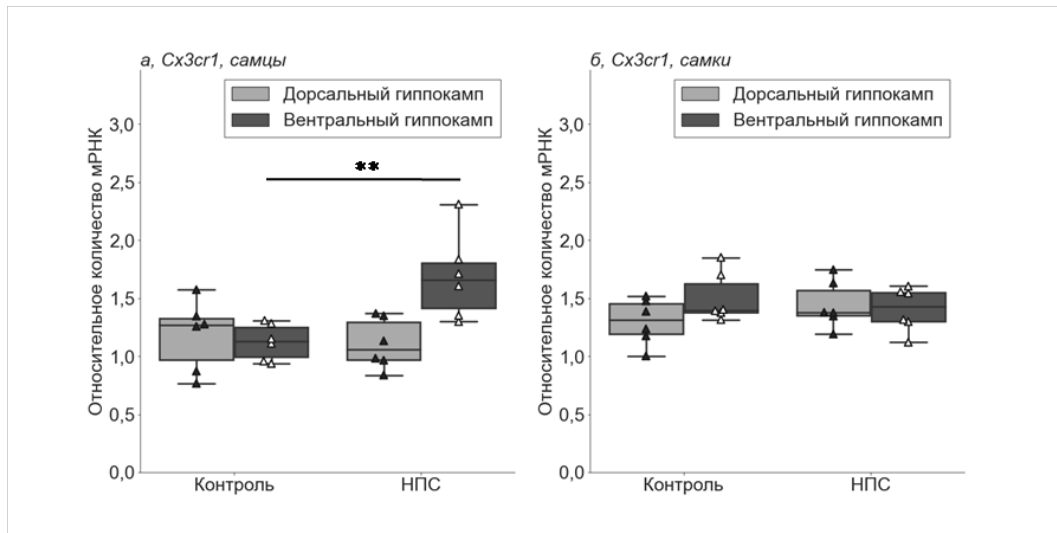
Не было выявлено влияния НПС на экспрессию мРНК *Cx3cl1* и белка фракталкина во фронтальной и соматосенсорной коре молодых самцов и самок крыс (Рисунок 48).



**Рисунок 48. Влияние НПС на экспрессию мРНК *Cx3cl1* и содержание белка фракталкина во фронтальной и соматосенсорной коре молодых самцов и самок крыс.**

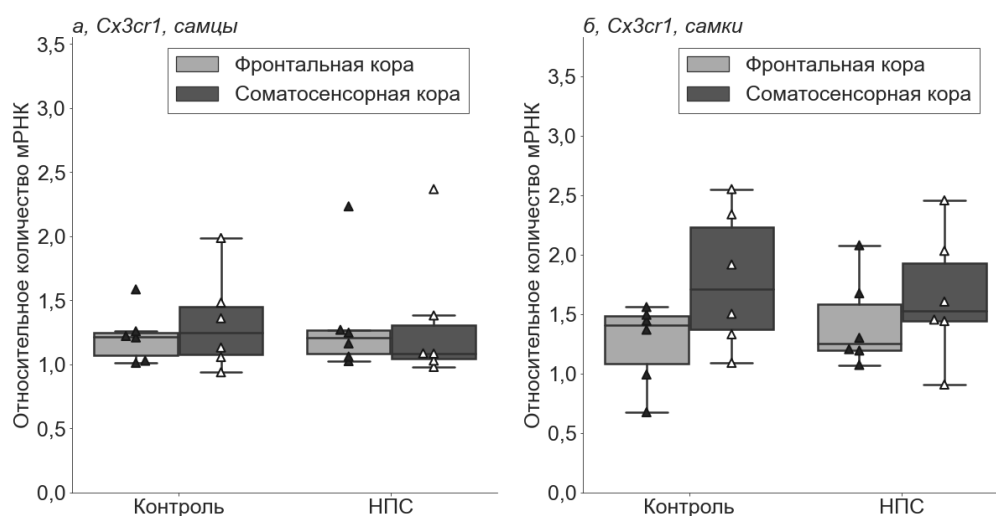
### 6.1.4.2.3. Влияние НПС на экспрессию мРНК *Cx3cr1* в ДГ, ВГ, фронтальной и соматосенсорной коре молодых крыс

Было выявлено повышение в 1,47 раза ( $p=0,008$ , тест Манна-Уитни) экспрессии мРНК *Cx3cr1* в ВГ молодых самцов крыс под действием НПС. Не было выявлено влияния НПС на экспрессию мРНК *Cx3cr1* в ДГ и ВГ молодых самок крыс (Рисунок 49).



**Рисунок 49.** Влияние НПС на экспрессию мРНК *Cx3cr1* в ДГ и ВГ молодых самцов и самок крыс. \*\* -  $p < 0,017$ , тест Манна-Уитни

Не было выявлено влияния НПС на экспрессию мРНК *Cx3cr1* во фронтальной и соматосенсорной коре молодых самцов и самок крыс (рисунок 50).



**Рисунок 50. Влияние НПС на экспрессию мРНК *Cx3cr1* во фронтальной и соматосенсорной коре молодых самцов и самок крыс**

#### 6.1.4.2.4. Выводы

Не было выявлено изменения экспрессии цитокинов под действием НПС. В то же время, у молодых самцов были выявлены специфичные для отделов гиппокампа разнонаправленные изменения *Cx3cll* и его рецептора *Cx3cr1*, что может указывать на изменения состояния системы взаимного контроля нейронов и микроглии. Тем не менее, изменения экспрессии гена *Cx3cll* не сопровождались изменениями концентрации белка фракталкина.

#### 6.1.4.3. Выводы

В этом эксперименте было показано специфическое для пола и отделов мозга самцов крыс влияние НПС на экспрессию ряда генов, ассоциированных со стресс-реактивностью (*Crh*, *Crhr1*) и нейровоспалением (*Cx3cll*, *Cx3cr1*). При этом, не было обнаружено развития нейровоспаления под действием НПС. У самок было выявлено единственное достоверное изменение экспрессии мРНК *Nr3c1*, что может быть связано с

большей устойчивостью самок крыс к индукции депрессивно-подобного состояния в этой модели.

#### 6.1.4.4. Таблицы эффектов НПС, ПС и их взаимного влияния у молодых и взрослых животных

Таблица 2. Эффекты НПС и ПС у животных в возрасте 107 суток

	НПС		ПС		Влияние НПС на эффекты ПС	
	самцы	самки	самцы	самки	самцы	самки
КС		↑	↑↑	↑↑		
<i>Nr3c1</i>						
ГР						ГК↓, ФК↓↓
<i>Nr3c2</i>	ФК↓		ФК↓			
МР						ГК↓↓
<i>Crh</i>						
<i>Crhr1</i>						ФК↓
<i>Crhr2</i>		ФК↑				
<i>Il1b</i>						
<i>Il6</i>	ГК↑↑		ГК↑↑			ФК↑
ИЛ-6			ФК↓			ГК↓↓
<i>Tnf</i>			ФК↓↓		ГК↓	
<i>Cx3cl1</i>						
<i>Cx3cr1</i>						

КС – кортикостерон в сыворотке крови, ГК – гиппокамп, ФК – фронтальная кора. ↑, ↓ -  $p < 0,05$ ; ↑↑, ↓↓ -  $p < 0,017$

**Таблица 3. Эффекты НПС у животных в возрасте 30 суток**

	НПС	
	самцы	самки
<i>Nr3c1</i>	ВГ↑	ДГ↑↑
<i>Nr3c2</i>	ССК↓	
<i>Crh</i>	ДГ↑↑	
<i>Crhr1</i>	ССК↓	
<i>Crhr2</i>		
<i>Il1b</i>		
ИЛ-1β		
<i>Il6</i>		
<i>Tnf</i>		
<i>Cx3cl1</i>	ВГ↓↓, ДГ↑	
Фракталкин		
<i>Cx3cr1</i>	ВГ↑↑	

ДГ –дорсальный гиппокамп, ВГ – вентральный гиппокамп, ССК – соматосенсорная кора. ↑, ↓ -  $p < 0,05$ ; ↑↑, ↓↓ -  $p < 0,017$

## 7. Обсуждение полученных результатов

Депрессивное расстройство является одним из наиболее распространенных заболеваний в развитых странах и, согласно ВОЗ, депрессией болеют порядка 280 миллионов человек по всему миру. Наша работа базировалась на предположении, что активация иммунного ответа в ранний постнатальный период может являться одним из факторов, формирующих предрасположенность к развитию депрессивно-подобных состояний, и проверили данное предположение на животной модели. Мы обнаружили, что НПС действительно может быть фактором, изменяющим поведение животных, однако, используемые поведенческие тесты выявили формирование депрессивно-подобного поведения только у самцов. Возможно, что выявление особенностей изменений в поведении самок после НПС требует несколько иных подходов, например учета фазы эструса [Ma и др., 2019]. Предположение о том, что у самок также могут происходить определенные изменения в поведении во взрослом возрасте после НПС были основаны на наших данных по измерению уровня кортикостерона в крови. Кортикостерон является одним из гормонов, критически вовлеченных в развитие стрессовой реакции организма, и мы, в согласии с каноническими данными, обнаружили, что острый стресс (в нашем случае плавание в тесте Порсолта) приводил к значимому повышению уровня кортикостерона в крови у крыс обоих полов. Мы также обнаружили, что у животных,



подвергнутых НПС, этот стресс-индуцированный подъем кортикостерона отсутствует, аналогично тому, как это происходит у пациентов, страдающих от расстройств депрессивного спектра [Edwards и др., 2010]. Отсутствие подъема наблюдается как у самцов так и самок, что прямо указывает на то, что реакция ГГН-оси на острый стресс оказывается измененной под действием НПС вне зависимости от пола подопытных животных. Последнее говорит о том, что стресс-ассоциированное поведение, а, возможно, и устойчивость к действию продолжительного стресса должны изменяться как у самцов, так и у самок. Однако в нашей работе мы не проводили подобных исследований. В работе Brotto и др. было показано, что хроническое введение ГКС не вызывает у самок депрессивно-подобного поведения, в отличие от самок крыс в модели вынужденного плавания [Brotto, Gorzalka, Barr, 2001]. В нашем случае, у самок крыс была выявлена тенденция к повышению концентрации кортикостерона в сыворотке крови под действием НПС, что могло приводить к маскированию депрессивно-подобного поведения.

Важно также отметить, что, несмотря на сглаживание подъема кортикостерона в крови, индуцированного острым стрессом, после НПС уровень кортикостерона в крови в покое практически не меняется у животных обоего пола. Это очень важный аспект модели, который говорит о том, что наша модель лишь частично воспроизводит картину изменений, наблюдающихся у пациентов с депрессией, у которых наблюдается стойкое повышение уровня кортизола в покое. Тем не менее, спонтанное (не индуцированное острым стрессом) возникновение депрессивно-подобного поведения и сглаживание изменений в уровне кортикостерона после острого стресса схожи с развитием депрессивного расстройства у людей.

Несмотря на изменения концентрации кортикостерона в сыворотке в результате программирования НПС и ответ на острый стресс, концентрация кортикостерона в исследованных отделах мозга подопытных животных не менялась. Можно предположить, что системы контроля проникновения и метаболизма ГКС в мозге нивелировали эффекты изменения концентрации кортикостерона в крови.

В нашей работе мы попытались проследить, как в онтогенезе происходит формирование предрасположенности к развитию депрессивно-подобного поведения после НПС. Для этого мы выбрали несколько структур головного мозга: фронтальную и соматосенсорную кору головного мозга и гиппокамп, как структуры, чувствительные к гормонам стресса. НПС программировал последовательные, по мере взросления

подопытных животных, изменения экспрессии генов, ассоциированных с реакцией на стресс и нейровоспалением.

У крыс в возрасте 18 суток не было выявлено изменений экспрессии исследованных генов. У самцов в возрасте 30 суток были выявлены специфические для отделов гиппокампа изменения экспрессии мРНК гена *Crh* и его рецептора *Crhr1* а также тенденция к специфичному для отделов мозга изменению экспрессии мРНК генов *Nr3c1* и *Nr3c2*. Кроме того, у этих животных были выявлены изменения работы системы нейроиммунной коммуникации (специфические для отделов гиппокампа изменения экспрессии мРНК генов *Cx3cl1* и *Cx3cr1*), но не было выявлено признаков нейровоспаления. У самок крыс в возрасте 30 суток были выявлены специфичные для отделов гиппокампа изменения экспрессии мРНК гена *Nr3c1* и не было выявлено изменений экспрессии генов, ассоциированных с системой нейровоспаления. У самцов крыс в возрасте 107 суток была выявлена тенденция к снижению экспрессии мРНК гена *Nr3c1* в ответ на НПС и ПС во фронтальной коре. Кроме того, самцы демонстрировали повышение экспрессии мРНК гена *Ilf6* в ответ на ПС и НПС, при этом, НПС модифицировал ответ на ПС и предотвращал повышение экспрессии мРНК этого гена. У взрослых самок был выявлен широкий спектр модификаций реакции на острый стресс НПС: появлялось снижение экспрессии ГР в гиппокампе и фронтальной коре, МР в гиппокампе, ИЛ-6 в гиппокаме.

