

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Институт экспериментальной медицины»

На правах рукописи

Шварц Александр Павлович

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА D2 РЕЦЕПТОРА ДОФАМИНА В МЕДИАЛЬНОЙ
ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЕ МОЗГА КРЫС ПРИ РАЗВИТИИ КОГНИТИВНЫХ
НАРУШЕНИЙ, ВЫЗВАННЫХ ПОВЫШЕНИЕМ УРОВНЯ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 β
В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Специальность 03.03.01 – «Физиология»

Диссертация на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель – доктор медицинских наук,
профессор Виктор Матвеевич Клименко

Санкт-Петербург

2019

Оглавление

Введение	5
Актуальность и степень разработанности темы исследования.....	5
Цель и задачи исследования	7
Научная новизна работы	8
Теоретическая и практическая значимость	9
Методология и методы исследования.....	9
Положения, выносимые на защиту	9
Степень достоверности и апробация результатов	10
1. Обзор литературы.....	13
1.1. Характеристика дофаминергической системы мозга	13
1.1.1. <i>Метаболизм дофамина в ЦНС.....</i>	<i>13</i>
1.1.2. <i>Классификация рецепторов дофамина</i>	<i>15</i>
1.1.3. <i>Строение и сигнальные пути рецепторов дофамина</i>	<i>16</i>
1.1.4. <i>Анатомические особенности и функции дофаминергической системы в ЦНС.....</i>	<i>21</i>
1.1.5. <i>Формирование дофаминергической системы в ЦНС в раннем онтогенезе</i>	<i>25</i>
1.2. Изоформы D2 рецептора дофамина.....	26
1.2.1. <i>Альтернативный сплайсинг мРНК, особенности структуры и локализации изоформ D2 рецептора</i>	<i>26</i>
1.2.2. <i>Изоформы D2 рецептора в регуляции поведения.....</i>	<i>29</i>
1.2.2.1. <i>Данные наблюдений на экспериментальных животных с разным уровнем изоформ рецептора в мозге</i>	<i>29</i>
1.2.2.2. <i>Данные генетических исследований и post-mortem наблюдений на людях.....</i>	<i>31</i>

1.3.	Действие ИЛ-1 β на формирование поведения	35
1.3.1.	<i>Краткая характеристика ИЛ-1β</i>	35
1.3.2.	<i>Действие ИЛ-1β на мозг взрослых животных</i>	39
1.3.3.	<i>Роль ИЛ-1β в развитии ЦНС</i>	43
1.3.4.	<i>Роль ИЛ-1β в формировании нарушений функционирования дофаминергической системы мозга</i>	47
2.	Материалы и методы	50
2.1.	Подготовка экспериментальных животных. Общий план эксперимента...	50
2.2.	Поведенческие тесты.....	53
2.2.1.	<i>Исследование рабочей памяти в Y-образном лабиринте</i>	53
2.2.2.	<i>Условный рефлекс активного избегания</i>	54
2.3.	Определение уровня экспрессии гена D2 рецептора дофамина.....	55
2.3.1.	<i>Выделение тотальной РНК</i>	56
2.3.2.	<i>Обработка образцов РНК ДНКазой</i>	57
2.3.3.	<i>Обратная транскрипция</i>	59
2.3.4.	<i>Полимеразная цепная реакция в реальном времени</i>	59
2.4.	Статистическая обработка и представление результатов	63
3.	Результаты	64
3.1.	Влияние введений ИЛ-1 β в течение 3-й недели жизни на показатели рабочей памяти крыс разного возраста.....	64
3.2.	Возрастная динамика содержания мРНК D2S и D2L рецепторов дофамина в медиальной префронтальной коре	66
3.3.	Содержание сплайс-вариантов мРНК D2 рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре взрослых крыс при выработке условного рефлекса активного избегания.....	73
4.	Обсуждение.....	79

4.1. Хроническое повышение уровня ИЛ-1 β в раннем постнатальном онтогенезе вызывает нарушения рабочей памяти крыс.....	79
4.2. Возрастная динамика содержания изоформ D2 рецептора в медиальной префронтальной коре интактных крыс	81
4.3. Возможное функциональное значение изменения содержания изоформ мРНК D2 рецептора в развивающейся медиальной префронтальной коре крыс после введений ИЛ-1 β	82
4.4. Экспрессия гена D2 рецептора в префронтальной коре крыс в условиях выработки условного рефлекса активного избегания.....	85
4.5. Возможная связь между содержанием изоформ D2 рецептора и когнитивными способностями животных	87
5. Выводы.....	89
Заключение.....	90
Список сокращений.....	91
Список литературы	94

Введение

Актуальность и степень разработанности темы исследования

Дофамин – один из основных нейромедиаторов в ЦНС – участвует в процессах обучения и памяти, внимания, регуляции произвольных движений, эмоций, мотивированных форм поведения, эндокринной системы. Изменение функционирования D2 рецепторов дофамина наблюдается при различных видах нервной и психической патологии, включая шизофрению, синдром дефицита внимания с гиперактивностью, болезнь Паркинсона, аффективные расстройства [1, 2]. D2 рецептор дофамина представлен короткой (D2S) и длинной (D2L) изоформами, которые образуются за счёт альтернативного сплайсинга пре-мРНК рецептора [3, 4]. Изоформы рецептора отличаются друг от друга по активируемым сигнальным путям и по субклеточной локализации: D2S рецепторы преимущественно выявляются в пресинаптической области и телах дофаминергических нейронов, а D2L рецепторы выявляются в постсинаптической области [5–8].

Показано, что две изоформы D2 рецептора дофамина играют различную роль в регуляции когнитивных функций. Так, у человека обнаружены влияющие на альтернативный сплайсинг мРНК однонуклеотидные полиморфизмы в гене рецептора, наличие которых может сказываться на изменении процессов рабочей памяти, активности префронтальной и моторной областей коры больших полушарий [9–11]. Исследования, выполненные на мышах, нокаутных по D2L рецептору дофамина, выявляют участие длинной изоформы рецептора в реакции на новизну, регуляции моторного поведения, оперантном обучении [12–15]. Исследования *post-mortem* выявляют изменения соотношения D2S/D2L мРНК в мозге при шизофрении и аффективных расстройствах, при этом наиболее выраженные изменения наблюдаются в префронтальной коре [16].

Несмотря на накопленные данные о различиях между длинной и короткой изоформами D2 рецептора дофамина, дифференциальная регуляция синтеза их

мРНК, а также роль каждой из них в реализации когнитивных функций и формировании нервной и психической патологии остаются малоизученными. Считается, что нарушения созревания дофаминергической системы лежат в основе множества расстройств, связанных с нарушением развития ЦНС (neurodevelopmental disorders) [17, 18], т.е. дисфункций мозга, вызванных действием повреждающих факторов в критические периоды развития ЦНС [19–22]. Повышение уровня провоспалительных цитокинов, в том числе интерлейкина (ИЛ)-1 β , в крови и ЦНС в критические периоды раннего онтогенеза в настоящее время рассматривают в качестве одного из основных факторов, нарушающих процессы созревания головного мозга [19, 21, 22]. В ряде работ, в том числе выполненных в Физиологическом отделе им. И.П. Павлова Института экспериментальной медицины, показано, что повышение уровня ИЛ-1 β в раннем постнатальном периоде онтогенеза может приводить к нарушению формирования дофаминергической системы мозга, а также к отставленным нарушениям поведения [23–28]. В отдельных работах описаны изменения плотности D2 рецептора дофамина в различных областях мозга в ответ на действие провоспалительных факторов в ранние периоды онтогенеза [29–31]. Однако вклад отдельных сплайс-вариантов рецептора в эти изменения остаётся неизученным.

В связи с вышесказанным, перспективным подходом для раскрытия возможной роли изоформ D2 рецептора в осуществлении когнитивных функций мозга представляется изучение экспрессии гена D2 рецептора дофамина в моделях последствий неонатальной патологии. Одной из них является предложенная О.Е. Зубаревой и соавт. [26] модель когнитивных дисфункций, вызванных хроническим введением умеренно-пирогенных доз ИЛ-1 β крысам в течение третьей недели жизни, которая по уровню развития ЦНС соответствует раннему постнатальному периоду развития человека [32]. Для данной модели характерно формирование отставленных нарушений поведения: изменение динамики ориентировочно-исследовательского поведения у животных подросткового возраста [26], нарушения долговременной памяти взрослых животных в тестах активного и пассивного избегания [25], и в водном лабиринте

Морриса [24], а также увеличение их стресс-реактивности [33]. При этом известно, что введения ИЛ-1 β в раннем постнатальном онтогенезе приводят также к нарушениям процессов нейропластичности в медиальной префронтальной области коры больших полушарий [34], области мозга, которая играет важную роль в осуществлении когнитивных функций, в особенности в процессах рабочей памяти [35]. Показано, что регуляция процессов рабочей памяти в префронтальной коре осуществляется с помощью дофаминергической системы [36], а изменения соотношения изоформ D2 рецептора дофамина может приводить к дефициту рабочей памяти [37, 38]. Дефицит рабочей памяти, в свою очередь, наблюдается при патологии, связанной с действием неблагоприятных факторов в перинатальный период [39–43].

Таким образом, изменения содержания мРНК отдельных изоформ D2 рецептора дофамина в префронтальной области коры больших полушарий и связанные с ними нарушения рабочей памяти следует ожидать у крыс после хронического повышения уровня ИЛ-1 β в раннем постнатальном периоде онтогенеза, однако это предположение требует проверки. Между тем, в доступной литературе отсутствуют данные об изменении содержания мРНК D2L и D2S рецептора дофамина в мозге крыс в ходе постнатального развития и при предъявлении когнитивной нагрузки.

Цель и задачи исследования

Цель исследования – изучение продукции изоформ мРНК D2 рецептора дофамина при дисфункции медиальной префронтальной коры мозга крыс вследствие экспериментального повышения уровня провоспалительного цитокина интерлейкина-1 β в раннем постнатальном периоде.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

1. выявить особенности рабочей памяти крыс пред-, пери- и постпубертатного возраста, подвергнутых действию ИЛ-1 β в раннем постнатальном периоде онтогенеза;

2. описать возрастную динамику содержания мРНК короткой (D2S) и длинной (D2L) изоформ D2 рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре головного мозга интактных крыс от неполовозрелого до половозрелого возраста;
3. оценить влияние введений ИЛ-1 β на возрастную динамику экспрессии гена D2 рецептора дофамина в медиальной префронтальной области коры головного мозга крыс с дифференциальной оценкой содержания D2L и D2S сплайс-вариантов мРНК рецептора;
4. выявить особенности экспрессии гена D2 рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре в условиях выработки условного рефлекса активного избегания у взрослых интактных крыс и животных после курсовых введений интерлейкина-1 β в течение 3-й недели жизни.

Научная новизна работы

В работе впервые проанализирована возрастная динамика содержания мРНК сплайс-вариантов D2 рецептора дофамина в префронтальной коре головного мозга интактных крыс и животных после хронических введений умеренно-пирогенных доз ИЛ-1 β в раннем постнатальном периоде онтогенеза. Получены приоритетные данные о возможной связи между уровнем содержания мРНК D2S рецептора и индивидуальной способностью животных к формированию условного рефлекса активного избегания. В работе впервые описаны особенности экспрессии гена D2 рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре мозга крыс при выработке условного рефлекса активного избегания с дифференцированной оценкой содержания длинной и короткой изоформ мРНК. Выявлено, что хроническое повышение уровня ИЛ-1 β в течение третьей недели жизни подавляет индуцированное когнитивной нагрузкой (процесс выработки условного рефлекса активного избегания) снижение содержания мРНК D2L в медиальной префронтальной коре мозга крыс.

Теоретическая и практическая значимость

Полученные в ходе работы данные о дифференцированных изменениях содержания мРНК короткой и длинной изоформ D2 рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре головного мозга крыс в ходе постнатального развития, а также при психоэмоциональной нагрузке, расширяют и дополняют существующие теоретические представления о различной функциональной роли изоформ рецептора. Описанные нарушения рабочей памяти и дисрегуляция экспрессии гена D2 рецептора дофамина в префронтальной коре животных после хронического повышения уровня ИЛ-1 β в течение третьей недели жизни могут быть использованы в дальнейшем при разработке экспериментальных моделей когнитивных дисфункций с целью поиска новых способов лечения и диагностики таких нарушений. Полученные данные могут быть использованы при преподавании курсов лекций по психофизиологии, нейроиммунологии, нейрохимии, функциональной нейрохимии, биохимии развивающегося мозга.

Методология и методы исследования

Работа выполнена с применением комплексного подхода, совмещающего патофизиологические (моделирование нарушений созревания ЦНС с помощью хронических введений рекомбинантного ИЛ-1 β), поведенческие (оценка рабочей памяти в Y-образном лабиринте), биохимические (выделение тотальной РНК) и молекулярно-биологические (оценка уровня экспрессии генов с помощью метода обратной транскрипции с последующей полимеразной цепной реакцией в реальном времени) методы.

Положения, выносимые на защиту

1. В период полового созревания в медиальной префронтальной коре мозга интактных крыс содержание мРНК D2S и соотношение мРНК D2S и D2L изоформ D2 рецептора дофамина снижается.

2. Курсовое повышение уровня ИЛ-1 β в раннем постнатальном онтогенезе крыс приводит к формированию долговременного дефицита рабочей памяти, возникающего в период полового созревания и сохраняющегося у взрослых животных.

3. В раннем постнатальном периоде онтогенеза курсовое введение ИЛ-1 β нарушает динамику экспрессии гена D2 рецептора в медиальной префронтальной коре крыс, приводя к увеличению соотношения D2S/D2L в этой области мозга животных подросткового возраста.

4. При когнитивной нагрузке (выработке условного рефлекса активного избегания) в медиальной префронтальной коре головного мозга взрослых интактных крыс снижается содержание мРНК только длинной изоформы D2 рецептора дофамина. Курсовое экспериментальное повышение уровня ИЛ-1 β в раннем постнатальном онтогенезе приводит к дисрегуляции экспрессии гена D2 рецептора дофамина в данной области мозга: содержание мРНК обеих изоформ рецептора не меняется в процессе тренировки.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов определяется адекватным выбором используемых статистических методов, подходящим для них размером выборок, рандомизацией при работе с животными (использование животных из каждого помёта в контрольных и опытных группах, поочерёдное тестирование животных из разных групп и т.д.), использованием общепринятых методик для оценки относительного содержания мРНК и оценки рабочей памяти крыс.

Результаты работы неоднократно обсуждались на научных семинарах «Павловские среды» Физиологического отдела им. И.П. Павлова ФГБНУ «ИЭМ», а также на всероссийских и международных конференциях, где были доложены автором, в том числе:

- 6 конференций с устными выступлениями (1. IV Всероссийская конференция с международным участием «Гиппокамп и память: норма и патология» Пущино,

- 2018; **2.** 25th Multidisciplinary International Neuroscience and Biological Psychiatry Conference “Stress and Behavior”, Санкт-Петербург, Россия, 2018; **3.** 24th Multidisciplinary International Neuroscience and Biological Psychiatry Conference “Stress and Behavior”, Санкт-Петербург, Россия, 2017; **4.** XX Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина - человек и его здоровье», Санкт-Петербург, Россия, 2017; **5.** III Всероссийская конференция молодых учёных «Нейробиология интегративных функций мозга», Санкт-Петербург, Россия, 2017; **6.** Международный молодёжный научный форум «Ломоносов-2015», Москва, Россия, 2015);
- 9 конференций со стендовыми докладами (**1.** Международная школа-конференция молодых учёных 2nd ISN-JNC Flagship School, Альпбах, Австрия, 2018; **2.** 11-й Нейронаучный форум Федерации европейских нейронаучных сообществ 11th FENS Forum of neuroscience, Берлин, Германия, 2018; **3.** Объединённый конгресс Европейского и Международного нейрохимического обществ ISN-ESN Meeting, Париж, Франция, 2017; **4.** I Всероссийская интернет-конференция с международным участием «Биологические основы психических расстройств», Казань, Россия, 2012; **5.** Санкт-Петербургский научный форум, посвящённый 100-летию Физиологического общества им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, 2017; **6.** XVIII Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина - человек и его здоровье», Санкт-Петербург, Россия, 2015; **7.** Международный молодёжный научный форум «Ломоносов-2015», Москва, Россия, 2015; **8.** Международная научная конференция Научного парка СПбГУ «Трансляционная биомедицина: современные методы междисциплинарных исследований в аспекте внедрения в практическую медицину», Санкт-Петербург, Россия, 2015; **9.** XVII Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина - человек и его здоровье», Санкт-Петербург, Россия, 2014).

Результаты диссертационного исследования опубликованы в трёх статьях в рецензируемых изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации для публикации результатов диссертационных исследований (из них 2 – в международных журналах, индексируемых в базах данных PubMed, Scopus и Web of Science).

Работа была выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ), в рамках проекта № 16-34-00873 мол_а.

1. Обзор литературы

1.1. Характеристика дофаминергической системы мозга

1.1.1. *Метаболизм дофамина в ЦНС*

Дофамин – один из главных нейромедиаторов в ЦНС, относящийся к классу катехоламинов. Дофаминергическая система выполняет ряд важных физиологических функций: внутреннего подкрепления, ориентировочно-исследовательского поведения и внимания, мотивационного поведения, формирования эмоций, регуляции локомоторного поведения и способности к пространственному обучению [44, 45]. Нарушение работы дофаминергической системы лежит в основе ряда патологических состояний, таких как шизофрения, болезнь Паркинсона, синдром дефицита внимания с гиперактивностью, депрессивные состояния, алкогольная и наркотические зависимости [46].

Схема метаболизма дофамина и его компартментализации в синаптических окончаниях приведена на рис. 1.1. Дофамин образуется под действием декарбоксилазы ароматических аминокислот из L-3,4-диоксифенилаланина (L-ДОФА), который синтезируется из тирозина под действием тирозингидроксилазы. Эти 2 фермента являются маркерами дофаминергических нейронов. Однако недофаминергические нейроны могут синтезировать один из двух ферментов биосинтеза дофамина, то есть демонстрировать частично дофаминергический фенотип, причём количество таких нейронов увеличивается в ответ на повреждение дофаминергических нейронов [47].

Синтезированный в цитоплазме дофамин упаковывается в синаптические везикулы с помощью везикулярного транспортёра моноаминов VMAT2, работающего по принципу H^+ -антипортера [48]. Регуляция экстраклеточного (после выброса нейромедиатора в синаптическую щель) содержания дофамина осуществляется, в основном, с помощью специализированного транспортёра, известного под двумя названиями: DAT1 и Slc6a3 [49]. Следует отметить, что

полиморфизм по гену дофаминового транспортёра ассоциирован с риском развития синдрома дефицита внимания с гиперактивностью [50, 51]. Однако в коре больших полушарий головного мозга содержание дофаминового транспортёра резко снижено и основным регулятором экстраклеточного содержания дофамина там выступает мембранная форма катехол-О-метилтрансферазы (COMT) [52]. Полиморфизм по гену этого фермента связан с эффективностью осуществления когнитивных функций, управляемых префронтальной областью коры больших полушарий головного мозга: процессов внимания и рабочей памяти [52].

Биодеградация дофамина осуществляется с участием катехол-О-метилтрансферазы (COMT) и моноаминоксидаз (MAO) [46]. Дофамин может окисляться под действием моноаминоксидазы до 3,4-диоксифенилуксусной кислоты (ДОФУК, DOPAC) либо метилироваться под действием катехол-О-метилтрансферазы до 3-метокситирамина (3-МТ). Конечным продуктом катаболизма дофамина является гомованилиновая кислота (ГВК, HVA), которая образуется либо из диоксифенилуксусной кислоты под действием катехол-О-метилтрансферазы, либо из 3-метокситирамина под действием моноаминоксидазы [53].

Существует 2 изофермента моноаминоксидазы: моноаминоксидаза А и Б типа. В катехоламинергических нейронах преобладает моноаминоксидаза А [46]. Следует отметить, что изменение активности моноаминоксидаз может влиять на физиологические функции дофаминергической системы [54]. Повышенная активность моноаминоксидазы Б наблюдается в чёрной субстанции при болезни Паркинсона, связанное с этим усиление окисления дофамина может являться одной из причин этого заболевания. Дефицит моноаминоксидаз также ассоциирован с предрасположенностью к алкогольной и никотиновой зависимости [55].

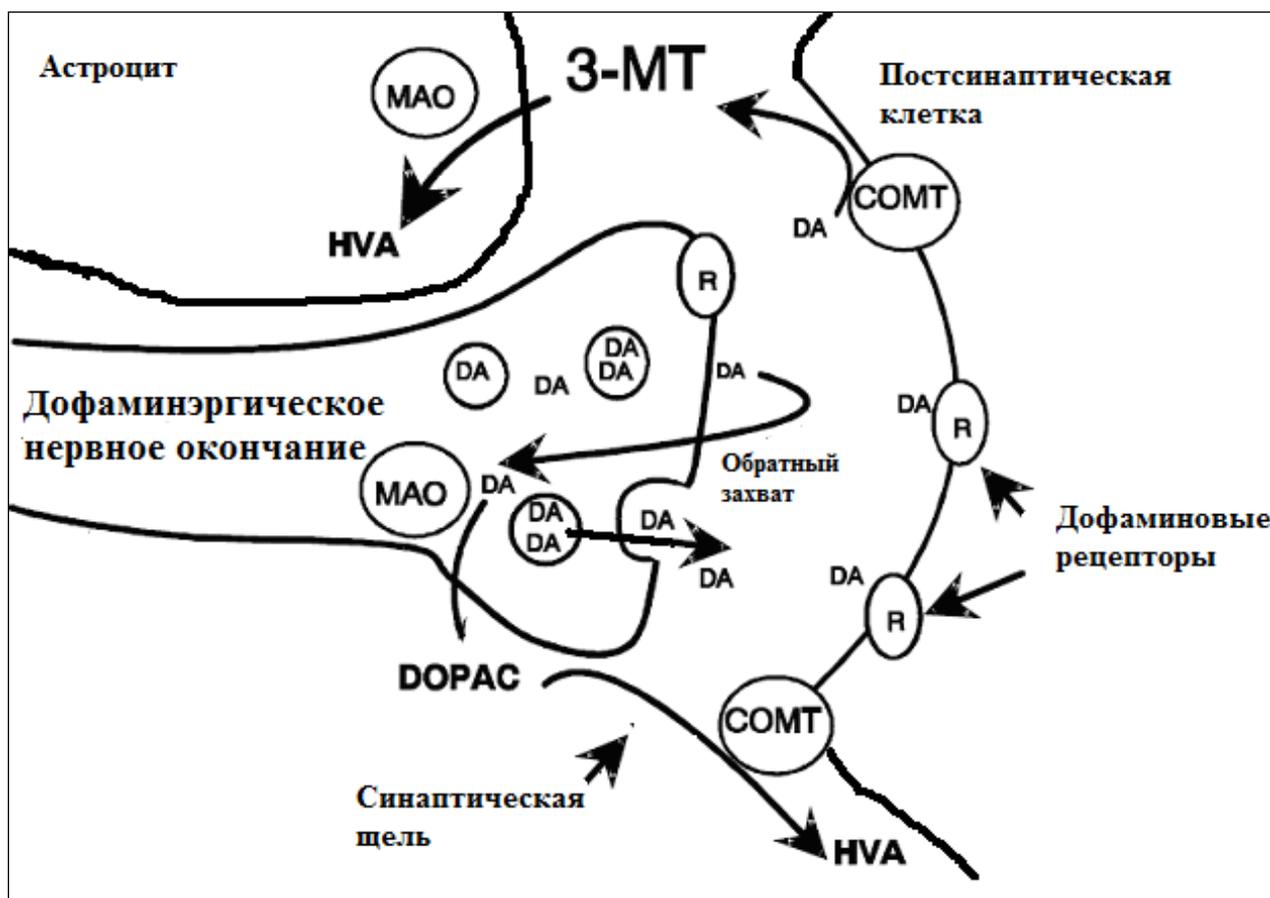


Рисунок 1.1 – Компартиментализация метаболизма дофамина (DA) в дофаминэргических нервных окончаниях и синапсах, комментарии и сокращения в тексте (адаптировано из [53])

1.1.2. Классификация рецепторов дофамина

Дофаминовые рецепторы относятся к суперсемейству G-белок-связанных рецепторов. Известно 5 типов дофаминовых рецепторов, объединяемых в 2 семейства: D1-подобные и D2-подобные рецепторы. К D1-подобным рецепторам относятся D1 и D5, а к D2-подобным – D2, D3 и D4 рецепторы [56]. D1-подобные рецепторы, как правило, связаны с G_s -белком, способным активировать аденилатциклазу, повышая внутриклеточную концентрацию цАМФ, а D2-подобные рецепторы связаны с G_i -белком, способным подавлять активность аденилатциклазы, понижая внутриклеточную концентрацию цАМФ [1, 56]. Семейства дофаминовых рецепторов различаются также по строению генов,

кодирующих рецепторы: гены D1-подобных рецепторов не содержат интронов в составе белок-кодирующей последовательности, в то время как гены D2-подобных рецепторов имеют интрон-экзонную структуру [57].

Преобладающими в большинстве структур мозга являются D1 и D2 дофаминовые рецепторы; D3, D4 и D5 рецепторы относят к минорным формам. Следует отметить, что соотношение разных типов дофаминовых рецепторов в отдельных структурах ЦНС различно [46, 58]. D5 рецепторы дофамина в основном представлены в гиппокампе, где их содержание даже выше, чем содержание D1 рецепторов, D3 рецепторы обнаруживаются в прилежащем ядре, обонятельных бугорках и гиппокампе и в меньшем количестве – в гипоталамусе, стриатуме и структурах среднего мозга, D4 рецепторы – в коре головного мозга, гиппокампе, мозжечке и миндалине [56, 58].

Типы рецепторов дофамина различаются и по субклеточной локализации. D3 дофаминовые рецепторы имеют преимущественно пресинаптическую локализацию [1]. Известны 2 функционально различающиеся изоформы D2-рецепторов, образующихся за счёт альтернативного сплайсинга пре-мРНК: короткая (D2S) и длинная (D2L) изоформы [5, 12]. D2S рецепторы преимущественно расположены на пресинаптической мембране [8]. Они выполняют функцию ауторецепторов дофамина, регулируя интенсивность его синтеза, выброс и обратный захват синаптическими окончаниями. Аналогичную функцию выполняют D3 дофаминовые рецепторы. D2L, наряду с D1, D4 и частично D2S дофаминовые рецепторы, имеют постсинаптическую локализацию и обеспечивают проведение дофаминового сигнала [1, 56].

1.1.3. *Строение и сигнальные пути рецепторов дофамина*

Как и другие представители суперсемейства G-белок-связанных рецепторов, дофаминовые рецепторы состоят из 7 трансмембранных доменов, соединённых тремя экстраклеточными и тремя внутриклеточными петлями, на N-конце (экстраклеточно) имеется сайт гликозилирования, C-конец локализован в

цитоплазме, за связывание с G-белками отвечает третья цитоплазматическая петля [1, 56, 59]. D2-подобные рецепторы отличаются более длинной третьей цитоплазматической петлей, что характерно для рецепторов, связывающихся с $G\alpha_i$ -белками, в то время как короткая третья цитоплазматическая петля характерна для рецепторов связанных с $G\alpha_s$ -белками [56]. Дофаминовые рецепторы подобно всем G-белок-связанным рецепторам могут функционировать в виде димеров, в том числе гетеродимеров [59, 60].

Передача сигнала при активации дофаминовых рецепторов происходит в первую очередь за счёт активации связанных с ними гетеротримерных G-белков, состоящих из α -, β -, и γ -субъединиц. Конформационные изменения рецептора при связывании с лигандом активирует к обмену ГДФ на ГТФ в составе α -субъединицы, её активации и диссоциации гетеротримерного G-белка на α -субъединицу и $\beta\gamma$ -гетеродимер [58].

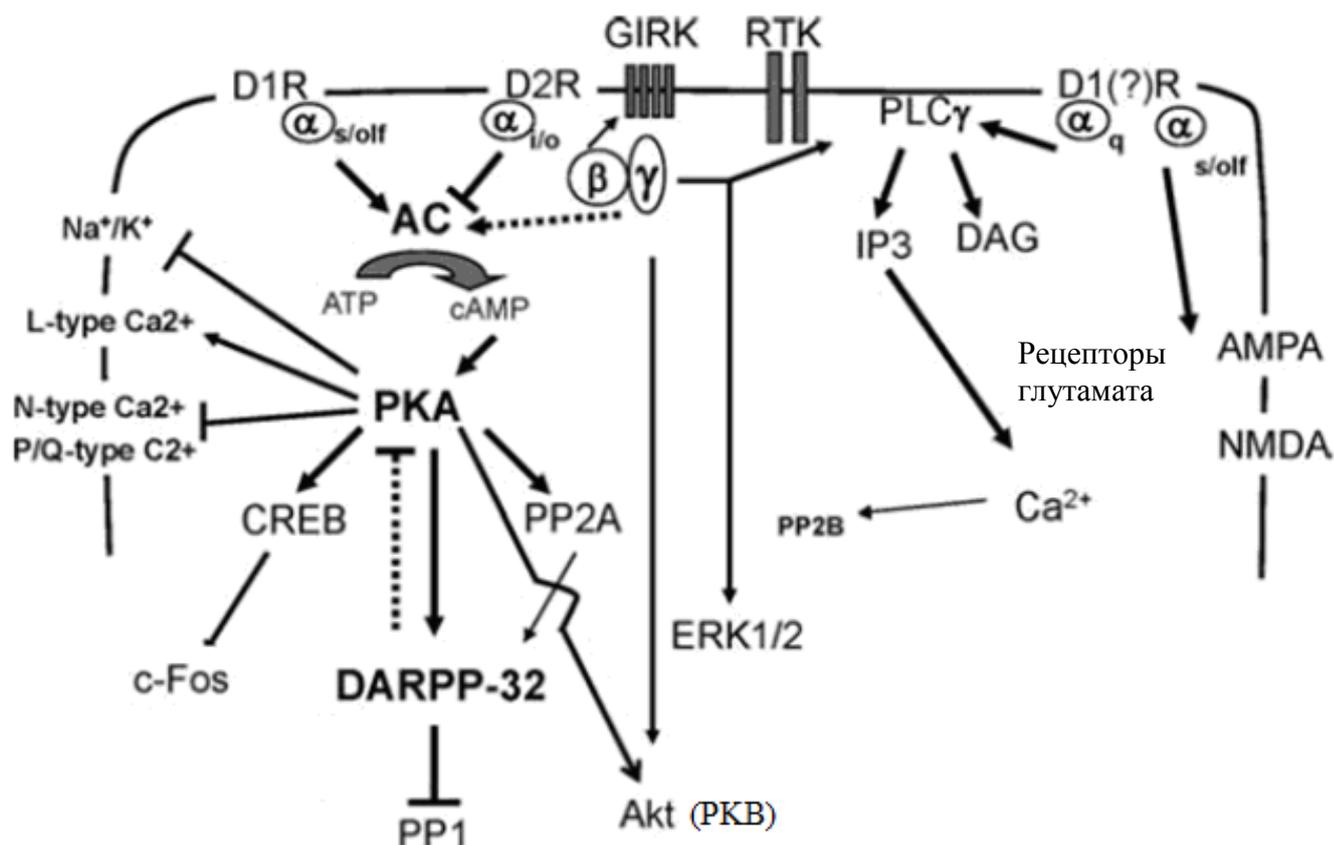
Внутриклеточная передача сигнала при активации дофаминовых рецепторов осуществляется через изменение активности аденилатциклазы (ингибирование или активация) и, соответственно, каскад протеинкиназы A [56]. Одной из мишеней протеинкиназы A является белок DARPP-32 (регулируемый дофамином и цАМФ фосфопротеин молекулярной массой 32 кДа). В фосфорилированном состоянии он ингибирует протеинфосфатазу 1, чем обусловлены его эффекты в модуляции работы различных ионных каналов [1]. Протеинкиназа A фосфорилирует транскрипционный фактор CREB, что приводит к его активации и усилению экспрессии управляемых им генов [58].

Показана способность D1/D2-гетеродимеров, D5/D2-гетеродимеров и D5-гомодимерных рецепторов активировать фосфолипазу C (фосфоинозитидный путь) через $G\alpha_q$ -белок, приводя к увеличению внутриклеточной концентрации Ca^{2+} и активации кальмодулин-зависимой протеинкиназы [61–63]. Следует отметить, что при активации D5/D2-гетеродимеров передача сигнала по фосфоинозитидному пути ослаблена по сравнению с D5-рецепторами [64]. D1-подобные рецепторы также могут повышать внутриклеточную концентрацию

ионов кальция, активируя Ca^{2+} -каналы L-типа за счёт их фосфорилирования протеинкиназой A, и усиливать работу Na^+/K^+ -АТФазы [56].

D2 рецепторы способны активировать фосфолипазу A₂, вызывая активацию синтеза арахидоновой кислоты, являющейся предшественником ряда биологически активных соединений – эйкозаноидов [65]. Общая схема опосредованных G-белками внутриклеточных сигнальных путей, связанных с активацией дофаминовых рецепторов, приведена на рис. 1.2.

Не все активируемые дофаминовыми рецепторами внутриклеточные сигнальные пути опосредованы G-белками – некоторые из них опосредованы β -аррестином 2 или 3. β -аррестин-зависимыми (в случае регуляции дофамином) являются Akt (протеинкиназа B)/GSK-3 β и MAP-киназный пути [59]. При связывании лиганда D2-подобными рецепторами β -аррестин 2/3 обеспечивает скэффолд протеинкиназы B и протеинфосфатазы 2, вследствие чего происходит дефосфорилирование и инактивация протеинкиназы B [67]. В результате повышается активность GSK-3 β (за счёт снижения её фосфорилирования протеинкиназой B), киназы, играющей регуляторную функцию во множестве процессов, в том числе, процессах синаптической пластичности [68, 69]. Именно гиперактивацией GSK-3 β могут быть обусловлены нарушения когнитивных функций, связанные с повышенным содержанием дофамина в мозге [70]. При связывании лиганда D1-подобными рецепторами β -аррестин 3 обеспечивает скэффолд MAP-киназ, что приводит к запуску их каскада и, в конечном счёте, активации киназы ERK 1/2; при этом β -аррестин 3 препятствует транслокации ERK в ядро, приводя к фосфорилированию её цитоплазматических мишеней. Данный механизм может приводить к цитотоксическим эффектам и опосредовать дегенерацию нейронов стриатума, вызванную дисфункцией дофаминергической системы [59].



