

**ТРОФИМОВ**

**Александр Николаевич**

**ВЛИЯНИЕ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ФАКТОРОВ В РАННЕМ ПЕРИОДЕ  
ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА НА КОГНИТИВНЫЕ ФУНКЦИИ  
И ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТИ**

03.03.01 – Физиология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание учёной степени  
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург

2018



## ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность исследования.** Нарушения развития центральной нервной системы (ЦНС) в раннем детском возрасте, вызываемые различными видами перинатальной патологии, такими как инфекционные заболевания, травмы, гипоксические повреждения мозга, часто ведут к развитию когнитивных дисфункций мозга в подростковом и зрелом возрасте. При этом ключевыми молекулярными факторами, нарушающими развитие мозга, являются провоспалительные цитокины, в частности, интерлейкин (ИЛ)-1 $\beta$ , ИЛ-6, фактор некроза опухоли (ФНО), активно продуцируемые клетками иммунной и нервной систем (Tohmi *et al.*, 2007; Fatemi, Wilson and Johnston, 2009; Онуфриев *и др.*, 2017). Такие нарушения сложно поддаются терапевтической коррекции в зрелом возрасте, поэтому представляется необходимым изучение молекулярных механизмов, лежащих в их основе.

Одной из наиболее используемых моделей для изучения влияния различных видов перинатальной патологии на развитие ЦНС в раннем постнатальном периоде является модель введения липополисахарида (ЛПС), компонента клеточной стенки грамотрицательных бактерий и индуктора синтеза провоспалительных цитокинов, в критические периоды раннего онтогенеза – этапы развития ЦНС, наиболее чувствительные к действиям цитокинов. Известно, что введения как цитокинов, так и ЛПС, в пренатальном и раннем постнатальном периоде развития приводят к нарушению процессов нейропластичности – адаптивной реакции нервной системы на изменения окружающей среды, заключающейся в морфофункциональных перестройках ЦНС (Tishkina *et al.*, 2016; Гуляева, 2017; Monte *et al.*, 2017).

Основным механизмом повреждающего действия ЛПС является повышение продукции провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО. Роль каждого из них в индукции когнитивного дефицита недостаточно изучена. Лишь немногие работы посвящены изучению влияния отдельных провоспалительных цитокинов на развитие ЦНС. Показано негативное действие умеренного повышения уровня провоспалительных цитокинов в раннем онтогенезе не только на развитие ЦНС, но и на когнитивную деятельность взрослых животных, в том числе в исследованиях, проведённых ранее в Физиологическом отделе им. И. П. Павлова (Samuelsson *et al.*, 2006; Tohmi *et al.*, 2007; Зубарева *и др.*, 2011), при этом отмечается, что наиболее чувствительными периодами к действию провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-1 $\beta$  и ФНО, являются 1-я и 3-я недели постнатального развития: введение данных цитокинов приводит к отдалённым, проявляющимся в подростковом и половозрелом возрасте, моторным (более выражены при введении в течение 1-й недели) и когнитивным (более выражены при введении в течение 3-й недели) нарушениям (Зубарева *и др.*, 2005). Однако молекулярно-клеточные механизмы действия провоспалительных цитокинов на развивающийся мозг требуют изучения.

Среди механизмов влияния провоспалительных цитокинов на развитие мозга во многих работах рассматриваются нарушения функционирования нейромедиаторных систем мозга (Harré *et al.*, 2008; Choy, de Visser and van den Buuse, 2009; Schwarz *et al.*, 2017), нарушения нейроглиальных взаимодействий (Mosser *et al.*, 2017; Paolicelli and Ferretti, 2017), а также изменение экспрессии генов, вовлечённых в регуляцию процессов нейропластичности. При этом наибольшего внимания исследователей традиционно заслуживают ростовые факторы, такие как BDNF, IGF-1 и прочие (Bilbo and Schwarz, 2009; Williamson and Bilbo, 2014; Tronson and Collette, 2017). Однако роль ряда других генов нейропластичности, экспрессия которых может изменяться в ответ на действие воспалительных факторов, изучена хуже. В частности, в рамках данной работы изучен характер изменения экспрессии генов, кодирующих белки MMP9 (матриксная металлопротеиназа), TIMP1 (тканевой ингибитор металлопротеиназ), дисбиндин-1, GAP43 (нейромодулин) и нейрегулин-1, которые вовлечены в процессы созревания ЦНС и регуляции нейропластичности, а уровень экспрессии кодирующих их генов изменяется при развитии мозговой патологии, в том числе и в результате воздействия провоспалительных цитокинов (Jourquin *et al.*, 2005; Okulski *et al.*, 2007; Zhao *et al.*, 2007; Rybakowski *et al.*, 2009; Talbot *et al.*, 2009; Wedenoja *et al.*, 2010; Grasselli *et al.*, 2011; Berretta, 2012; Terwisscha van Scheltinga *et al.*, 2013).