### 7.1. Эффекты НПС у животных в возрасте 18 суток

Не было выявлено влияния НПС на экспрессию изученных генов в отделах гиппокампа и фронтальной коре самцов и самок крыс в возрасте 18 суток. Это может указывать на то, что изменения, развивающиеся у крыс более старшего возраста, не являются непосредственно вызванными воспалением, вызванным инъекцией ЛПС, а представляют из себя проявления процессов, запущенных в раннем детстве и не являющихся прямо опосредованными экспрессией изученных генов. Важно также отметить, что в возрасте 18 дней гиппокамп не является зрелой структурой и, по всей видимости, он еще не включен во все нейрональные сети, участвующие в регуляции функции организма [Mauger, Nadel, 2021]. Возможно, что действие НПС опосредуется другими, более зрелыми на момент НПС, нейрональными сетями и системами организма и вовлечение клеток гиппокампа в системные изменения, индуцированные НПС,

происходит постепенно по мере созревания гиппокампа. Возможно, на этой стадии развития необходимо было исследовать ядра гипоталамуса для того, чтобы выявить долговременные изменения, которые провоцирует НПС и которые позже проявляются на уровне как поведения, так и экспрессии генов в других структурах. Кроме того, по данным литературы, НПС приводит к изменению функционирования иммунной системы у взрослых животных [Shanks и др., 2000]. По современным представлениям, шейные лимфоузлы и обитающие в них клетки, играют важнейшую роль в нейро-иммунном взаимодействии [Louveau и др., 2018]. В частности, в этих лимфоузлах у здоровых взрослых животных накапливаются клетки, реактивные к антигенам из ЦНС [Rayasam и др., 2018]. Исследования гистологии органов иммунной системы показывают, что у крыс между ПНД14 и ПНД21 заканчивается формирование функционально зрелых лимфоузлов [Parker и др., 2015]. Можно предположить, что, возможно, уже нарушенное функционирование иммунной системы на ПНД 18 не может оказать значимого влияния на поведение животных из-за того, что еще не созрели эффекторные механизмы локального влияния клеток иммунной системы на работу тканей и нарушения функционирования ЦНС будут опосредованы иммунной системой у более взрослых животных, по мере развития взаимодействия иммунной и нервной систем.

## 7.2. Эффекты НПС у молодых животных в возрасте 30 суток

По современным представлениям, нарушение адекватной реакции на стресс проявляется у больных депрессией еще до развития дисфории [Adams и др., 2009]. В предыдущей работе нашей лаборатории было показано, что самцы крыс ввозрасте 1 месяц демонстрируют больший уровень тревожности под действием НПС, хотя и не демонстрируют депрессивно-подобного поведения [Tishkina и др., 2016]. КРГ является важным медиатором стресс-реактивности. В нашей работе было показано, что у молодых самцов была повышена экспрессия мРНК *Crh* в ДГ в ответ на НПС, несмотря на то, что они не были подвергнуты поведенческому стрессу. Этот результат хорошо согласуется с данными о важности сигнализации через CRHR1 в ДГ для реализации тревожно-подобного поведения у мышей [Bertagna и др., 2021]. По-видимому, механизмы формирования нарушений поведения, запущенные НПС, приводят к повышению экспрессии данного сигнального белка, что приводит к повышению тревожности у крыс. Во фронтальной коре молодых самцов было выявлено снижение экспрессии мРНК *Crhr1*

под действием НПС. Аналогичное снижение экспрессии было показано для мышей в модели хронического умеренного стресса [Lisowski и др., 2013]. Таким образом, молодые самцы демонстрировали биохимические признаки того, что они находятся в состоянии стресса, вероятно, запрограммированном НПС. Наши данные вступили в противоречие с данными Amath и др., в работе которых было выявлено влияние НПС на экспрессию мРНК КРГ в гиппокампе на ПНД14, но не на ПНД 30. Возможно, различные методики изучения экспрессии мРНК (гибридизация *in situ* и ПЦР «в реальном времени») могут иметь неодинаковую чувствительность [Amath, Foster, Sidor, 2012].

В отличие от самцов, самки не демонстрировали изменения экспрессии генов, относящихся к системе КРГ. Повышение экспрессии *Nr3c1* в ДГ под действием НПС было единственным выявленным изменением экспрессии генов у молодых самок, что может указывать на разницу патогенеза будущих нарушений работы ГГН-оси у самцов и самок. В сходной модели отлучения от матери, самки демонстрировали повышение иммунореактивности ГР в дорсальном гиппокампе в результате дополнительного стрессирования во взрослом возрасте [Renard, Rivarola, Suárez, 2010]. По-видимому, самки, равно как и самцы, находятся в стрессированном состоянии, однако, в силу межполовых различий, исследованные нами гены не участвуют в патогенезе будущих нарушений секреции ГКС в кровь и изменений поведения, не выявляемых тестами вынужденного плавания и потребления сахарозы у самок.

Известно, что у животных, демонстрирующих депрессивно-подобное поведение, развивается реакция нейровоспаления. В данной работе мы изучили экспрессию генов, ассоциированных с нейровоспалением у животных в латентном периоде, до развития депрессивно-подобной симптоматики. С одной стороны, не было выявлено изменения экспрессии мРНК генов провоспалительных цитокинов. С другой стороны, мы обнаружили повышение экспрессии мРНК фракталкина и его рецептора у молодых самцов в ВГ через месяц после НПС. Можно предположить, что у этих животных усиленно работает отрицательная обратная связь от нейронов к микроглии, направленная на подавление нейровоспалительной активности [Rogers и др., 2011]. Отсутствие изменения концентрации растворимого фракталкина не является строгим доказательством отсутствия повышения синтеза белкового продукта гена *Cx3cl1*, поскольку фракталкин экспонируется на поверхности клеток в виде функционально активного трансмембранного белка, которых может подвергаться протеолитическому расщеплению с образованием растворимой формы, вероятно, без изменения способности активировать его рецептор [Sheridan, Murphy, 2013]. Трансмембранная форма фракталкина недоступна для

иммуноферментного анализа и не была исследована в нашей работе, но существует вероятность, что именно она определяла наблюдаемые эффекты. НПС вызывал снижение экспрессии мРНК *Cx3cl1* в ДГ молодых самцов. Сходные эффекты детектируют в ДГ крыс, подвергнутых стрессу иммобилизации, также индуцирующим депрессивно-подобное поведение [Bollinger и др., 2017]. В предыдущей работе нашей лаборатории было показано, что самцы крыс в возрасте 1 месяц демонстрируют большой уровень тревожности под действием НПС [Tishkina и др., 2016]. Сходная ассоциированность изменений экспрессии фракталкина и нарушения поведения была показаны в ДГ мышей, подвергнутых хроническому умеренному стрессу [Vega-Rivera и др., 2020]. По-видимому, снижение экспрессии мРНК *Cx3cl1* в ДГ самцов под действием НПС является признаком нарушения работы систем, контролирующей отрицательную связь от нейронов к микроглии, что может выражаться в повышении тревожности.

Нарушение нейрональной пластичности в гиппокампе молодых животных под действием изменения работы системы фракталкина может быть одной из причин развития нарушения поведения у животных более старших возрастов. В предыдущей работе нашей лаборатории было показано нарушение синаптической пластичности у самцов крыс в модели НПС [Tishkina и др., 2016]. В работе Maggi и др. показано, что активация CX3CR1 аналогично предотвращает формирование долговременной потенциации в зоне CA1 срезов гиппокампа. Этот эффект был опосредован аденозиновыми рецепторами [Maggi и др., 2009]. В работе Paolicelli и др. было показано, что сигнализация через рецептор фракталкина важна для элиминации синапсов у молодых животных в гиппокампе и нокаут гена CX3CR1 вызывает увеличение количества незрелых предшественников нейронов по сравнению с животными дикого типа [Paolicelli и др., 2011]. В работе Sheridan и др. было показано увеличение концентрации фракталкина в гиппокампах крыс после обучения в водном лабиринте, а также в срезах гиппокампа после электрической стимуляции. Ингибирующее влияние фракталкина на индукцию долговременной потенциации в срезах гиппокампа практически отменялось на фоне пикротоксина, что позволяет предположить важность ГАМК для реализации эффектов фракталкина [Sheridan и др., 2014]. По-видимому, описанные эффекты опосредуются микроглией, поскольку остальные клетки в ЦНС практически не экспрессируют CX3CR1.

Нарушения нейрогенеза в гиппокампе животных могут приводить к программированию депрессивно-подобного поведения у подопытных животных. Система фракталкина влияет на нейрогенез у животных. Bachstetter и др. показали, что у мышей, нокаутных по гену рецептора фракталкина, нарушен нейрогенез в гиппокампе. Введение

экзогенного факталкина в желудочки взрослых крыс возвращает интенсивность нейрогенеза к уровню молодых животных, но не оказывает значимого влияния на нейрогенез в СГЗ молодых животных. Введение в желудочки антител к CX3CR1 снижает интенсивность нейрогенеза и выживаемость нейробластов [Bachstetter и др., 2011]. В модели НПС показано снижение выживаемости новообразованных нейронов у молодых мышей [Järlestedt и др., 2013]. Можно предположить, что изменения в работе системы факталкина и его рецептора могут участвовать в нарушении нормального нейрогенеза в ходе созревания мозга подопытных животных, что программирует развитие депрессивно-подобного поведения во взрослом возрасте.

Совместно, данные о системах КРГ и факталкина, указывают на то, что несмотря на отсутствие специально вызванного острого стресса, молодые самцы демонстрируют комплекс поведенческих изменений и изменений экспрессии генов в ДГ и фронтальной коре, характерный для животных, подвергнутых стрессу. В ВГ наблюдаются изменения, характерные для устойчивого депрессивно-подобного состояния, таким образом, исходя из двойственной роли факталкина, можно предположить, что изменение уровня экспрессии генов системы факталкина указывает на механизмы, которые приведут к развитию хронического нейровоспаления, ассоциированного с депрессивно-подобным состоянием у крыс более старших возрастов. Можно предположить, что повышение экспрессии мРНК *Cx3cr1* в ВГ является признаком изменения свойств микроглии, а повышение экспрессии *Cx3cl1* в ВГ – попыткой ткани мозга скомпенсировать нарастающие нарушения.

### 7.3. Эффекты НПС у взрослых животных в возрасте 107 суток

ГКС являются важными регуляторами реакции на стресс, а аномальное функционирование ГГН-оси и аномальная рецепция ГКС в отделах мозга участвуют в патогенезе расстройств депрессивного спектра. Мы обнаружили, что НПС приводит к сглаживанию выброса кортикостерона в сыворотку в ответ на ПС. Поскольку не было выявлено влияния НПС и ПС на концентрацию кортикостерона в отделах мозга подопытных животных, мы предположили, что под действием НПС могла измениться рецепция этого стероида. Для изучения рецепции ГКС в отделах мозга были изучены экспрессия мРНК и концентрация белка обоих рецепторов.

НПС и ПС сами по себе не влияли на экспрессию мРНК и белка обоих генов рецепторов ГКС у взрослых животных. В то же время, НПС привел к изменению реакции на стресс у подопытных животных, выраженной в появлении влияния ПС на концентрацию белков ГР и МР во фронтальной коре самок – концентрация ГР увеличивалась, а концентрация МР уменьшалась под действием ПС. Эти данные вступают в определенные противоречия с данными литературы – в работе McCormick и др. в похожей модели с пренатальным стрессом не отмечено повышения экспрессии ГР во фронтальной коре самок в ответ на стресс [McCormick и др., 1995]. Выявленные изменения концентрации ГР и МР у самок происходят на фоне тенденции к повышению концентрации кортикостерона в крови. Можно предположить, что у взрослых самок крыс нарушена регуляция ГГН-оси, что приводит к выявленным изменениям. Отсутствие выявленных изменений у самцов позволяет предположить, что у этих животных может быть изменено функционирование рецепторов ГКС и/или передача сигнала от них, что не отражается на представленности мРНК и концентрации белка.

Развитие нейровоспаления является важной составляющей патогенеза депрессивных расстройств. Мы изучили экспрессию мРНК провоспалительных цитокинов и концентрацию белка ИЛ-6 в отделах мозга подопытных животных. Экспрессия мРНК *Il6* была повышена в гиппокампе взрослых самцов, подвергнутых НПС, у самок аналогичного эффекта не было выявлено. Это может указывать на развитие хронического нейровоспаления у самцов, приводящего к депрессивно-подобному состоянию. ПС вызывал повышение экспрессии мРНК *Il6* в гиппокампе контрольных самцов до уровня, наблюдаемого у животных, подвергнутых НПС. Эти данные хорошо согласуются с данными о повышении экспрессии мРНК данного цитокина в микроглии под действием хронического стресса и участии ИЛ-6 в индукции депрессивно-подобных состояний у животных [Ramirez и др., 2015; Sukoff Rizzo и др., 2012]. В то же время, не было выявлено влияния НПС и ПС на концентрацию белка ИЛ-6 в гиппокампе молодых крыс. Можно предположить, что синтез данного цитокина происходит локально, с быстрой секрецией и утилизацией комплекса ИЛ-6 и его рецепторов клетками-мишенями. Кроме того, для данного цитокина известно активное вторичное использование клетками иммунной системы, что не требует повышения средней концентрации ИЛ-6 в ткани [Verboegen и др., 2019].

Не было выявлено влияния НПС на экспрессию мРНК *Tnf* у взрослых животных обоих полов. В то же время, ПС парадоксально приводил к снижению экспрессии мРНК *Tnf* во фронтальной коре самцов и к тенденции к снижению его экспрессии во фронтальной

коре самцов, подвергнутых НПС. Сходные данные были получены Cotrone и др. для экспрессии *Tnf* в микроглии крыс, в модели посттравматического стрессорного расстройства [Cotrone и др., 2021]. Можно предположить, что ПС вызвал активацию противовоспалительных механизмов, подавивших экспрессию мРНК *Tnf* у этих животных. Совместно с данными о повышении экспрессии мРНК *Ib*, можно предположить, что ПС вызывал повышение локальной концентрации ИЛ-6 в гиппокампе, что приводило к зависимому от NFκB снижению экспрессии мРНК *Tnf* [Wang и др., 2017b]. Вероятно, клетками мишенями в данном случае выступали микроглиоциты, поскольку для родственных им дендритных клеток такой эффект явно показан [Hegde, Rahne, Smola-Hess, 2004].