Примечания: AC – аденилатциклаза, PP – протеинфосфатаза, PK – протеинкиназа, PL – фосфолипаза, IP3 – инозитолтрифосфат, DAG – диацилглицерол, RTK – рецептор-тирозинкиназа, ERK – протеинкиназа, регулируемая внеклеточными сигналами, GIRK – G-белок активируемые калиевые каналы «входящего выпрямления»

Рисунок 1.2 – G-белок-опосредованные сигнальные пути дофаминовых рецепторов (из [58]), комментарии в тексте

Дофаминовые рецепторы способны участвовать во множестве различных прямых белок-белковых взаимодействий, в том числе они образуют комплексы с направляющими, транспортирующими, заякоривающими, обеспечивающими скэффолд, адаптерными белками и белками, принимающими непосредственное участие в процессах сигналинга [66]. Далее будут рассмотрены некоторые наиболее изученные белок-белковые взаимодействия дофаминовых рецепторов, участвующие в сигнальных процессах *in vivo*.

D2S дофаминовые рецепторы, локализованные, как упоминалось выше, на пресинаптической мембране, взаимодействуют с дофаминовым транспортёром,

причём это взаимодействие ведёт к усилению обратного захвата дофамина синаптическими окончаниями и не зависит от связывания агонистов D2S рецепторами [67]. Обе изоформы D2 рецептора способны взаимодействовать с CAPS1 – белком, который участвует в процессе слияния содержащих нейромедиаторы электронноплотных синаптических везикул с пресинаптической плазматической мембраной, что указывает на участие этого типа рецепторов дофамина в регуляции экзоцитоза нейромедиаторов [68]. D2 дофаминовые рецепторы взаимодействуют с кальций-связывающим регуляторным белком S100B; это взаимодействие приводит к усилению внутриклеточного проведения сигнала от этих рецепторов, в частности к усилению активации киназы ERK и ингибирования аденилилциклазы в ответ на связывание рецепторов с агонистами [69, 70]. D2 и D4 рецепторы способны формировать стабильные связи с G-белок активируемыми калиевыми каналами «входящего выпрямления» [71].

D2 дофаминовые рецепторы формируют белковые комплексы с AMPA глутаматными рецепторами, формирование таких комплексов приводит к снижению эксайтотоксичности глутамата [72]. D1 способны связываться с NMDA глутаматными рецепторами, также приводя к ослаблению эксайтотоксичности глутамата [73].

D1 и D2 дофаминовые рецепторы взаимодействуют с Na^+/K^+ -АТФазой, что сопровождается ослаблением активации внутриклеточных сигнальных путей этих рецепторов и независимым от связывания рецепторов с лигандами снижением активности Na^+/K^+ -АТФазы [74]. D1 рецепторы дофамина связываются с PSD-95 (белок постсинаптической электронноплотной области массой 95 кДа), что ведёт к ослаблению передачи внутриклеточного сигнала в ответ на связывание D1 рецепторов с агонистами [75]. D5 дофаминовые рецепторы вступают в стабильные белок-белковые взаимодействия с ГАМК_A рецепторами, ослабляя активацию последних при связывании с нейромедиатором [76].

Таким образом, активация дофаминовых рецепторов запускает внутриклеточные сигнальные каскады, приводящие к изменению экспрессии генов и работы ионных каналов. Дофаминовые рецепторы участвуют в модуляции

работы глутаматергической и ГАМК-ергической систем за счёт изменения фосфорилирования рецепторов и прямых белок-белковых взаимодействий с рецепторами этих нейромедиаторов [58, 66].

1.1.4. *Анатомические особенности и функции дофаминергической системы в ЦНС*

Дофаминергические нейроны распределены в ЦНС неравномерно. Выделяют несколько групп дофаминергических нейронов, расположенных в разных структурах мозга и участвующих в выполнении различных физиологических функций. К наиболее многочисленным группам дофаминергических нейронов относят:

- мезокортикальную систему;
- лимбическую систему;
- нигростриатную систему;
- тубероинфундибулярную систему.

Мезолимбическая система образована дофаминергическими нейронами вентральной области покрышки, аксоны которых образуют терминали в префронтальной области коры больших полушарий, гиппокампе, миндалине, прилежащем ядре. Функции дофаминергической системы в этих структурах связаны с процессами внутреннего подкрепления, формированием эмоций, мотивированных форм поведения, вниманием и памятью [77].

В префронтальной коре выброс дофамина и активация его метаболизма происходит в ответ на положительные, как и отрицательные стимулы. Стресс приводит к увеличению плотности D2 и D4 дофаминовых рецепторов в префронтальной коре [36]. Эксперименты с использованием антагонистов дофаминовых рецепторов или специфическим разрушением дофаминергических терминалей в префронтальной коре говорят о вовлечённости префронтальных областей дофаминергической системы в реализацию ответа мозга на стресс (активацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы). В этих

процессах принимают участие как D1-, так и D2-подобные дофаминовые рецепторы [78]. Дофаминергическая система префронтальной коры также важна для консолидации памяти в моделях обучения, связанных со стрессом [36, 79].

Вовлечённость дофаминергической системы префронтальной коры в процессы обучения отмечаются не только в моделях, связанных со стрессом. Их участие в процессах рабочей памяти и внимания подробно обсуждается в обзорах Tzschentke [35] и Seamans и Robbins [80]. В частности, показано, что оптимальный уровень активации D1 рецепторов дофамина в этой структуре мозга необходим для эффективных процессов рабочей памяти, в то время как активация D2 рецепторов важна для обеспечения когнитивной гибкости, т.е. переключения внимания между различными стимулами [36, 81].

Дофаминергическая система принимает участие в регуляции ориентировочно-исследовательского поведения, активация дофаминергической системы в гиппокампе и префронтальной коре происходит в ответ на новые стимулы. Особенно важную роль в этих процессах играют D4 дофаминовые рецепторы [82–85]. В экспериментах с использованием агонистов и антагонистов D1 рецепторов *in vivo* и *in vitro* показано, что их активация в клетках гиппокампа усиливает, а их блокада, наоборот, ослабляет в клетках гиппокампа позднюю фазу долговременной потенциации – одного из механизмов консолидации памятного следа. Эти данные подтверждаются наблюдениями, выполненными на мышах, нокаутных по гену D1 рецепторов [85]. Дофаминергическая система в гиппокампе связана с пространственным обучением [86].

Одной из важных функций *мезолимбической системы* является регуляция эмоционального состояния и участие в реализации мотивированных форм поведения [87, 88]. Мезолимбическая система в миндалине участвует в реакциях страха и формировании условных реакций, связанных с вызывающими страх стимулами: ингибирование выброса дофамина в этой структуре снижает формирование условных реакций страха и снижает тревожность у лабораторных животных [44]. В прилежащем ядре дофаминергическая система играет важную роль в таких формах мотивированного поведения, как поисковое поведение,

направленное на удовлетворение потребностей, и инструментальные условные рефлексы [87].

Дофаминергическая система в прилежащем ядре, миндалине и, в меньшей степени, в префронтальной коре играет ведущую роль в процессах внутреннего подкрепления [87, 89, 90]. Активация D1, но не D2 дофаминовых рецепторов нейронов прилежащего ядра необходима в процессе формирования условных вкусовых предпочтений [91]. Особенностью большинства наркотических веществ является способность стимулировать выброс дофамина в прилежащем ядре и миндалине [92].

Мезолимбическая система также участвует в реализации полового и материнского поведения. Регуляция этих форм поведения дофаминергической системой связана в основном с действием дофамина в качестве фактора внутреннего подкрепления [93–96]. В регуляции материнского поведения ведущую роль играет медиальная преоптическая область гипоталамуса, проекции нейронов которой образуют синапсы на дофаминергических нейронах вентральной области покрышки [94, 96]. При этом медиальная преоптическая область также имеет дофаминергическую иннервацию от вентральной области покрышки и дофаминергических нейронов, расположенных в *zona incerta* в субталамической области [94].

Нигростриатная система образована дофаминергическими нейронами компактной части чёрной субстанции, образующими терминали в дорзальном стриатуме. Функции этой системы связывают с контролем движений, причем на уровне дорзального стриатума происходит сложная интеграция активности различных областей мозга (моторной, сенсомоторной, префронтальной коры, таламуса, бледного шара и др.), важная для формирования программы произвольных движений. Дофамин модулирует работу этой сложной системы, при этом активация D1 и D2 рецепторов приводит к разнонаправленным эффектам, выражающимся в возбуждении или торможении нейронов в связанных со стриатумом структурах [97]. Нигростриатная система, наряду с мезолимбической, также играет важную роль в пространственном обучении [86].

Также, помимо мезокортиколимбической, нигростриатная система принимает участие в процессах внутреннего подкрепления [98]. Нигростриатная система участвует в регуляции сна, особенно она важна для поддержания фазы быстрых движений глаз [99].

Тубероинфундибулярная система представлена дофаминергическими нейронами аркуатного ядра гипоталамуса, аксоны которых образуют терминали в области срединного возвышения на фенестрированных капиллярах портальной системы гипофиза. Секреция дофамина этими нейронами приводит к ингибированию синтеза гормона пролактина лактотропными клетками гипоталамуса, эффект дофамина при этом опосредован активацией D_2 рецепторов дофамина на лактотропах. Дофаминергические нейроны имеют высокую плотность рецепторов к пролактину на своей поверхности [100]. При увеличении концентрации пролактина происходит возбуждение тубероинфундибулярных дофаминергических нейронов, передача нервного импульса по аксону к терминалям и выброс дофамина в области срединного возвышения – так по принципу обратной связи регулируется синтез пролактина [101]. Следует отметить, что в период лактации у самок выброса дофамина в ответ на возбуждение рецепторов пролактина на этих нейронах не происходит. При этом электрофизиологический ответ на активацию рецепторов сохраняется, но резко снижается синтез дофамина в синаптических окончаниях из-за снижения активности тирозингидроксилазы вследствие дефосфорилирования одного из остатков серина в молекуле фермента [102]. Агонисты дофаминовых рецепторов применяются в клинической практике для лечения гиперпролактинемии [103].

Таким образом, дофаминергическая система в ЦНС, несмотря на ограниченное анатомическое распространение дофаминергических нейронов, выполняет широкий ряд важных физиологических функций: регулирует работу эндокринной системы, контролирует произвольные движения, участвует в процессах внимания, кратковременной и долговременной памяти, осуществляет контроль эмоций и мотиваций и др.

1.1.5. *Формирование дофаминергической системы в ЦНС в раннем онтогенезе*

Развитие дофаминергической системы мозга происходит в 4 стадии:

- 1) начальная дифференцировка дофаминергических нейронов, когда начинают продуцироваться ферменты биосинтеза дофамина, но синтез дофамина ещё не происходит;
- 2) начало биосинтеза дофамина дофаминергическими нейронами;
- 3) миграция этих клеток к местам их конечной локализации и рост аксонов;
- 4) афферентная иннервация дофаминергических нейронов, сопряжённая с процессами синаптогенеза.

Последние две стадии начинаются в пренатальный период развития и продолжаются в раннем постнатальном онтогенезе [104].

В мозге большинства млекопитающих тирозингидроксилаза и декарбоксилаза ароматических аминокислот – маркерные ферменты дофаминергических нейронов – начинают продуцироваться в эмбриональный период развития, однако окончательное созревание дофаминергических нейронов происходит после рождения [105]. У человека дофаминергические нейроны детектируются начиная с шестой недели эмбрионального развития, причём в структурах среднего мозга (предшественники нейронов чёрной субстанции) их дифференцировка начинается раньше, чем в структурах промежуточного мозга (предшественники нейронов гипоталамуса). Однако специфические механизмы выброса дофамина в ответ на деполяризацию нейронов формируются позже [106]. У мышей (схожим образом это происходит и у крыс) постмитотические предшественники дофаминергических нейронов детектируются на 9-10 день эмбрионального развития (общая продолжительность эмбриогенеза мышей и крыс – 21 день), а синтез тирозингидроксилазы этими клетками начинается на 11-13 дни эмбриогенеза, при этом нейроны чёрной субстанции выявляются раньше, чем нейроны вентральной области покрышки. После дифференцировки (начала синтеза тирозингидроксилазы) дофаминергических нейронов начинается рост их

отростков и в скором времени они достигают целевой области. У крыс рост аксонов мезокортиколимбических нейронов к местам иннервации имеет место с 13-го дня эмбрионального развития до конца первой недели постнатального развития, а формирование их функциональных и морфологических особенностей, характерных для взрослого мозга, происходит приблизительно в течение третьей недели постнатального развития животных [107]. Этот период (третья неделя жизни) у крыс приблизительно соответствует по уровню развития ЦНС перинатальному периоду человека [32]. Следует отметить, что формирование дофаминергических проекций в медиальной префронтальной коре мозга крыс происходит длительнее, чем в других областях: формирование новых терминалей в этой области не заканчивается к концу третьей недели жизни, а продолжается и в подростковом периоде развития животных [108].

Экспрессия генов дофаминовых рецепторов у мышей и крыс также начинается в эмбриональном периоде развития. Уровень их экспрессии продолжает увеличиваться до рождения и в раннем постнатальном онтогенезе, однако активные сайты связывания дофаминовых рецепторов детектируются в более поздние сроки, и основное увеличение их количества происходит постнатально [109, 110].

1.2. Изоформы D2 рецептора дофамина

1.2.1. *Альтернативный сплайсинг мРНК, особенности структуры и локализации изоформ D2 рецептора*

Изначально кДНК D2 рецептора дофамина была клонирована из мРНК мозга крыс как единственный транскрипт длиной 2455 нуклеотидов, соответствующий белковой последовательности длиной в 415 аминокислот [111]. В скором времени была описана последовательность кДНК D2 дофаминового рецептора, имеющая вставку длиной 87 нуклеотидов, соответствующую 29 аминокислотам в третьей цитоплазматической петле рецептора [3, 4]. Длинная изоформа была названа D2L (longer), а короткая – D2S

(shorter) рецептором дофамина [4]. Схема строения изоформ рецептора приведена на рис. 1.3.

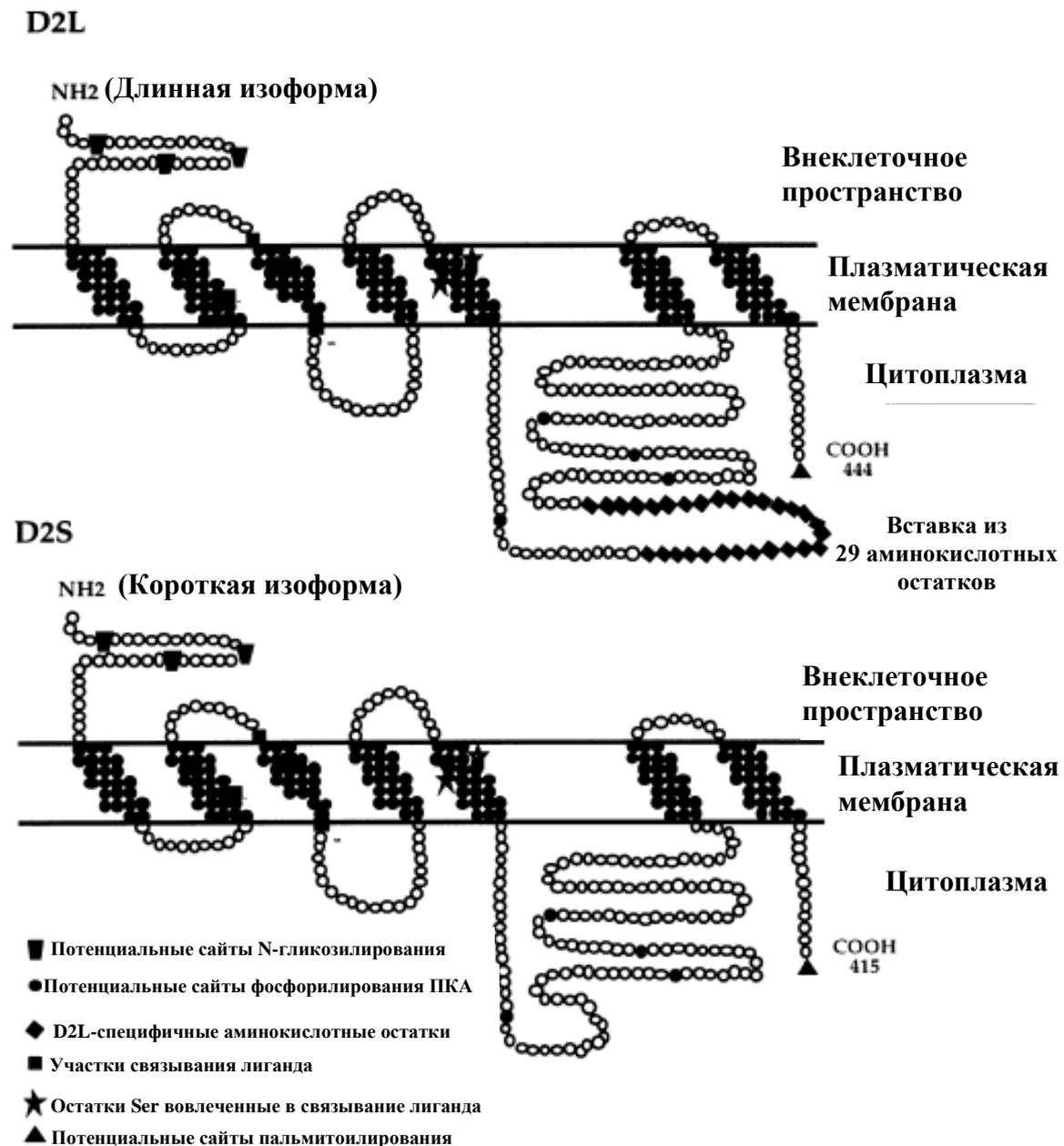


Рисунок 1.3. Схема строения длинной и короткой изоформ D2 рецептора дофамина (переведено из [112])

На клеточных линиях, трансфицированных плазмидами, кодирующими соответствующие мРНК, было показано, что обе изоформы D2 рецептора связываются с G-белками и демонстрируют схожую аффинность к специфическим лигандам D2 рецептора [3, 4]. Уже в первых работах было

показано, что рецепторы по-разному модулируются гуаниловыми нуклеотидами, что говорит о разной аффинности к G-белкам или связывании с различными G-белками. Это наблюдение согласуется с локализацией варибельного участка в третьей цитоплазматической петле рецептора, ответственной за связывание с G-белком [3, 4]. Изоформы мРНК D2 рецептора имеют схожее распределение в мозге, при этом содержание D2L во всех областях выше, чем D2S [3, 4], хотя относительное содержание сплайс-вариантов сильно варьирует в различных областях мозга [3].

Исследования, проведенные на мозге макака резус с использованием антител, специфичных к D2L или D2S изоформам рецептора, выявили различия в локализации вариантов рецептора: D2S рецепторы в большом количестве содержатся в телах, дендритах и аксонах дофаминергических нейронов, в то время как D2L рецепторы лишь в небольшом количестве присутствуют в телах и не выявляются в аксонах дофаминергических нейронов [8]. В областях проекций дофаминергических нейронов D2L рецепторы в большом количестве содержатся в постсинаптических недофаминергических нейронах; в коре головного мозга D2S рецепторы, кроме пресинаптических терминалей, также выявляются на постсинаптических ГАМК-ергических нейронах [8]. Фармакологические исследования, проведенные на линиях мышей, нокаутных по гену D2 рецептора и его D2L-изоформе, также подтверждают, что постсинаптические эффекты D2-агонистов опосредованы длинной изоформой, а пресинаптическая модуляция выброса дофамина – короткой изоформой рецептора [12]. Исследования на переживающих срезах стриатума от таких мышей, подтвердили, что D2L изоформа связана с постсинаптическими эффектами дофамина, ингибируя цАМФ-зависимое фосфорилирование DARPP-32, а активация D2S рецепторов снижает фосфорилирование тирозингидроксилазы по остатку серина в положении 40, что приводит к снижению синтеза дофамина [5].

В экспериментах на клеточных линиях с применением разнообразных молекулярно-биологических и биохимических методов были идентифицированы 2 молекулярные системы, регулирующие альтернативный сплайсинг пре-мРНК

D2 рецептора [113, 114]. Белок РТВР1 (Polypyrimidine tract-binding protein 1 – связывающийся с полипиримидиновыми трактами белок 1) регулирует альтернативный сплайсинг пре-мРНК рецептора в сторону снижения образования короткой изоформы, связываясь с интронными областями, фланкирующими 6 экзон [114]. Белок hnRNP M (Heterogeneous Nuclear Ribonucleoprotein M – гетерогенный ядерный рибонуклеопротеин M), напротив, усиливает образование короткой изоформы, однако его действие блокируется белком Nova1 – сайты связывания обоих факторов расположены внутри 6 экзона [113]. Таким образом, различия в экспрессии названных регуляторных белков, а также изменение их биологической активности с помощью различных сигнальных каскадов может обеспечивать различия между соотношением изоформ в нейронах различного происхождения.

Различиями в строении третьей цитоплазматической петли короткой и длинной изоформ D2 рецептора объясняется их разная их аффинность к G-белкам. Так D2S рецептор активнее связывается с G-белками, содержащим α_{i1} -субъединицу, по сравнению с D2L-изоформой [115].

1.2.2. *Изоформы D2 рецептора в регуляции поведения*

1.2.2.1. *Данные наблюдений на экспериментальных животных с разным уровнем изоформ рецептора в мозге*

Основные данные по функциональным различиям длинной и короткой изоформ D2 рецептора получены на основе анализа поведения мышей, нокаутных по D2 рецептору, либо нокаутных только по длинному варианту рецептора. Так, D2L рецепторы вовлечены в подкрепляющие эффекты опиоидов, так как у D2-/- мышей не формируются как морфин-индуцированная условная реакция предпочтения места, так и налоксон-индуцированная реакция избегания места [116].

D2L вовлечены в формирование условного рефлекса активного избегания [116]. D2L рецепторы связаны с формированием условного рефлекса и переобучением в парадигме оперантного обучения с положительным подкреплением «различение визуальных стимулов» («Visual discrimination task»), однако при более простой схеме обучения в той же установке D2L-/- животные не отличаются от гетерозигот и мышей дикого типа [15]. D2L связаны с исследовательским поведением, хотя значимо не влияют на базовый уровень тревожности; при этом нокаутные и гетерозиготные по D2L рецептору дофамина мыши сильнее подвержены формированию выученной беспомощности по сравнению с животными дикого типа [13, 117].

D2L рецепторы вовлечены в регуляцию локомоторной активности, поскольку D2L-нокаутные животные демонстрируют снижение двигательной активности как при тестировании в открытом поле, так и в домашней клетке; при этом координация движений у таких животных не нарушена [117]. Кроме того, введение таким животным галоперидола – антагониста D2-подобных рецепторов дофамина – вызывает гораздо менее выраженное снижение двигательной активности по сравнению с мышами дикого типа [117, 118].

Стоит отметить, что мыши, нокаутные по D2L рецептору, характеризуются довольно сильным компенсаторным увеличением содержания мРНК D2S, при этом резкого снижения плотности D2-рецепторов (тотально) в мозге не происходит [117]. Однако локализация D2S-рецепторов в мозге таких животных не уточнялась, вследствие чего можно предположить, что часть функций постсинаптических D2L рецепторов в мозге D2L-нокаутных мышей осуществляется D2S рецепторами. Следует также отметить, что постсинаптические D2 рецепторы вовлечены в регуляцию формирования дендритных шипиков, и их гиперактивация в подростковом периоде постнатального развития ведёт к снижению числа шипиков в гиппокампе и нарушению пространственной рабочей памяти [119]. Таким образом, нокаут D2L рецептора может влиять на поведение не только за счёт изменения сигналинга в постсинаптических нейронах взрослых животных, но и за счёт возможного

изменения траектории формирования синаптического аппарата и межструктурных связей в развивающемся мозге.

В последнее десятилетие разработаны методы регион-специфичного нокадауна D2L рецепторов в мозге животных с помощью РНК-сайленсинга путём внутримозгового введения векторных конструкций на основе аденоассоциированного вируса, кодирующих shRNA к 6-му экзону (сохраняется только в длинной изоформе мРНК) пре-мРНК D2 рецептора [120]. Специфическое снижение содержания мРНК D2L рецептора в прилежащем ядре взрослых мышей приводит к снижению базового уровня двигательной активности животных; при этом компенсаторного увеличения мРНК D2S в исследуемой области мозга, в отличие от традиционных нокаутных животных, не происходит [120].

Кроме использования сложных генетических манипуляций, для исследования возможного вклада различных изоформ D2 рецептора в регуляцию поведения был использован сравнительный анализ линий животных с разным соотношением сплайс-вариантов рецептора в мозге. Оказалось, что мыши линии DBA/2J отличаются от C57B/6J пониженным содержанием мРНК D2L в стриатуме, а также низкой чувствительностью к формированию стереотипного двигательного поведения в ответ на введение агонистов D2 рецептора [121], что хорошо согласуется с данными, полученными на D2L^{-/-} мышах [122].

1.2.2.2. Данные генетических исследований и post-mortem наблюдений на людях

У человека обнаружены однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) в интронных областях гена D2 рецептора дофамина, фланкирующие 6-й экзон (отсутствующий в короткой изоформе) и влияющие на альтернативный сплайсинг пре-мРНК рецептора: rs2283265(G>T) в 5-м интроне и rs1076560(G>T) в 7-м интроне [38]. Минорные аллели этих полиморфизмов сцеплены между собой и связаны с преимущественным образованием длинной изоформы мРНК рецептора,

что продемонстрировано как в *post-mortem* исследованиях, так и *in vitro* с использованием векторных миниген-конструкций [16, 38].

Минорные аллели вышеупомянутых полиморфизмов ассоциированы с повышенной активностью стриатума и фронтальной коры при выполнении когнитивных тестов на рабочую память у здоровых пациентов, а также со сниженными показателями рабочей памяти и произвольного внимания, особенно при более высоком уровне когнитивной нагрузки [38]. Однако у пациентов с шизофренией минорная аллель rs1076560 полиморфизма, напротив, ассоциирована с пониженной активностью префронтальной коры и стриатума при выполнении тестов на рабочую память; при этом дефицит рабочей памяти в тестах с высокой когнитивной нагрузкой наблюдается у носителей минорной аллели независимо от диагноза [37]. Носители T-аллели по rs1076560 полиморфизму характеризуются сниженной активностью дофаминергической передачи в стриатуме, при этом активность дофаминергической нейротрансмиссии в стриатуме отрицательно коррелирует с активностью префронтальной коры при выполнении тестов на рабочую память, в отличие от носителей G-аллели, у которых наблюдается положительная корреляция данных показателей [123]. Также стоит отметить, что центральное введение агониста D2-рецепторов бромокриптина по-разному влияет на патерн активации префронтальной коры при решении тестов на рабочую память у здоровых испытуемых с разным генотипом по rs1076560: у представителей GG генотипа бромокриптин подавляет активацию в ответ на усиление когнитивной нагрузки, а у носителей минорной аллели, наоборот, приводит к усилению активации при усложнении заданий [124].

Наличие минорной аллели rs1076560 также ассоциировано с ухудшением обучения связанного с избеганием зрительных стимулов [125]. Носителей минорной аллели rs1076560 также отличает повышенная активация моторной коры и связанных с ней подкорковых структур (таламус, бледный шар, полосатое тело) при выполнении простых моторных тестов, что говорит о вовлеченности

D2S рецепторов в регуляцию моторных функций путём модуляции активности кортико-субкортикальных нейрональных ансамблей [10].

D2S рецепторы могут также быть вовлечены в регуляцию эмоционального статуса. У здоровых носителей минорной аллели rs1076560 полиморфизма отмечается ухудшение настроения при выполнении когнитивных тестов (распознавание гендерной принадлежности по фотографиям лиц, демонстрирующих различные эмоции) в шумовом сопровождении и не наблюдается его улучшения при выполнении теста в музыкальном сопровождении; у гомозигот по основной аллели в тех же условиях, напротив, не отмечалось ухудшения настроения при прослушивании шума, но оно значительно улучшалось в ответ на прослушивание музыки [126]. Эти данные согласуются с данными *post-mortem* исследований о пониженном содержании D2S в префронтальной области коры больших полушарий мозга пациентов с большой депрессией [16], так как для депрессивноподобных состояний характерно ослабление положительных и преобладание отрицательных эмоций. У носителей минорной аллели отмечают более высокие показатели эмоционального контроля и лучшее выполнение заданий, связанных с эксплицитным распознаванием изображений лиц, демонстрирующих разнообразные эмоции; при этом только у носителей минорной аллели наблюдалась положительная корреляция активации амигдала-префронтальных связей и уровня эмоционального контроля в ходе выполнения тестов [127].

Ряд исследований, проведенных на разных популяциях, свидетельствует в пользу того, что rs1076560 ассоциирован с повышенным риском формирования наркотической зависимости: опиоидной [128], кокаиновой [129, 130], героиновой [130, 131]. Также данный полиморфизм связан с повышенным риском формирования психоза, шизотипических черт характера и дефицита рабочей памяти у лиц, регулярно употребляющих марихуану [131]. Риск алкогольной зависимости у носителей минорной аллели rs1076560 активно обсуждается, но данные разных исследований противоречивы [132, 133].

Показана связь наличия минорной аллели rs1076560 с повышенным риском возникновения шизофрении на пакистанской и китайской популяциях [131, 134, 135]. В европейской популяции связи минорной аллели с риском возникновения шизофрении не выявлено, однако это может быть связано с её более низкой частотой у европейцев по сравнению с азиатами [37]. Следует отметить, что здоровые носители минорной аллели также характеризуются более выраженными шизотипическими чертами характера, при этом у таких испытуемых обнаруживается положительная зависимость между активностью дофаминергической нейротрансмиссии в стриатуме и выраженностью шизотипических черт в отличие от представителей основного (GG) генотипа, у которых такой зависимости не выявляется [136].

Исследования *post-mortem* выявляют повышенное содержание мРНК D2S и пониженное D2L рецептора в префронтальной коре при шизофрении, при большой депрессии – снижение содержания D2S, а при биполярном расстройстве – напротив, увеличение содержания мРНК D2L дофаминового рецептора [16]. Однако следует отметить, что различия в содержании сплайс-вариантов мРНК могут являться результатом применения психоактивных препаратов, применявшихся для лечения вышеупомянутых заболеваний.

Таким образом, данные генетических и *post-mortem* исследований свидетельствуют в пользу того, что изменение соотношения длинной и короткой изоформ D2 рецептора дофамина может влиять на когнитивные и эмоциональные процессы. Особенно сильно генетически обусловленный сдвиг изменения соотношения изоформ рецептора сказывается на активности медиальной префронтальной коры и её взаимодействия с другими структурами мозга [10, 37, 124, 127, 136]. Тем не менее, выполненные на взрослых испытуемых генетические исследования не позволяют различить эффекты вышеупомянутых полиморфизмов, связанные только со сдвигом дофаминового сигналинга вследствие изменения соотношения вариантов D2 рецептора в синапсах, от их влияния на развитие дофаминергической системы, так как сигналинг D2 рецепторов может регулировать развитие синаптического аппарата [137]. Между тем развитие

дофаминергической системы префронтальной области коры мозга заканчивается довольно поздно в постнатальном онтогенезе [108]. Кроме того, дофаминергической системе выделяют особую роль в формировании когнитивных нарушений вследствие действия неблагоприятных факторов в ранние периоды онтогенеза [138]. Для моделирования таких нарушений часто используется экспериментальное повышение уровня провоспалительных цитокинов, в том числе ИЛ-1 β , в критические периоды пре- и раннего постнатального онтогенеза [19, 22, 139], о чём и пойдёт речь в следующей главе.

1.3. Действие ИЛ-1 β на формирование поведения

1.3.1. Краткая характеристика ИЛ-1 β

ИЛ-1 β относится к семейству белков интерлейкина-1, к которому относятся 10 провоспалительных цитокинов, включая ИЛ-1 α , ИЛ-18 и др., а также противовоспалительный цитокин – рецепторный антагонист ИЛ-1 (ИЛ-1 р.а.). ИЛ-1 β является одним из основных провоспалительных цитокинов в иммунной системе наряду с ИЛ-6 и фактором некроза опухолей. Зрелый ИЛ-1 β представляет из себя полипептид молекулярной массой 18 кДа, он имеет β -складчатую структуру [140]. ИЛ-1 α и ИЛ-1 β связываются с одними и теми же рецепторами, приводя к их активации и проведению внутриклеточного сигнала, они обладают одинаковыми биологическими эффектами [141]. Однако ИЛ-1 α *in vivo* синтезируется преимущественно в виде мембранной формы и выполняет ауто- и паракринные регуляторные функции [140]. С рецепторами ИЛ-1 также способен с высокой аффинностью связываться рецепторный антагонист ИЛ-1, не вызывая при этом активации рецепторов первого типа и внутриклеточной передачи сигнала [142]. Считается, что он выполняет регуляторную функцию, ограничивая действие ИЛ-1 путём конкуренции за связывание с рецептором [142].