Белки MMP9 и TIMP1 являются компонентами внеклеточного матрикса, регулирующими состав и функционирование молекул, находящихся во внеклеточном пространстве и на поверхности клеток, в процессе развития мозга, а также при структурно-функциональных перестройках ЦНС в зрелом возрасте в норме и при патологии (Vafadari, Salamian and Kaczmarek, 2016). Внеклеточный белок нейрегулин-1 является лигандом рецепторов ERBB. Активируемые ими клеточные молекулярные каскады играют ключевую роль в формировании нейронных контактов в раннем и зрелом возрасте (Mei and Nave, 2014). Цитоплазматические белки дисбиндин-1 и нейромодулин GAP43 отвечают за регуляцию везикулярного транспорта к пресинаптическим терминалям (Jentsch *et al.*, 2009) и роста отростков за счёт взаимодействия с белками цитоскелета (Holahan, 2015).

Таким образом, выбранные для изучения гены вовлечены в регуляцию процессов нейропластичности на различных уровнях структурно-функциональной организации ЦНС. При этом нарушение работы любого из этих белков как в раннем возрасте, так и в зрелом мозге может быть связано с формированием мозговой патологии. Учитывая вышесказанное, исследование механизмов формирования когнитивных дисфункций в ответ на действие провоспалительных факторов в раннем периоде онтогенеза может быть перспективным для поиска методов коррекции нервно-психических расстройств, вызываемых неблагоприятными факторами в перинатальный период.

**Цель исследования:** изучить влияние повышенного уровня провоспалительного цитокина интерлейкина-1 $\beta$  и индуктора его синтеза бактериального липополисахарида в раннем постнатальном онтогенезе на когнитивные функции и экспрессию генов, вовлечённых в регуляцию нейропластичности, у крыс разного возраста.

**Задачи:**

- 1) исследовать особенности ориентировочно-исследовательского поведения у крыс пубертатного возраста, которым вводили ИЛ-1 $\beta$  либо бактериальный ЛПС в течение 3-й недели жизни;
- 2) охарактеризовать влияние неонатальных введений изучаемых провоспалительных факторов на способность взрослых крыс к пространственному обучению и формированию условного рефлекса активного избегания;
- 3) изучить особенности экспрессии генов, вовлечённых в регуляцию мозговых механизмов нейропластичности (*Mmp9*, *Timp1*, *Dtnbp1*, *Gap43* и *Nrg1*) в медиальной префронтальной коре, дорзальной и вентральной областях гиппокампа у не подвергавшихся когнитивной нагрузке животных разного возраста, которым в раннем постнатальном онтогенезе вводили ИЛ-1 $\beta$  либо ЛПС;
- 4) выявить особенности экспрессии генов *Mmp9*, *Timp1*, *Dtnbp1*, *Gap43* и *Nrg1* в клетках мозга при различных видах обучения у взрослых животных, которым вводили ИЛ-1 $\beta$  либо ЛПС в течение 3-й недели жизни;
- 5) сопоставить эффекты экспериментального повышения уровня ИЛ-1 $\beta$  и ЛПС в раннем возрасте на формирование исследованных когнитивных функций.

**Научная новизна.** Показано, что курсовое введение крысам ЛПС в умеренно-пирогенной дозе в течение 3-й недели жизни вызывает отставленные нарушения когнитивных функций: снижение исследовательского и усиление тревожно-подобного поведения в подростковом возрасте, а также ухудшение формирования рефлекса активного избегания и пространственного обучения в половозрелом возрасте. Данная модель сопоставлена с ранее предложенной моделью хронических введений интерлейкина-1 $\beta$  в аналогичный период развития в сопоставимых по физиологическому действию дозах: поведенческие нарушения, вызываемые введениями ЛПС, подобны вызываемым ИЛ-1 $\beta$  (Зубарева *и др.*, 2011).