По-видимому, относительно невысокая выраженность эффектов острого стресса в нашей модели может быть объяснена тем, что для стрессирования был использован относительно мягкий тест неизбежного плавания. В работах Walker использовали стресс иммобилизации и наблюдали совместное действие НПС и острого стресса, приводившее к повышению концентрации кортикостерона в сыворотке крови и к повышению концентрации ИЛ-1β и ФНОα в гиппокампе [Walker и др., 2009; Walker, Nakamura, Hodgson, 2010]. Кроме того, в отличие от работы Trojan и др. мы не обнаружили изменения экспрессии мРНК фракталкина и его рецептора у взрослых крыс, хотя и выявили изменения у крыс возрастом 30 суток. По-видимому, пренатальный стресс, примененный Trojan и др. иначе чем НПС программирует изменения экспрессии генов, ассоциированные с развитием расстройств поведения у взрослых животных [Trojan и др., 2017].

#### **7.4. Гипотетический механизм формирования долгосрочных эффектов НПС**

В нашей работе было продемонстрировано вызванное НПС последовательное развитие изменений экспрессии генов, ассоциированных с нейровоспалением и стресс-реактивностью по мере взросления крыс.

В модели НПС, провоцирующий фактор (введение ЛПС), длительность и постепенность развития нарушений поведения и выявление изменений экспрессии генов, ассоциированных с нейровоспалением, позволяют предположить, что эти процессы являются аутоиммунными [Kotelnikova и др., 2017].



Для ряда аутоиммунных процессов в ЦНС была показана важность системы фракталкина. С одной стороны, животные, нокаутные по гену *Cx3cr1*, или несущие его мутантный вариант, демонстрируют сниженную устойчивость и более тяжелое течение экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита [Cardona и др., 2018; Garcia и др., 2013]. Аутореактивные клетки, привлекаемые в ЦНС фракталкином, могут выполнять как провоспалительные, так и противовоспалительные функции [Rayasam и др., 2018]. С другой стороны, сигнализация системы фракталкин-CX3CR1 снижает количество моноцитов, экспрессирующих МНСII [Bachstetter и др., 2011], что может быть признаком иммуносупрессивного действия фракталкина. Таким образом, изменения в функционировании системы фракталкина и его рецептора могут свидетельствовать о развитии аутоиммунных процессов в ЦНС.

ИЛ-6 также является критически важным цитокином участвующим в развитии аутоиммунных патологий головного мозга. В частности, мыши, нокаутные по гену этого цитокина, демонстрируют устойчивость к развитию экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита [Samoilova и др., 1998]. Можно предположить, что повышение его экспрессии также может означать развитие аутоиммунного процесса.

Важным свойством ИЛ-6 может оказаться его способность регулировать функцию Т-лимфоцитов. Т-хелперы являются критически важными клетками-регуляторами иммунных процессов. Долгое время было принято считать, что из-за иммунной привилегированности ЦНС лимфоциты не оказывают существенного влияния на внутримозговые процессы за исключением случаев аутоиммунных поражений мозга, таких как лейкоэнцефалиты или рассеянный склероз. Однако к настоящему времени накоплены данные относительно роли лимфоцитов в регуляции работы мозга. Для ряда субпопуляций Т-хелперов известны функции, которые они выполняют по отношению к мозгу. Th1-лимфоциты являются индукторами активности тканевых макрофагов и микроглии, что позволяет предположить, что данная субпопуляция лимфоцитов активирует нейровоспалительную реакцию. Th17-лимфоциты также являются провоспалительными клетками, отмечена их важная роль в патогенезе постинсультных расстройств и расстройств депрессивного спектра. Treg-лимфоциты, напротив, являются основными противовоспалительными лимфоцитами клеточного иммунитета. Показана их важная роль в защите мозга от долговременных последствий повреждения в моделях инсульта, депрессии, травмы и эпилепсии. [Wang, Zhang, Xu, 2016]. Вопрос о наличии Т-хелперов непосредственно в ткани мозга остается предметом для дискуссии [Lopes Pinheiro и др., 2016]. Принято считать, что для функциональной активации Т-хелперов

необходим непосредственный контакт рецептора TCR на поверхности лимфоцита с представленным на мембране макрофага или микроглиоцита комплексом из главного комплекса гистологической совместимости 2 типа (MHC2) и представленного на нем антигена. В настоящее время известна возможность регуляции проницаемости ГЭБ для лимфоцитов при помощи цитокинового фона, в частности, при помощи  $IFN\beta$  [Prat, Wiernacki, Antel, 2005]. Этот факт позволяет предположить возможность локального повышения проницаемости ГЭБ для лимфоцитов непосредственно в зоне нейровоспалительного процесса, к которому они могут добираться по градиенту хемокинов по сосудам кровеносной сети. В то же время присутствие Т-хелперов в оболочках головного мозга не подвергается сомнению [Radjavi и др., 2014]. Поскольку паутинная оболочка непосредственно прилежит к поверхности коры полушарий и гиппокампу и через нее проходят питающие мозг кровеносные сосуды, то лимфоциты из периваскулярного пространства паутинной оболочки могут секретировать различные регуляторные белки, в том числе и цитокины, в локальный мозговой кровоток или уходить в циркуляцию по кровеносным сосудам головного мозга. Кроме того, показана возможность прямой диффузии цитокинов из оболочки мозга в кору больших полушарий [Wu, Zhang, Nakanishi, 2005]. Для ИЛ-6 показана способность сдвигать соотношение субпопуляций Treg/Th17-лимфоцитов в сторону Th17, которые осуществляют провоспалительную функцию [Kimura, Kishimoto, 2010]. Показана ассоциированность накопления в мозге Th17-лимфоцитов с развитием депрессии, вызванной хроническим стрессом [Hong и др., 2013].

Можно предположить, что в ответ на введение ЛПС, активированная иммунная система формирует клоны лимфоцитов, специфичных к антигенам ЦНС, еще не обладающей свойствами иммунной привилегированности по причине незрелости ГЭБ [Langen, Ayloo, Gu, 2019]. После иммунизации в раннем возрасте, иммунная система по мере взросления атакует ткань ЦНС, ложно распознавая антигены мозга как чужеродные. В частности, компоненты синаптического матрикса могут служить лигандами для рецептора TLR4, наиболее известного как рецептор ЛПС [Midwood и др., 2009]. Повышение чувствительности иммунной системы к такому лиганду может быть причиной развивающихся нарушений. Это предположение косвенно подтверждается данными, полученными Williamson и др.. В данной работе была продемонстрирована возможность защиты крыс, подвергнутых НПС, от развития когнитивных нарушений в тесте условно-рефлекторного замирания при помощи заражения гельминтами. В этом случае гельминты выступали в качестве альтернативной мишени для избыточно

реактивной иммунной системы «отвлекая» ее от ткани ЦНС [Williamson и др., 2016].

Таким образом, полученные данные позволяют предположить, что аутоиммунный процесс может быть важным компонентом патогенеза в модели индукции депрессивно-подобного состояния НПС. Проверка этой гипотезы требует изучения реактивности лимфоцитов к антигенам ЦНС крыс.

## 8. Заключение

В данной работе было исследовано влияние НПС на возрастную динамику развития изменения экспрессии генов, ассоциированных с реакцией на стресс и с нейровоспалением. Для верификации модели было подтверждено развитие депрессивно-подобного поведения у взрослых самцов крыс и нарушение повышения кортикостерона в ответ на ПСкрысобоих полов.

У животных в возрасте 18 суток не было выявлено влияния НПС на экспрессию исследованных генов в отделах гиппокампа и во фронтальной коре.

У молодых животных в возрасте 30 суток были выявлены зависимое от пола влияние НПС на экспрессию генов, участвующих в реакции на стресс в ДГ. У самцов была повышена экспрессия мРНК *Crh*, а у самок была повышена экспрессия мРНК *Nr3c1*. Кроме того, у молодых самцов не было выявлено признаков нейровоспаления, но была изменена экспрессия мРНК фракталкина и его рецептора.

У взрослых самцов было выявлено развитие депрессивно-подобного поведения на фоне развития признаков хронического нейровоспаления под действием НПС. У самок не было выявлено изменений поведения и нейровоспаления под действием НПС, но было выявлено появления влияния ПС на концентрацию ГР и МР во фронтальной коре.

Полученные данные, в сопоставлении с нашими предыдущими данными, указывают на то, что у самцов крыс под действием НПС последовательно развиваются изменения поведения, сопровождающиеся изменениями экспрессии генов, ассоциированных с реакцией на стресс. Были выявлены изменения, характерные для крыс в латентном периоде, до развития депрессивно-подобного поведения.

Полученные данные могут быть использованы для разработки методик диагностики склонности к развитию депрессивно-подобного поведения и его профилактики.

## 9. Выводы

1. НПС вызывает развитие депрессивно-подобного поведения у взрослых самцов крыс и не вызывает изменений поведения у самок крыс того же возраста. При этом НПС изменяет характер реакции ГГН-оси на ПС у взрослых крыс обоего пола.
2. НПС не вызывает изменений экспрессии исследованных генов во фронтальной коре, дорсальном и вентральном гиппокампе самцов и самок крыс возрастом 18 суток.
3. У молодых самцов и самок возрастом 30 суток НПС вызывает специфичное для отделов гиппокампа изменения экспрессии мРНК генов *Nr3c1* и *Crh*, ассоциированных с реакцией на стресс.
4. У молодых самцов возрастом 30 суток НПС вызывает специфичное для отделов гиппокампа изменения экспрессии мРНК генов *Cx3cl1* и *Cx3cr1*, ассоциированных с нейровоспалением.
5. НПС вызывает изменения в экспрессии генов, сходные с хроническим нейровоспалением, в гиппокампе взрослых самцов крыс возрастом 107 суток (повышение экспрессии мРНК *Ilg6*) и изменяет реакцию ткани фронтальной коры на острый непродолжительный стресс (предотвращает снижение экспрессии мРНК *Tnf*).
6. НПС изменяет характер реакции ткани фронтальной коры (повышение концентрации ГР и снижение концентрации МР) и гиппокампа (снижение концентрации ИЛ-6) взрослых самок крыс на ПС.

## 10. Список сокращений и условных обозначений

НПС – неонатальный провоспалительный стресс

ПС – острый поведенческий стресс

ГГН-ось – гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось

МАО – моноаминоксидаза

ГР – глюкокортикоидный рецептор

МР – минералокортикоидный рецептор

ДГ – дорсальный отдел гиппокампа

ВГ – вентральный отдел гиппокампа

ФК – фронтальная кора

ССК – соматосенсорная кора

ЛПС – бактериальный липополисахарид

АКТГ – адренокортикотропный гормон

ГКС – глюкокортикостероиды

ОАС – общий адаптационный синдром

КРГ – кортикотропин-рилизинг гормон, кортиколиберин

ИФА – иммуноферментный анализ

ФСБ – фосфатно-солевой буфер

## 11. Список публикаций по теме диссертации

1. Квичанский А. А., Волобуева М.Н., Манолова А.О., Большаков А.П., Гуляева Н.В. Неонатальный провоспалительный стресс изменяет экспрессию генов кортикостероидных рецепторов в гиппокампе крыс: септо-темпоральные различия //Нейрохимия. – 2017. – Т. 34. – №. 3. – С. 257-260.
2. Квичанский А. А., Третьякова Л.В, Волобуева М.Н., Манолова А.О., Степаничев М.Ю., Онуфриев М.В, Моисеева Ю.В., Лазарева Н.А., Большаков А.П, Гуляева Н.В. НЕОНАТАЛЬНЫЙ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС И ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С НЕЙРОВОСПАЛЕНИЕМ, В ГИППОКАМПЕ КРЫС //Биохимия. – 2021. – Т. 86. – №. 6. – С. 845-856.
3. Kvichansky AA, Volobueva MN, Manolova AO, Bolshakov AP, Gulyaeva N V. TheInfluenceofNeonatalPro-InflammatoryStressontheExpressionof Genes Associated with Stress in the Brains of Juvenile Rats: Septo-Temporal Specificity // Neurochem. J. 2018. Т. 12. № 2. С. 180–183.
4. Stepanichev MY, Goryakina T, Manolova A, Lazareva N, Kvichanskii A, Tretyakova L, Volobueva M, Gulyaeva N Neonatal proinflammatory challenge evokes a microglial response

and affects the ratio between subtypes of GABAergic interneurons in the hippocampus of juvenile rats: sex-dependent and sex-independent effects // *Brain Struct. Funct.* 2021. Т. 1. С. 3.