Рецепторы ИЛ-1 относятся к суперсемейству иммуноглобулиноподобных рецепторов и состоят из четырёх доменов [140]. Внутриклеточный домен рецепторов первого типа аналогичен внутриклеточному домену Toll-подобных

рецепторов TLR4 и носит название TIR-домена [143]. Рецепторы ИЛ-1 первого типа при связывании с ИЛ-1 α или β взаимодействуют с мембранным аксессуарным белком, после чего рекрутируют из цитоплазмы адаптерный белок MyD88 и киназу IRAK 4, далее следует аутофосфорилирование IRAK 4 и фосфорилирование IRAK 1 и 2. Активные киназы IRAK 1 и 2 фосфорилируют TRAF6, что приводит к образованию сложного белкового комплекса. Активируемая TRAF6 киназа IKK фосфорилирует I κ B, приводя к разрушению комплекса I κ B–NF- κ B и транслокации NF- κ B из цитоплазмы в ядро. TRAF6 также участвует в активации каскада MAP-киназ, в результате которого происходит фосфорилирование ядерных белков, образующих активный транскрипционный фактор AP-1, и транскрипция управляемых им генов [144]. Схема канонического сигнального пути рецепторов ИЛ-1 первого типа приведена на рис. 1.3. ИЛ-1 способен активировать транскрипцию более 200 генов, в том числе гены ИЛ-1, ИЛ-6, фактора некроза опухолей, хемокинов, белков острой фазы воспаления, дефенсинов, NO-синтазы, циклооксигеназы, липоксигеназы, и др. [140].

Пути внутриклеточной передачи сигнала могут различаться в зависимости от типа клеток. Активация рецепторов ИЛ-1 первого типа в нейронах гиппокампа не приводит к транслокации NF- κ B в ядро, но сопровождается увеличением фосфорилирования (активацией) транскрипционного фактора CREB киназой p38, чего не происходит в астроцитах [150]. В нейронах гиппокампа для рецепторов ИЛ-1 первого типа характерен также сфингомиелиновый путь передачи сигнала (рис. 1.4), при этом происходит активация Src-киназы, фосфорилирование NMDA рецепторов, усиление входа ионов кальция в клетку и активация CREB за счёт его фосфорилирования кальций-кальмодулинзависимой киназой [151].

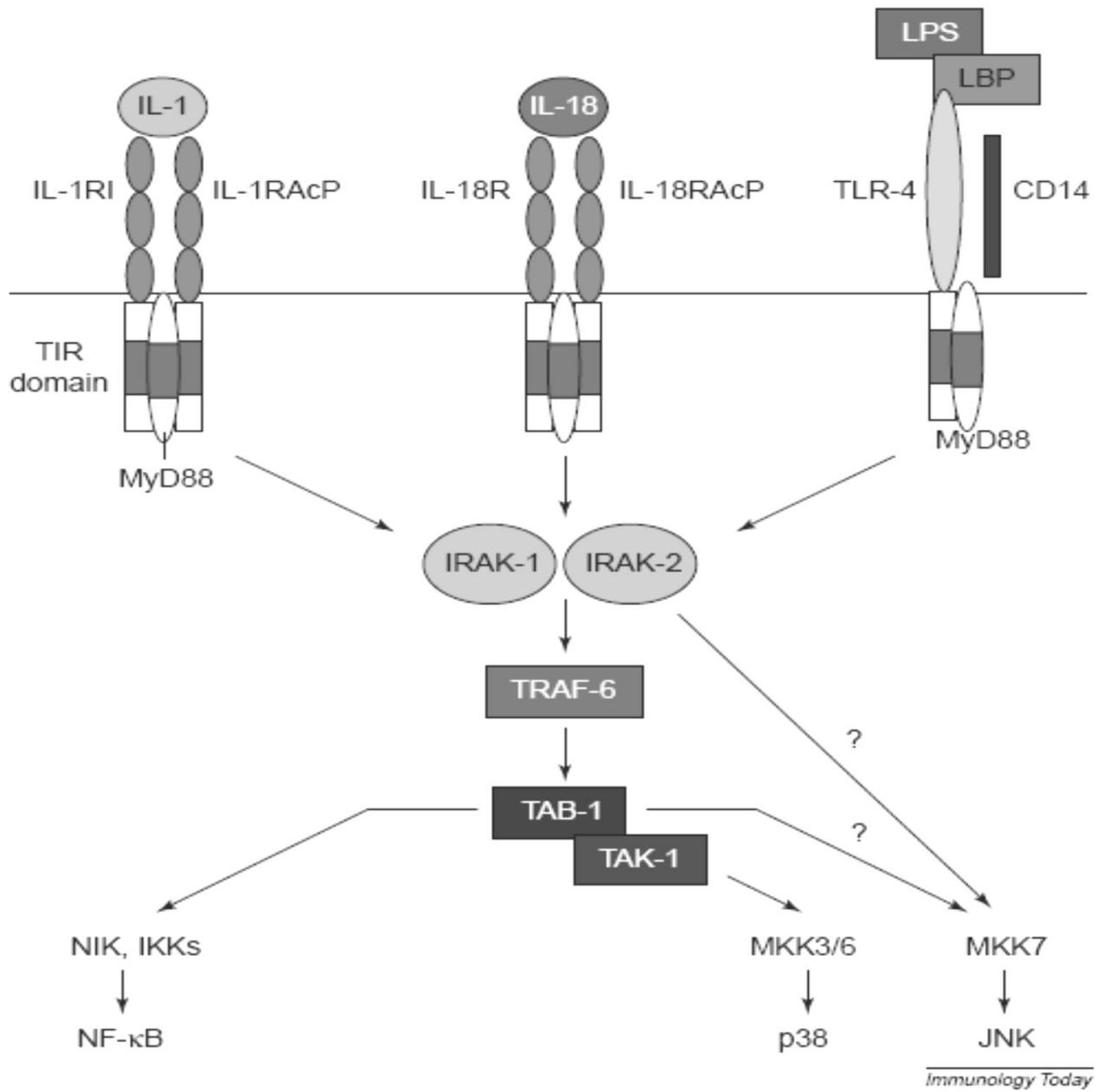


Рисунок 1.3 – Сигнальный путь рецепторов ИЛ-1, ИЛ-18 и TLR-4 (из [143])

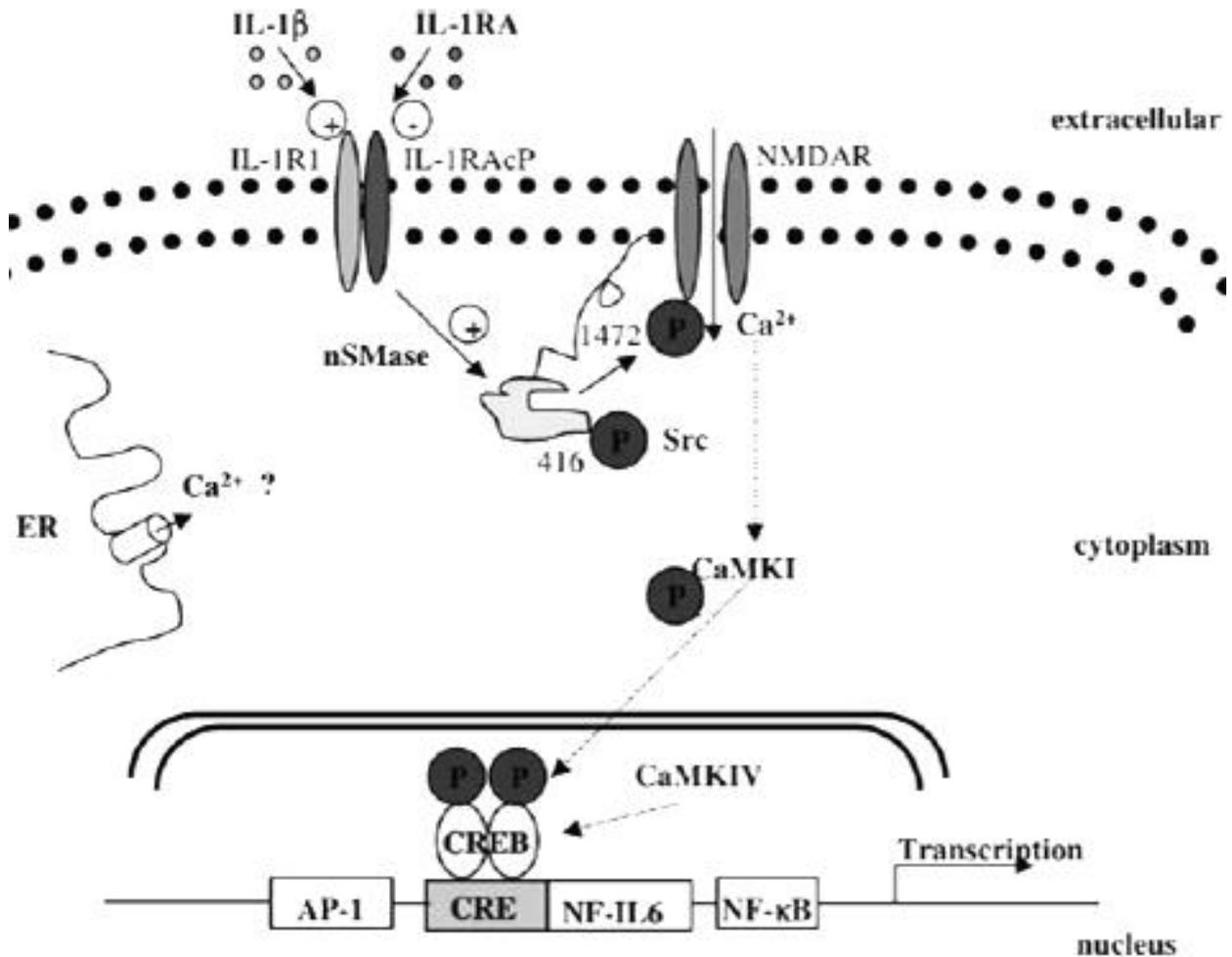


Рисунок 1.4 – Сфингомиелиновый путь передачи сигнала от рецепторов ИЛ-1 1 типа (по [145], с изменениями)

Рецепторы ИЛ-1 второго типа существуют в мембранной и в растворимой форме [140]. Рецепторы второго типа отличаются от рецепторов первого типа только строением внутриклеточного домена. Считается, что при связывании лиганда они не способны активировать внутриклеточные сигнальные пути и выполняют регуляторную функцию, снижая негативное действие на организм высоких концентраций ИЛ-1 β [146].

Некоторые эффекты ИЛ-1 могут быть не связаны с функционированием рецепторов первого типа: интрацеребровентрикулярное введение ИЛ-1 усиливает повреждение мозга при экспериментальной ишемии как у мышей дикого типа, так и у мышей, нокаутных по гену рецептора ИЛ-1 первого типа; введение же рецепторного антагониста ИЛ-1 снижало повреждающие эффекты ишемии только

у мышей дикого типа [147]. На сегодняшний день открыт новый тип рецепторов ИЛ-1 у мышей, названный авторами рецептором ИЛ-1 третьего типа и выявляемый, в основном, в нервных клетках. Данные рецепторы кодируются тем же геном, что и рецепторы первого типа, но их мРНК транскрибируется с альтернативного промотора, в результате рецептор имеет укороченный N-концевой домен и теряет способность связывать рецепторный антагонист ИЛ-1 [110].

ИЛ-1 β и его рецепторы синтезируются во многих клетках организма. Основными продуцентами ИЛ-1 в иммунной системе являются моноциты и макрофаги [141]. Его основные функции в иммунной системе связаны с развитием местного воспалительного процесса и острой фазы воспаления на системном уровне: активацией Т-лимфоцитов, усилением проницаемости эндотелия, индукцией синтеза в печени белков острой фазы воспаления [140]. Однако данное исследование было посвящено изучению роли ИЛ-1 β в формировании центральной нервной системы, поэтому далее проблемы его участия в реализации иммунных функций не обсуждаются.

1.3.2. *Действие ИЛ-1 β на мозг взрослых животных*

ИЛ-1 α , ИЛ-1 β и его рецепторный антагонист синтезируются в мозге в небольших количествах постоянно. При различных патологических состояниях их экспрессия увеличивается [148]. Основными продуцентами ИЛ-1 β в ЦНС являются микроглиальные клетки, он также синтезируется нейронами [149]. Рецепторы ИЛ-1 первого типа экспрессируются в различных структурах мозга: мозжечке, гипоталамусе, таламусе, коре больших полушарий, гиппокампе и других. В основном они обнаруживаются на нейронах, эндотелиальных клетках, на поверхности астроцитов в норме их плотность низка, но при иммунной активации наблюдается её резкое увеличение [150].

Гематоэнцефалический барьер обладает очень низкой проницаемостью для ИЛ-1 β . Однако при повышении его уровня в плазме крови увеличивается и его

внутричерепной уровень, а при увеличении внутричерепной концентрации увеличивается и его содержание в плазме крови [141]. Рассматриваются три возможных пути действия периферического ИЛ-1 β на его содержание в мозге: проникновение через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) в ограниченных количествах, простагландин-опосредованное действие, нервно-проводниковый путь [151, 152].

- 1) ИЛ-1 β способен проникать из крови в мозг в областях с низким ГЭБ и непосредственно воздействовать на свои рецепторы, которые локализованы на мембранах нейронов и глии, активируя в них синтез ИЛ-1 β . Предполагается, что ИЛ-1 β проникает через ГЭБ не пассивно, а с участием специфических транспортных систем [153];
- 2) Связываясь с рецепторами на поверхности клеток эндотелия сосудов мозга, циркулирующий в крови ИЛ-1 β способен активировать экспрессию циклооксигеназы 2, тем самым приводя к увеличению синтеза простагландинов, которые индуцируют продукцию ИЛ-1 β в клетках мозга [154, 155];
- 3) Передача сигнала от активированной иммунной системы в мозг (связанная с повышением уровня ИЛ-1 β) может быть опосредована блуждающим нервом (*nervus vagus*), а также активацией симпатических нервов. При этом также происходит индукция синтеза ИЛ-1 β в ЦНС [156–158]. ИЛ-1 β , связываясь со своими рецепторами первого типа на чувствительных окончаниях блуждающего нерва, приводит к усилению синтеза простагландинов в нейронах ядра солитарного тракта [159].

Таким образом, пути действия ИЛ-1 β , циркулирующего в плазме крови, на ЦНС связаны с вторичной индукцией синтеза ИЛ-1 β клетками ЦНС и увеличением его внутричерепной концентрации, что приводит к развитию различных нейрохимических и, соответственно, гомеостатических и поведенческих реакций.

Повышение уровня ИЛ-1 β в крови и мозге приводит к различным поведенческим и гомеостатическим изменениям, которые описаны в

многочисленных исследованиях [150, 151, 160]. В частности, в результате действия ИЛ-1 β на клетки ЦНС развивается продромальный синдром: повышение температуры тела, активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, индукция медленноволнового сна, комплекс нарушений поведения, получивший название «поведение больного» («sickness behavior») и включающий в себя снижение общей активности, подавление пищевой и половой мотиваций [150, 151]. В связи со способностью ИЛ-1 β вызывать депрессивно-подобные состояния, обсуждается роль этого цитокина в патогенезе депрессии [161]. Повышенное внутримозговое содержание ИЛ-1 β и его рецепторов 1 типа наблюдается при биполярном аффективном расстройстве [151].

Менее изученным остаётся влияние ИЛ-1 β на когнитивные функции мозга [151]. Следует отметить, что действие ИЛ-1 β на когнитивные функции носит дозозависимый характер. В низких физиологических концентрациях он необходим для процессов обучения, а в высоких приводит к нарушению различных видов обучения и памяти [162]. Было показано нарушение пространственного обучения при введении экзогенного ИЛ-1 β экспериментальным животным, как и при индукции синтеза эндогенного ИЛ-1 β в гиппокампе мышей [163, 164]. Он также опосредует стресс-индуцированные нарушения обучения [165]. Повышенные концентрации ИЛ-1 β нарушают не только процессы памяти, но и исследовательское поведение [166, 167]. На возможное участие ИЛ-1 в осуществлении когнитивных функций указывает и высокая плотность рецепторов ИЛ-1 1 типа в гиппокампе, ключевой структуре, задействованной в процессах обучения и памяти [168]. В процессе обучения происходит увеличение экспрессии ИЛ-1 в гиппокампе [169].

Действие ИЛ-1 на когнитивные функции может быть связано с его способностью влиять на процессы долговременной потенциации, которая играет основополагающую роль в процессах долговременной памяти. Следует отметить, что эти эффекты также носят дозозависимый характер: долговременная потенциация нарушается как при повышении концентрации цитокина, так и при блокаде его рецепторов с помощью рецепторного антагониста ИЛ-1 [162, 170].

Действие ИЛ-1 β на ЦНС может быть связано с изменением экспрессии нейротрофических факторов. Внутримозговое введение цитокина может приводить к изменению экспрессии генов и концентрации нейротрофических факторов NGF и BDNF в гиппокампе крыс. Данные эффекты различны при остром и хроническом воздействии: однократное введение ИЛ-1 β приводит к увеличению этих показателей, курсовое восьмикратное (1 раз в сутки) – не изменяет уровень NGF и снижает содержание BDNF и его мРНК [171]. Влияние цитокина на уровень BDNF в гиппокампе может играть определяющую роль в ИЛ-1 β -индуцированных нарушениях когнитивных функций, так как этот нейротрофический фактор принимает участие в регуляции процессов нейропластичности и в реализации когнитивных функций [172]. Способность ИЛ-1 β блокировать или снижать связанное с выработкой реакции условного страха увеличение экспрессии гена BDNF показана в различных областях гиппокампа [173]. Нарушение обучения и снижение экспрессии BDNF у крыс при социальном стрессе (зоосоциальной изоляции) также связано с действием ИЛ-1 β [174]. Таким образом, подавление экспрессии гена BDNF может быть одним из механизмов, через которые ИЛ-1 β опосредует стресс-индуцированные нарушения обучения.

Следует отметить, что ИЛ-1 β активирует гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему не только в ответ на развитие воспаления. Он регулирует и её активацию в ответ на различные виды физического и психологического стресса [175].

Одним из механизмов действия ИЛ-1 β на мозговые механизмы нейропластичности является его модулирующее действие на нейромедиаторные системы мозга. Повышение уровня цитокина приводит к увеличению экstrasинаптической концентрации и усилению метаболизма норадреналина в гипоталамусе, а серотонина – неспецифически в различных структурах головного мозга мышей [176]. Следует отметить, что эффекты введения ИЛ-1 β на метаболизм катехоламинов (дофамин и норадреналин) и серотонина в структурах мозга, по-видимому, опосредованы различными механизмами: пик изменений в реакции катехоламинергических систем наблюдается через два часа после

введения цитокина крысам и не блокируются ингибиторами NO-синтазы, а пик реакции серотонинергической системы – через четыре часа после введения и связан с индукцией синтеза NO-синтазы, что доказывается опытами на трансгенных мышах-нокаутах по гену индуцибельной NO-синтазы и с применением ингибиторов фермента [177, 178]. Введение высоких доз ИЛ-1 β (на порядок превышающих дозы, вызывающие максимальную активацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы) приводит к снижению секреции ацетилхолина и содержания глутамата, глутамина и ГАМК в гиппокампе крыс, в то время как введение цитокина в более низких дозах (вызывающих максимальную активацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы) приводит к усилению выброса глутамата в ядре солитарного тракта [178]. ИЛ-1 β оказывает модулирующее действие на глутаматергические нейроны, снижая плотность AMPA-рецепторов глутамата и уровень их фосфорилирования посредством Ca²⁺-зависимых механизмов с участием NMDA рецепторов [179].

Таким образом, механизмы реализации центрального действия ИЛ-1 β у взрослых животных изучены достаточно полно. Меньше фактов имеется о функциях этого цитокина в развивающемся мозге. Между тем, ряд данных указывает на то, что он играет иную, возможно, более выраженную, роль в раннем онтогенезе, влияя на развитие нервных и глиальных клеток, что может приводить к нарушению формирования ЦНС [22, 151, 180].

1.3.3. Роль ИЛ-1 β в развитии ЦНС

В экспериментах на трансгенных животных с повышенной продукцией антагониста рецепторов ИЛ-1 было показано, что ИЛ-1 играет важную роль в процессах развития ЦНС в норме [180]. Известно, что глиогенез, дифференцировка глиальных клеток, миелинизация, спраутинг (рост и ветвление отростков нейронов), синаптогенез не заканчиваются к моменту рождения [32].

ИЛ-1 влияет на выше перечисленные процессы, связанные с созреванием мозга [19, 22, 181–185].

В патологических условиях при значительном повышении уровня ИЛ-1 β он может оказывать повреждающее действие на развивающиеся клетки мозга [22]. Из клинических наблюдений известно, что состояния, сопровождающиеся повышенным уровнем ИЛ-1 в неонатальный период (гипоксии, ишемии, родовые травмы, аллергии, инфекции, в том числе внутриутробные) сопровождаются повышенным риском развития ряда психо- и нейропатологий, таких как шизофрения, аутизм, детский церебральный паралич, невротические состояния, синдром дефицита внимания с гиперактивностью [22, 43, 186, 187].

В ряде экспериментов показаны отдалённые нарушения различных типов поведения экспериментальных животных, вызванные стимуляцией иммунной системы (экспериментальные инфекции, введение бактериального липополисахарида) в эмбриональный и ранний постнатальный период развития, что может быть связано с повышенной продукцией ИЛ-1 β [20, 21, 181]. Введение ИЛ-1 β в течение третьей недели жизни приводит к увеличению двигательной активности и подавлению исследовательского поведения в подростковом возрасте, а также к усилению стресс-реактивности и нарушениям условнорефлекторной деятельности и пространственной памяти половозрелых крыс [24–26, 33]. Неонатальное курсовое введение ИЛ-1 α приводит к нарушению реакции преимпульсного торможения (ослабление реакции на предъявлении громкого акустического сигнала, если перед этим был предъявлен слабый сигнал) у взрослых крыс. Нарушение этой реакции наблюдается и у людей, больных шизофренией [188]. Нарушение когнитивных функций после неонатального повышения уровня ИЛ-1 β может быть связано с увеличением стресс-реактивности взрослых животных [33]. Взрослые крысы, подвергнутые неонатальному воздействию бактериального липополисахарида, демонстрируют пролонгированное увеличение концентрации кортикостерона и увеличение содержания ИЛ-1 β в гиппокампе в ответ на стресс [189, 190]. Хроническое введение умеренно-пирогенных доз ИЛ-1 β в течение третьей недели жизни также

приводит к усиленному выбросу кортикостерона, активации метаболизма серотонина и дофамина, увеличению двигательной активности в ответ на острый стресс [33].

ИЛ-1 β способен влиять на различные процессы, связанные с развитием глиальных клеток. Во взрослом и развивающемся мозге он выступает в качестве астроглиального ростового фактора [191]. *In vitro* ИЛ-1 подавляет кальциевый сигналинг в клетках-предшественниках астроцитов, что приводит к нарушению их миграции [192]. Повышение внутримозговой концентрации ИЛ-1 β приводит к снижению количества олигодендроцитов и содержания основного белка миелина в головном мозге и может нарушать процессы миелинизации [193]. Повышение уровня провоспалительных цитокинов, в том числе ИЛ-1 β , в перинатальный период может приводить к долговременному увеличению реактивности амёбодной микроглии в гиппокампе [181]. Данные изменения могут привести к чрезмерной экспрессии провоспалительных цитокинов в ответ на стимуляцию этих клеток во взрослом мозге. Именно этим, по мнению Vilbo и Schwarz [181], этим могут быть опосредованы когнитивные нарушения, связанные с действием различных повреждающих факторов в неонатальный период. Самцы, по сравнению с самками, оказываются более чувствительны к повреждающему действию провоспалительных цитокинов в ранние периоды онтогенеза, что может быть связано с половыми различиями в онтогенезе микроглии [194].

ИЛ-1 β действует не только на развитие глии, но и на процессы дифференцировки и созревания нейронов [22]. Он способен подавлять развитие дендритов в культуре эмбриональных кортикальных нейронов и понижать их выживаемость [185]. При внутримозговом введении ИЛ-1 β происходит увеличение числа апоптотических клеток в мозге новорожденных животных [193]. Введение беременным самкам компонента клеточных стенок грамотрицательных бактерий липополисахарида – естественного индуктора синтеза провоспалительных цитокинов – приводит к снижению содержания серотонина во фронтальной коре, гиппокампе, прилежащем ядре, миндалине, стриатуме, гипоталамусе и уменьшению числа серотонинергических нейронов в

дорзальных ядрах шва в мозге их потомков во взрослом состоянии [195]. ИЛ-1 β способен подавлять дифференцировку серотонинергических нейронов в культуре клеток гиппокампа новорожденных крыс [196].

Влияние ИЛ-1 β на развитие ЦНС может быть связано с его способностью снижать продукцию BDNF, играющего важную роль в её развитии, особенно в формировании фенотипа и выживании чувствительных нейронов [197]. ИЛ-1 β приводит к изменению продукции BDNF в культуре эмбриональных гипоталамических нейронов, причём наблюдаемые эффекты зависят от присутствия глиальных клеток: содержание мРНК BDNF увеличивается под действием цитокина в обогащённой нейронами культуре, но снижается в смешанной культуре, содержащей нейроны и астроциты [198]. Повреждающее действие высоких доз ИЛ-1 β , по-видимому, опосредовано и окислительным стрессом, так как введение антиоксиданта ослабляет вызванные воздействием ИЛ-1 β мозговые повреждения и нарушения поведения у крысят [184]. Однако следует учитывать, что нейропротекторное действие антиоксиданта может быть вызвано и с блокированием свободного радикала NO – вторичного мессенджера, синтез которого в мозге увеличивается в ответ на действие ИЛ-1 β [143].

Таким образом, особенности действия ИЛ-1 β на ЦНС в раннем пре- и постнатальном онтогенезе заключаются в его способности влиять на дифференцировку и созревание нейронов и глиальных клеток. В физиологических концентрациях он необходим для нормального развития мозга, но действие повышенных концентраций ИЛ-1 β приводит к нарушению формирования ЦНС и отдалённым нарушениям когнитивных функций. Одним из важных, но малоизученных, механизмов, опосредующих повреждающее влияние ИЛ-1 β на формирующийся мозг, может быть его действие на развитие дофаминергической системы [23, 199–201], о котором пойдёт речь в следующем разделе.

1.3.4. Роль ИЛ-1 β в формировании нарушений функционирования дофаминергической системы мозга

Нарушения в работе дофаминергической нейромедиаторной системы лежат в основе развития многих видов и нервной психической патологии. Они могут быть связаны с дегенерацией дофаминергических нейронов (например, разрушение нейронов nigrostriатной системы при болезни Паркинсона) и с дисрегуляцией нейрохимических процессов, лежащих в основе функционирования дофаминергической системы (при депрессиях, шизофрении, синдроме дефицита внимания и гиперактивности) [46, 50, 51, 99, 202]. В патогенезе этих заболеваний могут участвовать различные провоспалительные цитокины, в том числе ИЛ-1 β [22, 203–205].

Повышенное содержание ИЛ-1 β *post-mortem* обнаруживается в коре больших полушарий у пациентов с биполярной депрессией; повышенная концентрация цитокина в плазме крови часто наблюдается при депрессивных состояниях [204]. При этом известно, что нарушения дофаминергической системы являются одной из важных составляющих патогенеза депрессивных состояний [46, 206].

Активация микроглиальных клеток, при которой увеличивается синтез и секреция ими провоспалительных цитокинов, в том числе ИЛ-1 β , наблюдается в чёрной субстанции при болезни Паркинсона [207]. В экспериментальных моделях болезни Паркинсона (нейротоксин-индуцированная дегенерация нейронов чёрной субстанции) и *in vitro*, показано, что ИЛ-1 β может усиливать токсин-индуцированную дегенерацию дофаминергических нейронов чёрной субстанции [208].

В последние годы активно обсуждается так называемая «двухударная» гипотеза формирования шизофрении, согласно которой особую роль в формировании данной нервной патологии играет повышение уровня ИЛ-1 β и других провоспалительных цитокинов в мозге в ранние периоды онтогенеза [19, 22, 182, 187, 209, 210]. Согласно этой гипотезе, увеличение уровня

провоспалительных цитокинов в перинатальный период (первый удар) повышает чувствительность индивида к стрессовым воздействиям во взрослом состоянии (второй удар), способным спровоцировать развитие шизофрении [22, 182, 210]. Дисрегуляция дофаминергической системы считается важным патофизиологическим механизмом проявлений шизофрении [1, 202, 211, 212], а все существующие на сегодняшний день нейролептические препараты обладают антагонистическими свойствами по отношению к D2 рецептору дофамина.

Считается, что дисфункции дофаминергической системы головного мозга лежат в основе когнитивных нарушений при ряде видов нервной и психической патологии, связанной с нарушением развития ЦНС (neurodevelopmental disorders) [20, 138, 213–215]. В литературе имеются противоречивые данные относительно действия ИЛ-1 β на развитие дофаминергических нейронов [22]. ИЛ-1 β способствует выживанию дофаминергических нейронов и спонтанному формированию дофаминергического фенотипа клеток в культуре эмбриональных мезэнцефалических клеток крыс [199, 200]. Усиление экспрессии ИЛ-1 α ассоциировано с компенсаторным спраутингом, возникающим в ответ на повреждение (при действии нейротоксинов) дофаминергических нейронов у молодых крыс [201]. В гипоталамусе взрослых мышей, которым вводили ИЛ-1 β в 1-й день постнатального развития, обнаруживается сниженное содержание дофамина [23].

В ряде экспериментальных работ показаны нарушения дофаминергической системы после неонатальных введений липополисахарида – компонента клеточной стенки грам-отрицательных бактерий и естественного индуктора синтеза ИЛ-1 β . Однако, в основном, в этих исследованиях изучались морфологические нарушения дофаминергической системы в ЦНС взрослых животных, вызванные введением высоких доз липополисахарида в первые сутки после рождения крысят. Так, интрацеребровентрикулярное введение липополисахарида в пятый день постнатального развития приводит к снижению у взрослых крыс числа дофаминергических нейронов в вентральной области покрышки; увеличение количества сайтов связывания лигандов D2-подобных

рецепторов дофамина, т.е. увеличение их плотности, обнаружено в прилежащем ядре у взрослых крыс, которым вводили липополисахарид на 3-й и 5-й дни постнатального развития [29, 216]. В литературе имеются данные о снижении содержания D1 и D2 дофаминовых рецепторов в гиппокампе, лобной коре и стриатуме крысят при курсовом введении ИЛ-1 α с 14 по 22 день постнатального развития [188]. Внутригиппокампальное введение липополисахарида на 7-8-е сутки постнатального развития приводит к снижению чувствительности нейронов префронтальной коры взрослых крыс к квинпиролу – агонисту D2/D3-дофаминовых рецепторов дофамина [217]. Однако ни в одной из работ, оценивающих плотность или чувствительность к агонистам дофаминовых рецепторов, не проводилась дифференциальная оценка сплайс-вариантов D2 рецепторов дофамина.

Таким образом, ИЛ-1 β вовлечён в широкий круг видов нервно-психической патологии, связанной с изменением функциональной активности дофаминергической системы. Повышение его уровня в ранние периоды онтогенеза может приводить к нарушениям развития дофаминергической системы мозга, в том числе к изменению плотности/чувствительности дофаминовых рецепторов префронтальной коры. Однако, до сих пор неясно, как эти нарушения соотносятся с вкладом отдельных сплайс-вариантов D2 рецептора дофамина.

2. Материалы и методы

2.1. Подготовка экспериментальных животных. Общий план эксперимента

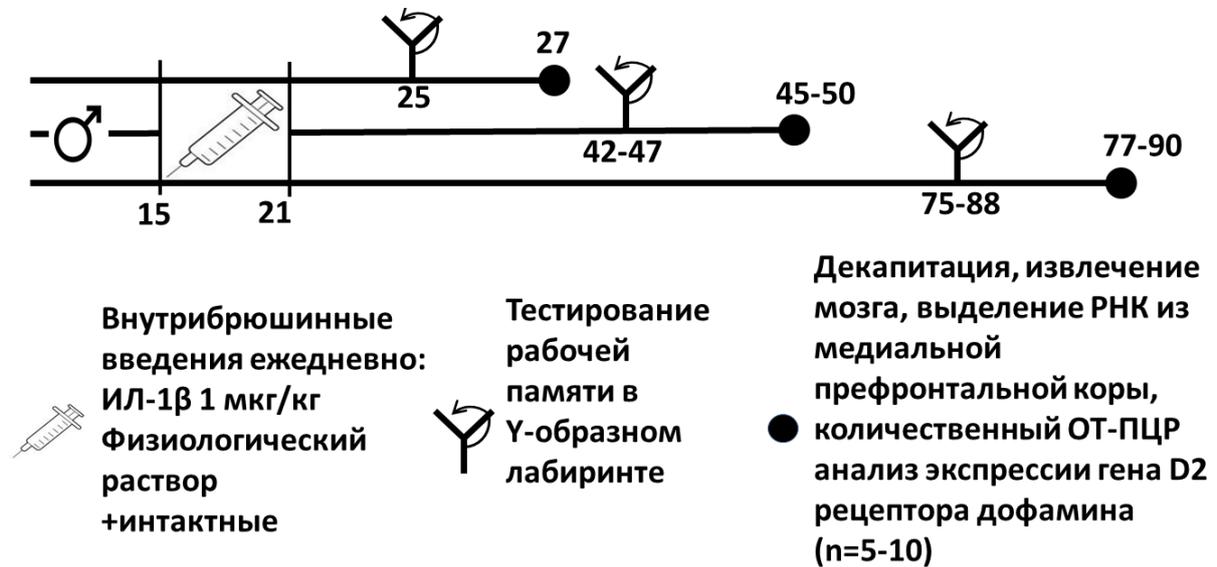
Работа выполнена на 206 самцах белых лабораторных крыс породы Вистар с соблюдением принципов гуманности (Директивы Европейского Сообщества № 2010/63/ЕС), одобренных локальным этическим комитетом ФГБНУ «ИЭМ». Животных содержали в стандартных условиях при свободном доступе к воде и пище и двенадцатичасовом световом дне (с 8 до 20 часов). В каждой клетке содержалась одна самка и её потомство. Количество крысят в помётах выравнивали до 10 – новорождённых самок при необходимости оставляли либо перемещали в другие помёты того же возраста, но в дальнейшем эксперименте не использовали.