Впервые проведён анализ уровней экспрессии генов *Mmp9*, *Timp1*, *Dtnbp1*, *Gap43* и *Nrg1*, вовлечённых в регуляцию созревания ЦНС и процессы нейропластичности взрослого мозга, в медиальной префронтальной коре и гиппокампе – структурах мозга, ответственных за реализацию когнитивных функций, – непосредственно после введения провоспалительных факторов в раннем возрасте, а также отставленно, в мозге взрослых крыс, в условиях различной когнитивной нагрузки. Выявлено, что наиболее подверженной влиянию провоспалительных факторов в раннем возрасте оказывается система внеклеточных протеиназ: уровни

экспрессии генов *Mmp9* и *Timp1*, кодирующих матриксную металлопротеиназу и её тканевой ингибитор, изменяются как после введения ИЛ-1 $\beta$  так и ЛПС, а после введений ЛПС нарушение работы данной системы сохраняется и в зрелом мозге при отсутствии когнитивной нагрузки. После предъявления когнитивной нагрузки уровни экспрессии данных генов в структурах мозга животных, которым в раннем возрасте вводили ИЛ-1 $\beta$  и ЛПС, не отличаются от таковых после введения апириногенного физиологического раствора. Это свидетельствует о том, что предъявление когнитивной нагрузки может быть многообещающим подходом для коррекции нарушений работы протеолитической системы мозга после раннего воспалительного процесса, вызываемого системным повышением уровня ЛПС.

Выявленные различия реакции ЦНС в отношении экспрессии генов *Dtnbp1*, *Gap43* и *Nrg1* в используемых экспериментальных моделях открывают перспективы для дальнейшего изучения функций также и этих генов.

**Научно-практическое значение.** Результаты работы позволяют прояснить нераскрытые ранее молекулярно-клеточные механизмы формирования когнитивных дисфункций в зрелом возрасте, вызываемых повышениями уровня провоспалительных факторов в раннем периоде постнатального развития. Выявлены мишени, воздействуя на которые возможно скорректировать негативное влияние повреждающих факторов, таких как мозговая ишемия, гипоксия, родовые травмы, инфекционные заболевания и т. д., действующих в перинатальный период развития ЦНС, предотвращая формирование когнитивных нарушений.

Полученные данные могут быть использованы для преподавания курсов нейробиологии, патофизиологии, биохимии психических и нервных болезней, биохимии развивающегося мозга, молекулярной физиологии.

**Методология и методы исследования.** Работа носит экспериментальный характер, выполнена на крысах Wistar, включает тестирование ориентировочно-исследовательского поведения, когнитивных функций, молекулярно-биологические методы анализа уровня экспрессии генов.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Действие умеренно пирогенных доз ИЛ-1 $\beta$  или ЛПС в раннем возрасте вызывает нарушение когнитивных функций: изменение ориентировочно-исследовательского поведения в подростковом возрасте, условнорефлекторной деятельности и пространственного обучения в зрелом возрасте.
2. В ответ на действие провоспалительных факторов в раннем возрасте наиболее выраженные изменения профиля экспрессии (среди изученных генов) характерны для генов протеолитической системы внеклеточного матрикса *Mmp9*, *Timp1*, причём действие ЛПС в отношении данных мишеней носит долговременный характер.

**Апробация результатов.** Результаты работы представлены на 17 конференциях с устными и стендовыми докладами, а также с устными докладами представлены для обсуждения в Лаборатории трансляционной нейронауки, руководимой профессором К.-П. Лешем (Университетская клиника Вюрцбурга, Германия, 2014), и профессору Г. Штайнбушу, директору европейских школ нейронаук MHeNS и EURON (Университет Маастрихта, Нидерланды, 2015), и неоднократно обсуждались на научных заседаниях «Павловские среды» Физиологического отдела им. И. П. Павлова ФГБНУ «ИЭМ».

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 36 печатных работ, из них 3 – в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ.

**Личный вклад автора.** Эксперименты выполнены лично автором или при его участии. Данные статистически обработаны и проанализированы лично автором. Все публикации готовились при непосредственном участии автора.

**Структура и объём диссертации.** Рукопись содержит титульную страницу, оглавление, введение, 4 основные главы (обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение), заключение, выводы, список иллюстраций и таблиц, список сокращений, благодарности, список использованной литературы. Работа изложена на 137 страницах машинописного текста, включает 24 рисунка и 4 таблицы. Список литературы содержит 456 ссылок, из них 12 на русском языке.

Работа выполнена при **финансовой поддержке** Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ), проекты № 08-04-01335, № 16-34-00316 мол\_а.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Обзор литературы.** В данной главе дана характеристика изучаемых провоспалительных факторов и изложены механизмы их действия на ЦНС, приведено описание влияния провоспалительных цитокинов на созревание мозга, охарактеризованы изучаемые в работе гены и кодируемые ими белки, вовлечённые в регуляцию процессов нейропластичности.