## 12. Список использованной литературы

1. Груздева В. А. и др. Влияние раннего провоспалительного стресса на проявление импульсивного поведения у крыс разного возраста и пола // *Журнал высшей нервной деятельности им. ИП Павлова.* – 2021. – Т. 71. – №. 1. – С. 114-125.
2. Павлова И. В. и др. Влияние социальной изоляции и обогащенной среды на тревожно-депрессивное поведение крыс в норме и после раннего провоспалительного стресса // *Журнал высшей нервной деятельности им. ИП Павлова.* – 2021. – Т. 71. – №. 5. – С. 690-709.
3. Саркисова К. Ю. и др. Возрастные изменения в поведении, в содержании моноаминов, их метаболитов и в плотности D1 и D2 дофаминовых рецепторов в структурах мозга у крыс линии WAG/RIJ с депрессивноподобной патологией // *Журнал высшей нервной деятельности им. ИП Павлова.* – 2014. – Т. 64. – №. 6. – С. 668-668.
4. Amath A., Foster J.A., Sidor M.M. Developmental alterations in CNS stress-related gene expression following postnatal immune activation // *Neuroscience.* 2012. Т. 220. С. 90–99.
5. Amellem I. и др. A critical period for antidepressant-induced acceleration of neuronal maturation in adult dentate gyrus // *Transl. Psychiatry.* 2017. Т. 7. № 9. С. e1235–e1235.
6. Antunes M.S. и др. Neuropeptide Y administration reverses tricyclic antidepressant treatment-resistant depression induced by ACTH in mice // *Horm. Behav.* 2015. Т. 73. С. 56–63.
7. Arıcıoğlu F. и др. NLRP1-mediated antidepressant effect of ketamine in chronic unpredictable mild stress model in rats // *Psychiatry Investig.* 2020. Т. 17. № 4. С. 283–291.
8. Babri S., Doosti M.H., Salari A.A. Tumor necrosis factor-alpha during neonatal brain development affects anxiety- and depression-related behaviors in adult male and female mice // *Behav. Brain Res.* 2014. Т. 261. С. 305–314.
9. Bachstetter A.D. и др. Fractalkine and CX 3CR1 regulate hippocampal neurogenesis in adult and aged rats // *Neurobiol. Aging.* 2011. Т. 32. № 11. С. 2030–2044.
10. Banki C.M. и др. CSF corticotropin-releasing hormone and somatostatin in major depression: response to antidepressant treatment and relapse // *Eur. Neuropsychopharmacol.* 1992. Т. 2. № 2. С. 107–113.
11. Banks W.A. The blood-brain barrier in neuroimmunology: Tales of separation and assimilation. // *Brain. Behav. Immun.* 2015. Т. 44. С. 1–8.
12. Banuelos J. и др. BCL-2 protects human and mouse Th17 cells from glucocorticoid-induced apoptosis // *Allergy Eur. J. Allergy Clin. Immunol.* 2016.
13. Banuelos J., Lu N.Z. A gradient of glucocorticoid sensitivity among helper T cell cytokines // *Cytokine Growth Factor Rev.* 2016.
14. Barth C.R. и др. LPS-induced neonatal stress in mice affects the response profile to an inflammatory stimulus in an age and sex-dependent manner // *Dev. Psychobiol.* 2016. Т. 58. № 5. С. 600–613.
15. Battista D. и др. Neurogenic niche modulation by activated microglia: Transforming growth factor  $\beta$  increases neurogenesis in the adult dentate gyrus // *Eur. J. Neurosci.* 2006. Т. 23. № 1. С. 83–93.

16. Bay-Richter C. и др. Aldosterone synergizes with peripheral inflammation to induce brain IL-1 $\beta$  expression and depressive-like effects // *Cytokine*. 2012. Т. 60. № 3. С. 749–754.
17. Bekhbat M., Neigh G.N. Sex differences in the neuro-immune consequences of stress: Focus on depression and anxiety // *Brain. Behav. Immun*. 2018. Т. 67. С. 1–12.
18. Bertagna N.B. и др. Involvement of the ventral, but not dorsal, hippocampus in anxiety-like behaviors in mice exposed to the elevated plus maze: participation of CRF1 receptor and PKA pathway // *Pharmacol. Reports*. 2021. Т. 73. № 1. С. 57–72.
19. Bhagya V. et al. Neonatal clomipramine induced endogenous depression in rats is associated with learning impairment in adulthood // *Behavioural brain research*. – 2008. – Т. 187. – №. 1. – С. 190-194.
20. Bhatt S. и др. Role of Aspirin and Dexamethasone against Experimentally Induced Depression in Rats // *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol*. 2016.
21. Biesmans S. и др. Peripheral administration of tumor necrosis factor-alpha induces neuroinflammation and sickness but not depressive-like behavior in mice // *Biomed Res. Int*. 2015. Т. 2015.
22. Birur B. и др. Sex Differences in the Peripheral Immune System in Patients with Depression // *Front. Psychiatry*. 2017. Т. 8. № JUN. С. 16.
23. Blank T. и др. Priming of long-term potentiation in mouse hippocampus by corticotropin-releasing factor and acute stress: implications for hippocampus-dependent learning. // *J. Neurosci*. 2002. Т. 22. № 9. С. 3788–94.
24. Bogdanova O. V. и др. Factors influencing behavior in the forced swim test // *Physiol. Behav*. 2013. Т. 118. С. 227–239.
25. Bollinger J.L. и др. Behavioral stress alters corticolimbic microglia in a sex- and brain region-specific manner // *PLoS One*. 2017. Т. 12. № 12.
26. Bolton J.L. и др. Anhedonia Following Early-Life Adversity Involves Aberrant Interaction of Reward and Anxiety Circuits and Is Reversed by Partial Silencing of Amygdala Corticotropin-Releasing Hormone Gene // *Biol. Psychiatry*. 2018. Т. 83. № 2. С. 137–147.
27. Brevet M. и др. Chronic foot-shock stress potentiates the influx of bone marrow-derived microglia into hippocampus // *J. Neurosci. Res*. 2010. Т. 88. № 9. С. NA-NA.
28. Brocca M.E. и др. Mineralocorticoid Receptors, Neuroinflammation and Hypertensive Encephalopathy // *Cell. Mol. Neurobiol*. 2019. Т. 39. № 4. С. 483–492.
29. Brotto L.A., Gorzalka B.B., Barr A.M. Paradoxical effects of chronic corticosterone on forced swim behaviours in aged male and female rats // *Eur. J. Pharmacol*. 2001. Т. 424. № 3. С. 203–209.
30. Burton M.D., Sparkman N.L., Johnson R.W. Inhibition of interleukin-6 trans-signaling in the brain facilitates recovery from lipopolysaccharide-induced sickness behavior // *J. Neuroinflammation*. 2011. Т. 8. № 1. С. 54.
31. Bustamante A.C. и др. Glucocorticoid receptor DNA methylation, childhood maltreatment and major depression // *J. Affect. Disord*. 2016. Т. 206. С. 181–188.
32. Buynitsky T., Mostofsky D.I. Restraint stress in biobehavioral research: Recent developments // *Neurosci. Biobehav. Rev*. 2009. Т. 33. № 7. С. 1089–1098.
33. Cain D.W., Cidlowski J.A. Immune regulation by glucocorticoids // *Nat. Rev. Immunol*. 2017. Т. 17. № 4. С. 233–247.
34. Camara M. Lou и др. TNF- $\alpha$  and its receptors modulate complex behaviours and neurotrophins in transgenic mice // *Psychoneuroendocrinology*. 2013. Т. 38. № 12. С. 3102–3114.
35. Cardona A.E. и др. Control of microglial neurotoxicity by the fractalkine receptor // *Nat. Neurosci*. 2006. Т. 9. № 7. С. 917–924.
36. Cardona S.M. и др. Role of the fractalkine receptor in CNS autoimmune inflammation: new approach utilizing a mouse model expressing the human CX3CR1I249/M280 variant

- // *Front. Cell. Neurosci.* 2018. Т. 12. С. 365.
37. Caviedes A. и др. BDNF/NF- $\kappa$ B Signaling in the Neurobiology of Depression // *Curr. Pharm. Des.* 2017. Т. 23. № 21.
  38. Чаауа N. и др. Contextual fear conditioning alter microglia number and morphology in the rat dorsal hippocampus // *Front. Cell. Neurosci.* 2019. Т. 13.
  39. Chahal N. и др. Depression, Sleep, Fatigue, and Physical Activity in a Randomized Trial of Ustekinumab for Prevention of Acute Graft Versus Host Disease Following Hematopoietic Cell Transplant // *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2018. Т. 24. № 3. С. S259–S260.
  40. Chalaris A. и др. The soluble Interleukin 6 receptor: Generation and role in inflammation and cancer // *Eur. J. Cell Biol.* 2011. Т. 90. № 6–7. С. 484–494.
  41. Chen Y. и др. Tuning synaptic transmission in the hippocampus by stress: the CRH system. // *Front. Cell. Neurosci.* 2012. Т. 6. С. 13.
  42. Chen Y. и др. Impairment of synaptic plasticity by the stress mediator CRH involves selective destruction of thin dendritic spines via RhoA signaling. // *Mol. Psychiatry.* 2013. Т. 18. № 4. С. 485–96.
  43. Cheng Y. и др. TNF $\alpha$  disrupts blood brain barrier integrity to maintain prolonged depressive-like behavior in mice // *Brain. Behav. Immun.* 2018. Т. 69. С. 556–567.
  44. Choi K.W. и др. Increased adrenocorticotrophic hormone (ACTH) levels predict severity of depression after six months of follow-up in outpatients with major depressive disorder // *Psychiatry Res.* 2018. Т. 270. С. 246–252.
  45. Chourbaji S. и др. IL-6 knockout mice exhibit resistance to stress-induced development of depression-like behaviors // *Neurobiol. Dis.* 2006. Т. 23. № 3. С. 587–594.
  46. Claypoole L.D., Zimmerberg B., Williamson L.L. Neonatal lipopolysaccharide treatment alters hippocampal neuroinflammation, microglia morphology and anxiety-like behavior in rats selectively bred for an infantile trait // *Brain. Behav. Immun.* 2017. Т. 59. С. 135–146.
  47. Coleman L.G., Crews F.T. Innate Immune Signaling and Alcohol Use Disorders // *Handbook of Experimental Pharmacology.* : Springer New York LLC, 2018. С. 369–396.
  48. Colpo G.D. и др. Immune-based strategies for mood disorders: facts and challenges // *Expert Rev. Neurother.* 2018. Т. 18. № 2. С. 139–152.
  49. Cotrone T.S. и др. Phenotypic characterization of frontal cortex microglia in a rat model of post-traumatic stress disorder // *Brain Behav.* 2021. Т. 11. № 3. С. e02011.
  50. Culig L. и др. Increasing adult hippocampal neurogenesis in mice after exposure to unpredictable chronic mild stress may counteract some of the effects of stress // *Neuropharmacology.* 2017. Т. 126. С. 179–189.
  51. Czéh B. и др. Animal models of major depression and their clinical implications // *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry.* 2016. Т. 64. С. 293–310.
  52. D’Mello C., Le T., Swain M.G. Cerebral microglia recruit monocytes into the brain in response to tumor necrosis factor signaling during peripheral organ inflammation // *J. Neurosci.* 2009. Т. 29. № 7. С. 2089–2102.
  53. Dang R. и др. Predictable chronic mild stress promotes recovery from LPS-induced depression // *Mol. Brain.* 2019. Т. 12. № 1. С. 42.
  54. Dean B. и др. Different changes in cortical tumor necrosis factor- $\alpha$ -related pathways in schizophrenia and mood disorders // *Mol. Psychiatry.* 2013. Т. 18. № 7. С. 767–773.
  55. Dellarole A. и др. Neuropathic pain-induced depressive-like behavior and hippocampal neurogenesis and plasticity are dependent on TNFR1 signaling // *Brain. Behav. Immun.* 2014. Т. 41. № 1. С. 65–81.
  56. Devorak J. и др. Cellular and molecular inflammatory profile of the choroid plexus in depression and suicide // *Front. Psychiatry.* 2015. Т. 6. № OCT. С. 138.
  57. Dineen R., Stewart P.M., Sherlock M. Factors impacting on the action of glucocorticoids in patients receiving glucocorticoid therapy // *Clin. Endocrinol. (Oxf).* 2019. Т. 90. № 1.