Крысятам с 15-го по 21-й день жизни внутрибрюшинно курсом один раз в день вводили человеческий рекомбинантный ИЛ-1 β (НИИ особо чистых биопрепаратов, Санкт-Петербург, Россия), растворённый в апиrogenном физиологическом растворе (0,1 мкг/мл), в умеренно пирогенной дозе 1 мкг/кг либо эквивалентный объём физиологического раствора (0,1 мл на 1 г веса животного). Часть крысят из каждого помёта оставляли интактными, чтобы дифференцировать влияние стресса от экспериментальных процедур, так как 3-я неделя жизни является стресс-реактивным периодом, когда даже слабый стресс, например, связанный с хэндлингом, может влиять на созревание ЦНС [218–220]. Ранее в Лаборатории нейробиологии интегративных функций мозга ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» было показано, что данная схема введения ИЛ-1 β приводит к отдалённым нарушениям исследовательского поведения, долговременной памяти и усилению стресс-реактивности крыс [24–26, 33].

Настоящая работа включала в себя две серии экспериментов.

Первая серия экспериментов была посвящена оценке возрастной динамики экспрессии гена D2 рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре, а

также рабочей памяти крыс (в тесте спонтанных альтернатив при помещении в Y-образный лабиринт), которым вводили ИЛ-1 β в течение 3-й недели жизни (см. схему на рис. 2.1). Поведенческие тесты проводили на отдельных когортах животных для каждого возраста.

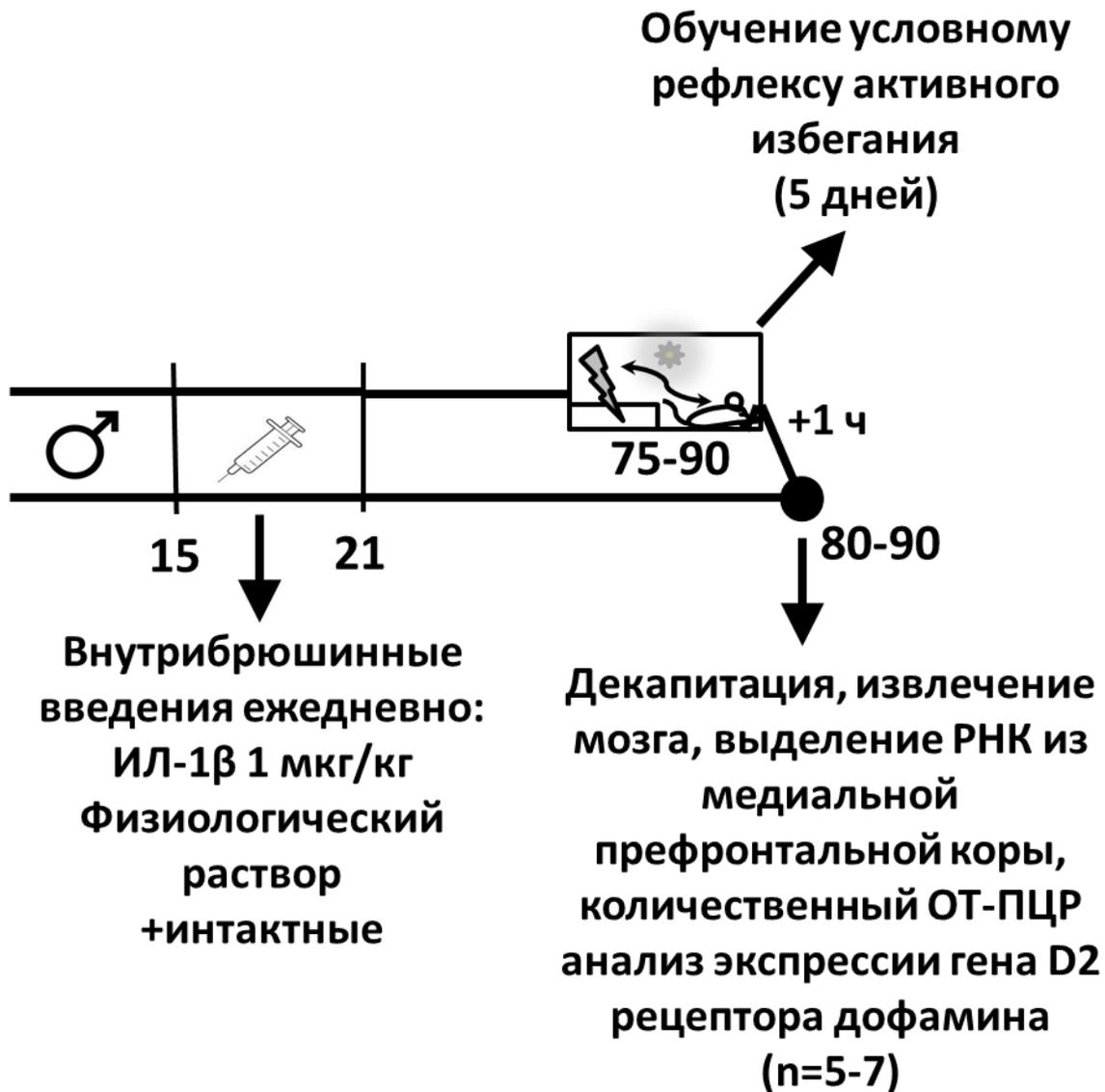


Примечание: указан возраст животных (в днях) в период проведения конкретных этапов эксперимента

Рисунок 2.1. Схема серии экспериментов по изучению действия повышения уровня ИЛ-1 β в раннем постнатальном периоде онтогенеза на когнитивные функции и возрастную динамику экспрессию гена D2 рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре крыс

Во второй серии изучалось сочетанное влияние повышения уровня ИЛ-1 β в течение третьей недели жизни и предъявления нагрузки – в процессе выработки условного рефлекса активного избегания – на экспрессию гена D2 рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре головного мозга взрослых животных. Схема эксперимента представлена на рис. 2.2: часть животных из каждой группы в возрасте 2,5 месяцев обучали в парадигме условного рефлекса активного избегания в течение пяти дней, в пятый день через час после последней сессии обучения забирали материал для анализа, в те же дни забирали материал от животных, не подвергавшихся психоэмоциональной нагрузке. Забор материала

производили на 5-й день, так как в этот период рефлекс ещё не полностью сформирован и обучение ещё продолжается. Ранее в нашей лаборатории было показано, что введения ИЛ-1 β с 15-го по 21-й дни жизни приводят к нарушению формирования условного рефлекса активного избегания у взрослых крыс [25].



Примечание: указан возраст животных (в днях) в период проведения конкретных этапов эксперимента

Рисунок 2.2 – Схема экспериментов по изучению сочетанного действия повышения уровня ИЛ-1 β в раннем постнатальном периоде онтогенеза и когнитивной нагрузки на экспрессию гена D2 рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре взрослых крыс.

Подробное описание поведенческих методик и проведения молекулярных исследований будет приведено далее в соответствующих подразделах.

2.2. Поведенческие тесты

В работе использованы 2 методики оценки поведения – оценка спонтанных альтернатив при обследовании Y-образного лабиринта и тренировка условного рефлекса активного избегания. Эксперименты проводились во время высокой активности животных – с 18:00 до 23:00. Клетки с животными переносили в помещения с экспериментальными установками не менее чем за час до начала эксперимента. Поочередно тестировали крыс из опытной и контрольных групп, чтобы нивелировать возможный эффект времени тестирования. После каждого животного установки протирали 3%-ным раствором перекиси водорода для удаления запахов.

2.2.1. *Исследование рабочей памяти в Y-образном лабиринте*

Рабочую память оценивали в парадигме спонтанных альтернатив при обследовании Y-лабиринта – данный тест основан на высокой исследовательской активности грызунов при помещении в новое пространство (лабиринт с тремя идентичными рукавами) и является стандартной методикой оценки показателей рабочей памяти [221]. Крысу помещали в один из рукавов (10*50 см, высота стенок 35 см) трёхлучевого лабиринта и позволяли свободно обследовать пространство в течение 8 минут. После каждого животного пол и стенки лабиринта протирали перекисью водорода для удаления запахов. Все эксперименты проводили в период высокой активности крыс – после 18:00. Оценивали количество и порядок заходов в рукава, рассчитывали процент альтернатив – долю спонтанных альтернатив (последовательных заходов в три разных рукава без повторов) от максимально возможного их количества (общее число заходов минус 2). Для животных, посещавших менее 12 рукавов, данный показатель не рассчитывали.

2.2.2. *Условный рефлекс активного избегания*

Тест «условный рефлекс активного избегания» широко применяется для оценки когнитивных функций – в данном тесте вырабатывается условная реакция избегания аверзивного стимула в ответ на предъявление условного сигнала, он позволяет оценить динамику обучения экспериментальных животных [222].

Выработку условного рефлекса активного избегания производили у животных в возрасте 70-80 дней. Условную реакцию активного избегания вырабатывали в челночной камере 40×30×55 см, состоящей из двух одинаковых отсеков с электродным полом на разных уровнях высоты. Электрокожное раздражение (безусловный сигнал) подавалось на лапы животного через 5 с после действия условного сигнала – света. Сила тока подбиралась по индивидуальной реакции животного и составляла от 0,4 до 0,6 мА. Действие сигналов продолжалось до выполнения животным перехода в смежный отсек (рис. 2.3). Экспериментатор подавал сочетания условного и безусловного сигналов с произвольным интервалом между предъявлением от 20 до 40 с. Если в течение 20с животное не переходило в смежный отсек, то его аккуратно перемещали и прекращали подачу условного и безусловного сигналов. В первый экспериментальный день крысам давали возможность в течение 5 минут обследовать камеру, затем предъявляли 10 сочетаний условного и безусловного сигналов. В последующие четыре дня – по 20 сочетаний условного и безусловного сигналов.

Тренировку проводили в интервале времени суток 18:00-23:00, что совпадает с периодом высокой активности крыс. В каждый экспериментальный день оценивали число правильных реакций – переходов в смежный отсек в ответ на предъявление условного сигнала раньше предъявления безусловного сигнала. Тренировку производили в течение 5 дней, после чего осуществляли декапитацию животных и забор экспериментального материала. Ранее в нашей лаборатории было показано, что при использованной схеме тренировки животные, которым вводили ИЛ-1 β в течение третьей недели жизни, демонстрировали нарушение

формирования условного рефлекс активного избегания по сравнению с животными контрольных (интактными и крысами после введений апирогенного физиологического раствора в тот же период) групп [25].

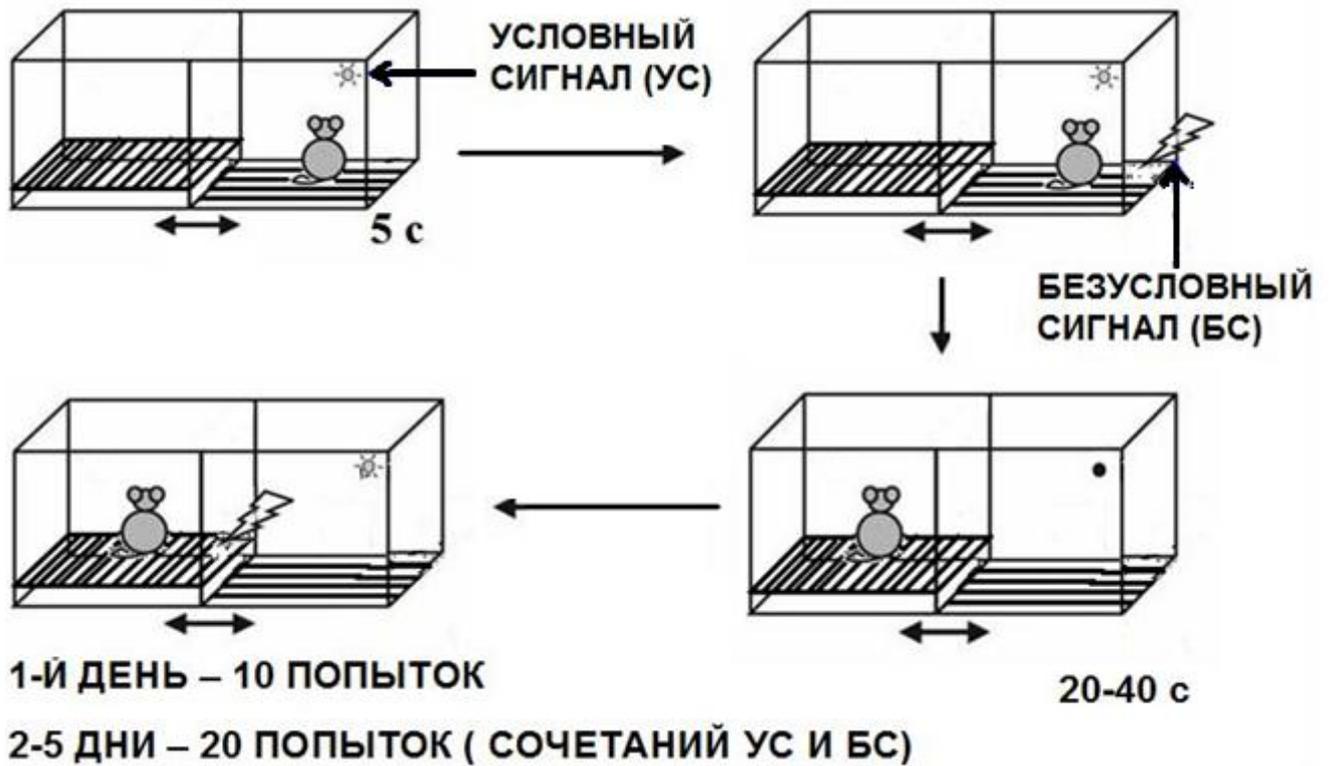


Рисунок 2.3 – Схема процесса тренировки крыс в установке «Условный рефлекс активного избегания» (по [222], с изменениями), пояснения в тексте.

Через 2 часа после заключительной попытки часть крыс, выбранных случайно, декапитировали, извлекали мозг, который немедленно замораживали и хранили при -70°C до выделения отдельных областей мозга с помощью микротомы-криостата.

2.3. Определение уровня экспрессии гена D2 рецептора дофамина

Относительное содержание мРНК сплайс-вариантов D2 рецептора дофамина в медиальной префронтальной области коры больших полушарий головного мозга крыс определяли с помощью двухэтапного метода обратной

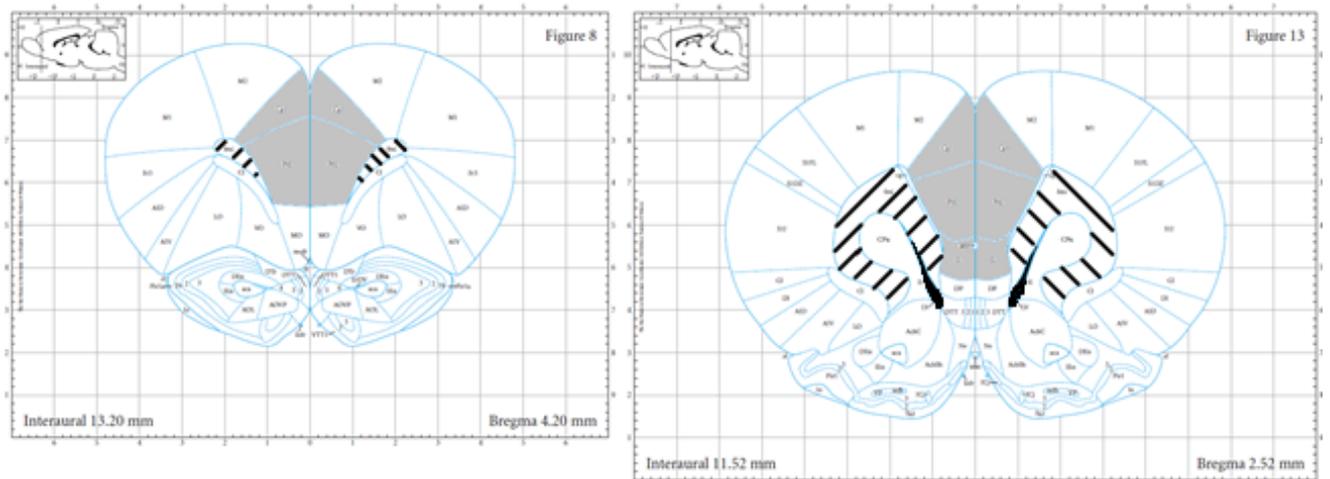
транскрипции с последующей полимеразной цепной реакцией в реальном времени (количественная ОТ-ПЦР). Двухэтапный вариант ОТ-ПЦР подразумевает синтез кДНК на матрице РНК с последующим независимым проведением ПЦР со специфическими праймерами для определения относительного содержания кДНК интересующих генов в образцах. Преимуществом этого метода перед одноэтапным (синтез кДНК и ПЦР в одной пробирке) является возможность исследовать несколько генов в одном образце с хорошим количественным разрешением [223].

2.3.1. Выделение тотальной РНК

Медиальную префронтальную (включая цингулярную, пре- и инфраламбическую) область коры больших полушарий извлекали из замороженных образцов мозга крыс с использованием микротомы-криостата Thermo Scientific MICROM HM 525 при -20°C . Образец мозга закрепляли в установке и срезали часть мозга (фронтальные срезы) в каудальном направлении с шагом 100 мкм до определенного уровня (см. схему на рис. 2.4), затем с помощью шпателя извлекали материал в микроцентрифужные пробирки, свободные от нуклеаз. Материал начинали извлекать при появлении передних щипцов мозолистого тела (*forceps minor corpus callosum*), заканчивали – при появлении боковых желудочков и выраженного сопутствующего эпендимного слоя (см. схему на рис. 2.4).

Сразу после получения образцов медиальной префронтальной коры из них выделяли РНК методом одношаговой кислой гуанидинтиоцианат-фенол-хлороформной экстракции [226]. Образцы гомогенизировали с помощью полипропиленовых пестиков на льду в 150 мкл реагента ExtractRNA (ЗАО «Евроген», Москва, Россия), содержащем фенол и гуанидинтиоцианат [227]. Полученный гомогенат инкубировали 5 мин при комнатной температуре для полного растворения кусочков ткани и диссоциации нуклеопротеиновых комплексов, затем центрифугировали 10 мин ($+4^{\circ}\text{C}$ и 12000g) для осаждения

нерастворимых остатков материала, супернатант переносили в новые пробирки, добавляли к нему 30 мкл (1/5 от изначального объема реагента для гомогенизации) хлороформа, интенсивно перемешивали и инкубировали при комнатной температуре в течение 20-30 мин. Затем образцы центрифугировали (+4°C и 12000g) 30 мин для разделения фаз, верхнюю водную фазу переносили в новые пробирки, смешивали с 75 мкл изопропилового спирта и инкубировали в течение ночи при -20°C для осаждения РНК. Пробирки центрифугировали (+4°C и 12000g) 30 мин для получения осадка РНК, супернатант удаляли и промывали осадок 75% этанолом. Полученный осадок хранили под 75% этанолом при -20°C до проведения дальнейших процедур.



Примечание: Светло-серым выделены извлекаемые области коры больших полушарий, чёрным – боковые желудочки и прилегающий слой эпендимы, заштрихованы малые щипцы мозолистого тела; указан уровень первого и последнего извлечения материала для дальнейшего анализа

Рисунок 2.4 – Границы выделения медиальной префронтальной области коры головного мозга крыс (по [224]), пояснения в тексте.

2.3.2. Обработка образцов РНК ДНКазой

Для устранения возможной примеси геномной ДНК, образцы выделенной РНК обрабатывали дезоксирибонуклеазой, свободной от рибонуклеаз. Пробирки с

полученными ранее осадками РНК под 75%-ным этиловым спиртом центрифугировали в течение 30 мин (+4°C и 12000g), супернатант аккуратно удаляли с помощью автоматического дозатора. Осадок высушивали, помещая открытые пробирки на 5 мин в твердотельный термостат при +50°C. Высушенный осадок ресуспендировали в 8 мкл воды для инъекций (ООО «Гротекс», Санкт-Петербург, Россия) и инкубировали при +50°C в течение 5 мин для лучшего растворения нуклеиновых кислот. Полученный раствор тщательно перемешивали с помощью настольной микроцентрифуги-вортекса. К полученному раствору добавляли реакционную смесь, содержащую в 2X реакционном буфере 10 единиц активности рекомбинантного ингибитора рибонуклеаз РНазина («Силекс», Москва, Россия) и 2 единицы активности дезоксирибонуклеазы без примесей РНКазной активности. В случае экспериментов по оценке возрастной динамики содержания сплайс-вариантов мРНК в данной структуре мозга была использована RQ1 ДНКазы свободная от рибонуклеаз (Promega, США), а в серии экспериментов по изучению экспрессии гена D2 рецептора в медиальной префронтальной коре в процессе выработки условного рефлекса избегания – ДНКазы без РНКазной активности («Силекс», Москва, Россия). Пробирки с готовой реакционной смесью инкубировали 10 мин при +37°C в термоциклере «Терцик», добавляли 1,5 мкл (1/10 объёма реакционной смеси) стоп-реагента (20 мМ ЭГТА), тщательно перемешивали и центрифугировали с помощью настольной микроцентрифуги-вортекса. После смешивания со стоп-реагентом пробирки инкубировали в термоциклере при +70°C для инактивации фермента в течение 5 мин с последующим охлаждением до +4°C. Для очистки полученного препарата от компонентов реакции РНК пересаждали этиловым спиртом: для этого объём раствора доводили до 30 мкл водой для инъекций, добавляли 3 мкл (1/10 объёма раствора РНК) 3М раствора ацетата натрия и 75 мкл (2,5 объёма раствора РНК) 96% этилового спирта, тщательно перемешивали, инкубировали при -20°C в течение ночи. После этого пробирки с образцами центрифугировали, удаляли супернатант и дважды промывали 75% этиловым спиртом.

2.3.3. *Обратная транскрипция*

Раствор РНК для проведения реакции обратной транскрипции готовили так же как перед ДНКазной обработкой, но в объёме 15 мкл. Концентрацию РНК определяли по оптическому поглощению раствора при длине волны 260 нм на спектрофотометре NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Inc., США), для оценки качества очистки препарата оценивали соотношения поглощения при длинах волн 260/280нм (оценка белковых примесей) и 260/230 нм (примеси фенолятов и этилового спирта). Соотношение 260/280 нм лежало в пределах 1,8-2,1, а 260/230 – в пределах 1,5-2,0, что говорит о высоком качестве подготовки образцов.

Для реакции брали 1 мкг РНК в объёме раствора 9 мкл, добавляли к нему 1 мкл раствора OligodT-праймеров с концентрацией 0,5 мкг/мкл («ДНК-синтез», Москва, Россия) и инкубировали 5 мин +70°C с последующим быстрым охлаждением до +4°C для разворачивания вторичных структур РНК и эффективного отжига праймеров. После этого к пробам добавляли реакционную смесь, содержащую 100 единиц активности обратной транскриптазы M-MLV (Promega, США) 1 мкл смеси дезоксинуклеотидтрифосфатов (dATP, dTTP, dCTP, dGTP, каждый в концентрации 25 mM), 20 единиц активности рекомбинантного ингибитора рибонуклеаз РНазина («Силекс», Москва, Россия) в 2X реакционном буфере. После этого образцы тщательно перемешивали и центрифугировали с помощью микроцентрифуги-вортекса и инкубировали 2ч при +42°C для синтеза кДНК на РНК-матрице и 10 мин при +65°C для остановки реакции за счёт денатурации фермента. Полученный раствор кДНК (20 мкл) разводили в 4 раза и хранили при -20°C для проведения ПЦР в реальном времени.

2.3.4. *Полимеразная цепная реакция в реальном времени*

Относительный уровень специфических кДНК в образцах определяли с помощью метода полимеразной цепной реакции в реальном времени. Метод ПЦР в режиме реального времени основан на детекции накопления продукта реакции

непосредственно в ходе прохождения реакции в каждом цикле. Для детекции накопления ПЦР-продукта использовали специфические флюоресцентные линейно-разрушаемые зонды (TaqMan). Принцип их действия состоит в том, что к олигонуклеотиду, комплементарному части ПЦР-продукта в районе 5'-конца «пришивается» флюорофор, а с 3'-конца – гаситель флюоресценции (для подавления флюоресценции при возбуждении флюорофора); при гибридизации зонда и ПЦР-продукта происходит отщепление флюорофора за счёт 5'→3'-экзонуклеазной активности Taq-полимеразы в ходе элонгации вновь синтезируемой цепи ДНК и уровень флюоресценции увеличивается пропорционально концентрации ПЦР-продукта [223].

Последовательности праймеров и зондов для определения уровня кДНК короткой (D2S) и длинной (D2L) изоформ D2 рецептора дофамина подбирали таким образом, чтобы прямые праймеры находились на границе 5 и 6 (для длинной изоформы) или 7 (для короткой изоформы) экзонов, а обратный праймер и специфический зонд для длинной изоформы находились внутри 6 экзона (отсутствует в короткой изоформе). Последовательности праймеров и зондов для определения кДНК генов домашнего хозяйства (глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназы – GAPDH; циклофилина, или пептидилпролил-изомеразы; А – СусА, β-2-микроглобулина – B2M, β-глокуронидазы – Gusb) были взяты из статей [225–227]. Подбор и проверка специфичности (в том числе заимствованных из статей) систем праймеров осуществляли с использованием онлайн-сервиса Primer-BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>), сочетающего в себе алгоритмы подбора/проверки праймеров с помощью Primer3 [228] и BLAST (Basic Local Alignment Search Tool — средство поиска основного локального выравнивания) для проверки их специфичности. Последовательности праймеров приведены в таблице 2.1.

Таблица 2.1 – Последовательности праймеров и зондов для ПЦР в реальном времени

Сокращённое наименование, номер Genebank	Последовательность праймеров (прямой, обратный, зонд)	Ссылка
СусА NM_017101	AGGATTCATGTGCCAGGGTG CTCAGTCTTGGCAGTGCAGA CACGCCATAATGGCACTGGTGGCA	[225]
GAPDH NM_017008.3	TGCACCACCAACTGCTTAG GGATGCAGGGATGATGTTC ATCACGCCACAGCTTTCCAGAGGG	[226]
B2M NM_012512	TGCCATTCAGAAAACCTCCCC GAGGAAGTTGGGCTTCCCATT ATTCAAGTGTACTCTCGCCATCCACCG	[227]
Gusb NM_017015	TCACTCGACAGAGAAACCCCA CTCTGGTTTCGTTGGCAATCC ATGGCAGCCTTCATTTTGCGAGAGAGA	[227]
D2S NM_012547.1	TCAAGGATGCTGCCCGCCGA ATGTAGGCCGTGGTGGGATGGA ATGCTGTCAAGCACCCAGCCCCCA	[229] *
D2L NM_012547.1	ACACCACTCAAGGGCAAC CGCCTGTTCCTGGGAAA CTGAGGACATGAAACTCTGCACCGT	[229]*

Примечания: зонды были мечены флюорофорами (FAM, R6G, Rox) с 5'- и гасителями флюоресценции (BHQ1 или BHQ2, в зависимости от флюорофора) с 3'-конца; * - публикация по итогам данного диссертационного исследования

Реакции ПЦР проводили в двух (исследование экспрессии гена D2 рецептора в условиях когнитивной нагрузки) или трёх (исследование возрастной динамики) параллелях в конечном объёме 10 мкл. Реакционная смесь содержала 1 мкл исследуемого образца, специфический прямой и обратный праймеры в концентрации 2 или 4 μM (для генов домашнего хозяйства или изоформ D2 рецептора, соответственно), TaqMan-зонд в концентрации 1 или 2 μM (для генов домашнего хозяйства или изоформ D2 рецептора, соответственно), дезоксиаденозин-, дезокситимидин-, дезоксицитидин- и

дезоксигуанозинтрифосфат (Бигль, Санкт-Петербург, Россия) в концентрации 250 мкМ, ионы Mg^{2+} в 3,5 мМ концентрации и 1 единицу активности TaqM-полимеразы («Алкор-био», Санкт-Петербург, Россия) в 1X реакционном буфере. Использовалась химически модифицированная для обеспечения «горячего старта» Taq-ДНК-полимераза с целью повышения специфичности реакции и эффективности на поздних циклах. Помимо исследуемых образцов кДНК использовали отрицательный контроль ПЦР (эквивалентное количество воды вместо раствора ДНК) и отрицательный контроль обратной транскрипции (образцы, к которым при проведении обратной транскрипции не добавляли ревертазы).

Реакцию проводили в амплификаторе C1000 Touch™ Thermal Cycler с оптико-реакционным модулем CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories, США) для проведения ПЦР по следующей программе: «горячий старт» – 95°C 15 мин (активация полимеразы, согласно рекомендациям производителя); далее 50 циклов: 5 с при 95°C (денатурация ДНК-матрицы) 10 с при 60°C (отжиг праймеров и элонгация) с регистрацией флуоресценции.

Анализ кривых амплификации проводили методом пороговой линии: определение дробного числа циклов при котором содержание ДНК (прирост флуоресценции относительно фоновых значений) в каждой пробирке достигнет одинакового уровня, так называемый пороговый цикл (C_t). Эффективность ПЦР проверялась в отдельном эксперименте методом серийных разведений. Во всех случаях эффективность была близка к 100%, на основании чего относительное содержание мРНК D2S и D2L рецепторов дофамина рассчитывали с использованием $2^{-\Delta\Delta C_t}$ метода [230]. Данные нормировали относительно среднего геометрического C_t , определенных для трёх генов домашнего хозяйства, так как это число считается оптимальным для определения уровня экспрессии генов, если не производился дополнительный анализ стабильности экспрессии генов домашнего хозяйства [231]. В эксперименте по изучению экспрессии гена D2 рецептора дофамина в процессе выработки условного рефлекса активного избегания данные нормировали относительно содержания мРНК GAPDH, CysA и

B2M, а в эксперименте по изучению возрастной динамики его экспрессии – относительно CysA, B2M, и Gusb.

2.4. Статистическая обработка и представление результатов

Для статистической обработки данных использовали программы Microsoft Excel (Microsoft Corp., США), SPSS Statistics 22 (IBM Corp., США). Столбчатые диаграммы и диаграммы рассеяния строили в программе GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, Inc., США). Для проверки нормальности распределений выборочных данных использовали критерий Колмогорова – Смирнова (тестирование рабочей памяти, выборки более 10 животных) или критерий Шапиро – Уилка (данные ПЦР, в выборках не более 10 животных). Данные анализировали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (при равенстве дисперсий), либо робастного теста на равенство средних Брауна-Форсайта (при различающихся дисперсиях). При выявлении различий между группами затем использовали тесты для попарного сравнения: апостериорный тест Бонферрони (при равных дисперсиях), либо апостериорный тест Геймса – Хоуэлла (при различающихся дисперсиях). В случае несоответствия выборочных данных ОТ-ПЦР нормальному распределению в какой-либо из сравниваемых групп, их приводили к нормальному распределению, логарифмируя по основанию 2. Для оценки связи между данными ОТ-ПЦР и результатами поведенческих тестов рассчитывали коэффициент корреляции Пирсона.

Данные на рисунках представлены в виде арифметического среднего, в качестве меры разброса («усы») представлены стандартные отклонения. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. В подписях к рисункам указана верхняя граница истинных значений уровня значимости среди полученных для конкретного вида обозначений.

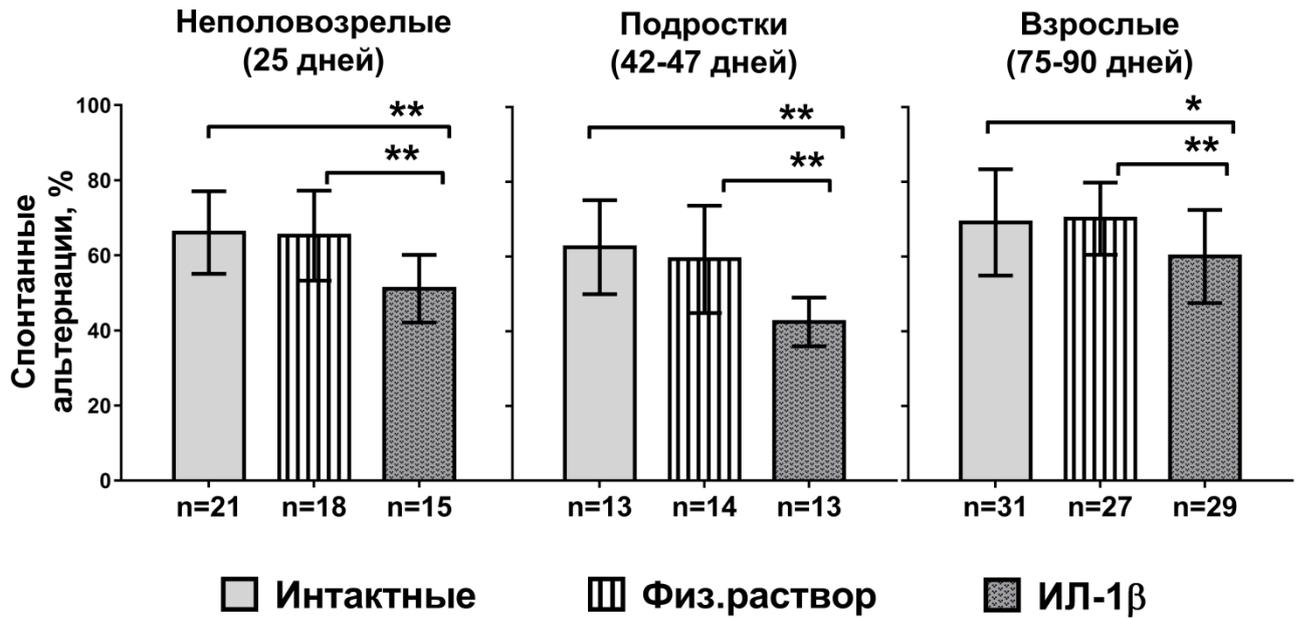
3. Результаты

3.1. Влияние введений ИЛ-1 β в течение 3-й недели жизни на показатели рабочей памяти крыс разного возраста

Действие хронического повышения ИЛ-1 β в раннем постнатальном периоде онтогенеза на показатели рабочей памяти в тесте спонтанных альтернатив при обследовании Y-образного лабиринта оценивали на отдельных группах крыс пре- (25 дней), пери- (42-47 дней) и постпубертатного (75-90 дней) возраста (рис. 3.1).