**Материалы и методы.** Животные. Формирование экспериментальных групп. Работа выполнена на 336 самцах крыс *Rattus norvegicus* породы Wistar с соблюдением принципов гуманности, одобренных Этическим комитетом ФГБНУ «ИЭМ». Крысят делили на 5 групп: **1) интактную**, **2) контрольную к ИЛ-1 $\beta$ -блоку** (внутрибрюшинное введение апириногенного ФР с 15-го по 21-й день), **3) контрольную к ЛПС-блоку** (внутрибрюшинное введение ФР на 15-й, 18-й, 21-й дни), **4) ИЛ-1 $\beta$**  (внутрибрюшинное введение ИЛ-1 $\beta$ , 1 мкг/кг, курсом с 15-го по 21-й день), **5) ЛПС** (внутрибрюшинное введение ЛПС, 25 мкг/кг, на 15-й, 18-й, 21-й дни). Интактный контроль использовали только в поведенческих тестах. Дозы являются умеренно-пирогенными (Клименко и Зубарева, 1999; Зубарева *и др.*, 2005). ЛПС вводили с перерывами в 2 дня во избежание возникновения реакции толерантности. По достижении крысами возраста 1,5 мес их тестировали в «Открытом поле» (ОП), по достижении крысами возраста 2,5 мес исследовали их способность к формированию локомоторного рефлекса с отрицательным подкреплением в тесте условного рефлекса активного избегания (УРАИ) и к пространственному запоминанию в водном лабиринте Морриса (ВЛМ). Разные тесты проводились на различных группах опытных и контрольных крыс; часть животных экспериментальных и контрольных групп оставляли когнитивно интактными, наивными.

Поведенческие тесты. ОП. Тестировали однократно в течение 3 мин в круглой арене  $\varnothing$  100 см с 16 «норками». Фиксировали число и длительность проявления поведенческих актов тревожности (стойки без упора, груминг, фризинг), исследовательского поведения (стойки с упором, исследование норок, обнюхивание), локомоторной активности (пройденная дистанция, движения на месте). Подсчитывали общее количество всех поведенческих актов. УРАИ. Использовали челночную камеру, состоящую из двух одинаковых отсеков с электропроводящим полом. Электрокожное аверсивное раздражение (безусловный стимул; 50 Гц, 500 мкА) подавали через 5 с после изолированного действия условного стимула – светового сигнала. Предъявление сигналов продолжали до выполнения животным реакции перехода в смежный отсек. Интервал между попытками 20–60 с. Тест проводили в течение пяти дней: 10 попыток в 1-й день и по 20 попыток в следующие 4 дня. Фиксировали число правильных побежек – перемещения животного в смежный отсек до момента предъявления БС. ВЛМ. Навык поиска скрытой под водой платформы 10 × 10 см формировали в круглом бассейне  $\varnothing$  150 см. Визуальные ключи располагались на стенках бассейна. В течение четырёх дней подряд животным давали по 4 попытки, стартовую позицию меняли. Интервал между попытками 90–120 с. Оценивали время поиска, скорость, длину пути.

Определение уровней экспрессии генов. Через 2 ч после заключительного введения препаратов либо заключительной попытки в УРАИ или ВЛМ животных декапитировали, извлечённый мозг немедленно замораживали и хранили при  $-70$  °С. Об уровне экспрессии генов судили по содержанию мРНК относительно количества мРНК референсного гена *Gapdh* методом обратной транскрипции с последующей полимеразной цепной реакцией (ОТ-ПЦР РВ) в режиме реального времени. Выделение медиальной префронтальной коры (МПФК), дорзального и вентрального отделов гиппокампа (ДГ и ВГ) осуществляли на срезах с помощью микротомы-криостата при  $-20$  °С. Выделение тотальной РНК проводили методом одношаговой кислой гуанидин-изотиоцианат-фенол-хлороформной экстракции согласно протоколу, прилагаемому к TRI-реагенту. Реакцию ОТ проводили согласно протоколу, прилагаемому к обратной транскриптазе М-MLV. Мультиплексную ПЦР РВ проводили согласно протоколу, прилагаемому к Taq-полимеразе, с использованием оригинальных праймеров. Определение количества мРНК производили  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ -методом относительно уровня мРНК *Gapdh* (Livak and Schmittgen, 2001).

Статистическая обработка. Для проверки нормальности распределений выборочных данных использовали критерии Колмогорова – Смирнова и Шапиро – Уилка. Для анализа поведенческих данных применяли критерий Краскела – Уоллиса, однофакторный дисперсионный анализ ANOVA либо критерий Уэлча с попарным сравнением U-критерием Манна – Уитни с поправкой Бонферрони, апостериорным тестом Тьюки либо тестом Геймса – Хоуэлла. Для обработки молекулярных данных применяли U-критерий Манна – Уитни. Данные на графиках представлены в виде  $M \pm SD$ . В случае применения критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони различия считали значимыми при  $p < 0,016(6)$ . При использовании других тестов различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Результаты исследования представлены таким образом, чтобы было возможно проводить параллели между эффектами введения ИЛ-1 $\beta$  и ЛПС. Стоит отметить, что схемы введения препаратов различны (7-дневный курс для ИЛ-1 $\beta$ ; для ЛПС – 3 дня с перерывами по 2 дня).