- С. 3–14.
58. Ding H. и др. Depression-like behaviors induced by chronic corticosterone exposure via drinking water: Time-course analysis // *Neurosci. Lett.* 2018. Т. 687. С. 202–206.
  59. Dinh Q.N. и др. Aldosterone-induced oxidative stress and inflammation in the brain are mediated by the endothelial cell mineralocorticoid receptor // *Brain Res.* 2016a. Т. 1637. С. 146–153.
  60. Dinh Q.N. и др. Cell-specific mineralocorticoid receptors: Future therapeutic targets for stroke? // *Neural Regen. Res.* 2016b. Т. 11. № 8. С. 1230–1231.
  61. Dobryakova Y. V. и др. Intracerebroventricular Administration of 192IgG-Saporin Alters Expression of Microglia-Associated Genes in the Dorsal But Not Ventral Hippocampus // *Front. Mol. Neurosci.* 2018. Т. 10.
  13. 58. Donner N.C. и др. Serotonergic systems in the balance: CRHR1 and CRHR2 differentially control stress-induced serotonin synthesis. // *Psychoneuroendocrinology.* 2016. Т. 63. С. 178–90.
  62. Dudek K.A. и др. Neurobiology of resilience in depression: immune and vascular insights from human and animal studies // *Eur. J. Neurosci.* 2021. Т. 53. № 1. С. 183–221.
  63. Dunn A.J., Swiergiel A.H., Beaufort R. De. Cytokines as mediators of depression: What can we learn from animal studies? // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2005. Т. 29. № 4–5. С. 891–909.
  64. Duseja R. и др. Astrocytic TNF $\alpha$  regulates the behavioral response to antidepressants // *Brain. Behav. Immun.* 2015. Т. 44. С. 187–194.
  65. Edwards K.M. и др. Elevated Macrophage Migration Inhibitory Factor (MIF) is associated with depressive symptoms, blunted cortisol reactivity to acute stress, and lowered morning cortisol // *Brain. Behav. Immun.* 2010. Т. 24. № 7. С. 1202–1208.
  66. Engler H. и др. Selective increase of cerebrospinal fluid IL-6 during experimental systemic inflammation in humans: association with depressive symptoms // *Mol. Psychiatry.* 2017. Т. 22. № 10. С. 1448–1454.
  67. Estes M.L., McAllister A.K. Alterations in Immune Cells and Mediators in the Brain: It's Not Always Neuroinflammation! // *Brain Pathol.* 2014. Т. 24. № 6. С. 623–630.
  68. Feng X. и др. Glucocorticoid-Driven NLRP3 Inflammasome Activation in Hippocampal Microglia Mediates Chronic Stress-Induced Depressive-Like Behaviors // *Front. Mol. Neurosci.* 2019. Т. 12.
  69. Ferreira R. и др. Neuropeptide  $\gamma$  modulation of interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )-induced nitric oxide production in microglia // *J. Biol. Chem.* 2010. Т. 285. № 53. С. 41921–41934.
  70. Floriou-Servou A. и др. Distinct Proteomic, Transcriptomic, and Epigenetic Stress Responses in Dorsal and Ventral Hippocampus // *Biol. Psychiatry.* 2018. Т. 84. № 7. С. 531–541.
  71. Frank M.G. и др. Chronic exposure to exogenous glucocorticoids primes microglia to pro-inflammatory stimuli and induces NLRP3 mRNA in the hippocampus // *Psychoneuroendocrinology.* 2014. Т. 40. № 1. С. 191–200.
  72. Frank M.G. и др. Glucocorticoids mediate stress induction of the alarmin HMGB1 and reduction of the microglia checkpoint receptor CD200R1 in limbic brain structures // *Brain. Behav. Immun.* 2019. Т. 80. С. 678–687.
  73. Frank M.G., Watkins L.R., Maier S.F. The permissive role of glucocorticoids in neuroinflammatory priming: Mechanisms and insights // *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.* 2015. Т. 22. № 4. С. 300–305.
  74. Friedrich M.J. Depression Is the Leading Cause of Disability Around the World // *JAMA.* 2017. Т. 317. № 15. С. 1517.
  75. Gao C. и др. Adaptor Protein APPL2 Affects Adult Antidepressant Behaviors and Hippocampal Neurogenesis via Regulating the Sensitivity of Glucocorticoid Receptor // *Mol. Neurobiol.* 2018. Т. 55. № 7. С. 5537–5547.

76. Garcia J.A. и др. Regulation of Adaptive Immunity by the Fractalkine Receptor during Autoimmune Inflammation // *J. Immunol.* 2013. Т. 191. № 3. С. 1063–1072.
77. Gemma C., Bachstetter A.D. The role of microglia in adult hippocampal neurogenesis // *Front. Cell. Neurosci.* 2013. Т. 7. № NOV. С. 229.
78. Golan H. и др. Involvement of Tumor Necrosis Factor Alpha in Hippocampal Development and Function // *Cereb. Cortex.* 2004. Т. 14. № 1. С. 97–105.
79. Goldwater D.S. и др. Structural and functional alterations to rat medial prefrontal cortex following chronic restraint stress and recovery // *Neuroscience.* 2009. Т. 164. № 2. С. 798–808.
80. Gomez-Sanchez E., Gomez-Sanchez C.E. The multifaceted mineralocorticoid receptor // *Compr. Physiol.* 2014. Т. 4. № 3. С. 965–994.
81. Gong Y. и др. Dynamic changes in hippocampal microglia contribute to depressive-like behavior induced by early social isolation // *Neuropharmacology.* 2018. Т. 135. С. 223–233.
82. Goshen I. и др. A dual role for interleukin-1 in hippocampal-dependent memory processes // *Psychoneuroendocrinology.* 2007. Т. 32. № 8–10. С. 1106–1115.
83. Goshen I. и др. Brain interleukin-1 mediates chronic stress-induced depression in mice via adrenocortical activation and hippocampal neurogenesis suppression // *Mol. Psychiatry.* 2008. Т. 13. № 7. С. 717–728.
84. Grell M. и др. The transmembrane form of tumor necrosis factor is the prime activating ligand of the 80 kDa tumor necrosis factor receptor // *Cell.* 1995. Т. 83. № 5. С. 793–802.
85. Grippo A.J., Beltz T.G., Johnson A.K. Behavioral and cardiovascular changes in the chronic mild stress model of depression // *Physiol. Behav.* 2003. Т. 78. № 4–5. С. 703–710.
86. Gururajan A. и др. Resilience to chronic stress is associated with specific neurobiological, neuroendocrine and immune responses // *Brain. Behav. Immun.* 2019. Т. 80. С. 583–594.
87. Gyoneva S. и др. Cx3cr1-deficient microglia exhibit a premature aging transcriptome // *Life Sci. Alliance.* 2019. Т. 2. № 6.
88. Hammond G.L. Plasma steroid-binding proteins: Primary gatekeepers of steroid hormone action // *J. Endocrinol.* 2016. Т. 230. № 1. С. R13–R25.
89. Hegde S., Pahne J., Smola-Hess S. Novel immunosuppressive properties of interleukin-6 in dendritic cells: inhibition of NF- $\kappa$ B binding activity and CCR7 expression // *FASEB J.* 2004. Т. 18. № 12. С. 1439–1441.
90. Hellwig S. и др. Altered microglia morphology and higher resilience to stress-induced depression-like behavior in CX3CR1-deficient mice // *Brain. Behav. Immun.* 2016. Т. 55. С. 126–137.
91. Hendrickx D.A.E. и др. Staining of HLA-DR, Iba1 and CD68 in human microglia reveals partially overlapping expression depending on cellular morphology and pathology // *J. Neuroimmunol.* 2017. Т. 309. С. 12–22.
92. Henley D., Lightman S., Carrell R. Cortisol and CBG — Getting cortisol to the right place at the right time // *Pharmacol. Ther.* 2016. Т. 166. С. 128–135.
93. Himmerich H. и др. Successful Antidepressant Therapy Restores the Disturbed Interplay Between TNF- $\alpha$  System and HPA Axis // *Biol. Psychiatry.* 2006. Т. 60. № 8. С. 882–888.
94. Hollis F., Kabbaj M. Social defeat as an animal model for depression // *ILAR J.* 2014. Т. 55. № 2. С. 221–232.
95. Hong M. и др. Imbalance between Th17 and Treg cells may play an important role in the development of chronic unpredictable mild stress-induced depression in mice. // *Neuroimmunomodulation.* 2013. Т. 20. № 1. С. 39–50.
96. Hoshiko M. и др. Deficiency of the microglial receptor CX3CR1 impairs postnatal functional development of thalamocortical synapses in the barrel cortex // *J. Neurosci.* 2012. Т. 32. № 43. С. 15106–15111.

97. Hsu S.Y., Hsueh A.J.W. Human stresscopin and stresscopin-related peptide are selective ligands for the type 2 corticotropin-releasing hormone receptor // *Nat. Med.* 2001. T. 7. № 5. С. 605–611.
98. Hu D. и др. Essential role of IL-10/STAT3 in chronic stress-induced immune suppression // *Brain. Behav. Immun.* 2014. T. 36. С. 118–127.
99. Hughes P.M. и др. Expression of fractalkine (CX3CL1) and its receptor, CX3CR1, during acute and chronic inflammation in the rodent CNS // *Glia.* 2002. T. 37. № 4. С. 314–327.
100. Iwata M. и др. Learned helplessness activates hippocampal microglia in rats: A potential target for the antidepressant imipramine // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2016. T. 150–151. С. 138–146.
101. Järlestedt K. и др. Decreased survival of newborn neurons in the dorsal hippocampus after neonatal LPS exposure in mice // *Neuroscience.* 2013. T. 253. С. 21–28.
102. Joëls M., Kloet E.R. de. The brain mineralocorticoid receptor: A saga in three episodes // *J. Endocrinol.* 2017. T. 234. № 1. С. T49–T66.
103. Juruena M.F. и др. Different responses to dexamethasone and prednisolone in the same depressed patients // *Psychopharmacology (Berl).* 2006. T. 189. № 2. С. 225–235.
104. Juszczak G.R., Stankiewicz A.M. Glucocorticoids, genes and brain function // *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry.* 2018. T. 82. С. 136–168.
105. Kalkman H.O., Feuerbach D. Antidepressant therapies inhibit inflammation and microglial M1-polarization // *Pharmacol. Ther.* 2016. T. 163. С. 82–93.
106. Kaminska B., Mota M., Pizzi M. Signal transduction and epigenetic mechanisms in the control of microglia activation during neuroinflammation // *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Basis Dis.* 2016. T. 1862. № 3. С. 339–351.
107. Karson A. и др. Chronic administration of infliximab (TNF- $\alpha$  inhibitor) decreases depression and anxiety-like behaviour in rat model of chronic mild stress // *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2013. T. 112. № 5. С. 335–340.
108. Kaster M.P. и др. Depressive-like behavior induced by tumor necrosis factor- $\alpha$  in mice // *Neuropharmacology. : Neuropharmacology,* 2012. С. 419–426.
109. Kastin A.J., Akerstrom V., Pan W. Interleukin-10 as a CNS therapeutic: The obstacle of the blood-brain/blood-spinal cord barrier // *Mol. Brain Res.* 2003. T. 114. № 2. С. 168–171.
110. Kearns M.C. и др. Early interventions for PTSD: A review // *Depress. Anxiety.* 2012. T. 29. № 10. С. 833–842.
111. Keen-Rhinehart E. и др. Continuous expression of corticotropin-releasing factor in the central nucleus of the amygdala emulates the dysregulation of the stress and reproductive axes // *Mol. Psychiatry.* 2009. T. 14. № 1. С. 37–50.
112. Keller J. и др. Cortisol Circadian Rhythm Alterations in Psychotic Major Depression // *Biol. Psychiatry.* 2006. T. 60. № 3. С. 275–281.
113. Kertser A. и др. Corticosteroid signaling at the brain-immune interface impedes coping with severe psychological stress // *Sci. Adv.* 2019. T. 5. № 5.
114. Khandaker G.M. и др. Association between a functional interleukin 6 receptor genetic variant and risk of depression and psychosis in a population-based birth cohort // *Brain. Behav. Immun.* 2018. T. 69. С. 264–272.
115. Kimura A., Kishimoto T. IL-6: Regulator of Treg/Th17 balance // *Eur. J. Immunol.* 2010. T. 40. № 7. С. 1830–1835.
116. Klaus F. и др. Differential effects of peripheral and brain tumor necrosis factor on inflammation, sickness, emotional behavior and memory in mice // *Brain. Behav. Immun.* 2016. T. 58. С. 310–326.
117. Kloet E.R. de и др. Brain Corticosteroid Receptor Balance in Health and Disease 1 // *Endocr. Rev.* 1998. T. 19. № 3. С. 269–301.
118. Köhler C.A. и др. Peripheral cytokine and chemokine alterations in depression: a meta-

- analysis of 82 studies // *Acta Psychiatr. Scand.* 2017. Т. 135. № 5. С. 373–387.
119. Kohman R.A. и др. Neonatal endotoxin exposure impairs avoidance learning and attenuates endotoxin-induced sickness behavior and central IL-1 $\beta$  gene transcription in adulthood // *Behav. Brain Res.* 2008. Т. 194. № 1. С. 25–31.
  120. Kokras N. и др. Do corticosterone levels predict female depressive-like behavior in rodents? // *J. Neurosci. Res.* 2020. С. jnr.24686.
  121. Kolber B.J. и др. Transient early-life forebrain corticotropin-releasing hormone elevation causes long-lasting anxiogenic and despair-like changes in mice // *J. Neurosci.* 2010. Т. 30. № 7. С. 2571–2581.
  122. Kong E. и др. STAT3 controls IL6-dependent regulation of serotonin transporter function and depression-like behavior // *Sci. Rep.* 2015. Т. 5. № 1. С. 1–8.
  123. Kovacs D. и др. Effects of IL1B single nucleotide polymorphisms on depressive and anxiety symptoms are determined by severity and type of life stress // *Brain. Behav. Immun.* 2016. Т. 56. С. 96–104.
  124. Kreisel T. и др. Dynamic microglial alterations underlie stress-induced depressive-like behavior and suppressed neurogenesis // *Mol. Psychiatry.* 2014. Т. 19. № 6. С. 699–709.
  125. Kubera M. и др. Stimulatory effect of antidepressants on the production of IL-6 // *Int. Immunopharmacol.* 2004. Т. 4. № 2. С. 185–192.
  126. Kupfer D.J., Frank E., Phillips M.L. Major depressive disorder: new clinical, neurobiological, and treatment perspectives // *Lancet.* 2012. Т. 379. № 9820. С. 1045–1055.
  127. Kwon S.H. и др. Dysfunction of microglial STAT3 alleviates depressive behavior via neuron-microglia interactions // *Neuropsychopharmacology.* 2017. Т. 42. № 10. С. 2072–2086.
  128. Langen U.H., Ayloo S., Gu C. Development and cell biology of the blood-brain barrier // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2019. Т. 35. С. 591–613.
  129. Laumet G. и др. Resolution of inflammation-induced depression requires T lymphocytes and endogenous brain interleukin-10 signaling // *Neuropsychopharmacology.* 2018. Т. 43. № 13. С. 2597–2605.
  130. Laumet G. и др. CD3+ T cells are critical for the resolution of comorbid inflammatory pain and depression-like behavior // *Neurobiol. Pain.* 2020. Т. 7. С. 100043.
  131. Lee S. и др. CX3CR1 deficiency alters microglial activation and reduces beta-amyloid deposition in two Alzheimer's disease mouse models. // *Am. J. Pathol.* 2010. Т. 177. № 5. С. 2549–62.
  132. Lehmann M.L. и др. Social defeat induces depressive-like states and microglial activation without involvement of peripheral macrophages // *J. Neuroinflammation.* 2016. Т. 13. № 1. С. 224.
  133. Lehmann M.L. и др. Decoding microglia responses to psychosocial stress reveals blood-brain barrier breakdown that may drive stress susceptibility // *Sci. Rep.* 2018. Т. 8. № 1. С. 1–19.
  134. Lesuis S.L. и др. Glucocorticoid and  $\beta$ -adrenergic regulation of hippocampal dendritic spines // *J. Neuroendocrinol.* 2020. Т. 32. № 1.
  135. Levy M.J.F. и др. Neurotrophic factors and neuroplasticity pathways in the pathophysiology and treatment of depression // *Psychopharmacology (Berl).* 2018. Т. 235. № 8. С. 2195–2220.
  136. Liang M. и др. Postnatal Lipopolysaccharide Exposure Impairs Adult Neurogenesis and Causes Depression-like Behaviors Through Astrocytes Activation Triggering GABAA Receptor Downregulation // *Neuroscience.* 2019. Т. 422. С. 21–31.
  137. Liao X.M. и др. Blockade of corticotropin-releasing hormone receptor 1 attenuates early-life stress-induced synaptic abnormalities in the neonatal hippocampus // *Hippocampus.* 2014. Т. 24. № 5. С. 528–540.
  138. Lightman S.L. и др. The significance of glucocorticoid pulsatility // *Eur. J. Pharmacol.*