Однофакторный дисперсионный анализ выявил значимое влияние хронических введений умеренно пирогенных доз ИЛ-1 β в течение третьей недели жизни на показатели рабочей памяти при обследовании Y-образного лабиринта у крыс предпубертатного возраста ($F_{(2; 51)} = 9,05$; $p = 4 \times 10^{-4}$), в период полового созревания ($F_{(2; 37)} = 10,99$ $p = 1,8 \times 10^{-4}$) и у половозрелых животных ($F_{(2; 84)} = 5,85$; $p = 0,004$). При этом животные, имевшие повышенный уровень цитокина в раннем возрасте, отличались пониженными значениями данного показателя как от интактных животных ($p = 0,001/0,002/0,016$ при тестировании неполовозрелых, перипубертатных или взрослых крыс, соответственно), так и от животных, которым неонатально вводили апириогенный физиологический раствор ($p = 0,002/3 \times 10^{-4}/0,004$ при тестировании неполовозрелых, перипубертатных или взрослых крыс, соответственно).

Следует отметить, что введение ИЛ-1 β в течение третьей недели жизни не влияло на общее количество заходов в рукава Y-образного лабиринта ($F_{(2; 54)} = 0,19$ $p = 0,83$ / $F_{(2; 59)} = 1,18$ $p = 0,31$ / $F_{(2; 90)} = 0,31$ $p = 0,97$ при тестировании неполовозрелых, перипубертатных или взрослых крыс, соответственно).



Примечания:

ИЛ-1β (1мкг/кг) или апирогенный физиологический раствор вводили внутривбрюшинно 1 раз/сутки с 15-21 дни жизни;

Тестирование проводили на разных группах неполовозрелых перипубертатных и взрослых животных;

n – количество животных в группе; данные представлены в виде среднего и стандартного отклонения;

* – $p = 0,016$; ** – $p \leq 0,004$ (*post hoc* сравнение с поправкой Бонферрони)

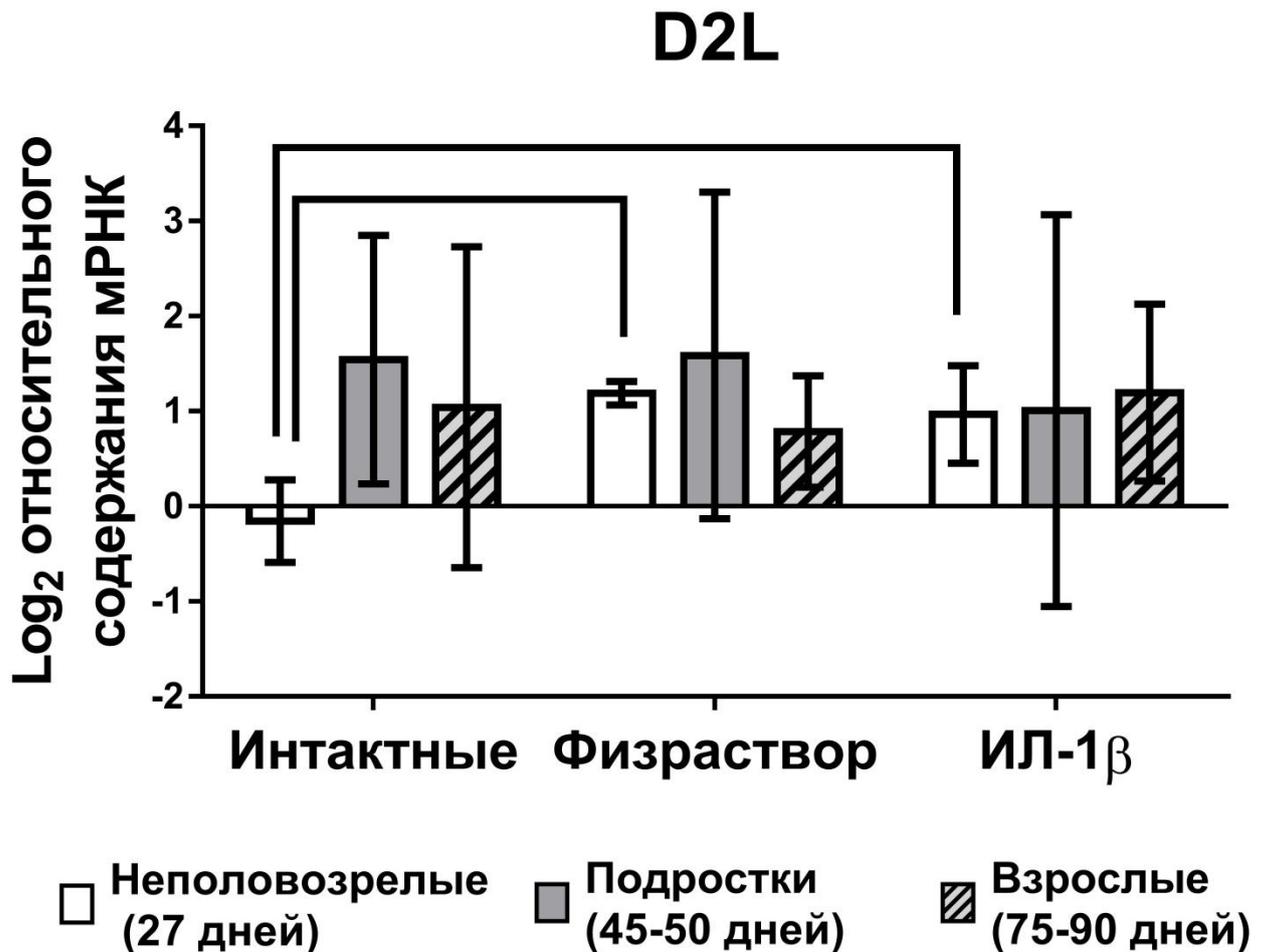
Рисунок 3.1 – Введение ИЛ-1β в течение 3-й недели жизни приводит к нарушениям рабочей памяти в тесте спонтанных альтернаций при обследовании Y-образного лабиринта.

3.2. Возрастная динамика содержания мРНК D2S и D2L рецепторов дофамина в медиальной префронтальной коре

Содержание мРНК длинной (D2L) и короткой (D2S) изоформ мРНК D2 рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре головного мозга интактных крыс, а также тех, кому вводили ИЛ-1 β , либо апирогенный физиологический раствор в раннем постнатальном периоде онтогенеза оценивали перед началом (в возрасте 27 дней), во время (45-50 дней) и после полового созревания (75-90 дней).

Данные о содержании длинной (D2L) изоформы мРНК рецептора не удалось обработать с помощью двухфакторного дисперсионного анализа из-за неоднородности дисперсий в экспериментальных группах ($F_{(8; 46)} = 3,64$ $p = 0,002$, критерий Ливиня). В связи с этим с помощью однофакторного дисперсионного анализа эффект возраста оценивался независимо у интактных животных, крыс после введения апирогенного физиологического раствора, либо ИЛ-1 β , а эффект введения препарата – независимо в каждой возрастной группе.

Однофакторный дисперсионный анализ не выявил влияния возраста на уровень мРНК D2L рецептора дофамина ($F_{Б-Ф(2; 14,11)} = 2,84$ $p = 0,09$ для интактных; $F_{Б-Ф(2; 6,05)} = 0,76$ $p = 0,53$ для животных после неонатального введения апирогенного физиологического раствора; $F_{Б-Ф(2; 10,78)} = 0,07$ $p = 0,94$ для крыс после неонатального введения ИЛ-1 β ; рис. 3.2) Эффект экспериментального воздействия на содержание мРНК D2L рецептора в медиальной префронтальной коре был обнаружен только у неполовозрелых животных ($F_{(2; 12)} = 12,25$ $p = 0,001$): данный показатель был повышен у 27-дневных крысят, которым в течение 3-й недели жизни вводили апирогенный физиологический раствор, либо умеренно пирогенные дозы ИЛ-1 β в те же сроки ($p = 0,004$ / $0,003$, соответственно).



Примечания:

ИЛ-1β (1мкг/кг) или апирогенный физиологический раствор вводили внутривбрюшинно 1 раз/сутки с 15-21 дни жизни;

соединительными линиями указаны достоверные различия между группами ($p \leq 0,004$); данные представлены в виде среднего и стандартного отклонения (от 5 до 10 животных в группе).

Рисунок 3.2 – Содержание мРНК D2L рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре головного мозга крыс разного возраста после введения ИЛ-1β или апирогенного физиологического раствора в течение 3-й недели жизни.

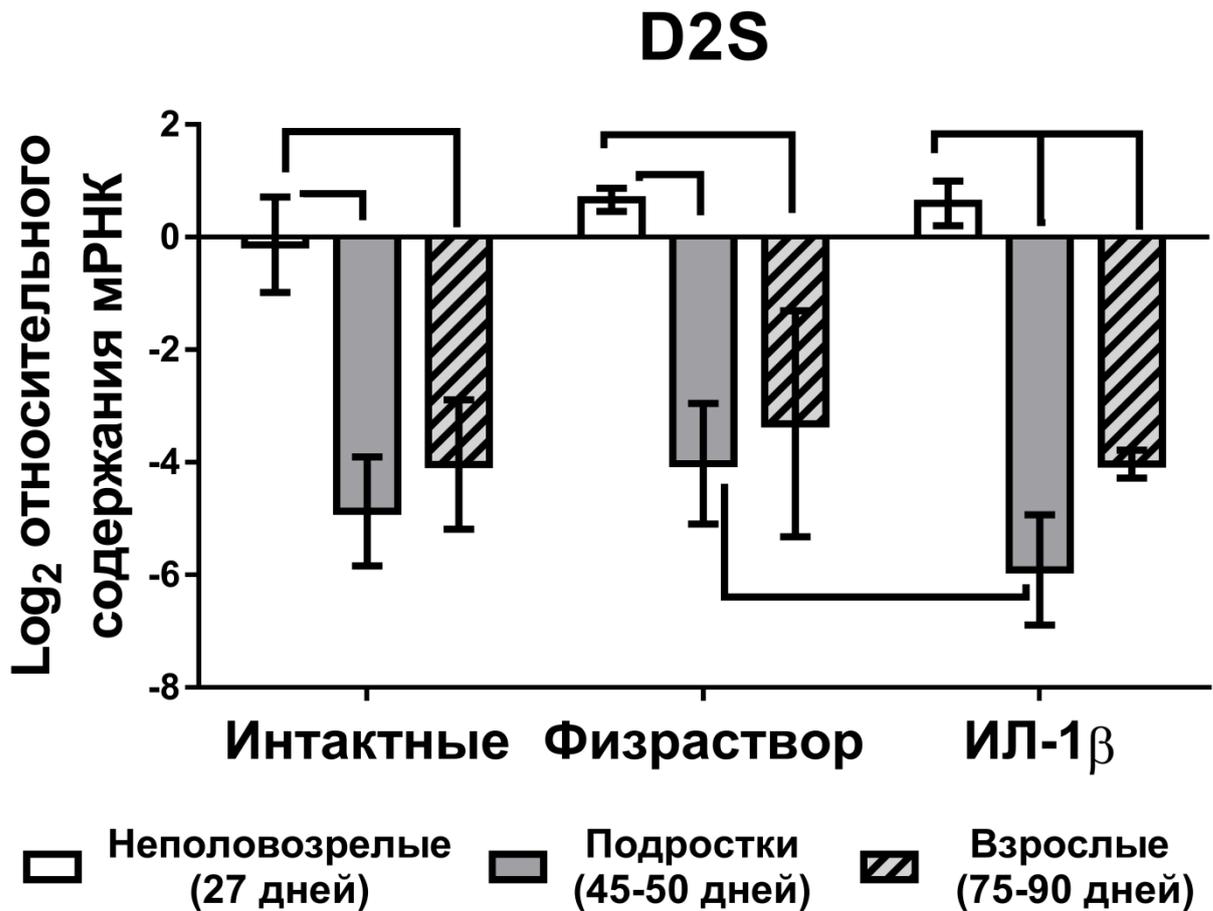
Двухфакторный дисперсионный анализ выявил эффект возраста ($F_{(2; 48)} = 104,04$ $p = 3,5 \times 10^{-18}$) и введения препарата в течение третьей недели жизни ($F_{(2; 48)} = 3,29$ $p = 0,046$) на содержание мРНК D2S рецептора дофамина в медиальной

префронтальной коре крыс; значимого взаимодействия этих факторов выявлено не было ($F_{(4; 48)} = 1,34$ $p = 0,27$).

Возрастные изменения содержания мРНК D2S рецептора дофамина были выявлены во всех исследованных группах животных ($F_{(2; 18)} = 38,64$ $p = 4,9 \times 10^{-7}$ для интактных; $F_{\text{Б-Ф}(2; 5,97)} = 17,23$ $p = 0,003$ для животных после неонатального введения апирогенного физиологического раствора; $F_{(2; 17)} = 70,00$ $p = 6,2 \times 10^{-9}$ для крыс после неонатального введения ИЛ-1 β ; рис.3.3). Уровень мРНК D2S рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре мозга снижался по сравнению с неполовозрелыми у крыс-подростков ($p = 2 \times 10^{-6}$ / $3,3 \times 10^{-5}$ / $5,4 \times 10^{-9}$ для интактных, крыс после введения в течение 3-й недели жизни апирогенного физиологического раствора или ИЛ-1 β , соответственно) и взрослых животных ($p = 3 \times 10^{-6}$ / $0,024$ / $5,8 \times 10^{-7}$ для интактных, крыс после введения в течение 3-й недели жизни апирогенного физиологического раствора или ИЛ-1 β , соответственно).

Однако, только среди крыс, которым вводили ИЛ-1 β в течение третьей недели жизни, наблюдалось увеличение содержания мРНК D2S рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре у взрослых животных по сравнению с перипубертатными ($p = 0,013$) в отличие от группы с введением апирогенного физиологического раствора ($p = 0,76$) и интактных животных ($p = 0,48$). Эффект экспериментального воздействия в раннем постнатальном периоде был выявлен только у животных подросткового возраста ($F(2; 16) = 6,11$ $p = 0,011$; рис. 3.3): содержание мРНК D2S рецептора дофамина было понижено в медиальной префронтальной коре крыс после введения ИЛ-1 β в течение третьей недели жизни по сравнению с теми, кому в аналогичные сроки вводили апирогенный физиологический раствор ($p = 0,009$).

Двухфакторный дисперсионный анализ выявил влияние возраста ($F(2; 48) = 51,6$ $p = 1,1 \times 10^{-12}$), введения препарата в течение третьей недели жизни ($F(2; 48) = 6,28$ $p = 0,0038$), а также взаимодействия этих факторов ($F(4; 48) = 5,36$ $p = 0,0012$) на соотношение содержания мРНК D2S/D2L рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре мозга крыс (рис. 3.4).

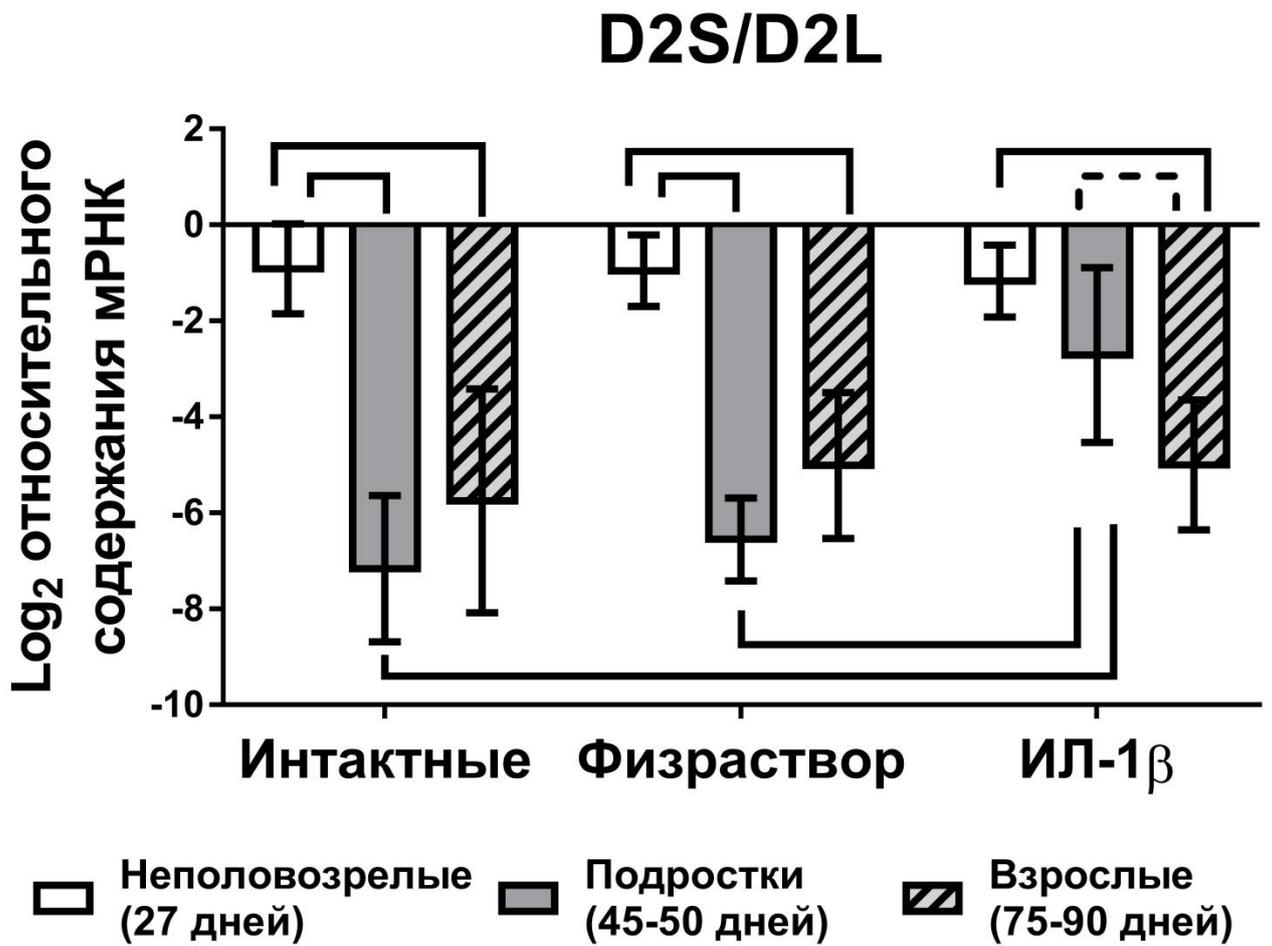


Примечания:

ИЛ-1β (1мкг/кг) или апиpогенный физиологический pазтвор вводили внутpибpюшинно 1 раз/сутки с 15-21 дни жизни;

соединительными линиями указаны достоверные различия между группами ($p \leq 0,024$); данные представлены в виде среднего и стандартного отклонения (от 5 до 10 животных в группе).

Рисунок 3.3 – Содержание мРНК D2S pецептора дофамина в медиальной префронтальной коре головного мозга крыс разного возраста после введения ИЛ-1β или апиpогенного физиологического pазтвора в течение 3-й недели жизни.



Примечания:

ИЛ-1β (1мкг/кг) или апиpогенный физиологический pаствop вводили внутpибpюшинно 1 раз/сутки с 15-21 дни жизни;

соединительными линиями указаны достоверные различия между группами ($p \leq 9,3 \times 10^{-4}$ для непрерывных линий; $p = 0,025$ в случае пунктирной линии); данные представлены в виде среднего и стандартного отклонения.

Рисунок 3.4 – Возрастная динамика соотношения мРНК D2S/D2L рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре головного мозга крыс в норме и после введения ИЛ-1β или апиpогенного физиологический pаствopа в течение 3-й недели жизни.

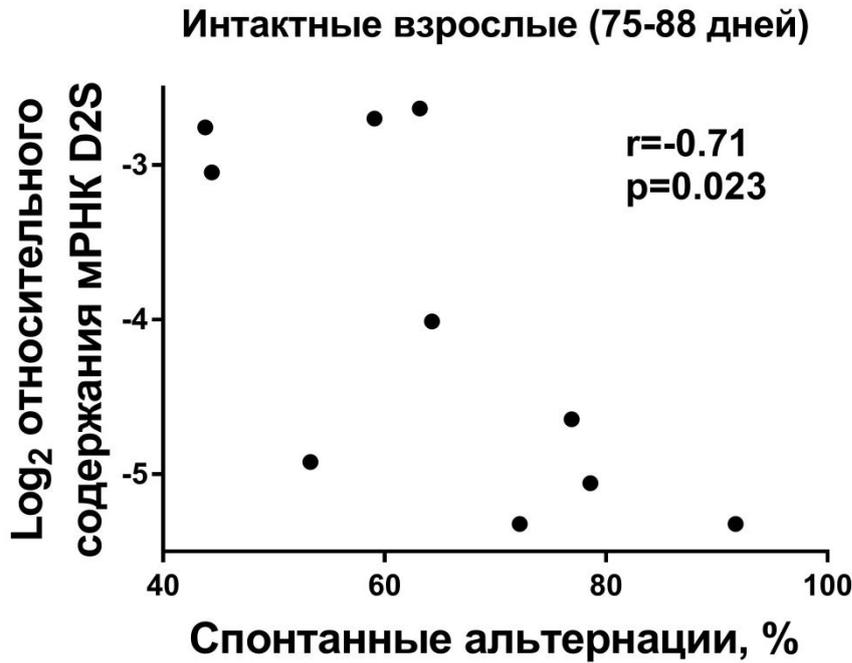
Возрастные изменения соотношения мРНК D2S/D2L рецептора дофамина были обнаружены во всех экспериментальных группах ($F(2; 18) = 18,3$ $p = 4,6 \times 10^{-5}$

для интактных; $F(2; 13) = 47,9$ $p = 10^{-6}$ для животных после неонатального введения физиологического раствора; $F(2; 16) = 12,5$ $p = 4,6 \times 10^{-4}$ для крыс после неонатального введения ИЛ-1 β). В интактной и группе с введением апирогенного физиологического раствора в течение третьей недели жизни соотношение содержания сплайс-вариантов мРНК рецептора по сравнению с неполовозрелыми животными снижалось у крыс перинатального ($p = 8,9 \times 10^{-5}$ / $9,2 \times 10^{-7}$, соответственно) и постпубертатного ($p = 2,6 \times 10^{-4}$ / $9,8 \times 10^{-5}$, соответственно) возраста. Курсовое введение умеренно-пирогенных доз ИЛ-1 β с 15 по 21 дни жизни изменяло возрастную динамику данного показателя: отношение содержания D2S/D2L изоформ мРНК понижалось только у взрослых по сравнению с неполовозрелыми ($p = 3,4 \times 10^{-4}$) и животными подросткового возраста ($p = 0,025$).

Однофакторный дисперсионный анализ выявил эффект введения препарата в течение третьей недели жизни на соотношение содержания короткой и длинной изоформ мРНК D2 рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре крыс подросткового возраста ($F(2; 15) = 16,7$ $p = 1,5 \times 10^{-4}$), но не у неполовозрелых ($F(2; 16) = 0,19$ $p = 0,83$) и взрослых животных ($F(2; 17) = 0,36$ $p = 0,70$). Соотношение содержания мРНК D2S/D2L рецептора дофамина было повышено в медиальной префронтальной коре головного мозга крыс-подростков после введения ИЛ-1 β по сравнению с крысами после введения апирогенного физиологического раствора ($p = 9,3 \times 10^{-4}$) и интактными ($p = 3,7 \times 10^{-4}$) животными (рис. 3.4).

В настоящем исследовании была выявлена значимая отрицательная корреляция ($r = -0,705$ $p = 0,023$ $n = 10$; рис.3.9) между показателями рабочей памяти и содержанием мРНК D2S рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре головного мозга взрослых крыс. Содержание мРНК D2L ($r = 0,015$ $p = 0,969$) рецептора и соотношения D2S/D2L ($r = -0,266$ $p = 0,524$) не коррелировали с рабочей памятью при обследовании Y-образного лабиринта. Во всех остальных использованных группах животных не было выявлено значимых корреляций между показателями рабочей памяти животных и содержанием

исследованных мРНК в медиальной префронтальной коре ($p > 0.08$), однако это может быть связано с небольшим размером групп ($n = 4-7$).



Примечания:

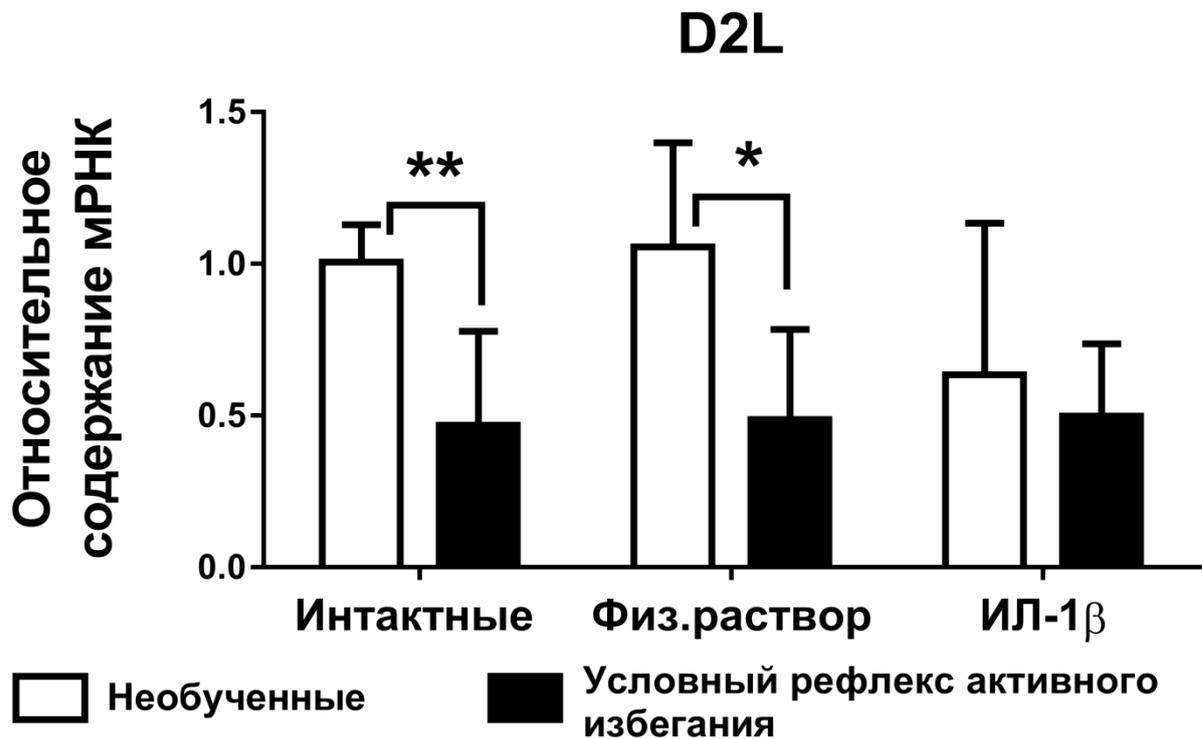
Представлены значения коэффициента корреляции Пирсона (r) и соответствующий уровень значимости (p).

Рисунок 3.5 – Относительное содержание короткой изоформы мРНК D2 рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре больших полушарий головного мозга взрослых интактных крыс отрицательно коррелирует с уровнем их рабочей памяти (долей спонтанных альтернаций при обследовании Y-образного лабиринта).

3.3. Содержание сплайс-вариантов мРНК D2 рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре взрослых крыс при выработке условного рефлекса активного избегания

Для того, чтобы оценить возможную роль D2L и D2S изоформ D2 рецептора дофамина в нарушениях обучения, вызванных повышением уровня ИЛ-1 β в раннем постнатальном периоде онтогенеза, мы проанализировали содержание мРНК этих изоформ в медиальной префронтальной коре головного мозга взрослых крыс, подвергавшихся и не подвергавшихся воздействию ИЛ-1 β в течение третьей недели жизни, в обычных условиях и при выработке ими условного рефлекса активного избегания.

Двухфакторный дисперсионный анализ выявил влияние процесса обучения условному рефлексу активного избегания ($F_{(1; 23)} = 11,46$ $p = 0,003$; рис. 3.6) на содержание мРНК D2L рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре мозга крыс. Влияния экспериментальных воздействий (введение апирогенного физиологического раствора или ИЛ-1 β) в раннем постнатальном периоде ($F_{(2; 23)} = 1,035$ $p = 0,371$), а также взаимодействия факторов ($F_{(2; 23)} = 1,248$ $p = 0,346$) выявлено не было. Содержание мРНК D2L рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре крыс снижалось у животных в процессе выработки ими условного рефлекса активного избегания по сравнению с необученными крысами в группе интактных животных ($p = 0,005$), а также в группе животных, которым вводили апирогенный физиологический раствор ($p = 0,035$). Однако этот показатель не изменялся в группе животных, которым вводили ИЛ-1 β в течение третьей недели жизни ($p = 0,635$).



Примечания:

ИЛ-1β (1мкг/кг) или апирогенный физиологический раствор вводили внутривентриально 1 раз/сутки с 15-21 дни жизни;

тренировку условного рефлекса проводили в течение 5 дней в возрасте 75-90 дней, материал забирали через 1 час после окончания последней тренировочной сессии;

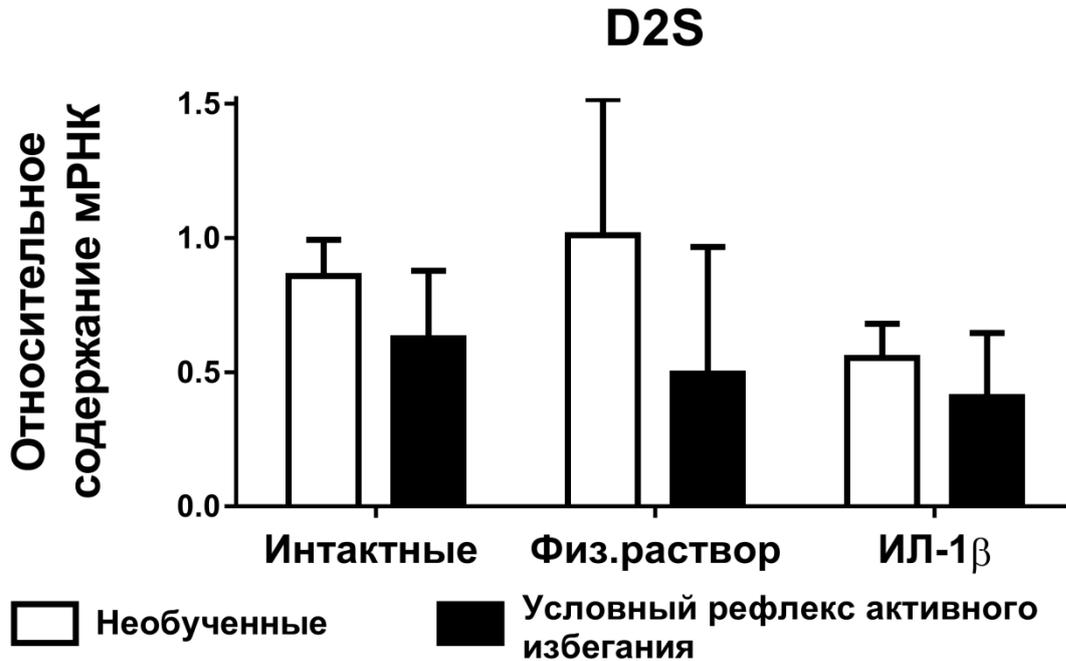
* – $p = 0,035$; ** – $p = 0,005$;

данные представлены в виде арифметического среднего и стандартного отклонения (от 5 до 7 животных в группе).

Рисунок 3.6 – Содержание мРНК D2L рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре мозга взрослых крыс при выработке условного рефлекса активного избегания.

Различия в дисперсиях между группами ($F_{(5; 27)} = 4,81$ $p = 0,003$, критерий Ливиня) не позволили провести двухфакторный дисперсионный анализ данных о содержании мРНК D2S рецептора в медиальной префронтальной коре. Однофакторный дисперсионный анализ не выявил влияния введения препарата в течение 3-й недели жизни на уровень мРНК D2S рецептора в медиальной

префронтальной коре как необучавшихся животных ($F_{Б-Ф(2; 6,51)} = 3,5$ $p = 0,093$; рис.3.7), так и крыс после выработки условного рефлекса активного избегания ($F_{(2; 14)} = 0,68$ $p = 0,523$; рис.3.7). Влияния обучения на уровень мРНК D2S рецептора дофамина не было выявлено ни в интактной группе ($p = 0,13$), ни у животных после введения апириногенного физиологического раствора ($p = 0,12$) или ИЛ-1 β ($p = 0,23$) в течение 3-й недели жизни.



Примечания:

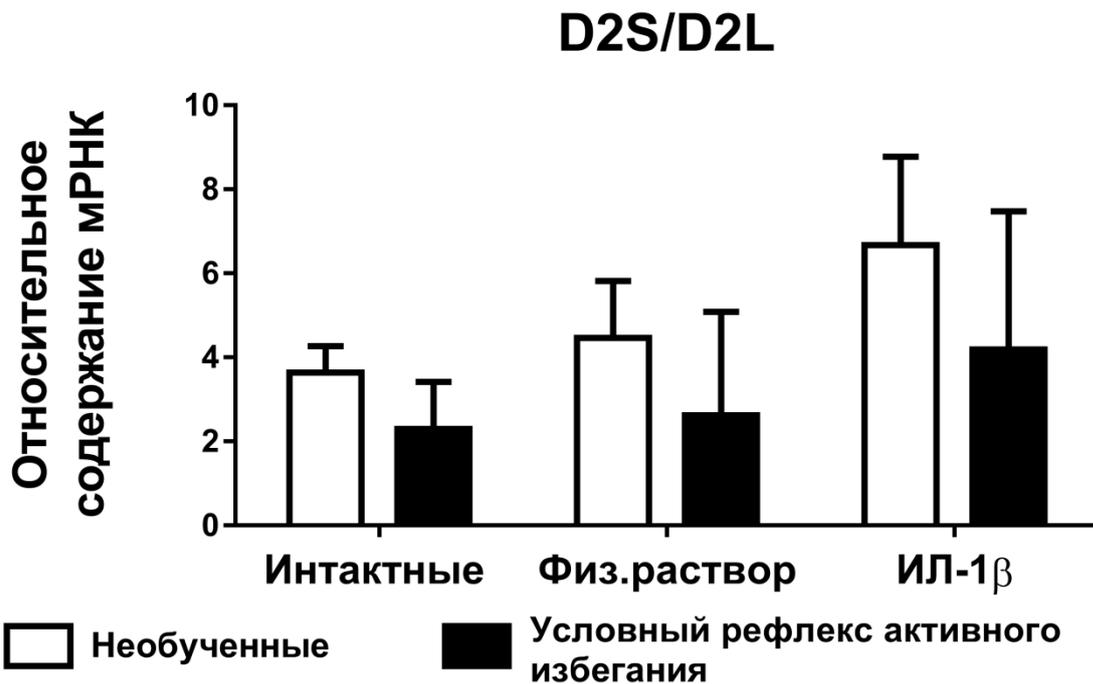
ИЛ-1 β (1мкг/кг) или апириногенный физиологический раствор вводили внутривбрюшинно 1 раз/сутки с 15-21 дни жизни;

тренировку условного рефлекса проводили в течение 5 дней в возрасте 75-90 дней, материал забирали через 1 час после окончания последней тренировочной сессии; данные представлены в виде арифметического среднего и стандартного отклонения (от 5 до 7 животных в группе).