### **Влияние введений ИЛ-1 $\beta$ и ЛПС в раннем онтогенезе на показатели поведения животных подросткового возраста в ОП**

Ранее в Лаборатории нейробиологии интегративных функций мозга Физиологического отдела им. И. П. Павлова было показано, что наиболее чувствительными к действию провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$  и ФНО являются 1-я и 3-я недели постнатального развития ЦНС (Зубарева *и др.*, 2005). Так, курсовое внутрибрюшинное введение ИЛ-1 $\beta$  крысятам этого возраста приводит к резкому увеличению общей активности в возрасте 1,5–2 мес в ОП (Зубарева and Клименко, 2011),

при этом нарушения поведения наблюдаются после введения не только умеренно-пирогенных, но и субпирогенных доз цитокина. Изменения в динамике исследовательского поведения происходят как после введения ФНО, так и ИЛ-1 $\beta$  (Зубарева *и др.*, 2005; Зубарева и Клименко, 2011).

В настоящем исследовании показано, что введение провоспалительных веществ в течение 3-й недели жизни повышает тревожность крыс подросткового возраста. Так, животные, получавшие ИЛ-1 $\beta$ , демонстрируют увеличение количества актов фризинга (Рис. 1 Аа), более длительное общее и среднее время актов фризинга (Рис. 1 Аб, Ав) по сравнению с контрольными животными. Не выявлено различий между группами по количеству, общей и средней продолжительности груминга и стоек без упора.

Животные, которым в течение 3-й недели жизни вводили ЛПС, в подростковом возрасте также характеризуются повышенной тревожностью в ОП, демонстрируя схожие вызываемым неонатальными повышениями уровня ИЛ-1 $\beta$  поведенческие отклонения: большее количество замираний (Рис. 1 Ба), более высокую длительность фризинга (Рис. 1 Бб) по сравнению с интактными крысами. Не выявлено различий между группами по количеству, общей и средней продолжительности груминга и стоек без упора, средней длительности фризинга.