2008. Т. 583. № 2–3. С. 255–262.
139. Lisowski P. и др. Effects of chronic stress on prefrontal cortex transcriptome in mice displaying different genetic backgrounds // *J. Mol. Neurosci.* 2013. Т. 50. № 1. С. 33–57.
  140. Liston C. и др. Circadian glucocorticoid oscillations promote learning-dependent synapse formation and maintenance // *Nat. Neurosci.* 2013. Т. 16. № 6. С. 698–705.
  141. Liu B. и др. From Serotonin to Neuroplasticity: Evolvement of Theories for Major Depressive Disorder // *Front. Cell. Neurosci.* 2017. Т. 11. С. 305.
  142. Liu L.L. и др. Sex differences in depressive-like behaviour may relate to imbalance of microglia activation in the hippocampus // *Brain. Behav. Immun.* 2019a. Т. 81. С. 188–197.
  143. Liu X. и др. Cell-Type-Specific Interleukin 1 Receptor 1 Signaling in the Brain Regulates Distinct Neuroimmune Activities // *Immunity.* 2019b. Т. 50. № 2. С. 317–333.e6.
  144. Liu Y. и др. Involvement of CX3CL1/CX3CR1 in depression and cognitive impairment induced by chronic unpredictable stress and relevant underlying mechanism // *Behav. Brain Res.* 2020. Т. 381. С. 112371.
  145. Lobo-Silva D. и др. Balancing the immune response in the brain: IL-10 and its regulation // *J. Neuroinflammation.* 2016. Т. 13. № 1. С. 1–10.
  146. Lopes F. и др. Brain TNF drives post-inflammation depression-like behavior and persistent pain in experimental arthritis // *Brain. Behav. Immun.* 2020. Т. 89. С. 224–232.
  147. Lopes Pinheiro M.A. и др. Immune cell trafficking across the barriers of the central nervous system in multiple sclerosis and stroke. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2016. Т. 1862. № 3. С. 461–71.
  148. Loram L.C. и др. Sex and estradiol influence glial pro-inflammatory responses to lipopolysaccharide in rats // *Psychoneuroendocrinology.* 2012. Т. 37. № 10. С. 1688–1699.
  149. Lösel R.M. и др. Nongenomic steroid action: Controversies, questions, and answers // *Physiol. Rev.* 2003. Т. 83. № 3. С. 965–1016.
  150. Louveau A. и др. CNS lymphatic drainage and neuroinflammation are regulated by meningeal lymphatic vasculature // *Nat. Neurosci.* 2018. Т. 21. № 10. С. 1380–1391.
  151. Lu Y. и др. Chronic administration of fluoxetine and pro-inflammatory cytokine change in a rat model of depression // *PLoS One.* 2017a. Т. 12. № 10.
  152. Lu Y. и др. Chronic administration of fluoxetine and pro-inflammatory cytokine change in a rat model of depression // *PLoS One.* 2017b. Т. 12. № 10. С. e0186700.
  153. Ma K., Zhang H., Baloch Z. Pathogenetic and therapeutic applications of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in major depressive disorder: A systematic review // *Int. J. Mol. Sci.* 2016. Т. 17. № 5. С. 733.
  154. Ma L. и др. What do we know about sex differences in depression: A review of animal models and potential mechanisms // *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry.* 2019. Т. 89. С. 48–56.
  155. Ma Y. и др. Glucocorticoids Suppress the Protective Effect of Cyclooxygenase-2-Related Signaling on Hippocampal Neurogenesis Under Acute Immune Stress // *Mol. Neurobiol.* 2017. Т. 54. № 3. С. 1953–1966.
  156. Madalena K.M., Lerch J.K. The effect of glucocorticoid and glucocorticoid receptor interactions on brain, spinal cord, and glial cell plasticity // *Neural Plast.* 2017. Т. 2017.
  157. Maes M., Song C., Yirmiya R. Targeting IL-1 in depression // *Expert Opin. Ther. Targets.* 2012. Т. 16. № 11. С. 1097–1112.
  158. Maggi L. и др. LTP impairment by fractalkine/CX3CL1 in mouse hippocampus is mediated through the activity of adenosine receptor type 3 (A3R) // *J. Neuroimmunol.* 2009. Т. 215. № 1–2. С. 36–42.
  159. Maier S.F., Watkins L.R. Intracerebroventricular interleukin-1 receptor antagonist blocks the enhancement of fear conditioning and interference with escape produced by

- inescapable shock // *Brain Res.* 1995. Т. 695. № 2. С. 279–282.
160. Majidi J., Kosari-Nasab M., Salari A.A. Developmental minocycline treatment reverses the effects of neonatal immune activation on anxiety- and depression-like behaviors, hippocampal inflammation, and HPA axis activity in adult mice // *Brain Res. Bull.* 2016. Т. 120. С. 1–13.
  161. Makino S., Gold P.W., Schulkin J. Effects of corticosterone on CRH mRNA and content in the bed nucleus of the stria terminalis; comparison with the effects in the central nucleus of the amygdala and the paraventricular nucleus of the hypothalamus. // *Brain Res.* 1994. Т. 657. № 1–2. С. 141–9.
  162. Maras P.M., Baram T.Z. Sculpting the hippocampus from within: stress, spines, and CRH. // *Trends Neurosci.* 2012. Т. 35. № 5. С. 315–24.
  163. Marco E.M. и др. The maternal deprivation animal model revisited // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2015. Т. 51. С. 151–163.
  164. Massart R., Mongeau R., Lanfumey L. Beyond the monoaminergic hypothesis: Neuroplasticity and epigenetic changes in a transgenic mouse model of depression // *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 2012. Т. 367. № 1601. С. 2485–2494.
  165. Mateus-Pinheiro A. и др. AP2 $\gamma$  3 controls adult hippocampal neurogenesis and modulates cognitive, but not anxiety or depressive-like behavior // *Mol. Psychiatry.* 2017. Т. 22. № 12. С. 1725–1734.
  166. Matsumoto J. и др. TNF- $\alpha$ -sensitive brain pericytes activate microglia by releasing IL-6 through cooperation between I $\kappa$ B-NF $\kappa$ B and JAK-STAT3 pathways // *Brain Res.* 2018. Т. 1692. С. 34–44.
  167. McCormick C.M. и др. Sex-specific effects of prenatal stress on hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress and brain glucocorticoid receptor density in adult rats // *Dev. Brain Res.* 1995. Т. 84. № 1. С. 55–61.
  168. McKim D.B. и др. Microglial recruitment of IL-1 $\beta$ -producing monocytes to brain endothelium causes stress-induced anxiety // *Mol. Psychiatry.* 2018. Т. 23. № 6. С. 1421–1431.
  169. McKinley L. и др. TH17 cells mediate steroid-resistant airway inflammation and airway hyperresponsiveness in mice. // *J. Immunol.* 2008. Т. 181. № 6. С. 4089–97.
  170. Mehta D. и др. Transcriptional signatures related to glucose and lipid metabolism predict treatment response to the tumor necrosis factor antagonist infliximab in patients with treatment-resistant depression // *Brain. Behav. Immun.* 2013. Т. 31. С. 205–215.
  171. Melcangi R.C. Differential localization of the 5 alpha-reductase and the 3 alpha-hydroxysteroid dehydrogenase in neuronal and glial cultures // *Endocrinology.* 1993. Т. 132. № 3. С. 1252–1259.
  172. Meneses G. и др. Intranasal delivery of dexamethasone efficiently controls LPS-induced murine neuroinflammation // *Clin. Exp. Immunol.* 2017. Т. 190. № 3. С. 304–314.
  173. Merali Z. и др. Dysregulation in the Suicide Brain: mRNA Expression of Corticotropin-Releasing Hormone Receptors and GABAA Receptor Subunits in Frontal Cortical Brain Region // *J. Neurosci.* 2004. Т. 24. № 6. С. 1478–1485.
  174. Mesquita A.R. и др. IL-10 modulates depressive-like behavior // *J. Psychiatr. Res.* 2008. Т. 43. № 2. С. 89–97.
  175. Midwood K. и др. Tenascin-C is an endogenous activator of Toll-like receptor 4 that is essential for maintaining inflammation in arthritic joint disease // *Nat. Med.* 2009. Т. 15. № 7. С. 774–780.
  176. Mihailova S. и др. A study of TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , IL-10, IL-6, and IFN- $\gamma$  gene polymorphisms in patients with depression // *J. Neuroimmunol.* 2016. Т. 293. С. 123–128.
  177. Milior G. и др. Fractalkine receptor deficiency impairs microglial and neuronal responsiveness to chronic stress // *Brain. Behav. Immun.* 2016. Т. 55. С. 114–125.
  178. Mineyeva O.A. и др. Suppressed neurogenesis without cognitive deficits: Effects of fast

- neutron irradiation in mice // *Neuroreport*. 2019. Т. 30. № 8. С. 538–543.
179. Moreno F.A. и др. CSF neurochemicals during tryptophan depletion in individuals with remitted depression and healthy controls // *Eur. Neuropsychopharmacol.* 2010. Т. 20. № 1. С. 18–24.
  180. Mrdjen D. и др. High-Dimensional Single-Cell Mapping of Central Nervous System Immune Cells Reveals Distinct Myeloid Subsets in Health, Aging, and Disease // *Immunity*. 2018. Т. 48. № 2. С. 380–395.e6.
  181. Muhie S. и др. Molecular indicators of stress-induced neuroinflammation in a mouse model simulating features of post-traumatic stress disorder // *Transl. Psychiatry*. 2017. Т. 7. № 5. С. e1135.
  182. Nantharat M. и др. Glucocorticoid receptor gene (NR3C1) promoter is hypermethylated in Thai females with major depressive disorder // *Genet. Mol. Res.* 2015. Т. 14. № 4. С. 19071–19079.
  183. Nasca C. и др. Multidimensional Predictors of Susceptibility and Resilience to Social Defeat Stress // *Biol. Psychiatry*. 2019. Т. 86. № 6. С. 483–491.
  184. Niraula A. и др. Interleukin-6 Induced by Social Stress Promotes a Unique Transcriptional Signature in the Monocytes That Facilitate Anxiety // *Biol. Psychiatry*. 2019. Т. 85. № 8. С. 679–689.
  185. Oberstein T.J. и др. Imbalance of circulating Th17 and regulatory T cells in Alzheimer’s disease: A case control study // *Front. Immunol.* 2018. Т. 9. № JUN.
  186. Oliveira Miranda D. и др. Fractalkine (C-X3-C motif chemokine ligand 1) as a potential biomarker for depression and anxiety in colorectal cancer patients // *Biomed. Reports*. 2017. Т. 7. № 2. С. 188–192.
  187. Osburg V. и др. Effect of endotoxin on expression of TNF receptors and transport of TNF- $\alpha$  at the blood-brain barrier of the rat // *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002. Т. 283. С. 899–908.
  188. Pagani F. и др. Defective microglial development in the hippocampus of Cx3cr1 deficient mice // *Front. Cell. Neurosci.* 2015. Т. 09. С. 111.
  189. Pan W. и др. Differential role of TNF receptors in cellular trafficking of intact TNF // *Cell. Physiol. Biochem.* 2007a. Т. 20. № 5. С. 559–568.
  190. Pan W. и др. TNF $\alpha$  trafficking in cerebral vascular endothelial cells // *J. Neuroimmunol.* 2007b. Т. 185. № 1–2. С. 47–56.
  191. Pan W., Kastin A.J. TNF $\alpha$  transport across the blood-brain barrier is abolished in receptor knockout mice // *Exp. Neurol.* 2002. Т. 174. № 2. С. 193–200.
  192. Paolicelli R.C. и др. Synaptic pruning by microglia is necessary for normal brain development // *Science* (80-. ). 2011. Т. 333. № 6048. С. 1456–1458.
  193. Paretkar T., Dimitrov E. The Central Amygdala Corticotropin-releasing hormone (CRH) Neurons Modulation of Anxiety-like Behavior and Hippocampus-dependent Memory in Mice // *Neuroscience*. 2018. Т. 390. С. 187–197.
  194. Pariante C.M., Lightman S.L. The HPA axis in major depression: classical theories and new developments // *Trends Neurosci.* 2008. Т. 31. № 9. С. 464–468.
  195. Parker G.A. и др. Histologic Features of Postnatal Development of Immune System Organs in the Sprague-Dawley Rat // *Toxicol. Pathol.* 2015. Т. 43. № 6. С. 794–815.
  196. Pereira A.M., Tiemensma J., Romijn J.A. Neuropsychiatric disorders in Cushing’s syndrome // *Neuroendocrinology. : Neuroendocrinology*, 2010. С. 65–70.
  197. Pereira V.S. и др. Esketamine and rapastinel, but not imipramine, have antidepressant-like effect in a treatment-resistant animal model of depression // *Acta Neuropsychiatr.* 2019. Т. 31. № 5. С. 258–265.
  198. Pereira V.S., Hiroaki-Sato V.A. A brief history of antidepressant drug development: From tricyclics to beyond ketamine // *Acta Neuropsychiatr.* 2018. Т. 30. № 6. С. 307–322.
  199. Perrin A.J. и др. Glucocorticoid resistance: Is it a requisite for increased cytokine