Рисунок 3.7 – Содержание мРНК D2S рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре мозга взрослых крыс при выработке условного рефлекса активного избегания.

Двухфакторный дисперсионный анализ не выявил значимого влияния введения препарата (физиологический раствор или ИЛ-1 β) в течение третьей недели жизни ($F(2; 23) = 3,14$ $p = 0,06$) и взаимодействия факторов (введение

препарата×процесс обучения; $F(2; 23) = 0,15$ $p = 0,86$) на соотношение содержания мРНК D2S/D2L в медиальной префронтальной коре взрослых крыс (рис. 3.8). Было выявлено влияние процесса обучения ($F(1; 23) = 4,98$ $p = 0,036$) в отношении данного показателя, однако при попарном сравнении групп необучавшихся и необучавшихся животных с учётом введения препарата в раннем постнатальном периоде этот эффект не подтвердился ($p = 0,08 / 0,18 / 0,21$ для интактных животных, крыс после введения в течение 3 недели жизни апирогенного физиологического раствора или ИЛ-1 β , соответственно; рис. 3.8).



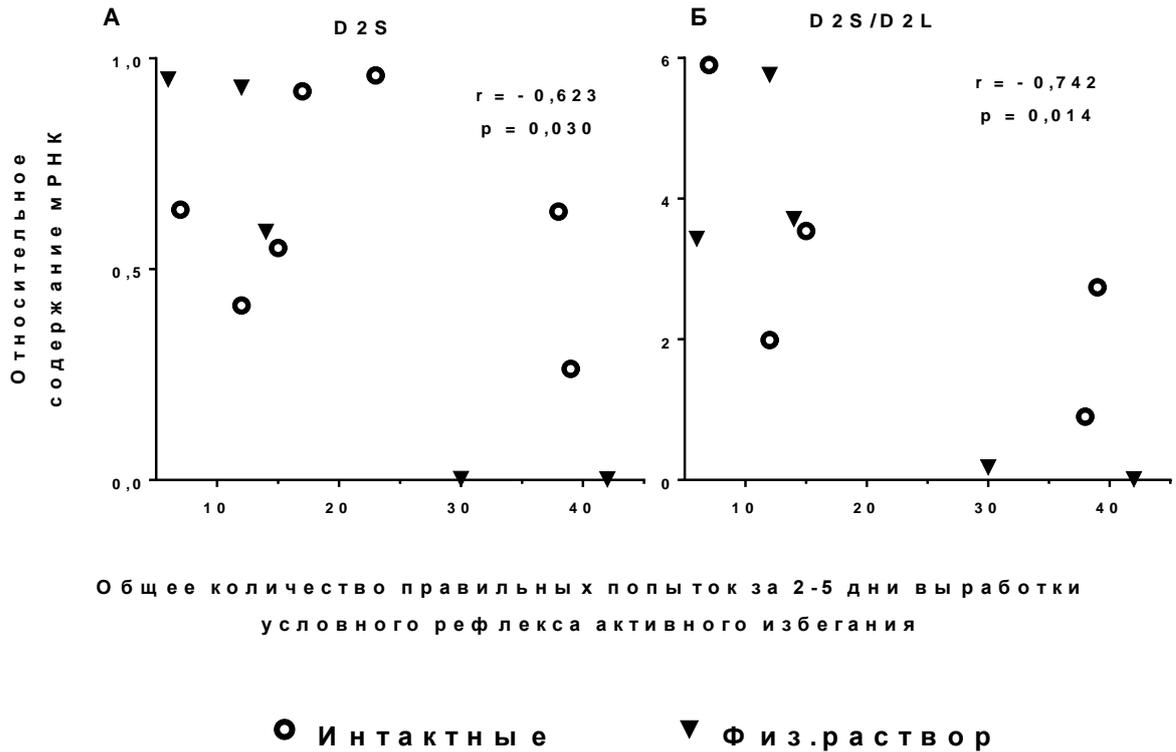
Примечания:

ИЛ-1 β (1мкг/кг) или апирогенный физиологический раствор вводили внутривбрюшинно 1 раз/сутки с 15-21 дни жизни;

тренировку условного рефлекса проводили в течение 5 дней в возрасте 75-90 дней, материал забирали через 1 час после окончания последней тренировочной сессии; данные представлены в виде арифметического среднего и стандартного отклонения

Рисунок 3.8 – Соотношение содержания мРНК D2S/D2L рецепторов дофамина в медиальной префронтальной коре мозга взрослых крыс при выработке условного рефлекса активного избегания.

Мы также проверили наличие корреляции между способностью к обучению и содержанием мРНК D2S/D2L изоформ D2 рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре в исследуемых группах животных. Способность к обучению оценивали по общему количеству успешных попыток со 2-го по 5-й дни тренировки. Выявлена значимая отрицательная корреляция между способностью к обучению и содержанием мРНК D2S рецептора дофамина ($r = -0,623$ $p = 0,030$ $n = 10$; рис. 3.9 А), а также соотношением D2S/D2L ($r = -0,742$ $p = 0,014$ $n = 10$; рис.3.9 Б), но не с содержанием мРНК D2L изоформы рецептора ($r = -0,373$ $p = 0,29$ $n = 10$) в медиальной префронтальной коре в контрольной группе крыс (интактные животные и животные, которым вводили физиологический раствор в течение 3 недели жизни). Для животных после неонатального введения ИЛ-1 β значимой корреляции между содержанием сплайс-вариантов мРНК D2 рецептора и показателями способности к обучению обнаружено не было ($r = -0,39$ $p = 0,52$ / $r = 0,48$ $p = 0,52$ / $r = 0,56$ $p = 0,33$ для D2S, D2L и соотношения D2S/D2L, соответственно); однако это может быть связано с малым размером групп ($n = 5-6$), достаточным для оценки уровня экспрессии с помощью количественной ОТ-ПЦР.



Примечания:

ИЛ-1 β (1мкг/кг) или апирогенный физиологический раствор вводили внутривбрюшинно 1 раз/сутки с 15-21 дни жизни;

тренировку условного рефлекса проводили в течение 5 дней в возрасте 75-90 дней, материал забирали через 1 час после окончания последней тренировочной сессии; Представлены значения коэффициента корреляции Пирсона (r) и соответствующий уровень значимости (p)

Рисунок 3.9. Способность к обучению в парадигме условного рефлекса активного избегания значимо коррелирует с содержанием мРНК D2S рецептора дофамина (А) и соотношением короткой и длинной изоформ (D2S/D2L) рецептора (Б) в медиальной префронтальной коре взрослых крыс.

4. Обсуждение

В данной работе описана возрастная динамика и индуцированные когнитивной нагрузкой изменения содержания длинной (D2L) и короткой изоформ (D2S) мРНК D2 рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре головного мозга крыс в норме и в модели когнитивных нарушений, возникающих вследствие хронического действия провоспалительного цитокина ИЛ-1 β в раннем постнатальном периоде онтогенеза.

4.1. Хроническое повышение уровня ИЛ-1 β в раннем постнатальном онтогенезе вызывает нарушения рабочей памяти крыс

Данные проведённых ранее исследований указывают на то, что повышение уровня ИЛ-1 β в раннем постнатальном периоде онтогенеза может нарушать развитие медиальной префронтальной коры головного мозга [34]. Использованный нами срок введения ИЛ-1 β (3-я недели жизни) у крыс считается аналогом неонатального и раннего постнатального периода человека в терминах развития ЦНС: в это время активно происходят процессы миелинизации, роста аксонов и дендритов, синаптогенеза [32]. Именно в этот период происходит наиболее активная дофаминергическая иннервация структур мезолимбической и мезокортикальной системы мозга [107], однако формирование дофаминергических синапсов в медиальной префронтальной коре продолжается и в более поздние сроки [108]. На основании этих фактов мы предположили, что хроническое введение ИЛ-1 β в течение этого периода может изменить процессы созревания медиальной префронтальной коры. Дофаминергическая нейротрансмиссия в данной области мозга, помимо всего прочего, играет ключевую роль в процессах рабочей памяти [80], а интронные полиморфизмы, приводящие к снижению образования короткой изоформы рецептора, связаны с дефицитом рабочей памяти и изменением активности префронтальной коры [37, 38].

В связи с этим, была проведена серия экспериментов по оценке влияния ИЛ-1 β в раннем постнатальном периоде на возрастную экспрессию гена D2 рецепторов дофамина в медиальной префронтальной коре и на показатели рабочей памяти крыс. Было выявлено, что хроническое повышение уровня ИЛ-1 β в раннем постнатальном периоде онтогенеза приводит к нарушениям рабочей памяти животных, которые возникают уже в препубертатный период и носят долговременный характер, сохраняясь и во взрослом возрасте (рис. 3.1). Нарушения рабочей памяти, возникающие ещё в детстве, характерны для ряда связанных с дисфункцией дофаминергической системы нервно-психических расстройств, включая синдром дефицита внимания с гиперактивностью, расстройства аутистического спектра (в том числе с нормальным уровнем интеллектуального развития), детского церебрального паралича, а также последствий неонатальной энцефалопатии лёгкой и средней степени тяжести, не приводящей к формированию церебрального паралича [39–43, 232]. Согласно широко обсуждаемой «связанной с развитием нервной системы» (neurodevelopmental) гипотезе, вышеупомянутые виды патологии могут формироваться вследствие воспалительных процессов, сопровождаемых повышением продукции в организме ИЛ-1 β , в перинатальном периоде развития при родовых травмах, гипоксии-ишемической энцефалопатии, инфекционных заболеваниях [19, 233]. Таким образом, наблюдаемые в наших экспериментах нарушения рабочей памяти крыс могут отражать обусловленные действием цитокина нарушения процессов нейропластичности и позволяют рассматривать использованный подход как перспективный для моделирования когнитивных нарушений, возникающих у детей и подростков вследствие перенесённой перинатальной патологии.

4.2. Возрастная динамика содержания изоформ D2 рецептора в медиальной префронтальной коре интактных крыс

В настоящей работе было выявлено, что помимо долговременных нарушений рабочей памяти, повышение уровня ИЛ-1 β в течение третьей недели жизни влияет на возрастную динамику содержания мРНК сплайс-вариантов D2 рецептора дофамина (рис. 3.3, 3.4). Следует отметить, что в доступной литературе отсутствуют данные об онтогенетическом аспекте распределения изоформ D2 рецептора в мозге лабораторных грызунов при нормальной траектории развития ЦНС. В связи с этим, прежде всего мы проанализировали возрастную динамику содержания короткой (D2S) и длинной (D2L) изоформ D2 рецептора дофамина в медиальной префронтальной области коры головного мозга контрольных животных.

В данной работе впервые показано, что содержание мРНК D2S и соотношение уровня D2S/D2L изоформ мРНК рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре исследованных нами самцов крыс породы Вистар резко снижается в период полового созревания по сравнению с неполовозрелыми животными и остаётся на том же уровне у взрослых крыс (рис. 3.3, 3.4). Исследования *post-mortem* показывают, что содержание мРНК D2S и D2L рецепторов дофамина в префронтальной коре головного мозга человека снижается в предпубертатный период [234], что согласуется с нашими данными относительно возрастных изменений содержания мРНК короткой изоформы в префронтальной коре крыс. Тем не менее, нам не удалось обнаружить изменений содержания мРНК D2L рецептора в медиальной префронтальной коре мозга крыс в постнатальном онтогенезе (от 27-го к 75-90-му дню жизни; рис. 3.2). Следует также отметить, что у людей уровень мРНК D2L изоформы снижается менее выражено, чем уровень D2S изоформы рецептора [234]. Наблюдаемые различия в возрастной динамике содержания мРНК D2L рецептора в префронтальной коре крыс данной породы и людей, возможно, связаны с тем, что содержание длинной изоформы рецептора в префронтальной коре мозга крыс снижается в более

раннем возрасте, чем возраст, исследованный в настоящей работе (от 27 дней). Однако данное предположение требует дополнительной проверки. Следует также отметить, что в *post-mortem* исследованиях, посвящённых оценке возрастных изменений экспрессии гена D2 рецептора в префронтальной области коры головного мозга человека, проводилась дифференциальная оценка двух изоформ рецептора, но не оценивалось их соотношение [16, 234]. Следует отметить, что в классических работах, изучающих субклеточное и региональное распределение сплайс-вариантов D2 рецептора дофамина в мозге животных, анализ проводился на ткани мозга взрослых особей [3, 4, 8]. Между тем, данные настоящего диссертационного исследования относительно постнатального онтогенеза крыс, наряду с вышеупомянутыми выполненными на человеческом материале работами, указывают на то, что содержание отдельных сплайс-вариантов D2 рецептора в префронтальной коре может значительно меняться с возрастом у разных видов животных. Таким образом, распределение изоформ рецептора и их функциональная роль может различаться на разных этапах постнатального онтогенеза, что открывает широкие перспективы для дальнейших исследований.

4.3. Возможное функциональное значение изменения содержания изоформ мРНК D2 рецептора в развивающейся медиальной префронтальной коре крыс после введений ИЛ-1 β

Хроническое введение ИЛ-1 β в течение третьей недели жизни в наших экспериментах усиливало снижение содержания мРНК D2S, но подавляло снижение соотношения D2S/D2L изоформ мРНК рецептора в мозге животных пубертатного возраста (рис. 3.3, 3.4). Однако у взрослых животных, которым вводили ИЛ-1 β в течение третьей недели жизни, данные показатели не отличались от показателей контрольных групп, хотя нарушения рабочей памяти сохранялись и во взрослом возрасте. Мы предполагаем, что изменение возрастной динамики экспрессии гена D2 рецептора может приводить к изменению процессов синаптогенеза в пред- и перипубертатном периоде развития, так как D2

рецепторы дофамина вовлечены в процессы созревания дендритных шипиков в подростковом возрасте [137] и регулируют экспрессию гена глиального нейроростового фактора GDNF [235], играющего важную роль в регуляции роста аксонов, формировании синапсов и выживании дофаминергических нейронов [236]. Особого внимания заслуживает тот факт, что дофаминергическая иннервация медиальной префронтальной коры не заканчивается в мозге неполовозрелых крыс, а продолжается в период полового созревания – это считается единственным примером роста аксонов «на длинные дистанции» в крысином мозге после начала полового созревания [108]. Таким образом, пониженное содержание мРНК D2S рецепторов дофамина, которые преимущественно являются пресинаптическими, в период полового созревания, но не у половозрелых животных, в ответ на повышение уровня ИЛ-1 β в раннем постнатальном периоде развития, может быть связано с задержкой роста аксонов и нарушением формирования синапсов в подростковом периоде.

Известно, что ИЛ-1 β воздействует на процессы роста и миграции нейрональных отростков [185, 237–239], дифференцировки и выживания нервных и глиальных клеток в развивающемся мозге [185, 191, 240–242]. Действие цитокина на развитие дофаминергической системы префронтальной коры может быть опосредовано его влиянием на мозговой (BDNF) и глиальный (GDNF) нейротрофический факторы как на уровне регуляции экспрессии [243, 244], так и на уровне передачи внутриклеточного сигнала от рецепторов ростовых факторов [245, 246]. Считается, что эти белки играют важную роль в дифференцировке и выживании дофаминергических нейронов [247, 248].

Дефицит рабочей памяти, вызываемый повышением уровня ИЛ-1 β в раннем постнатальном онтогенезе, может опосредоваться изменениями синаптической пластичности вследствие повышения уровня длинной изоформы в неполовозрелый период и последующего повышения соотношения D2S/D2L в подростковый период. Так, по крайней мере в стриатуме, активация D2S рецепторов снижает глутаматергическую нейротрансмиссию, в то время как обе изоформы D2 рецептора являются негативными регуляторами выброса гамма-

аминомасляной кислоты [249]. Короткая и длинная изоформы рецептора также демонстрируют различную способность модулировать долговременную синаптическую пластичность: длинная изоформа способна подавлять формирование долговременной потенциации, а короткая при некоторых условиях может усиливать её формирование [250]. Кроме того, активность двух изоформ по-разному модулируется внутриклеточным кальциевым сигналингом: только для короткой изоформы характерна кальций-зависимая десенситизация [7], что может приводить к разной длительности синаптических ответов в ответ на повышение уровня внеклеточного дофамина. Возможные изменения синаптической пластичности, возникающие вследствие изменения соотношения длинной и короткой изоформ D2 рецептора, могут нарушать созревание нейронных ансамблей в префронтальной коре, принимающих участие в реализации когнитивных функций.

Как было сказано выше, мы выявили резкие изменения содержания D2S/D2L изоформ мРНК рецептора дофамина в подростковом возрасте у крыс, причём раннее постнатальное повышение уровня ИЛ-1 β в течение третьей недели жизни изменяло возрастную динамику данных показателей. Подростковый период считается критическим для формирования поведения животных [251], и выявленные нами изменения экспрессии гена D2 рецептора дофамина в этот период, вероятно, являются одним из факторов повышенной чувствительности мозга к неблагоприятным факторам в этот период. Изменение экспрессии D2 рецептора дофамина в медиальной префронтальной области коры мозга крыс-подростков, которым вводили ИЛ-1 β в раннем постнатальном периоде развития, вероятно, является причиной возникновения не только дефицита рабочей памяти, но и ранее выявленных нарушений условнорефлекторной деятельности [25], пространственного обучения [24] и усиления стресс-реактивности [33] взрослых животных после неонатального повышения уровня цитокина.

4.4. Экспрессия гена D2 рецептора в префронтальной коре крыс в условиях выработки условного рефлекса активного избегания

Известно, что мезокортикальная дофаминергическая система играет важную роль в механизмах внимания и памяти, внутреннего подкрепления и реакции на стресс [35, 36, 89]. Считается, что модуляция сигналинга отдельных типов рецепторов дофамина в префронтальной коре может влиять на эффективность осуществления когнитивных функций [36].

В настоящей работе мы впервые показали, что в процессе формирования условного рефлекса активного избегания содержание мРНК D2L рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре взрослых крыс снижается, однако данный эффект не наблюдается у животных после хронических введений ИЛ-1 β в течение третьей недели жизни (рис. 3.6). D2-подобные рецепторы дофамина в префронтальной коре играют важную роль в переключении внимания между различными стимулами, усиление сигналинга D2 рецепторов в этой области мозга может приводить к ухудшению рабочей памяти [36]. Таким образом, снижение содержания мРНК D2L (постсинаптических) рецепторов, вероятно, может способствовать улучшению процессов рабочей памяти и, соответственно, более эффективному обучению. С другой стороны, D2 рецепторы медиальной префронтальной коры опосредуют реакцию этой области мозга на действие кортикостерона [252] – основного глюкокортикоидного гормона в организме крыс, опосредующего реакцию организма на стресс. В то же время, эксперименты на D2L-нокаутных мышах выявляют вовлечённость длинной изоформы D2 рецептора в формирование эмоционального ответа на новые аверзивные стимулы [13]. Исходя из этого можно предположить, что снижение содержания D2 рецептора в медиальной префронтальной коре способствует снижению негативных эмоциональных реакций на стресс при повторном помещении в установку, что, в свою очередь, приводит к более эффективным когнитивным процессам в использованной нами модели стресс-связанного обучения. Полученные данные относительно индуцированного психоэмоциональной

нагрузкой снижения уровня мРНК D2L противоречат результатам экспериментов на D2L-нокаутных и гетерозиготных мышах, у которых выработка условной реакции активного избегания сильно затруднена [116]. Однако данный эффект может быть опосредован и снижением двигательной активности, и изначально пониженным уровнем длинной изоформы рецептора у таких животных, что может затруднять нормальные пластические перестройки, а также компенсаторными эффектами и нарушениями формирования механизмов, возникающими в ходе ранних этапов онтогенеза.

Следует отметить, что, хотя мы и не обнаружили значимого снижения содержания мРНК D2S рецептора дофамина в ответ на психоэмоциональную нагрузку, её уровень, а также соотношение короткой и длинной изоформ мРНК рецептора в префронтальной коре контрольных животных значимо отрицательно коррелировали со способностью животных к выработке условного рефлекса. Материал у всех крыс получали на пятый день выработки рефлекса, когда животные демонстрируют высокую вариативность в количестве правильных попыток, можно предположить, что содержание мРНК D2S всё-таки снижается, но эти изменения связаны с тонкими процессами, когда формирование навыка происходит на достаточно продвинутом уровне.

Проведенные нами исследования в отношении экспрессии гена D2 рецептора дофамина выявили нарушение процессов нейропластичности в медиальной префронтальной коре головного мозга крыс вследствие хронического повышения уровня ИЛ-1 β в раннем постнатальном периоде онтогенеза, что согласуется с ранее проведенными исследованиями в отношении экспрессии гена фактора роста фибробластов [34]. В этой работе мы показали, что хроническое введение цитокина в течение третьей недели жизни не изменяет содержание мРНК изоформ рецептора в медиальной префронтальной коре животных, не подвергавшихся когнитивной нагрузке. Однако, у животных после неонатальных введений ИЛ-1 β в течение третьей недели жизни, в отличие от контрольных групп, не наблюдалось снижения уровня мРНК D2L рецептора дофамина в процессе выработки условного рефлекса активного избегания. Ранее в нашей

Лаборатории было показано, что повышение уровня ИЛ-1 β в течение третьей недели жизни приводит к нарушению условнорефлекторной деятельности взрослых животных [25]. Дисрегуляция экспрессии гена D2 рецептора в медиальной префронтальной области коры головного мозга может быть одним из механизмов таких нарушений. Важно также отметить, что в ранее проведённых исследованиях было выявлено усиление стресс-реактивности взрослых крыс, которым вводили ИЛ-1 β в течение третьей недели жизни [33]. Возможно, дисрегуляция экспрессии гена D2 рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре является одной из причин данного явления.

4.5. Возможная связь между содержанием изоформ D2 рецептора и когнитивными способностями животных

Отдельно следует обсудить обнаруженную нами отрицательную корреляцию между уровнем мРНК D2S рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре и показателями эффективности когнитивных функций (рис. 3.5, 3.9) в контрольных группах взрослых животных. Молекулярные основы этого явления, очевидно, связаны с преимущественной локализацией D2S рецепторов в пресинаптических окончаниях, где они выполняют функцию ауторецепторов, регулирующих интенсивность обратного захвата и синтеза дофамина пресинаптическими окончаниями [5, 12]. Снижение числа пресинаптических ауторецепторов дофамина должно приводить к более интенсивному выбросу и продолжительному действию нейромедиатора в синаптической щели и, соответственно, более выраженному воздействию на постсинаптические нейроны. Однако полученные нами данные отчасти противоречат выполненным на людях генетическим исследованиям, изучающим роль интронных полиморфизмов rs2283265(G>T) и rs1076560(G>T), изменяющих альтернативный сплайсинг в сторону преимущественного формирования длинной изоформы рецептора. В этих работах показано, что носители минорных вариантов этих полиморфизмов демонстрируют снижение показателей рабочей памяти, принятия решений,

связанных с избеганием, а также изменённый паттерн активации префронтальной коры в ходе выполнения когнитивных тестов [37, 38, 125]. При этом *post-mortem* в мозге носителей минорных аллелей вышеупомянутых полиморфизмов наблюдается снижение относительного содержания мРНК D2S рецептора дофамина. Необходимо отметить, что генетические исследования не позволяют напрямую оценить корреляцию между уровнем экспрессии генов и когнитивными функциями испытуемых, поскольку ассоциированные с полиморфизмом нарушения когнитивных функций могут объясняться также изменением развития префронтальной коры, так как, скорее всего, изменение соотношения сплайс-вариантов D2 рецептора дофамина у носителей минорных аллелей начинается с ранних этапов онтогенеза. В наших экспериментах показано, что возникновение когнитивных дисфункций, возникающих вследствие раннего постнатального воспаления, может быть связано со снижением содержания мРНК D2S рецептора в медиальной префронтальной коре мозга крыс подросткового возраста.

5. Выводы

1. Хроническое повышение уровня ИЛ-1 β в течение 3-й недели жизни приводит к долговременным нарушениям рабочей памяти, возникающим в препубертатном возрасте и сохраняющимся у половозрелых животных.
2. В ходе постнатального онтогенеза крыс содержание короткой (D2S) изоформы мРНК D2 рецептора в медиальной префронтальной коре мозга интактных животных резко снижается от препубертатного периода к подростковому возрасту при отсутствии значимых изменений содержания длинной (D2L) изоформы.
3. Курсовое введение ИЛ-1 β в раннем периоде постнатального онтогенеза изменяет возрастную динамику содержания сплайс-вариантов мРНК D2 рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре мозга крыс, повышая соотношение уровней мРНК D2S/D2L в этой области мозга у животных подросткового возраста, но не у взрослых.
4. Процесс выработки условного рефлекса активного избегания у взрослых интактных крыс сопровождается снижением содержания мРНК длинной (D2L) изоформы D2 рецептора дофамина в медиальной префронтальной области коры при отсутствии изменений в уровне мРНК короткой (D2S) изоформы.
5. Введение умеренно-пирогенных доз ИЛ-1 β крысам в течение 3-й недели жизни отменяет реакцию снижения содержания мРНК D2L рецептора, связанную с процессом выработки условного рефлекса активного избегания, в медиальной префронтальной области коры мозга взрослых животных.

Заключение

В ходе диссертационного исследования впервые описаны дифференцированные изменения содержания мРНК короткой и длинной изоформ D2 рецептора дофамина в медиальной префронтальной коре мозга крыс в ходе постнатального развития, а также у взрослых животных при когнитивной нагрузке (выработке условного рефлекса активного избегания). В частности показано, что соотношение содержания мРНК D2S/D2L изоформ рецептора в этой области мозга неполовозрелых крыс намного выше, чем у взрослых животных, что открывает перспективы для изучения онтогенетических аспектов распределения и дифференциальной роли сплайс-вариантов D2 рецептора дофамина. Описаны изменения возрастной динамики содержания D2S изоформы в медиальной префронтальной коре мозга крыс в ответ на повышение уровня ИЛ-1 β в раннем постнатальном онтогенезе. Можно предположить, что данные изменения могут лежать в основе формирования когнитивных дисфункций и других нарушений поведения животных вследствие перенесённой перинатальной патологии. Полученные данные могут быть использованы для разработки новых методов лечения мозговых дисфункций, возникающих вследствие действия неблагоприятных факторов в критические периоды раннего постнатального онтогенеза, а также открывают новые перспективы в изучении роли отдельных изоформ D2 рецептора дофамина в осуществлении когнитивных функций и регуляции созревания кортикальных нейронов в норме и при патологии. Кроме того, в данной работе впервые описано возникновение долговременных нарушений рабочей памяти, возникающих ещё в предпубертатный период у крыс после хронических внутрибрюшинных введений умеренно-пирогенных доз ИЛ-1 β с 15-го по 21-й дни жизни. Мы считаем, что данную модель неонатального воспаления можно использовать для моделирования и изучения дефицита рабочей памяти, который характерен для ряда видов нервно-психической патологии, ассоциированной с действием неблагоприятных факторов в перинатальный период.

Список сокращений

ГАМК	Гамма-аминомасляная кислота	
ГЭБ	Гемато-энцефалический барьер	
ОТ	Обратная транскрипция	
ПЦР	Полимеразная цепная реакция	
цАМФ	3'-5'-циклоаденозинмонофосфат	
ЦНС	Центральная нервная система	
АС	Adenylcyclase	Аденилатциклаза
АМРА	α -amino-3-hydroxy-5-methyl- 4-isoxazolepropionic	α -амино-3-гидрокси-5-метил- 4-изоксалепропионовая кислота
BDNF	Brain-derived neurotrophic factor	Мозговой нейротрофический фактор
CAPS	Calcium-dependent activator protein for secretion	Кальций-зависимый белок- активатор секреции электронно-плотных мембранных везикул
CREB	cAMP-response element binding protein	Белок, связывающийся с цАМФ-чувствительными элементами
DA	Dopamine	Дофамин
ДОРАС, ДОФУК	3,4-dioxyphenilacetate	3,4-диоксифенилуксусная кислота
ER	Endoplasmic reticulum	Эндоплазматическая сеть
ERK	Extracellular signal regulated kinase	Киназа, регулируемая внеклеточными сигналами

GDNF	Glia-derived neurotrophic factor	Глиальный нейротрофический фактор
GIRK	G protein-regulated inwardly rectifying potassium channel	Калиевые каналы входящего выпрямления, управляемые G-белками
GSK	Glycogen synthase kinase	Киназа гликогенсинтазы
HVA, ГВК	Homovanilinic acid	Гомованилиновая кислота
IKK	I κ B kinase	Киназа I κ B (ингибитора NF- κ B)
IL, ИЛ	Interleukin	Интерлейкин
IL-1RA	Interleukin-1 receptor antagonist	антагонист рецепторов интерлейкина-1
IP3	Inositol trisphosphate	Инозитолтрифосфат
IRAK	Interleukin 1 receptor associated kinase	Киназа, ассоциированная с рецепторами Интерлейкина-1
I κ B	Inhibitor of NF- κ B	Ингибитор NF- κ B
MAO	Monoamineoxidase	Моноаминоксидаза
3-MT	3-metoxytyramine	3-метокситирамин
MyD	Myeloid differentiation factor primary response gene	Белок, кодируемый геном раннего ответа на фактор дифференцировки клеток миелоидного ряда
NF- κ B	Nuclear factor kappa chain B cell	Ядерный фактор каппа цепей В клеток
NGF	Nerve growth factor	Фактор роста нервов
NMDA	N-methyl-D-aspartate	N-метил-D-аспарагиновая кислота
PKA, ПКА	Cyclic AMP-dependent protein kinase	Протеинкиназа А (цАМФ-зависимая протеинкиназа)

PLC	Phospholipase C	Фосфолипаза C
PP	Protein phosphatase	Протеинфосфатаза
PSD-95	Postsynaptic density 95 kDA	Белок постсинаптической плотности массой 95 килодальтон
RTK	Receptor tyrosine kinase	Рецептор, обладающий собственной тирозинкиназной активностью
TAB/ТАК	TGF-beta activated kinase	Киназа, активируемая TGFβ
TIR(-домен)	Toll-like/Interleukin 1 receptor	Домен, характерный для Toll-подобных рецепторов и рецепторов Интерлейкина-1
TLR	Toll-like receptor	Toll-подобные рецепторы
TRAF	TNF signaling pathway related regulatory factor	Регуляторный фактор, связанный с сигналингом фактора некроза опухолей

Список литературы

1. Beaulieu J.-M. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. / Beaulieu J.-M., Gainetdinov R.R. // *Pharmacological reviews* – 2011. – Т. 63 – № 1 – С.182–217.
2. Seeman P. All roads to schizophrenia lead to dopamine supersensitivity and elevated dopamine D2(high) receptors. / Seeman P. // *CNS neuroscience & therapeutics* – 2011. – Т. 17 – № 2 – С.118–32.
3. Giros B. Alternative splicing directs the expression of two D2 dopamine receptor isoforms. / Giros B., Sokoloff P., Martres M.P., Riou J.F., Emorine L.J., Schwartz J.C. // *Nature* – 1989. – Т. 342 – № 6252 – С.923–6.
4. Monsma F.J. Multiple D2 dopamine receptors produced by alternative RNA splicing. / Monsma F.J., McVittie L.D., Gerfen C.R., Mahan L.C., Sibley D.R. // *Nature* – 1989. – Т. 342 – № 6252 – С.926–9.
5. Lindgren N. Distinct roles of dopamine D2L and D2S receptor isoforms in the regulation of protein phosphorylation at presynaptic and postsynaptic sites / Lindgren N., Usiello A., Goigny M., Haycock J., Erbs E., Greengard P., Hokfelt T., Borrelli E., Fisone G. // *Proceedings of the National Academy of Sciences* – 2003. – Т. 100 – № 7 – С.4305–4309.
6. Van-Ham I.I. Differential signaling of dopamine-D2S and -D2L receptors to inhibit ERK1/2 phosphorylation / Van-Ham I.I., Banihashemi B., Wilson A.M., Jacobsen K.X., Czesak M., Albert P.R. // *Journal of Neurochemistry* – 2007. – Т. 102 – № 6 – С.1796–1804.
7. Gantz S.C. Distinct regulation of dopamine D2S and D2L autoreceptor signaling by calcium / Gantz S.C., Robinson B.G., Buck D.C., Bunzow J.R., Neve R.L., Williams J.T., Neve K.A. // *eLife* – 2015. – Т. 4 – № AUGUST2015 – С.1–19.
8. Khan Z.U. Prominence of the dopamine D2 short isoform in dopaminergic pathways. / Khan Z.U., Mrzljak L., Gutierrez A., la Calle A. de, Goldman-Rakic P.S. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* – 1998. – Т. 95 – № 13 – С.7731–6.