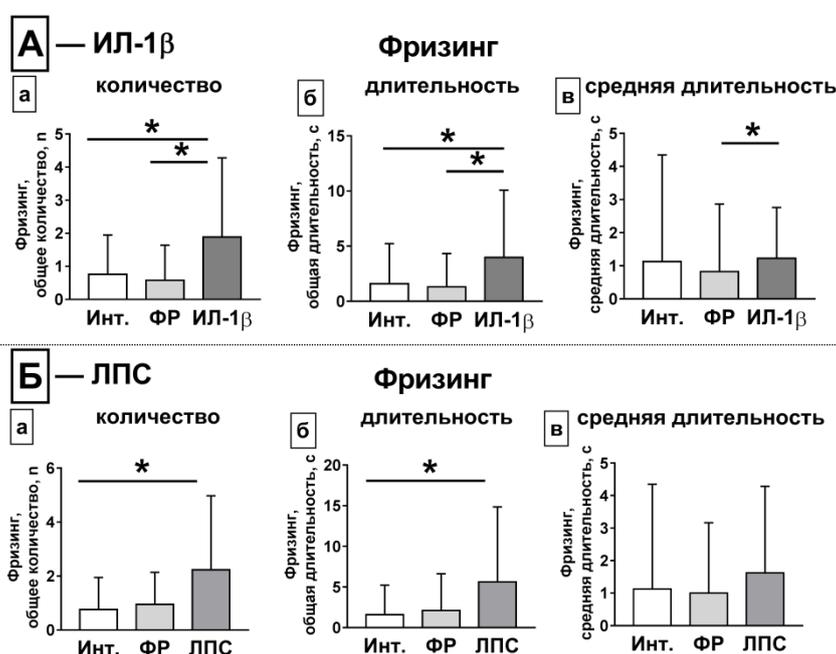
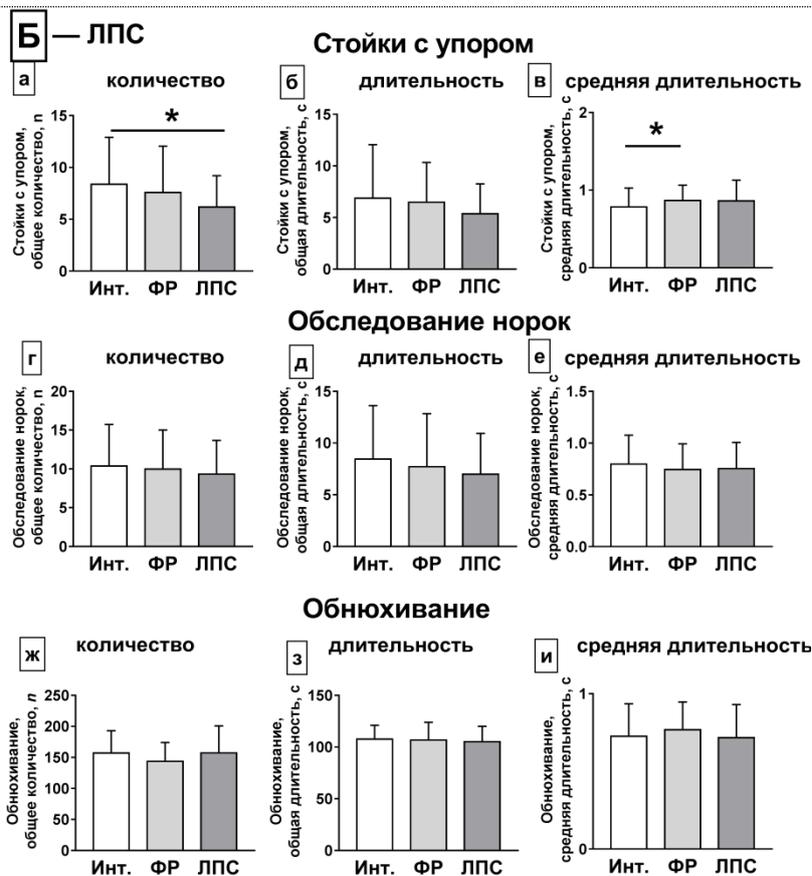
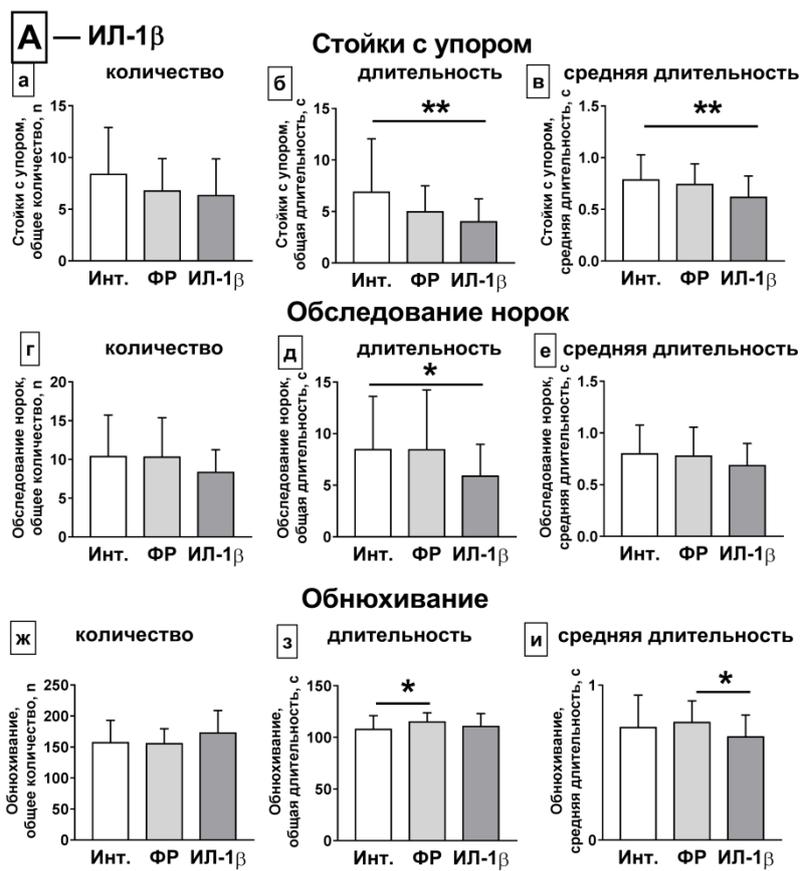


Рис. 1. Влияние введений ИЛ-1 $\beta$  (А) и ЛПС (Б) в течение 3-й недели жизни на показатели тревожноподобного поведения крыс подросткового возраста в ОП. \* –  $p < 0,016(6)$ .  $n = 27-72$ .

Введения ИЛ-1 $\beta$  отставленно нарушают исследовательское поведение животных: у таких крыс снижена общая и средняя продолжительность стоек с упором (Рис. 2 Аб, Ав), общая длительность обследования норок (Рис. 2 Ад), средняя длительность обнюхиваний (Рис. 2 Аи) по сравнению с животными контрольных групп.