- production in depression? A systematic review and meta-analysis. // *Front. Psychiatry*. 2019. T. 10. № MAY.
200. Pisanu A. и др. Dynamic changes in pro- and anti-inflammatory cytokines in microglia after PPAR- $\gamma$  agonist neuroprotective treatment in the MPTPp mouse model of progressive Parkinson's disease. // *Neurobiol. Dis.* 2014. T. 71. C. 280–91.
  201. Piskunov A. и др. Chronic combined stress induces selective and long-lasting inflammatory response evoked by changes in corticosterone accumulation and signaling in rat hippocampus // *Metab. Brain Dis.* 2016. T. 31. № 2. C. 445–454.
  202. Planchez B., Surget A., Belzung C. Animal models of major depression: drawbacks and challenges // *J. Neural Transm.* 2019. T. 126. № 11. C. 1383–1408.
  203. Planchez B., Surget A., Belzung C. Adult hippocampal neurogenesis and antidepressants effects // *Curr. Opin. Pharmacol.* 2020. T. 50. C. 17–24.
  204. Prat A., Biernacki K., Antel J.P. Th1 and Th2 lymphocyte migration across the human BBB is specifically regulated by interferon  $\beta$  and copolymer-1 // *J. Autoimmun.* 2005. T. 24. № 2. C. 119–124.
  205. Prinz M., Priller J. Microglia and brain macrophages in the molecular age: From origin to neuropsychiatric disease // *Nat. Rev. Neurosci.* 2014. T. 15. № 5. C. 300–312.
  206. Pujols L. и др. Expression of glucocorticoid receptor-and-isoforms in human cells and tissues // *Am J Physiol Cell Physiol.* 2002. T. 283. C. 1324–1331.
  207. Qing H. и др. Origin and Function of Stress-Induced IL-6 in Murine Models // *Cell.* 2020. T. 182. № 2. C. 372- 387.e14.
  208. Raadsheer F.C. и др. Corticotropin-releasing hormone mRNA levels in the paraventricular nucleus of patients with Alzheimer's disease and depression // *Am. J. Psychiatry.* 1995. T. 152. № 9. C. 1372–1376.
  209. Racagni G., Popoli M. Cellular and molecular mechanisms in the long-term action of antidepressants // *Dialogues Clin. Neurosci.* 2008. T. 10. № 4. C. 385–400.
  210. Radjavi A. и др. Dynamics of the meningeal CD4(+) T-cell repertoire are defined by the cervical lymph nodes and facilitate cognitive task performance in mice. // *Mol. Psychiatry.* 2014. T. 19. № 5. C. 531–3.
  211. Radulovic M. и др. Deletion of *crhr2* reveals an anxiolytic role for corticotropin-releasing hormone receptor-2. // *Nat. Genet.* 2000. T. 24. № 4. C. 415–419.
  212. Raison C.L. и др. A randomized controlled trial of the tumor necrosis factor antagonist infliximab for treatment-resistant depression: The role of baseline inflammatory biomarkers // *Arch. Gen. Psychiatry.* 2013. T. 70. № 1. C. 31–41.
  213. Raison C.L., Capuron L., Miller A.H. Cytokines sing the blues: Inflammation and the pathogenesis of depression // *Trends Immunol.* 2006. T. 27. № 1. C. 24–31.
  214. Ramirez K. и др. Imipramine attenuates neuroinflammatory signaling and reverses stress-induced social avoidance // *Brain. Behav. Immun.* 2015. T. 46. C. 212–220.
  215. Ramirez K., Sheridan J.F. Antidepressant imipramine diminishes stress-induced inflammation in the periphery and central nervous system and related anxiety- and depressive- like behaviors // *Brain. Behav. Immun.* 2016. T. 57. C. 293–303.
  216. Rayasam A. и др. Regional distribution of CNS antigens differentially determines T-cell mediated neuroinflammation in a CX3CR1-dependent manner // *J. Neurosci.* 2018. T. 38. № 32. C. 7058–7071.
  217. Refojo D. и др. Glutamatergic and dopaminergic neurons mediate anxiogenic and anxiolytic effects of CRHR1. // *Science.* 2011. T. 333. № 6051. C. 1903–7.
  218. Regev L. и др. Prolonged and site-specific over-expression of corticotropin-releasing factor reveals differential roles for extended amygdala nuclei in emotional regulation // *Mol. Psychiatry.* 2011. T. 16. № 7. C. 714–728.
  219. Renard G.M., Rivarola M.A., Suárez M.M. Gender-dependent effects of early maternal separation and variable chronic stress on vasopressinergic activity and glucocorticoid receptor expression in adult rats // *Dev. Neurosci.* 2010. T. 32. № 1. C. 71–80.



220. Revest J.M. и др. Adult hippocampal neurogenesis is involved in anxiety-related behaviors // *Mol. Psychiatry*. 2009. Т. 14. № 10. С. 959–967.
221. Ridderstad Wollberg A. и др. Pharmacological inhibition of the chemokine receptor CX3CR1 attenuates disease in a chronic-relapsing rat model for multiple sclerosis. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2014. Т. 111. № 14. С. 5409–14.
222. Rimmerman N. и др. The hippocampal transcriptomic signature of stress resilience in mice with microglial fractalkine receptor (CX3CR1) deficiency // *Brain. Behav. Immun.* 2017. Т. 61. С. 184–196.
223. Rimmerman N., Schottlender N., Yirmiya R. CX3CR1 (fractalkine receptor)-deficient mice exhibit resilience to chronic unpredictable stress-induced depressive-like behavior and suppressed neurogenesis // *Brain. Behav. Immun.* 2015. Т. 49. С. e10.
224. Rizavi H.S. и др. Abnormal gene expression of proinflammatory cytokines and their membrane-bound receptors in the lymphocytes of depressed patients // *Psychiatry Res.* 2016. Т. 240. С. 314–320.
225. Roberts A.J. и др. Increased IL-6 expression in astrocytes is associated with emotionality, alterations in central amygdala GABAergic transmission, and excitability during alcohol withdrawal // *Brain. Behav. Immun.* 2019. Т. 82. С. 188–202.
226. Rodriguez J.M. и др. Glucocorticoid resistance in chronic diseases // *Steroids*. 2016. Т. 115. С. 182–192.
227. Rogers J.T. и др. CX3CR1 deficiency leads to impairment of hippocampal cognitive function and synaptic plasticity. // *J. Neurosci.* 2011. Т. 31. № 45. С. 16241–50.
228. Roozendaal B. и др. Involvement of stress-released corticotropin-releasing hormone in the basolateral amygdala in regulating memory consolidation // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2002. Т. 99. № 21. С. 13908–13913.
229. Rose-John S. Il-6 trans-signaling via the soluble IL-6 receptor: Importance for the proinflammatory activities of IL-6 // *Int. J. Biol. Sci.* 2012. Т. 8. № 9. С. 1237–1247.
230. Ruhé H.G., Mason N.S., Schene A.H. Mood is indirectly related to serotonin, norepinephrine and dopamine levels in humans: A meta-analysis of monoamine depletion studies // *Mol. Psychiatry*. 2007. Т. 12. № 4. С. 331–359.
231. Russo S.J. и др. Neurobiology of resilience // *Nat. Neurosci.* 2012. Т. 15. № 11. С. 1475–1484.
232. Ryan J. и др. Investigating the epigenetic profile of the inflammatory gene IL-6 in late-life depression // *BMC Psychiatry*. 2017. Т. 17. № 1. С. 1–7.
233. Samoilova E.B. и др. IL-6-deficient mice are resistant to experimental autoimmune encephalomyelitis: roles of IL-6 in the activation and differentiation of autoreactive T cells. // *J. Immunol.* 1998. Т. 161. № 12. С. 6480–6.
234. Santos C.E., Benini R., Crestani C.C. Spontaneous recovery, time course, and circadian influence on habituation of the cardiovascular responses to repeated restraint stress in rats // *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.* 2020. Т. 472. № 10. С. 1495–1506.
235. Sapolsky R.M. Glucocorticoids, the evolution of the stress-response, and the primate predicament // *Neurobiol. Stress*. 2021. Т. 14. С. 100320.
236. Schoenfeld T.J. и др. Stress and Loss of Adult Neurogenesis Differentially Reduce Hippocampal Volume // *Biol. Psychiatry*. 2017. Т. 82. № 12. С. 914–923.
237. Schwarz J.M., Sholar P.W., Bilbo S.D. Sex differences in microglial colonization of the developing rat brain // *J. Neurochem.* 2012. Т. 120. № 6. С. 948–963.
238. Shanks N. и др. Early-life exposure to endotoxin alters hypothalamic-pituitary-adrenal function and predisposition to inflammation // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2000. Т. 97. № 10. С. 5645–5650.
239. Sharma S.T., Nieman L.K. Cushing’s syndrome: All variants, detection, and treatment // *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 2011. Т. 40. № 2. С. 379–391.
240. Shearer F.J.G., Wyrwoll C.S., Holmes M.C. The Role of 11 $\beta$ -Hydroxy Steroid Dehydrogenase Type 2 in Glucocorticoid Programming of Affective and Cognitive

- Behaviours // *Neuroendocrinology*. 2019. Т. 109. № 3. С. 257–265.
241. Sheridan G.K. и др. CX3CL1 is up-regulated in the rat hippocampus during memory-associated synaptic plasticity // *Front. Cell. Neurosci.* 2014. Т. 8. № AUG. С. 233.
  242. Sheridan G.K., Murphy K.J. Neuron-glia crosstalk in health and disease: fractalkine and CX3CR1 take centre stage. // *Open Biol.* 2013. Т. 3. № 12. С. 130181.
  243. Sidor M.M. и др. A developmental characterization of mesolimbocortical serotonergic gene expression changes following early immune challenge // *Neuroscience*. 2010. Т. 171. № 3. С. 734–746.
  244. Skupio U. и др. Behavioral and molecular alterations in mice resulting from chronic treatment with dexamethasone: Relevance to depression // *Neuroscience*. 2015.
  245. Slattery D.A., Cryan J.F. Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents // *Nat. Protoc.* 2012. Т. 7. № 6. С. 1009–1014.
  246. Slattery D.A., Uzunov D.P., Cryan J.F. 11- $\beta$  hydroxysteroid type 1 knockout mice display an antidepressant-like phenotype in the forced swim test // *Acta Neuropsychiatr.* 2015. Т. 28. № 1. С. 55–60.
  247. Slavich G.M., Sacher J. Stress, sex hormones, inflammation, and major depressive disorder: Extending Social Signal Transduction Theory of Depression to account for sex differences in mood disorders // *Psychopharmacology (Berl)*. 2019. Т. 236. № 10. С. 3063–3079.
  248. Smith A.M., Dragunow M. The human side of microglia // *Trends Neurosci.* 2014. Т. 37. № 3. С. 125–135.
  249. Sominsky L. и др. Increased microglial activation in the rat brain following neonatal exposure to a bacterial mimetic // *Behav. Brain Res.* 2012. Т. 226. № 1. С. 351–356.
  250. Song A.Q. и др. NLRP1 inflammasome contributes to chronic stress-induced depressive-like behaviors in mice // *J. Neuroinflammation*. 2020. Т. 17. № 1. С. 178.
  251. Sowa-Kućma M. и др. Lipid Peroxidation and Immune Biomarkers Are Associated with Major Depression and Its Phenotypes, Including Treatment-Resistant Depression and Melancholia // *Neurotox. Res.* 2018. Т. 33. № 2. С. 448–460.
  252. Spencer R.L. и др. Adrenal steroid type I and type II receptor binding: estimates of in vivo receptor number, occupancy, and activation with varying level of steroid // *Brain Res.* 1990. Т. 514. № 1. С. 37–48.
  253. Spierling S.R., Zorrilla E.P. Don't stress about CRF: assessing the translational failures of CRF1 antagonists // *Psychopharmacology (Berl)*. 2017. Т. 234. № 9–10. С. 1467–1481.
  254. Stepanichev M. и др. Rodent models of depression: Neurotrophic and neuroinflammatory biomarkers // *Biomed Res. Int.* 2014. Т. 2014. С. 932757.
  255. Stockmeier C.A. и др. Cellular changes in the postmortem hippocampus in major depression // *Biol. Psychiatry*. 2004. Т. 56. № 9. С. 640–650.
  256. Su W.J. и др. NLRP3 gene knockout blocks NF- $\kappa$ B and MAPK signaling pathway in CUMS-induced depression mouse model // *Behav. Brain Res.* 2017. Т. 322. С. 1–8.
  257. Sukoff Rizzo S.J. и др. Evidence for sustained elevation of IL-6 in the CNS as a key contributor of depressive-like phenotypes. // *Transl. Psychiatry*. 2012. Т. 2. № 12. С. 199.
  258. Tang Z. и др. CX3CR1 deficiency suppresses activation and neurotoxicity of microglia/macrophage in experimental ischemic stroke // *J. Neuroinflammation*. 2014. Т. 11. № 1. С. 26.
  259. Thion M.S., Garel S. On place and time: microglia in embryonic and perinatal brain development // *Curr. Opin. Neurobiol.* 2017. Т. 47. С. 121–130.
  260. Thompson B.L. и др. Corticosterone facilitates retention of contextually conditioned fear and increases CRH mRNA expression in the amygdala. // *Behav. Brain Res.* 2004. Т. 149. № 2. С. 209–15.
  261. Tianzhu Z., Shihai Y., Juan D. Antidepressant-like effects of cordycepin in a mice model of chronic unpredictable mild stress // *Evidence-based Complement. Altern. Med.* 2014. Т. 2014.