9. Bertolino A. Genetically determined interaction between the dopamine transporter and the D2 receptor on prefronto-striatal activity and volume in humans / Bertolino A., Fazio L., Giorgio A. Di, Blasi G., Taurisano P., Caforio G., Sinibaldi L., Ursini G., Popolizio T., Tirota E., Papp A., Dallapiccola B., Sadee W. // *Journal of Neuroscience* – 2009. – T. 29 – № 4 – C.1224–1234.

10. Fazio L. D2 receptor genotype and striatal dopamine signaling predict motor cortical activity and behavior in humans / Fazio L., Blasi G., Taurisano P., Papazacharias A., Romano R., Gelao B., Ursini G., Quarto T., Bianco L. Lo, Giorgio A. Di, Mancini M., Popolizio T., Rubini G., Bertolino A. // *NeuroImage* – 2011. – T. 54 – № 4 – C.2915–2921.

11. Bertolino A. Genetically Determined Measures of Striatal D2 Signaling Predict Prefrontal Activity during Working Memory Performance / Bertolino A., Taurisano P., Pisciotta N.M., Blasi G., Fazio L., Romano R., Gelao B., Bianco L. Lo, Lozupone M., Giorgio A. Di, Caforio G., Sambataro F., Niccoli-Asabella A., Papp A., Ursini G., Sinibaldi L., Popolizio T., Sadee W., Rubini G., Aleman A. // *PLoS ONE* – 2010. – T. 5 – № 2.

12. Usiello A. Distinct functions of the two isoforms of dopamine D2 receptors. / Usiello A., Baik J.H., Rougé-Pont F., Picetti R., Dierich A., LeMeur M., Piazza P. V, Borrelli E. // *Nature* – 2000. – T. 408 – № 6809 – C.199–203.

13. Hranilovic D. Emotional response in dopamine D2L receptor-deficient mice / Hranilovic D., Bucan M., Wang Y. // *Behavioural Brain Research* – 2008. – T. 195 – № 2 – C.246–250.

14. Macpherson T. Nucleus accumbens dopamine D2-receptor expressing neurons control behavioral flexibility in a place discrimination task in the IntelliCage. / Macpherson T., Morita M., Wang Y., Sasaoka T., Sawa A., Hikida T. // *Learning & memory* (Cold Spring Harbor, N.Y.) – 2016. – T. 23 – № 7 – C.359–64.

15. Morita M. Dopamine D2L Receptor Is Required for Visual Discrimination and Reversal Learning. / Morita M., Wang Y., Sasaoka T., Okada K., Niwa M., Sawa A., Hikida T. // *Molecular neuropsychiatry* – 2016. – T. 2 – № 3 – C.124–132.

16. Kaalund S.S. Contrasting changes in DRD1 and DRD2 splice variant expression in schizophrenia and affective disorders, and associations with SNPs in postmortem brain / Kaalund S.S., Newburn E.N., Ye T., Tao R., Li C., Deep-Soboslay A., Herman M.M., Hyde T.M., Weinberger D.R., Lipska B.K., Kleinman J.E. // *Mol Psychiatry* – 2014. – Т. 19 – № 12 – С.1258–1266.

17. Money K.M. Developmental origins of brain disorders: roles for dopamine. / Money K.M., Stanwood G.D. // *Frontiers in cellular neuroscience* – 2013. – Т. 7 – № December – С.260.

18. Gatzke-Kopp L.M. The canary in the coalmine: the sensitivity of mesolimbic dopamine to environmental adversity during development. / Gatzke-Kopp L.M. // *Neuroscience and biobehavioral reviews* – 2011. – Т. 35 – № 3 – С.794–803.

19. Bilbo S.D. The immune system and developmental programming of brain and behavior / Bilbo S.D., Schwarz J.M. // *Frontiers in Neuroendocrinology* – 2012. – Т. 33 – № 3 – С.267–286.

20. Meyer U. Epidemiology-driven neurodevelopmental animal models of schizophrenia / Meyer U., Feldon J. // *Progress in Neurobiology* – 2010. – Т. 90 – № 3 – С.285–326.

21. Harvey L. Prenatal and postnatal animal models of immune activation: Relevance to a range of neurodevelopmental disorders / Harvey L., Boksa P. // *Developmental Neurobiology* – 2012. – Т. 72 – № 10 – С.1335–1348.

22. Зубарева О.Е. Повышение уровня провоспалительных цитокинов в раннем возрасте как фактор риска развития нервной и психической патологии / Зубарева О.Е., Клименко В.М. // *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова* – 2011. – Т. 6 – № 22 – С.1048–1059.

23. Kabiersch A. Administration of interleukin-1 at birth affects dopaminergic neurons in adult mice / Kabiersch A., Furukawa H., Rey A. Del, Besedovsky H.O. // *Annals of the New York Academy of Sciences* – 1998. – Т. 840 – № 1 – С.123–127.

24. Трофимов А.Н. Влияние неонатальных повышений уровня интерлейкина-1 β на формирование пространственной памяти взрослых крыс / Трофимов А.Н., Зубарева О.Е., Симбирцев А.С., Клименко В.М. // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова – 2012. – Т. 98 – № 6 – С.782–792.

25. Зубарева О.Е. Нарушение условнорефлекторной деятельности взрослых крыс после введений интерлейкина-1 β в раннем постнатальном онтогенезе / Зубарева О.Е., Щербакова К.П., Калеменин С.В., Симбирцев А.С., Клименко В.М. // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова – 2011. – Т. 61 – № 6 – С.736–41.

26. Зубарева О.. Влияние провоспалительных цитокинов на становление поведения в раннем постнатальном онтогенезе / Зубарева О., Елисеева А.П., Симбирцев А.С., Клименко В.М. // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова – 2005. – Т. 91 – № 4 – С.374–384.

27. Fan L.W. Interleukin-1beta-induced brain injury and neurobehavioral dysfunctions in juvenile rats can be attenuated by alpha-phenyl-n-tert-butyl-nitron. / Fan L.W., Tien L.T., Zheng B., Pang Y., Rhodes P.G., Cai Z. // Neuroscience – 2010. – Т. 168 – № 1 – С.240–52.

28. Pang Y. Interleukin-1 Receptor Antagonist Reduces Neonatal Lipopolysaccharide-Induced Long-Lasting Neurobehavioral Deficits and Dopaminergic Neuronal Injury in Adult Rats / Pang Y., Tien L.-T., Zhu H., Shen J., Wright C., Jones T., Mamoon S., Bhatt A., Cai Z., Fan L.-W. // International Journal of Molecular Sciences – 2015. – Т. 16 – № 4 – С.8635–8654.

29. Zavitsanou K. Neonatal lipopolysaccharide treatment has long-term effects on monoaminergic and cannabinoid receptors in the rat / Zavitsanou K., Dalton V.S., Walker A.K., Weickert C.S., Sominsky L., Hodgson D.M. // Synapse – 2013. – Т. 67 – № 6 – С.290–299.

30. Deslauriers J. Combination of prenatal immune challenge and restraint stress affects prepulse inhibition and dopaminergic/GABAergic markers / Deslauriers J., Larouche A., Sarret P., Grignon S. // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry – 2013. – Т. 45 – С.156–164.

31. Bronson S.L. Prenatal stress-induced increases in placental inflammation and offspring hyperactivity are male-specific and ameliorated by maternal antiinflammatory treatment. / Bronson S.L., Bale T.L. // *Endocrinology* – 2014. – Т. 155 – № 7 – С.2635–46.

32. Rice D. Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: Evidence from humans and animal models / Rice D., Barone S. // *Environmental Health Perspectives* – 2000. – Т. 108 – № SUPPL. 3 – С.511–533.

33. Зубарева О.Е. Особенности поведенческой, гормональной и нейромедиаторной реакции на стресс у взрослых крыс, имевших повышенный уровень ИЛ-1 β в раннем постнатальном онтогенезе / Зубарева О.Е., Шварц А.П., Хныченко Л.К., Ищенко А.М., Симбирцев А.С., Клименко В.М. // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины* – 2014. – Т. 158 – № 11 – С.552–556.

34. Трофимов А.Н. Экспрессия генов *Fgf2* и *Timpr1* в мозге взрослых крыс после введения интерлейкина-1 β в раннем постнатальном онтогенезе / Трофимов А.Н., Зубарева О.Е., Шварц А.П., Ищенко А.М., Клименко В.М. // *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова* – 2014. – Т. 100 – № 9 – С.1025–37.

35. Tzschentke T.M. Pharmacology and behavioral pharmacology of the mesocortical dopamine system. / Tzschentke T.M. // *Progress in neurobiology* – 2001. – Т. 63 – № 3 – С.241–320.

36. Seamans J. *The Dopamine Receptors* / под ред. К.А. Neve. Totowa, NJ: Humana Press, 2010. – 373–398с.

37. Bertolino A. Functional variants of the dopamine receptor D2 gene modulate prefronto-striatal phenotypes in schizophrenia / Bertolino A., Fazio L., Caforio G., Blasi G., Rampino A., Romano R., Giorgio A. Di, Taurisano P., Papp A., Pinsonneault J., Wang D., Nardini M., Popolizio T., Sadee W. // *Brain* – 2009. – Т. 132 – № 2 – С.417–25.

38. Zhang Y. Polymorphisms in human dopamine D2 receptor gene affect gene expression, splicing, and neuronal activity during working memory / Zhang Y., Bertolino A., Fazio L., Blasi G., Rampino A., Romano R., Lee M.L., Xiao T., Papp A., Wang D., Sadee W. // *Proc Natl Acad Sci U S A* – 2007. – T. 104 – № 51 – C.20552–20557.

39. Handel M. Van Specific memory impairment following neonatal encephalopathy in term-born children / Handel M. Van, Sonnevile L. De, Vries L.S. De, Jongmans M.J., Swaab H. // *Developmental Neuropsychology* – 2012. – T. 37 – № 1 – C.30–50.

40. Løhaugen G.C.C. Cognitive profile in young adults born preterm at very low birthweight / Løhaugen G.C.C., Gramstad A., Evensen K.A.I., Martinussen M., Lindqvist S., Indredavik M., Vik T., Brubakk A.M., Skranes J. // *Developmental Medicine and Child Neurology* – 2010. – T. 52 – № 12 – C.1133–1138.

41. Jiang Y. V. Spatial working memory in children with high-functioning autism: Intact configural processing but impaired capacity / Jiang Y. V., Capistrano C.G., Palm B.E. // *Journal of Abnormal Psychology* – 2014. – T. 123 – № 1 – C.248–257.

42. Martinussen R. A meta-analysis of working memory impairments in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. / Martinussen R., Hayden J., Hogg-Johnson S., Tannock R. // *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry* – 2005. – T. 44 – № 4 – C.377–84.

43. Sharma A. A Review of the Pathophysiology, Etiology, and Treatment of Attention-Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) / Sharma A., Couture J. // *Annals of Pharmacotherapy* – 2014. – T. 48 – № 2 – C.209–225.

44. Alcaro A. Behavioral functions of the mesolimbic dopaminergic system: An affective neuroethological perspective / Alcaro A., Huber R., Panksepp J. // *Brain Research Reviews* – 2007. – T. 56 – № 2 – C.283–321.

45. Beaulieu J.M. Dopamine receptors - IUPHAR review 13 / Beaulieu J.M., Espinoza S., Gainetdinov R.R. // *British Journal of Pharmacology* – 2015. – T. 172 – № 1 – C.1–23.

46. Ещенко Н.Д. Биохимия психических и нервных болезней. Избранные разделы: Учеб. пособие для вузов / Н. Д. Ещенко – Санкт-Петербург: Издательство СПбГУ, 2004.– 200с.
47. Угрюмов М.В. Нейроны мозга, частично экспрессирующие моноаминергический фенотип: локализация, развитие и функциональное значение / Угрюмов М.В. // Успехи физиологических наук – 2007. – Т. 38 – № 2 – С.3–25.
48. Erickson J.D. Molecular analysis of vesicular amine transporter function and targeting to secretory organelles. / Erickson J.D., Varoqui H. // FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology – 2000. – Т. 14 – № 15 – С.2450–8.
49. McHugh P.C. The Structure and Function of the Dopamine Transporter and its Role in CNS Diseases Elsevier Inc., 2015. Вып. 1 – 339–369с.
50. Gizer I.R. Candidate gene studies of ADHD: a meta-analytic review. / Gizer I.R., Ficks C., Waldman I.D. // Human genetics – 2009. – Т. 126 – № 1 – С.51–90.
51. Banaschewski T. Molecular genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder: an overview. / Banaschewski T., Becker K., Scherag S., Franke B., Coghill D. // European child & adolescent psychiatry – 2010. – Т. 19 – № 3 – С.237–57.
52. Dickinson D. Genes, cognition and brain through a COMT lens. / Dickinson D., Elvevåg B. // Neuroscience – 2009. – Т. 164 – № 1 – С.72–87.
53. Honkanen A. Modulation of Brain Dopaminergic Neurotransmission in Alcohol-Preferring Rats By Alcohol and Opioids / Honkanen A. – 1999.
54. Shih J.C. Transcriptional regulation and multiple functions of MAO genes. / Shih J.C., Wu J.B., Chen K. // Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996) – 2011. – Т. 118 – № 7 – С.979–86.
55. Duncan J. Monoamine oxidases in major depressive disorder and alcoholism / Duncan J., Johnson S., Ou X.-M. // Drug Discoveries & Therapeutics – 2012. – Т. 6 – № 3 – С.112–122.
56. Missale C. Dopamine receptors: from structure to function. / Missale C., Nash S.R., Robinson S.W., Jaber M., Caron M.G. // Physiological reviews – 1998. – Т. 78 – № 1 – С.189–225.

57. D'souza U.M. Chapter 2: Gene and promoter structures of the dopamine receptors / под ред. K.A. Neve. Totowa, NJ: Humana Press, 2010. – 23–46с.

58. Romanelli R.J. Dopamine receptor signaling: intracellular pathways to behavior / под ред. K.A. Neve. Totowa, NJ: Humana Press, 2010. – 137–173с.

59. Moreira I.S. Structural basis of dopamine receptor activation / под ред. K.A. Neve. Totowa, NJ: Humana Press, 2010. – 47–73с.

60. Fiorentini C. Reciprocal regulation of dopamine D1 and D3 receptor function and trafficking by heterodimerization. / Fiorentini C., Busi C., Gorruso E., Gotti C., Spano P., Missale C. // *Molecular pharmacology* – 2008. – Т. 74 – № 1 – С.59–69.

61. Hasbi A. Calcium signaling cascade links dopamine D1-D2 receptor heteromer to striatal BDNF production and neuronal growth. / Hasbi A., Fan T., Alijaniam M., Nguyen T., Perreault M.L., O'Dowd B.F., George S.R. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* – 2009. – Т. 106 – № 50 – С.21377–82.

62. Zhang X. Activation of phosphatidylinositol-linked D1-like receptor modulates FGF-2 expression in astrocytes via IP3-dependent Ca²⁺ signaling. / Zhang X., Zhou Z., Wang D., Li A., Yin Y., Gu X., Ding F., Zhen X., Zhou J. // *J Neurosci* – 2009. – Т. 29 – № 24 – С.7766–7775.

63. Rashid A.J. D1-D2 dopamine receptor heterooligomers with unique pharmacology are coupled to rapid activation of Gq/11 in the striatum. / Rashid A.J., So C.H., Kong M.M.C., Furtak T., El-Ghundi M., Cheng R., O'Dowd B.F., George S.R. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* – 2007. – Т. 104 – № 2 – С.654–9.

64. Perreault M.L. Heteromeric dopamine receptor signaling complexes: emerging neurobiology and disease relevance. / Perreault M.L., Hasbi A., O'Dowd B.F., George S.R. // *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* – 2014. – Т. 39 – № 10 – С.156–68.

65. Condray R. Cognition, dopamine and bioactive lipids in schizophrenia / Condray R., Yao J.K.

66. Hazelwood L.A. Dopamine Receptor-Interacting Proteins Totowa, NJ: Humana Press, 2010. – 219–254c.
67. Lee F.J.S. Dopamine transporter cell surface localization facilitated by a direct interaction with the dopamine D2 receptor. / Lee F.J.S., Pei L., Moszczynska A., Vukusic B., Fletcher P.J., Liu F. // *The EMBO journal* – 2007. – T. 26 – № 8 – C.2127–36.
68. Binda A. V. Regulation of dense core vesicle release from PC12 cells by interaction between the D2 dopamine receptor and calcium-dependent activator protein for secretion (CAPS) / Binda A. V., Kabbani N., Levenson R. // *Biochemical Pharmacology* – 2005. – T. 69 – № 10 – C.1451–1461.
69. Liu Y. Novel interaction of the dopamine D2 receptor and the Ca²⁺ binding protein S100B: role in D2 receptor function. / Liu Y., Buck D.C., Neve K.A. // *Molecular pharmacology* – 2008. – T. 74 – № 2 – C.371–8.
70. Stanwood G.D. Protein-Protein Interactions and Dopamine D 2 Receptor Signaling : A Calcium Connection / Stanwood G.D. // *Molecular Pharmacology* – 2008. – C.317–319.
71. Lavine N. G protein-coupled receptors form stable complexes with inwardly rectifying potassium channels and adenylyl cyclase. / Lavine N., Ethier N., Oak J.N., Pei L., Liu F., Trieu P., Rebois R.V., Bouvier M., Hebert T.E., Tol H.H.M. Van // *The Journal of biological chemistry* – 2002. – T. 277 – № 48 – C.46010–9.
72. Zou S. Protein-protein coupling/uncoupling enables dopamine D2 receptor regulation of AMPA receptor-mediated excitotoxicity. / Zou S., Li L., Pei L., Vukusic B., Tol H.H.M. Van, Lee F.J.S., Wan Q., Liu F. // *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* – 2005. – T. 25 – № 17 – C.4385–95.
73. Fiorentini C. Regulation of dopamine D1 receptor trafficking and desensitization by oligomerization with glutamate N-methyl-D-aspartate receptors. / Fiorentini C., Gardoni F., Spano P., Luca M. Di, Missale C. // *The Journal of biological chemistry* – 2003. – T. 278 – № 22 – C.20196–202.

74. Hazelwood L. a Reciprocal modulation of function between the D1 and D2 dopamine receptors and the Na⁺,K⁺-ATPase. / Hazelwood L. a, Free R.B., Cabrera D.M., Skinbjerg M., Sibley D.R. // *The Journal of biological chemistry* – 2008. – T. 283 – № 52 – C.36441–53.

75. Zhang J. Inhibition of the dopamine D1 receptor signaling by PSD-95. / Zhang J., Vinuela A., Neely M.H., Hallett P.J., Grant S.G.N., Miller G.M., Isacson O., Caron M.G., Yao W.-D. // *The Journal of biological chemistry* – 2007. – T. 282 – № 21 – C.15778–89.

76. Liu F. Direct protein-protein coupling enables cross-talk between dopamine D5 and gamma-aminobutyric acid A receptors. / Liu F., Wan Q., Pristupa Z.B., Yu X.M., Wang Y.T., Niznik H.B. // *Nature* – 2000. – T. 403 – № 6767 – C.274–80.

77. Andersson E.R. Wnt5a regulates ventral midbrain morphogenesis and the development of A9-A10 dopaminergic cells in vivo. / Andersson E.R., Prakash N., Cajanek L., Minina E., Bryja V., Bryjova L., Yamaguchi T.P., Hall A.C., Wurst W., Arenas E. // *PloS one* – 2008. – T. 3 – № 10 – C.e3517.

78. Spencer S.J. Role of catecholaminergic inputs to the medial prefrontal cortex in local and subcortical expression of Fos after psychological stress. / Spencer S.J., Day T.A. // *Journal of neuroscience research* – 2004. – T. 78 – № 2 – C.279–88.

79. Tye S.J. A Balancing Act: D4 Receptor Activation and the Neurobiological Basis of Emotional Learning / Tye S.J., Covey D.P., Griessenauer C.J. // *The Journal of Neuroscience* – 2009. – T. 29 – № 35 – C.10785–10787.

80. Seamans J.K. Dopamine Modulation of the Prefrontal Cortex and Cognitive Function / под ред. Neve. Totowa, NJ: Humana Press, 2010. – 373–398c.

81. Takahashi H. Functional significance of central D1 receptors in cognition: beyond working memory Positron emission tomography imaging of D1 and D2 receptors and working memory / Takahashi H., Yamada M., Suhara T. // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* – 2012. – T. 32 – № 10 – C.1248–1258.

82. Ihalaainen J. a Comparison of dopamine and noradrenaline release in mouse prefrontal cortex, striatum and hippocampus using microdialysis. / Ihalaainen J. a, Riekkinen P., Feenstra M.G. // *Neuroscience letters* – 1999. – T. 277 – № 2 – C.71–4.

83. Keltikangas-Jarvinen L. Association Between the Type 4 Dopamine Receptor Gene Polymorphism and Novelty Seeking / Keltikangas-Jarvinen L. // *Psychosomatic Medicine* – 2003. – T. 65 – № 3 – C.471–476.

84. Seamans J.K. D1 receptor modulation of hippocampal-prefrontal cortical circuits integrating spatial memory with executive functions in the rat. / Seamans J.K., Floresco S.B., Phillips a G. // *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* – 1998. – T. 18 – № 4 – C.1613–1621.

85. Lisman J.E. The hippocampal-VTA loop: controlling the entry of information into long-term memory. / Lisman J.E., Grace A. a // *Neuron* – 2005. – T. 46 – № 5 – C.703–13.

86. Retailleau A. Where is my reward and how do I get it? Interaction between the hippocampus and the basal ganglia during spatial learning. / Retailleau A., Etienne S., Guthrie M., Boraud T. // *Journal of physiology, Paris* – 2012. – T. 106 – № 3–4 – C.72–80.

87. Salamone J.D. The mysterious motivational functions of mesolimbic dopamine. / Salamone J.D., Correa M. // *Neuron* – 2012. – T. 76 – № 3 – C.470–85.

88. Nieh E.H. Optogenetic dissection of neural circuits underlying emotional valence and motivated behaviors. / Nieh E.H., Kim S.-Y., Namburi P., Tye K.M. // *Brain research* – 2013. – T. 1511 – C.73–92.

89. Tzschentke T.M. The medial prefrontal cortex as a part of the brain reward system Review Article / Tzschentke T.M. // *Amino Acid* – 2000. – T. 19 – C.211–219.

90. Belin D. Addiction: failure of control over maladaptive incentive habits. / Belin D., Belin-Rauscent A., Murray J.E., Everitt B.J. // *Current opinion in neurobiology* – 2013. – T. 23 – № 4 – C.564–72.

91. Sclafani A. Dopamine and learned food preferences. / Sclafani A., Touzani K., Bodnar R.J. // *Physiology & behavior* – 2011. – T. 104 – № 1 – C.64–8.

92. Volkow N.D. Addiction: beyond dopamine reward circuitry. / Volkow N.D., Wang G.-J., Fowler J.S., Tomasi D., Telang F. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* – 2011. – T. 108 – № 37 – C.15037–42.

93. Giuliano F. Dopamine and male sexual function. / Giuliano F., Allard J. // *European urology* – 2001. – Т. 40 – № 6 – С.601–8.

94. Stolzenberg D.S. Hypothalamic interaction with the mesolimbic DA system in the control of the maternal and sexual behaviors in rats. / Stolzenberg D.S., Numan M. // *Neuroscience and biobehavioral reviews* – 2011. – Т. 35 – № 3 – С.826–47.

95. Strathearn L. Maternal neglect: oxytocin, dopamine and the neurobiology of attachment. / Strathearn L. // *Journal of neuroendocrinology* – 2011. – Т. 23 – № 11 – С.1054–65.

96. Добрякова Ю.В. Роль дофаминовой и опиоидной систем в регуляции материнского поведения © 2011 / Добрякова Ю.В., Танаева К.К., Дубынин В.А., Каменский А.А. // *Успехи физиологических наук* – 2011. – Т. 42 – № 1 – С.3–17.

97. Базян А.С. РЕГУЛЯЦИЯ МОТОРНОГО ПОВЕДЕНИЯ / Базян А.С., Григорьян Г.А., Иоффе М.Е. // *Успехи физиологических наук* – 2011. – Т. 42 – № 3 – С.65–80.

98. Wise R. a Roles for nigrostriatal--not just mesocorticolimbic--dopamine in reward and addiction. / Wise R. a // *Trends in neurosciences* – 2009. – Т. 32 – № 10 – С.517–24.

99. Lima M.M.S. The neurobiology of the substantia nigra pars compacta: from motor to sleep regulation. / Lima M.M.S., Reksidler A.B.B., Vital M.A.B.F. // *Journal of neural transmission. Supplementum* – 2009. – Т. 73 – № 73 – С.135–45.

100. Fitzgerald P. Prolactin and dopamine: what is the connection? A review article. / Fitzgerald P., Dinan T.G. // *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)* – 2008. – Т. 22 – № 2 Suppl – С.12–9.

101. Brown R.S.E. Differential actions of prolactin on electrical activity and intracellular signal transduction in hypothalamic neurons. / Brown R.S.E., Piet R., Herbison a E., Grattan D.R. // *Endocrinology* – 2012. – Т. 153 – № 5 – С.2375–84.

102. Romanò N. Plasticity of hypothalamic dopamine neurons during lactation results in dissociation of electrical activity and release. / Romanò N., Yip S.H., Hodson D.J., Guillou A., Parnaudeau S., Kirk S., Tronche F., Bonnefont X., Tissier P. Le, Bunn S.J., Grattan D.R., Mollard P., Martin A.O. // *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* – 2013. – T. 33 – № 10 – C.4424–33.

103. Serri O. Diagnosis and management of hyperprolactinemia. / Serri O., Chik C.L., Ur E., Ezzat S. // *CMAJ: Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne* – 2003. – T. 169 – № 6 – C.575–81.

104. Ugryumov M. V. The differentiation of dopaminergic neurons in situ, in vivo, and in transplants / Ugryumov M. V. // *Neuroscience and Behavioral Physiology* – 2000. – T. 30 – № 1 – C.37–43.

105. Ugryumov M. V. Hypothalamic monoaminergic systems in ontogenesis: development and functional significance. / Ugryumov M. V // *The International journal of developmental biology* – 1997. – T. 41 – № 6 – C.809–16.

106. Proshliakova E. V [Functional activity of catecholaminergic system of mid- and interbrain in human fetuses] / Proshliakova E. V, Saprionova Ai., Popov A.P., Ugryumov M. V // *Biull Eksp Biol Med* – 1997. – T. 124 – № 9 – C.259–262.

107. Prakash N. Development of dopaminergic neurons in the mammalian brain. / Prakash N., Wurst W. // *Cellular and molecular life sciences : CMLS* – 2006. – T. 63 – № 2 – C.187–206.

108. Hoops D. Making Dopamine Connections in Adolescence / Hoops D., Flores C. // *Trends in Neurosciences* – 2017. – T. 40 – № 12 – C.709–719.

109. Jung A.B. Development of striatal dopaminergic function. I. Pre- and postnatal development of mRNAs and binding sites for striatal D1 (D1a) and D2 (D2a) receptors. / Jung A.B., Bennett J.P. // *Brain research. Developmental brain research* – 1996. – T. 94 – № 2 – C.109–20.

110. Qian J. Interleukin-1R3 mediates interleukin-1-induced potassium current increase through fast activation of Akt kinase. / Qian J., Zhu L., Li Q., Belevych N., Chen Q., Zhao F., Herness S., Quan N. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* – 2012. – T. 109 – № 30 – C.12189–94.

111. Bunzow J.R. Cloning and expression of a rat D2 dopamine receptor cDNA / Bunzow J.R., Tol H.H.M. Van, Grandy D.K., Albert P., Salon J., Christie M., Machida C.A., Neve K.A., Civelli O. // *Nature* – 1988. – T. 336 – № 6201 – C.783–787.

112. Vallone D. Structure and function of dopamine receptors / Vallone D., Picetti R., Borrelli E. // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* – 2000. – T. 24 – № 1 – C.125–132.

113. Park E. Regulatory roles of heterogeneous nuclear ribonucleoprotein M and Nova-1 protein in alternative splicing of dopamine D2 receptor pre-mRNA / Park E., Iaccarino C., Lee J., Kwon I., Baik S.M., Kim M., Seong J.Y., Son G.H., Borrelli E., Kim K. // *Journal of Biological Chemistry* – 2011. – T. 286 – № 28 – C.25301–25308.

114. Sasabe T. Polypyrimidine tract-binding protein 1 regulates the alternative splicing of dopamine receptor D2 / Sasabe T., Futai E., Ishiura S. // *Journal of Neurochemistry* – 2011. – T. 116 – № 1 – C.76–81.

115. Boundy A. Differential Expressed Coupling of Rat D2 Dopamine Receptor in *Spodoptera Frugiperda* Insect Cells / Boundy A., Molinoff B. – 1996. – C.784–794.

116. Smith J.W. Dopamine D2L receptor knockout mice display deficits in positive and negative reinforcing properties of morphine and in avoidance learning / Smith J.W., Fetsko L.A., Xu R., Wang Y. // *Neuroscience* – 2002. – T. 113 – № 4 – C.755–765.

117. Wang Y. Dopamine D2 long receptor-deficient mice display alterations in striatum-dependent functions / Wang Y., Xu R., Sasaoka T., Tonegawa S., Kung M.P., Sankoorikal E.B. // *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* – 2000. – T. 20 – № 22 – C.8305–14.

118. Radl D. Differential regulation of striatal motor behavior and related cellular responses by dopamine D2L and D2S isoforms / Radl D., Chiacchiaretta M., Lewis R.G., Bami-Cherrier K., Arcuri L., Borrelli E. // *Proceedings of the National Academy of Sciences* – 2018. – T. 115 – № 1 – C.198–203.

119. Jia J. Age-dependent regulation of synaptic connections by dopamine D2 receptors / Jia J., Zhao J., Hu Z., Lindberg D., Li Z. // *Nature Neuroscience* – 2013. – T. 16 – № 11 – C.1627–1636.

120. Naughton B.J. Specific knockdown of the D2 long dopamine receptor variant. / Naughton B.J., Thirtamara-Rajamani K., Wang C., During M.J., Gu H.H. // *Neuroreport* – 2012. – T. 23 – № 1 – C.1–5.

121. Colelli V. Strain-specific proportion of the two isoforms of the dopamine D2 receptor in the mouse striatum: Associated neural and behavioral phenotypes / Colelli V., Fiorenza M.T., Conversi D., Orsini C., Cabib S. // *Genes, Brain and Behavior* – 2010. – T. 9 – № 7 – C.703–711.

122. Fetsko L.A. Alterations in D1/D2 synergism may account for enhanced stereotypy and reduced climbing in mice lacking dopamine D2L receptor / Fetsko L.A., Xu R., Wang Y. // *Brain Research* – 2003. – T. 967 – № 1–2 – C.191–200.

123. Bertolino A. Genetically Determined Measures of Striatal D2 Signaling Predict Prefrontal Activity during Working Memory Performance / Bertolino A., Taurisano P., Pisciotta N.M., Blasi G., Fazio L., Romano R., Gelao B., Bianco L. Lo, Lozupone M., Giorgio A. Di, Caforio G., Sambataro F., Niccoli-Asabella A., Papp A., Ursini G., Sinibaldi L., Popolizio T., Sadee W., Rubini G. // *PLoS ONE* – 2010. – T. 5 – № 2 – C.e9348.

124. Gelao B. DRD2 genotype predicts prefrontal activity during working memory after stimulation of D2 receptors with bromocriptine / Gelao B., Fazio L., Selvaggi P., Giorgio A. Di, Taurisano P., Quarto T., Romano R., Porcelli A., Mancini M., Masellis R., Ursini G., Simeis G. De, Caforio G., Ferranti L., Bianco L. Lo, Rampino A., Todarello O., Popolizio T., Blasi G., Bertolino A. // *Psychopharmacology* – 2014. – T. 231 – № 11 – C.2361–2370.

125. Frank M.J. Genetic contributions to avoidance-based decisions: Striatal D2 receptor polymorphisms / Frank M.J., Hutchison K. // *Neuroscience* – 2009. – T. 164 – № 1 – C.131–140.

126. Quarto T. Interaction between DRD2 variation and sound environment on mood and emotion-related brain activity. / Quarto T., Fasano M.C., Taurisano P., Fazio L., Antonucci L.A., Gelao B., Romano R., Mancini M., Porcelli A., Masellis R., Pallesen K.J., Bertolino A., Blasi G., Brattico E. // *Neuroscience* – 2017. – T. 341 – № November – C.9–17.

127. Blasi G. Functional variation of the dopamine D2 receptor gene is associated with emotional control as well as brain activity and connectivity during emotion processing in humans. / Blasi G., Bianco L. Lo, Taurisano P., Gelao B., Romano R., Fazio L., Papazacharias A., Giorgio A. Di, Caforio G., Rampino A., Masellis R., Papp A., Ursini G., Sinibaldi L., Popolizio T., Sadee W., Bertolino A. // *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* – 2009. – T. 29 – № 47 – C.14812–9.

128. Clarke T.-K. The dopamine receptor D2 (DRD2) SNP rs1076560 is associated with opioid addiction. / Clarke T.-K., Weiss A.R.D., Ferarro T.N., Kampman K.M., Dackis C.A., Pettinati H.M., O'brien C.P., Oslin D.W., Lohoff F.W., Berrettini W.H. // *Annals of human genetics* – 2014. – T. 78 – № 1 – C.33–9.

129. Moyer R.A. Intronic polymorphisms affecting alternative splicing of human dopamine D2 receptor are associated with cocaine abuse. / Moyer R.A., Wang D., Papp A.C., Smith R.M., Duque L., Mash D.C., Sadee W. // *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* – 2011. – T. 36 – № 4 – C.753–62.

130. Levran O. Overlapping dopaminergic pathway genetic susceptibility to heroin and cocaine addictions in African Americans. / Levran O., Randesi M., Rosa J.C. da, Ott J., Rotrosen J., Adelson M., Kreek M.J. // *Annals of human genetics* – 2015. – T. 79 – № 3 – C.188–98.

131. Gao X. Contribution of Genetic Polymorphisms and Haplotypes in DRD2, BDNF, and Opioid Receptors to Heroin Dependence and Endophenotypes Among the Han Chinese. / Gao X., Wang Y., Lang M., Yuan L., Reece A.S., Wang W. // *Omics : a journal of integrative biology* – 2017. – T. 21 – № 7 – C.404–412.