Введения ЛПС в течение 3-й недели жизни также приводят к отставленным нарушениям исследовательского поведения животных подросткового возраста: у



**Рис. 2.** Влияние введений ИЛ-1β (А) и ЛПС (Б) в течение 3-й недели жизни на показатели исследовательского поведения крыс подросткового возраста в ОП.

\* –  $p < 0,016(6)$ , \*\* –  $p < 0,003(3)$ .  $n = 27-72$ .

таких животных снижено количество стоек с упором по сравнению с интактными крысами (Рис. 2 Ба).

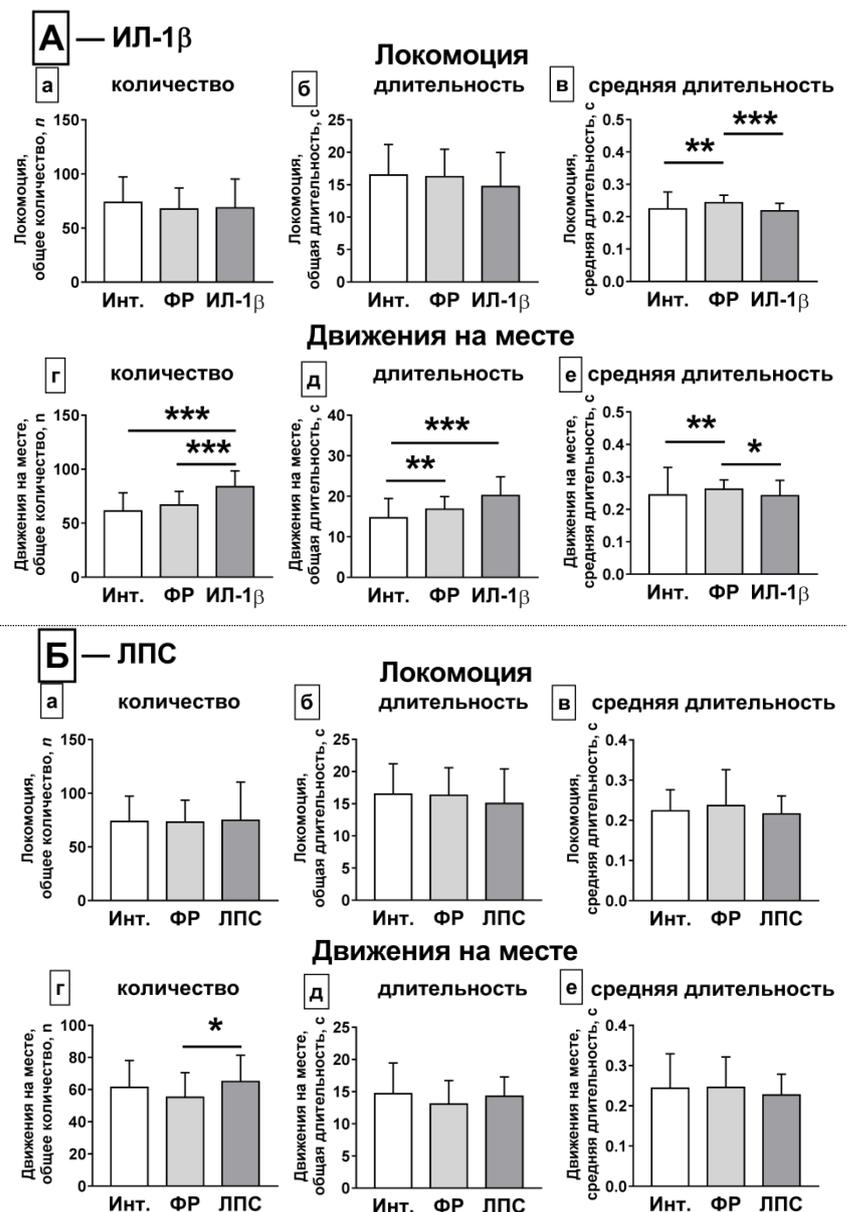
Следует отметить, что введения ФР также способны приводить к отдалённым изменениям исследовательского поведения животных. Такие животные, по сравнению с крысами интактной группы, характеризуются более высокой суммарной длительностью обнюхиваний (Рис. 2 Аз) и более высокой средней длительностью стоек с упором (Рис. 2 Бв).

Введения ИЛ-1β в течение 3-й недели постнатального развития влияют на локомоторную активность животных подросткового возраста: снижают среднюю длительность актов локомоции (Рис. 3 Ав), повышают количество движений на месте (Рис. 3 Аг) и суммарную длительность движений на месте (Рис. 3 Ад), при этом средняя продолжительность актов движения на месте снижена (Рис. 3 Ае) по сравнению с животными контрольных групп.