262. Tiosano S. и др. The impact of tocilizumab on anxiety and depression in patients with rheumatoid arthritis // *Eur. J. Clin. Invest.* 2020.
263. Tishkina A. и др. Neonatal proinflammatory challenge in male Wistar rats: Effects on behavior, synaptic plasticity, and adrenocortical stress response // *Behav. Brain Res.* 2016. Т. 304. С. 1–10.
264. Tonelli L.H., Holmes A., Postolache T.T. Intranasal immune challenge induces sex-dependent depressive-like behavior and cytokine expression in the brain // *Neuropsychopharmacology.* 2008. Т. 33. № 5. С. 1038–1048.
265. Tremblay M.É., Sierra A. Microglia in health and disease. , 2014. 1–486 с.
266. Trojan E. и др. The modulatory properties of chronic antidepressant drug treatment on the brain chemokine - Chemokine receptor network: A molecular study in an animal model of depression // *Front. Pharmacol.* 2017. Т. 8. № NOV. С. 779.
267. Trojan E. и др. Role of Chronic Administration of Antidepressant Drugs in the Prenatal Stress-Evoked Inflammatory Response in the Brain of Adult Offspring Rats: Involvement of the NLRP3 Inflammasome-Related Pathway // *Mol. Neurobiol.* 2019. Т. 56. № 8. С. 5365–5380.
268. Turecki G., Meaney M.J. Effects of the Social Environment and Stress on Glucocorticoid Receptor Gene Methylation: A Systematic Review // *Biol. Psychiatry.* 2016. Т. 79. № 2. С. 87–96.
269. Tynan R.J. и др. Chronic stress alters the density and morphology of microglia in a subset of stress-responsive brain regions // *Brain. Behav. Immun.* 2010. Т. 24. № 7. С. 1058–1068.
270. Tyrka A.R. и др. Methylation of the leukocyte glucocorticoid receptor gene promoter in adults: Associations with early adversity and depressive, anxiety and substance-use disorders // *Transl. Psychiatry.* 2016. Т. 6. № 7.
271. Uchihara Y. и др. Superoxide dismutase overexpression protects against glucocorticoid-induced depressive-like behavioral phenotypes in mice // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2016. Т. 469. № 4. С. 873–877.
272. Ueno M. и др. Layer V cortical neurons require microglial support for survival during postnatal development // *Nat. Neurosci.* 2013. Т. 16. № 5. С. 543–551.
273. Utz S.G. и др. Early Fate Defines Microglia and Non-parenchymal Brain Macrophage Development // *Cell.* 2020. Т. 181. № 3. С. 557- 573.e18.
274. Vandewalle J. и др. Therapeutic Mechanisms of Glucocorticoids // *Trends Endocrinol. Metab.* 2018. Т. 29. № 1. С. 42–54.
275. Vega-Rivera N.M. и др. Melatonin Reverses the Depression-associated Behaviour and Regulates Microglia, Fractalkine Expression and Neurogenesis in Adult Mice Exposed to Chronic Mild Stress // *Neuroscience.* 2020. Т. 440. С. 316–336.
276. Verboogen D.R.J. и др. Interleukin-6 secretion is limited by self-signaling in endosomes // *J. Mol. Cell Biol.* 2019. Т. 11. № 2. С. 144–157.
277. Verma S. и др. Release of cytokines by brain endothelial cells: A polarized response to lipopolysaccharide // *Brain. Behav. Immun.* 2006. Т. 20. № 5. С. 449–455.
278. Vogel D.Y.S. и др. GM-CSF promotes migration of human monocytes across the blood brain barrier // *Eur. J. Immunol.* 2015. Т. 45. № 6. С. 1808–1819.
279. Vollmayr B., Gass P. Learned helplessness: Unique features and translational value of a cognitive depression model // *Cell Tissue Res.* 2013. Т. 354. № 1. С. 171–178.
280. Voorhees J.L. и др. Prolonged Restraint Stress Increases IL-6, Reduces IL-10, and Causes Persistent Depressive-Like Behavior That Is Reversed by Recombinant IL-10 // *PLoS One.* 2013. Т. 8. № 3.
281. Wachholz S. и др. Microglia activation is associated with IFN- $\alpha$  induced depressive-like behavior // *Brain. Behav. Immun.* 2016. Т. 55. С. 105–113.
282. Wajant H., Siegmund D. TNFR1 and TNFR2 in the control of the life and death balance of macrophages // *Front. Cell Dev. Biol.* 2019. Т. 7. № May.

283. Wakabayashi C. и др. Age-dependent regulation of depression-like behaviors through modulation of adrenergic receptor  $\alpha 1A$  subtype expression revealed by the analysis of interleukin-1 receptor antagonist knockout mice // *Neuroscience*. 2011. Т. 192. С. 475–484.
284. Walker A.K. и др. Neonatal lipopolysaccharide and adult stress exposure predisposes rats to anxiety-like behaviour and blunted corticosterone responses: Implications for the double-hit hypothesis // *Psychoneuroendocrinology*. 2009. Т. 34. № 10. С. 1515–1525.
285. Walker A.K., Nakamura T., Hodgson D.M. Neonatal lipopolysaccharide exposure alters central cytokine responses to stress in adulthood in Wistar rats // *Stress*. 2010. Т. 13. № 6. С. 506–515.
286. Walker F.R., Hodyl N.A., Hodgson D.M. Neonatal bacterial endotoxin challenge interacts with stress in the adult male rat to modify KLH specific antibody production but not KLH stimulated ex vivo cytokine release // *J. Neuroimmunol.* 2009. Т. 207. № 1–2. С. 57–65.
287. Walter M.R. The molecular basis of IL-10 function: From receptor structure to the onset of signaling // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2014. Т. 380. С. 191–212.
288. Wang P. и др. Interleukin-6: Its role and mechanisms in rescuing depression-like behaviors in rat models of depression // *Brain. Behav. Immun.* 2019. Т. 82. С. 106–121.
289. Wang S., Zhang H., Xu Y. Crosstalk between microglia and T cells contributes to brain damage and recovery after ischemic stroke // *Neurol. Res.* 2016. Т. 38. № 6. С. 495–503.
290. Wang W. и др. Increased methylation of glucocorticoid receptor gene promoter 1 F in peripheral blood of patients with generalized anxiety disorder // *J. Psychiatr. Res.* 2017a. Т. 91. С. 18–25.
291. Wang X.P. и др. TRPM8 in the negative regulation of TNF $\alpha$  expression during cold stress // *Sci. Rep.* 2017b. Т. 7. № 1. С. 1–11.
292. Warner-Schmidt J.L. и др. Antidepressant effects of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) are attenuated by antiinflammatory drugs in mice and humans // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2011. Т. 108. № 22. С. 9262–9267.
293. Weber M.D. и др. The Influence of Microglial Elimination and Repopulation on Stress Sensitization Induced by Repeated Social Defeat // *Biol. Psychiatry*. 2019. Т. 85. № 8. С. 667–678.
294. Weert L.T.C.M. van и др. NeuroD Factors Discriminate Mineralocorticoid From Glucocorticoid Receptor DNA Binding in the Male Rat Brain // *Endocrinology*. 2017. Т. 158. № 5. С. 1511–1522.
295. Werneburg S. и др. A microglia-cytokine axis to modulate synaptic connectivity and function. // *Curr. Opin. Neurobiol.* 2017. Т. 47. С. 138–145.
296. Wilkinson J.M. и др. Compound profiling using a panel of steroid hormone receptor cell-based assays // *J. Biomol. Screen.* 2008. Т. 13. № 8. С. 755–765.
297. Williamson L.L. и др. Got worms? Perinatal exposure to helminths prevents persistent immune sensitization and cognitive dysfunction induced by early-life infection // *Brain. Behav. Immun.* 2016. Т. 51. С. 14–28.
298. Willner P. The chronic mild stress (CMS) model of depression: History, evaluation and usage // *Neurobiol. Stress*. 2017. Т. 6. С. 78–93.
299. Wittchen H.U. и др. The size and burden of mental disorders and other disorders of the brain in Europe 2010 // *Eur. Neuropsychopharmacol.* 2011. Т. 21. № 9. С. 655–679.
300. Wohleb E.S. и др. Peripheral innate immune challenge exaggerated microglia activation, increased the number of inflammatory CNS macrophages, and prolonged social withdrawal in socially defeated mice // *Psychoneuroendocrinology*. 2012. Т. 37. № 9. С. 1491–1505.
301. Wohleb E.S. и др. Stress-induced recruitment of bone marrow-derived monocytes to the brain promotes anxiety-like behavior // *J. Neurosci.* 2013. Т. 33. № 34. С. 13820–13833.
302. Wohleb E.S. и др. Re-establishment of anxiety in stress-sensitized mice is caused by

- monocyte trafficking from the spleen to the brain // *Biol. Psychiatry*. 2014. Т. 75. № 12. С. 970–981.
303. Worthen R.J. и др. Anti-inflammatory IL-10 administration rescues depression-associated learning and memory deficits in mice // *J. Neuroinflammation*. 2020. Т. 17. № 1. С. 246.
304. Wu Y. и др. Microglia: Dynamic Mediators of Synapse Development and Plasticity // *Trends Immunol.* 2015. Т. 36. № 10. С. 605–613.
305. Wu Z., Zhang J., Nakanishi H. Leptomeningeal cells activate microglia and astrocytes to induce IL-10 production by releasing pro-inflammatory cytokines during systemic inflammation // *J. Neuroimmunol.* 2005. Т. 167. № 1–2. С. 90–98.
306. Wynne A.M. и др. Protracted downregulation of CX3CR1 on microglia of aged mice after lipopolysaccharide challenge // *Brain. Behav. Immun.* 2010. Т. 24. № 7. С. 1190–1201.
307. Xu Y.J. и др. CRH/CRHR1 mediates prenatal synthetic glucocorticoid programming of depression-like behavior across 2 generations // *FASEB J.* 2018. Т. 32. № 8. С. 4258–4269.
308. Yamada K. и др. Neurobehavioral alterations in mice with a targeted deletion of the tumor necrosis factor- $\alpha$  gene: Implications for emotional behavior // *J. Neuroimmunol.* 2000. Т. 111. № 1–2. С. 131–138.
309. Yasir M., Sonthalia S. *Corticosteroid Adverse Effects.* : StatPearls Publishing, 2019.
310. Yin W. и др. Repeated social defeat in female mice induces anxiety-like behavior associated with enhanced myelopoiesis and increased monocyte accumulation in the brain // *Brain. Behav. Immun.* 2019. Т. 78. С. 131–142.
311. Yue N. и др. Activation of P2X7 receptor and NLRP3 inflammasome assembly in hippocampal glial cells mediates chronic stress-induced depressive-like behaviors // *J. Neuroinflammation*. 2017. Т. 14. № 1.
312. Zeisel A. и др. Molecular Architecture of the Mouse Nervous System // *Cell*. 2018. Т. 174. № 4. С. 999–1014.e22.
313. Zennaro M.C., Menuet D. Le, Lombès M. Characterization of the human mineralocorticoid receptor gene 5'-regulatory region: evidence for differential hormonal regulation of two alternative promoters via nonclassical mechanisms. // *Mol. Endocrinol.* 1996. Т. 10. № 12. С. 1549–1560.
314. Zhang C. и др. Temporal gene expression profiles after focal cerebral ischemia in mice // *Aging Dis.* 2018a. Т. 9. № 2. С. 249–261.
315. Zhang H. и др. The recovery trajectory of adolescent social defeat stress-induced behavioral, 1H-MRS metabolites and myelin changes in Balb/c mice // *Sci. Rep.* 2016. Т. 6. № 1. С. 1–10.
316. Zhang J.C. и др. Blockade of interleukin-6 receptor in the periphery promotes rapid and sustained antidepressant actions: a possible role of gut-microbiota-brain axis // *Transl. Psychiatry*. 2017. Т. 7. № 5. С. e1138.
317. Zhang T.Y. и др. Environmental enrichment increases transcriptional and epigenetic differentiation between mouse dorsal and ventral dentate gyrus // *Nat. Commun.* 2018b. Т. 9. № 1. С. 1–11.
318. Zubkov E. A. et al. Changes in Gene Expression Profiles in Adult Rat Brain Structures after Neonatal Action of Dipeptidyl Peptidase-IV Inhibitors // *Neuropsychobiology*. – 2017. – Т. 76. – №. 2. – С. 89-99.