132. Małecka I. Association and family studies of DRD2 gene polymorphisms in alcohol dependence syndrome / Małecka I., Jasiewicz A., Suchanecka A., Samochowiec J., Grzywacz A. // *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* – 2014. – T. 68 – C.1257–1263.

133. Sasabe T. Association analysis of the dopamine receptor D2 (DRD2) SNP rs1076560 in alcoholic patients / Sasabe T., Furukawa A., Matsusita S., Higuchi S., Ishiura S. // *Neuroscience Letters* – 2007. – T. 412 – № 2 – C.139–142.

134. Fatima A. Genome-Wide Supported Risk Variants in *MIR137*, *CACNA1C*, *CSMD1*, *DRD2*, and *GRM3* Contribute to Schizophrenia Susceptibility in Pakistani Population / Fatima A., Farooq M., Abdullah U., Tariq M., Mustafa T., Iqbal M., Tommerup N., Mahmood Baig S. // *Psychiatry Investigation* – 2017. – T. 14 – № 5 – C.687.

135. Cohen O.S. A splicing-regulatory polymorphism in DRD2 disrupts ZRANB2 binding, impairs cognitive functioning and increases risk for schizophrenia in six Han Chinese samples. / Cohen O.S., Weickert T.W., Hess J.L., Paish L.M., McCoy S.Y., Rothmond D.A., Galletly C., Liu D., Weinberg D.D., Huang X.-F., Xu Q., Shen Y., Zhang D., Yue W., Yan J., Wang L., Lu T., He L., Shi Y., Xu M., Che R., Tang W., Chen C.-H., Chang W.-H., Hwu H.-G., Liu C.-M., Liu Y.-L., Wen C.-C., Fann C.S.J., Chang C.-C., Kanazawa T., Middleton F.A., Duncan T.M., Faraone S. V., Weickert C.S., Tsuang M.T., Glatt S.J. // *Molecular psychiatry* – 2016. – T. 21 – № 7 – C.975–82.

136. Taurisano P. Prefronto-striatal physiology is associated with schizotypy and is modulated by a functional variant of DRD2 / Taurisano P., Romano R., Mancini M., Giorgio A. Di, Antonucci L.A., Fazio L., Rampino A., Quarto T., Gelao B., Porcelli A., Papazacharias A., Ursini G., Caforio G., Masellis R., Niccoli-Asabella A., Todarello O., Popolizio T., Rubini G., Blasi G., Bertolino A. // *Frontiers in Behavioral Neuroscience* – 2014. – T. 8 – C.235.

137. Jia J.-M. Age-dependent regulation of synaptic connections by dopamine D2 receptors. / Jia J.-M., Zhao J., Hu Z., Lindberg D., Li Z. // *Nature neuroscience* – 2013. – T. 16 – № 11 – C.1627–36.

138. Money K.M. Developmental origins of brain disorders: roles for dopamine. / Money K.M., Stanwood G.D. // *Frontiers in cellular neuroscience* – 2013. – T. 7 – № December – C.260.

139. Bitanhirwe B.K.Y. Late prenatal immune activation in mice leads to behavioral and neurochemical abnormalities relevant to the negative symptoms of schizophrenia. / Bitanhirwe B.K.Y., Peleg-Raibstein D., Mouttet F., Feldon J., Meyer U. // *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* – 2010. – Т. 35 – № 12 – С.2462–2478.

140. Кетлинский С.А. Цитокины / С. А. Кетлинский, А. С. Симбирцев – Санкт-Петербург: Фолиант, 2008. – 552с.

141. Абрамов В.. Интерлейкин-1 в цитокиновой сети: фундаментальные и прикладные аспекты / Абрамов В., Абрамова Т.Я. // *Успехи современной биологии* – 2007. – Т. 127 – № 6 – С.570–579.

142. Dinarello C.A. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. / Dinarello C.A. // *Annual review of immunology* – 2009. – Т. 27 – С.519–50.

143. O'Neill L.A.J. The IL-1 receptor/toll-like receptor superfamily: Crucial receptors for inflammation and host defense / O'Neill L.A.J., Dinarello C.A. // *Immunology Today* – 2000. – Т. 21 – № 5 – С.206–209.

144. Weber A. Interleukin-1 (IL-1) pathway. / Weber A., Wasiliew P., Kracht M. // *Science signaling* – 2010. – Т. 3 – № 105 – С.cm1.

145. Tsakiri N. Interleukin-1-induced interleukin-6 synthesis is mediated by the neutral sphingomyelinase/Src kinase pathway in neurones. / Tsakiri N., Kimber I., Rothwell N.J., Pinteaux E. // *British journal of pharmacology* – 2008. – Т. 153 – № 4 – С.775–83.

146. Introna M. Inhibition of Interleukin-1 Responsiveness by Type II Receptor or Gene Transfer: a Surface " Receptor " with Anti-interleukin-1 Function By Fabio Re,* Marina Sironi,* Marta Muzio,* Cristian Matteucci,* / Introna M., Orlando S., Penton-rol G., Dower S.K., Sims J.E., Colotta F., Mantovani A. // *Receptor* – 1996. – Т. 183 – № April.

147. Boutin H. The expanding interleukin-1 family and its receptors: do alternative IL-1 receptor/signaling pathways exist in the brain? / Boutin H., Kimber I., Rothwell N., Pinteaux E. // *Molecular Neurobiology* – 2003. – Т. 27 – № 3 – С.239–248.

148. Rothwell N.J. Interleukin 1 in the brain: Biology, pathology and therapeutic target / Rothwell N.J., Luheshi G.N. // *Trends in Neurosciences* – 2000. – Т. 23 – № 12 – С.618–625.

149. Spulber S. Connection between inflammatory processes and transmitter function-Modulatory effects of interleukin-1 / Spulber S., Schultzberg M. // *Progress in Neurobiology* – 2010. – Т. 90 – № 2 – С.256–262.

150. Dantzer R. Cytokine-induced sickness behaviour: A neuroimmune response to activation of innate immunity / Dantzer R. // *European Journal of Pharmacology* – 2004. – Т. 500 – № 1–3 SPEC. ISS. – С.399–411.

151. Зубарева О.Е. Интерлейкин-1 и когнитивные функции мозга / Зубарева О.Е., Клименко В.М. // *Медицинский академический журнал* – 2010. – Т. 10 – № 4 – С.30–44.

152. Watkins L.R. Cytokine-to-brain communication: a review & analysis of alternative mechanisms. / Watkins L.R., Maier S.F., Goehler L.E. // *Life sciences* – 1995. – Т. 57 – № 11 – С.1011–26.

153. Threlkeld S.W. Ovine proinflammatory cytokines cross the murine blood-brain barrier by a common saturable transport mechanism / Threlkeld S.W., Lynch J.L., Lynch K.M., Sadowska G.B., Banks W.A., Stonestreet B.S. // *NeuroImmunoModulation* – 2010. – Т. 17 – № 6 – С.405–410.

154. Laflamme N. An essential role of interleukin-1beta in mediating NF-kappaB activity and COX-2 transcription in cells of the blood-brain barrier in response to a systemic and localized inflammation but not during endotoxemia. / Laflamme N., Lacroix S., Rivest S. // *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* – 1999. – Т. 19 – № 24 – С.10923–10930.

155. Ching S. Endothelial-specific knockdown of interleukin-1 (IL-1) type 1 receptor differentially alters CNS responses to IL-1 depending on its route of administration. / Ching S., Zhang H., Belevych N., He L., Lai W., Pu X., Jaeger L.B., Chen Q., Quan N. // *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* – 2007. – T. 27 – № 39 – C.10476–10486.

156. Ohashi K. Sympathetic nervous responses during cytokine-induced fever in conscious rabbits. / Ohashi K., Saigusa T. // *Pflugers Archiv : European journal of physiology* – 1997. – T. 433 – № 6 – C.691–8.

157. Hansen M.K. Vagotomy blocks the induction of interleukin-1beta (IL-1beta) mRNA in the brain of rats in response to systemic IL-1beta. / Hansen M.K., Taishi P., Chen Z., Krueger J.M. // *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* – 1998. – T. 18 – № 6 – C.2247–2253.

158. Hansen M.K. The contribution of the vagus nerve in interleukin-1beta-induced fever is dependent on dose. / Hansen M.K., O'Connor K.A., Goehler L.E., Watkins L.R., Maier S.F. // *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology* – 2001. – T. 280 – № 4 – C.R929-34.

159. Ek M. Activation of vagal afferents after intravenous injection of interleukin-1beta: role of endogenous prostaglandins. / Ek M., Kurosawa M., Lundeberg T., Ericsson a // *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* – 1998. – T. 18 – № 22 – C.9471–9479.

160. Dantzer R. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. / Dantzer R., O'Connor J.C., Freund G.G., Johnson R.W., Kelley K.W. // *Nature reviews. Neuroscience* – 2008. – T. 9 – № 1 – C.46–56.

161. Berk M. Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: focus on inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors. / Berk M., Kapczinski F., Andreazza a C., Dean O.M., Giorlando F., Maes M., Yücel M., Gama C.S., Dodd S., Dean B., Magalhães P.V.S., Amminger P., McGorry P., Malhi G.S. // *Neuroscience and biobehavioral reviews* – 2011. – T. 35 – № 3 – C.804–17.

162. Spulber S. Impaired long term memory consolidation in transgenic mice overexpressing the human soluble form of IL-1ra in the brain / Spulber S., Mateos L., Oprica M., Cedazo-Minguez A., Bartfai T., Winblad B., Schultzberg M. // *Journal of Neuroimmunology* – 2009. – Т. 208 – № 1–2 – С.46–53.

163. Gibertini M. Spatial learning impairment in mice infected with *Legionella pneumophila* or administered exogenous interleukin-1-beta. / Gibertini M., Newton C., Friedman H., Klein T.W. // *Brain, behavior, and immunity* – 1995. – Т. 9 – № 2 – С.113–28.

164. Moore A.H. Sustained expression of interleukin-1?? in mouse hippocampus impairs spatial memory / Moore A.H., Wu M., Shaftel S.S., Graham K.A., O'Banion M.K. // *Neuroscience* – 2009. – Т. 164 – № 4 – С.1484–1495.

165. Maier S.F. Intracerebroventricular interleukin-1 receptor antagonist blocks the enhancement of fear conditioning and interference with escape produced by inescapable shock / Maier S.F., Watkins L.R. // *Brain Research* – 1995. – Т. 695 – № 2 – С.279–282.

166. Spadaro F. Intracerebroventricular administration of interleukin-1 to mice alters investigation of stimuli in a novel environment. / Spadaro F., Dunn A.J. // *Brain, behavior, and immunity* – 1990. – Т. 4 – № 4 – С.308–22.

167. Зубарева О.Е. Интерлейкин-1 и депрессивные состояния / Зубарева О.Е., Ефремов О.М., Симбирцев, А.С., Клименко В.М. // *Физиологический журнал им. И.М. Сеченова* – 2001. – Т. 87 – № 10 – С.1450–1456.

168. Takao T. Interleukin-1 receptors in mouse brain: Characterization and neuronal localization / Takao T., Tracey D.E., Mark Mitchell W., Souza E.B. de // *Endocrinology* – 1990. – Т. 127 – № 6 – С.3070–3078.

169. Yirmiya R. Immune modulation of learning, memory, neural plasticity and neurogenesis / Yirmiya R., Goshen I. // *Brain, Behavior, and Immunity* – 2011. – Т. 25 – № 2 – С.181–213.

170. Vereker E. The inhibitory effect of interleukin-1beta on long-term potentiation is coupled with increased activity of stress-activated protein kinases. / Vereker E., O'Donnell E., Lynch M.A. // *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience* – 2000. – T. 20 – № 18 – C.6811–9.

171. Song C. Acute and subacute IL-1 β administrations differentially modulate neuroimmune and neurotrophic systems: possible implications for neuroprotection and neurodegeneration / Song C., Zhang Y., Dong Y. // *Journal of neuroinflammation* – 2013. – T. 10 – C.59.

172. Cunha C. A simple role for BDNF in learning and memory? / Cunha C., Brambilla R., Thomas K.L. // *Frontiers in molecular neuroscience* – 2010. – T. 3 – № February – C.1.

173. Barrientos R.M. BDNF mRNA expression in rat hippocampus following contextual learning is blocked by intrahippocampal IL-1beta administration. / Barrientos R.M., Sprunger D.B., Campeau S., Watkins L.R., Rudy J.W., Maier S.F. // *Journal of neuroimmunology* – 2004. – T. 155 – № 1–2 – C.119–26.

174. Barrientos R.M. Brain-derived neurotrophic factor mRNA downregulation produced by social isolation is blocked by intrahippocampal interleukin-1 receptor antagonist / Barrientos R.M., Sprunger D.B., Campeau S., Higgins E.A., Watkins L.R., Rudy J.W., Maier S.F. // *Neuroscience* – 2003. – T. 121 – № 4 – C.847–853.

175. Goshen I. Interleukin-1 (IL-1): A central regulator of stress responses / Goshen I., Yirmiya R. // *Frontiers in Neuroendocrinology* – 2009. – T. 30 – № 1 – C.30–45.

176. Dunn A.J. Endotoxin-induced activation of cerebral catecholamine and serotonin metabolism: comparison with interleukin-1. / Dunn A.J. // *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* – 1992. – T. 261 – № 3 – C.964–9.

177. Dunn A. Nitric-Oxide Synthase Inhibitors Prevent the Cerebral Tryptophan and Serotonergic Responses to Endotoxin and Interleukin-1 / Dunn A. // *Neuroscience Research Communications* – 1993. – T. 13 – № 3 – C.149–156.

178. Dunn A.J. Effects of cytokines and infections on brain neurochemistry. / Dunn A.J. // *Clinical neuroscience research* – 2006. – T. 6 – № 1–2 – C.52–68.

179. Lai A.Y. Interleukin-1 beta modulates AMPA receptor expression and phosphorylation in hippocampal neurons. / Lai A.Y., Swayze R.D., El-Husseini A., Song C. // *Journal of neuroimmunology* – 2006. – T. 175 – № 1–2 – C.97–106.

180. Spulber S. Morphological and behavioral changes induced by transgenic overexpression of interleukin-1ra in the brain / Spulber S., Bartfai T., Winblad B., Schultzberg M. // *Journal of Neuroscience Research* – 2011. – T. 89 – № 2 – C.142–152.

181. Bilbo S.D. Early-life programming of later-life brain and behavior: a critical role for the immune system. / Bilbo S.D., Schwarz J.M. // *Frontiers in behavioral neuroscience* – 2009. – T. 3 – № August – C.14.

182. Bilbo S.D. A lifespan approach to neuroinflammatory and cognitive disorders: A critical role for glia / Bilbo S.D., Smith S.H., Schwarz J.M. // *Journal of Neuroimmune Pharmacology* – 2012. – T. 7 – № 1 – C.24–41.

183. Parish C.L. The role of interleukin-1, interleukin-6, and glia in inducing growth of neuronal terminal arbors in mice. / Parish C.L., Finkelstein D.I., Tripanichkul W., Satoskar A.R., Drago J., Horne M.K. // *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience* – 2002. – T. 22 – № 18 – C.8034–8041.

184. Fan L.W. Interleukin-1 α -induced brain injury and neurobehavioral dysfunctions in juvenile rats can be attenuated by α -phenyl-n-tert-butyl-nitrone / Fan L.W., Tien L.T., Zheng B., Pang Y., Rhodes P.G., Cai Z. // *Neuroscience* – 2010. – T. 168 – № 1 – C.240–252.

185. Gilmore J.H. Prenatal infection and risk for schizophrenia: IL-1 β , IL-6, and TNF α inhibit cortical neuron dendrite development / Gilmore J.H., Jarskog L.F., Vadlamudi S., Lauder J.M. // *Neuropsychopharmacology* – 2004. – T. 29 – № 7 – C.1221–1229.

186. Mazarati A.M. Neurobehavioral comorbidities of epilepsy: Role of inflammation / Mazarati A.M., Lewis M.L., Pittman Q.J. // *Epilepsia* – 2017. – T. 58 – C.48–56.

187. Meyer U. A review of the fetal brain cytokine imbalance hypothesis of schizophrenia / Meyer U., Feldon J., Yee B.K. // *Schizophrenia Bulletin* – 2009. – T. 35 – № 5 – C.959–972.

188. Tohmi M. The cellular and behavioral consequences of interleukin-1 alpha penetration through the blood-brain barrier of neonatal rats: a critical period for efficacy. / Tohmi M., Tsuda N., Zheng Y., Mizuno M., Sotoyama H., Shibuya M., Kawamura M., Kakita A., Takahashi H., Nawa H. // *Neuroscience* – 2007. – T. 150 – № 1 – C.234–50.

189. Walker A.K. Neonatal lipopolysaccharide exposure alters central cytokine responses to stress in adulthood in Wistar rats / Walker A.K., Nakamura T., Hodgson D.M. // *Stress* – 2010. – T. 13 – № 6 – C.506–515.

190. Tishkina A. Neonatal proinflammatory challenge in male Wistar rats: Effects on behavior, synaptic plasticity, and adrenocortical stress response / Tishkina A., Stepanichev M., Kudryashova I., Freiman S., Onufriev M., Lazareva N., Gulyaeva N. // *Behavioural Brain Research* – 2016. – T. 304 – C.1–10.

191. Giulian D. Interleukin-1 injected into mammalian brain stimulates astrogliosis and neovascularization. / Giulian D., Woodward J., Young D.G., Krebs J.F., Lachman L.B. // *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience* – 1988. – T. 8 – № 7 – C.2485–2490.

192. Striedinger K. Interleukin-1beta affects calcium signaling and in vitro cell migration of astrocyte progenitors. / Striedinger K., Scemes E. // *Journal of neuroimmunology* – 2008. – T. 196 – № 1–2 – C.116–23.

193. Cai Z. Brain Injury Induced by Intracerebral Injection of Interleukin-1beta and Tumor Necrosis Factor-alpha in the Neonatal Rat / Cai Z., Lin S., Pang Y., Rhodes P.G.

194. Schwarz J.M. Sex differences in microglial colonization of the developing rat brain / Schwarz J.M., Sholar P.W., Bilbo S.D. // *Journal of Neurochemistry* – 2012. – T. 120 – № 6 – C.948–963.

195. Wang S. Dopaminergic and serotonergic deficiencies in young adult rats prenatally exposed to the bacterial lipopolysaccharide / Wang S., Yan J.Y., Lo Y.K., Carvey P.M., Ling Z. // *Brain Research* – 2009. – T. 1265 – C.196–204.

196. Zhang K. Interleukin-1 β inhibits the differentiation of hippocampal neural precursor cells into serotonergic neurons / Zhang K., Xu H., Cao L., Li K., Huang Q. // *Brain Research* – 2013. – T. 1490 – C.193–201.

197. Klein R. Role of neurotrophins in mouse neuronal development. / Klein R. // *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* – 1994. – T. 8 – № 10 – C.738–44.

198. Rage F. IL-1 α regulation of BDNF expression in rat cultured hypothalamic neurons depends on the presence of glial cells / Rage F., Silhol M., Tapia-Arancibia L. // *Neurochemistry International* – 2006. – T. 49 – № 5 – C.433–441.

199. Akaneya Y. Interleukin-1 β enhances survival and interleukin-6 protects against MPP⁺ neurotoxicity in cultures of fetal rat dopaminergic neurons // *Exp. Neurol.* – 1995. – T. 136. – № 1. – 44–52c.

200. Carvey P.M. A clonal line of mesencephalic progenitor cells converted to dopamine neurons by hematopoietic cytokines: A source of cells for transplantation in Parkinson's disease / Carvey P.M., Ling Z.D., Sortwell C.E., Pitzer M.R., McGuire S.O., Storch A., Collier T.J. // *Experimental Neurology* – 2001. – T. 171 – № 1 – C.98–108.

201. Ho A. Induction of interleukin-1 associated with compensatory dopaminergic sprouting in the denervated striatum of young mice: model of aging and neurodegenerative disease. / Ho A., Blum M. // *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience* – 1998. – T. 18 – № 15 – C.5614–29.

202. Seeman P. All Roads to Schizophrenia Lead to Dopamine Supersensitivity and Elevated Dopamine D₂ High Receptors / Seeman P. // *CNS Neuroscience and Therapeutics* – 2011. – T. 17 – № 2 – C.118–132.

203. Leal M.C. Interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α : reliable targets for protective therapies in Parkinson's Disease? / Leal M.C., Casabona J.C., Puntel M., Pitossi F.J. // *Frontiers in cellular neuroscience* – 2013. – T. 7 – № April – C.53.

204. Rao J.S. Increased excitotoxicity and neuroinflammatory markers in postmortem frontal cortex from bipolar disorder patients / Rao J.S., Harry G.J., Rapoport S.I., Kim H.W. // *Molecular Psychiatry* – 2010. – T. 15 – № 4 – C.384–392.

205. Bufalino C. The role of immune genes in the association between depression and inflammation: A review of recent clinical studies / Bufalino C., Hepgul N., Aguglia E., Pariante C.M. // *Brain, Behavior, and Immunity* – 2013. – T. 31 – C.31–47.

206. Diehl D.J. The role of dopamine in mood disorders. / Diehl D.J., Gershon S. // *Comprehensive psychiatry* – 1992. – T. 33 – № 2 – C.115–20.

207. McGeer P.L. Inflammation and neurodegeneration in Parkinson's disease / McGeer P.L., McGeer E.G. // *Parkinsonism and Related Disorders* – 2004. – T. 10 – № SUPPL. 1 – C.3–7.

208. Pott Godoy C. Central and systemic IL-1 exacerbates neurodegeneration and motor symptoms in a model of Parkinson's disease / Pott Godoy C., Rodolfo Tarelli Æ., Carina Cintia Ferrari Æ., Ine M., Juan Pitossi F., Pitossi F., Leloir I.

209. Klug M. 'Two Hit' Neurodevelopmental Mechanisms in Schizophrenia: Focus on Animal Models and the Role of BDNF Cham: Springer International Publishing, 2015. – 335–351c.

210. Maynard T.M. Neural development, cell-cell signaling, and the "two-hit" hypothesis of schizophrenia. / Maynard T.M., Sikich L., Lieberman J. a, LaMantia a S. // *Schizophrenia bulletin* – 2001. – T. 27 – № 3 – C.457–76.

211. Karam C.S. Signaling pathways in schizophrenia: emerging targets and therapeutic strategies. / Karam C.S., Ballon J.S., Bivens N.M., Freyberg Z., Girgis R.R., Lizardi-Ortiz J.E., Markx S., Lieberman J. a, Javitch J. a // *Trends in pharmacological sciences* – 2010. – T. 31 – № 8 – C.381–90.

212. Iversen S.D. Dopamine: 50 years in perspective. / Iversen S.D., Iversen L.L. // *Trends in neurosciences* – 2007. – T. 30 – № 5 – C.188–93.

213. Eyles D. Schizophrenia: do all roads lead to dopamine or is this where they start? Evidence from two epidemiologically informed developmental rodent models / Eyles D., Feldon J., Meyer U. // *Translational Psychiatry* – 2012. – T. 2 – № 2 – C.e81.

214. Leyton M. Dopamine ups and downs in vulnerability to addictions: A neurodevelopmental model / Leyton M., Vezina P. // *Trends in Pharmacological Sciences* – 2014. – T. 35 – № 6 – C.268–276.

215. Nguyen M. Decoding the contribution of dopaminergic genes and pathways to autism spectrum disorder (ASD) / Nguyen M., Roth A., Kyzar E.J., Poudel M.K., Wong K., Stewart A.M., Kalueff A. V. // *Neurochemistry International* – 2014. – T. 66 – № 1 – C.15–26.

216. Fan L.-W. Neonatal exposure to lipopolysaccharide enhances vulnerability of nigrostriatal dopaminergic neurons to rotenone neurotoxicity in later life. / Fan L.-W., Tien L.-T., Lin R.C.S., Simpson K.L., Rhodes P.G., Cai Z. // *Neurobiology of disease* – 2011. – T. 44 – № 3 – C.304–16.

217. Feleder C. Neonatal intrahippocampal immune challenge alters dopamine modulation of prefrontal cortical interneurons in adult rats. / Feleder C., Tseng K.Y., Calhoun G.G., O'Donnell P. // *Biological psychiatry* – 2010. – T. 67 – № 4 – C.386–92.

218. Papaioannou A. Effects of neonatal handling on basal and stress-induced monoamine levels in the male and female rat brain / Papaioannou A., Dafni U., Alikaridis F., Bolaris S., Stylianopoulou F. // *Neuroscience* – 2002. – T. 114 – № 1 – C.195–206.

219. Bilbo S.D. Differential effects of neonatal handling on early life infection-induced alterations in cognition in adulthood / Bilbo S.D., Newsom N.J., Sprunger D.B., Watkins L.R., Rudy J.W., Maier S.F. // *Brain, Behavior, and Immunity* – 2007. – T. 21 – № 3 – C.332–342.

220. Rodrigues A.-J. Potential programming of dopaminergic circuits by early life stress. / Rodrigues A.-J., Leão P., Carvalho M., Almeida O.F.X., Sousa N. // *Psychopharmacology* – 2011. – T. 214 – № 1 – C.107–20.

221. Sarter M. Attenuation of scopolamine-induced impairment of spontaneous alteration behaviour by antagonist but not inverse agonist and agonist beta-carbolines. / Sarter M., Bodewitz G., Stephens D.N. // *Psychopharmacology* – 1988. – T. 94 – № 4 – C.491–5.

222. Rodriguiz R.M. Assessments of Cognitive Deficits in Mutant Mice CRC Press/Taylor & Francis, 2006.

223. Ребриков Д.В. ПЦР в реальном времени [Электронный ресурс] // Д. В. Ребриков, Г. А. Саматов, Д. Ю. Трофимов, П. А. Семёнов, А. М. Савилова, И. А. Кофиади, Д. Д. Абрамов / под ред. Д.В. Ребриков. – М.: БИНОМ. Лоратория знаний, 2013. Вып. 4–е изд. (– 223с.

224. Paxinos G. The rat brain in stereotaxic coordinates / G. Paxinos, C. Watson – Elsevier/Academic, 2009.

225. Malkin S.L. Changes of ampa receptor properties in the neocortex and hippocampus following pilocarpine-induced status epilepticus in rats / Malkin S.L., Amakhin D. V., Veniaminova E.A., Kim K.K., Zubareva O.E., Magazanik L.G., Zaitsev A. V. // Neuroscience – 2016. – Т. 327 – С.146–155.

226. Lin W. Taste receptor cells express pH-sensitive leak K⁺ channels. / Lin W., Burks C.A., Hansen D.R., Kinnamon S.C., Gilbertson T.A. // Journal of neurophysiology – 2004. – Т. 92 – № 5 – С.2909–19.

227. Yamaguchi M. Soybean oil fat emulsion prevents cytochrome P450 mRNA down-regulation induced by fat-free overdose total parenteral nutrition in infant rats / Yamaguchi M., Yamauchi A., Nishimura M., Ueda N., Naito S. // Biol Pharm Bull – 2005. – Т. 28 – № 1 – С.143–147.

228. Koressaar T. Enhancements and modifications of primer design program Primer3 / Koressaar T., Remm M. // Bioinformatics – 2007. – Т. 23 – № 10 – С.1289–1291.

229. Schwarz A.P. Prefrontal mRNA expression of long and short isoforms of D2 dopamine receptor: Possible role in delayed learning deficit caused by early life interleukin-1 β treatment. / Schwarz A.P., Trofimov A.N., Zubareva O.E., Lioudyno V.I., Kosheverova V. V., Ischenko A.M., Klimenko V.M. // Behavioural brain research – 2017. – Т. 333 – № June – С.118–122.

230. Livak K.J. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. / Livak K.J., Schmittgen T.D. // Methods (San Diego, Calif.) – 2001. – Т. 25 – № 4 – С.402–8.

231. Vandesompele J. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. / Vandesompele J., Preter K. De, Pattyn F., Poppe B., Roy N. Van, Paepe A. De, Speleman F. // *Genome biology* – 2002. – T. 3 – № 7 – C.RESEARCH0034.

232. Barendse E.M. Working memory network alterations in high-functioning adolescents with an autism spectrum disorder / Barendse E.M., Schreuder L.J., Thoonen G., Hendriks M.P.H., Kessels R.P.C., Backes W.H., Aldenkamp A.P., Jansen J.F.A. // *Psychiatry and Clinical Neurosciences* – 2018. – T. 72 – № 2 – C.73–83.

233. Zubareva O.E. Increases in proinflammatory cytokine levels at early ages as a risk factor for the development of nervous and mental pathology / Zubareva O.E., Klimenko V.M. // *Neuroscience and Behavioral Physiology* – 2013. – T. 43 – № 4 – C.535–541.

234. Rothmond D.A. Developmental changes in human dopamine neurotransmission: cortical receptors and terminators. / Rothmond D.A., Weickert C.S., Webster M.J. // *BMC neuroscience* – 2012. – T. 13 – № 1 – C.18.

235. Ahmadiantehrani S. Dopamine D2 receptor activation leads to an up-regulation of glial cell line-derived neurotrophic factor via G β γ -Erk1/2-dependent induction of Zif268. / Ahmadiantehrani S., Ron D. // *Journal of neurochemistry* – 2013. – T. 125 – № 2 – C.193–204.

236. Paratcha G. GDNF and GFR α : a versatile molecular complex for developing neurons. / Paratcha G., Ledda F. // *Trends in neurosciences* – 2008. – T. 31 – № 8 – C.384–91.

237. Ma L. Interleukin-1 beta guides the migration of cortical neurons / Ma L., Li X., Zhang S., Yang F., Zhu G., Yuan X., Jiang W. // *Journal of Neuroinflammation* – 2014. – T. 11 – № 1 – C.114.

238. Nolan A.M. IL-1 β inhibits axonal growth of developing sympathetic neurons. / Nolan A.M., Nolan Y.M., O’Keeffe G.W. // *Molecular and cellular neurosciences* – 2011. – T. 48 – № 2 – C.142–50.

239. Boato F. Interleukin-1 beta and neurotrophin-3 synergistically promote neurite growth in vitro. / Boato F., Hechler D., Rosenberger K., Lüdecke D., Peters E.M., Nitsch R., Hendrix S. // *Journal of neuroinflammation* – 2011. – T. 8 – № 1 – C.183.

240. Xie D. IL-1 β induces hypomyelination in the periventricular white matter through inhibition of oligodendrocyte progenitor cell maturation via FYN/MEK/ERK signaling pathway in septic neonatal rats / Xie D., Shen F., He S., Chen M., Han Q., Fang M., Zeng H., Chen C., Deng Y. // *Glia* – 2016. – T. 64 – № 4 – C.583–602.

241. Giulian D. Interleukin-1 is an astroglial growth factor in the developing brain. / Giulian D., Young D.G., Woodward J., Brown D.C., Lachman L.B. // *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* – 1988. – T. 8 – № 2 – C.709–714.

242. Crampton S.J. Exposure of foetal neural progenitor cells to IL-1 β impairs their proliferation and alters their differentiation - a role for maternal inflammation? / Crampton S.J., Collins L.M., Toulouse A., Nolan Y.M., O’Keeffe G.W. // *Journal of Neurochemistry* – 2012. – T. 120 – № 6 – C.no-no.

243. Song C. Interleukin 1 beta enhances conditioned fear memory in rats: possible involvement of glucocorticoids. / Song C., Phillips A.G., Leonard B. // *The European journal of neuroscience* – 2003. – T. 18 – № 7 – C.1739–43.

244. Saavedra A. Interleukin-1 β mediates GDNF up-regulation upon dopaminergic injury in ventral midbrain cell cultures / Saavedra A., Baltazar G., Duarte E.P. // *Neurobiology of Disease* – 2007. – T. 25 – № 1 – C.92–104.

245. Tong L. Interleukin-1 beta impairs brain derived neurotrophic factor-induced signal transduction. / Tong L., Balazs R., Soiampornkul R., Thangnipon W., Cotman C.W. // *Neurobiology of aging* – 2008. – T. 29 – № 9 – C.1380–93.

246. Tong L. Brain-derived neurotrophic factor-dependent synaptic plasticity is suppressed by interleukin-1 β via p38 mitogen-activated protein kinase. / Tong L., Prieto G.A., Kramár E.A., Smith E.D., Cribbs D.H., Lynch G., Cotman C.W. // *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* – 2012. – T. 32 – № 49 – C.17714–24.

247. Krieglstein K. Factors promoting survival of mesencephalic dopaminergic neurons. / Krieglstein K. // Cell and tissue research – 2004. – T. 318 – № 1 – C.73–80.

248. Saavedra A. Driving GDNF expression: the green and the red traffic lights. / Saavedra A., Baltazar G., Duarte E.P. // Progress in neurobiology – 2008. – T. 86 – № 3 – C.186–215.

249. Centonze D. Differential contribution of dopamine D2S and D2L receptors in the modulation of glutamate and GABA transmission in the striatum / Centonze D., Gubellini P., Usiello A., Rossi S., Tscherter A., Bracci E., Erbs E., Tognazzi N., Bernardi G., Pisani A., Calabresi P., Borrelli E. // Neuroscience – 2004. – T. 129 – № 1 – C.157–166.

250. Centonze D. Chronic haloperidol promotes corticostriatal long-term potentiation by targeting dopamine D2L receptors. / Centonze D., Usiello A., Costa C., Picconi B., Erbs E., Bernardi G., Borrelli E., Calabresi P. // The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience – 2004. – T. 24 – № 38 – C.8214–22.

251. Schneider M. Adolescence as a vulnerable period to alter rodent behavior / Schneider M. // Cell and Tissue Research – 2013. – T. 354 – № 1 – C.99–106.

252. Pakdel R. Microinjections of the dopamine D2 receptor antagonist sulpiride into the medial prefrontal cortex attenuate glucocorticoid-induced impairment of long-term memory retrieval in rats / Pakdel R., Rashidy-Pour A. // Neurobiology of Learning and Memory – 2007. – T. 87 – № 3 – C.385–390.