Необходимо заметить, что семикратное вве-

дение ФР в течение 3-й недели жизни также оказывает отдалённое влияние на локомоторную активность крыс подросткового возраста: повышает среднюю длительность актов локомоции (Рис. 3 Ав), общую длительность движений на месте (Рис. 3 Ад) и среднюю длительность движений на месте (Рис. 3 Ae) в сравнении с интактной группой.

Введения ЛПС в течение 3-й недели жизни приводят к увеличению количества движений на месте (Рис. 3 Бг) по сравнению с контрольной группой, при этом введения ФР по схеме «день через два» в течение 3-й недели не изменяют локомоторную активность животных подросткового возраста в ОП в сравнении с интактной группой.



**Рис. 3.** Влияние введений ИЛ-1β (А) и ЛПС (Б) в течение 3-й недели жизни на показатели локомоторной активности крыс подросткового возраста в ОП. \* –  $p < 0,016$ , \*\* –  $p < 0,003(3)$ , \*\*\* –  $p < 0,0003(3)$ .  $n = 27-72$ .

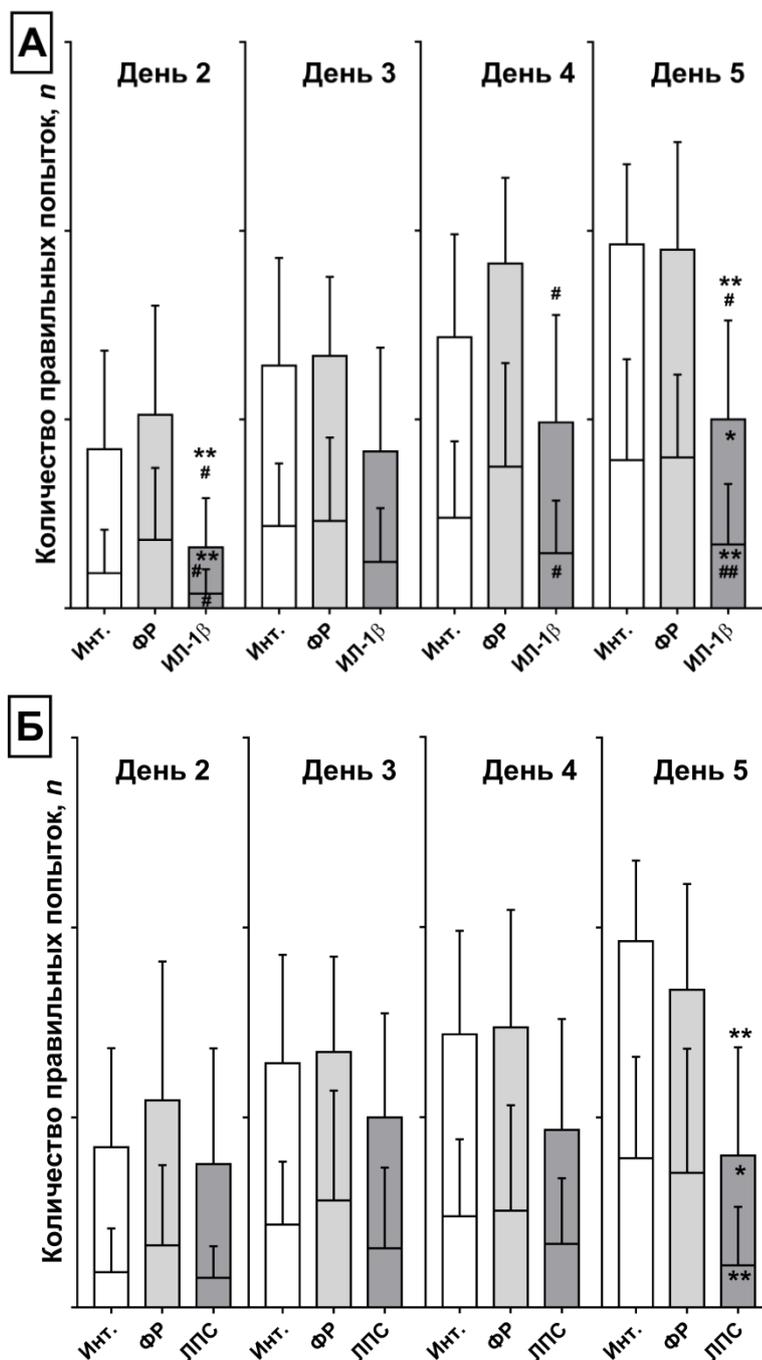
### Влияние введений ИЛ-1β и ЛПС в раннем онтогенезе на обучение взрослых животных в тесте УРАИ

Ранее в нашей Лаборатории было показано, что введение умеренно-пирогенных доз ИЛ-1β крысам в течение 3-й недели жизни приводит к нарушению формирования УРАИ в зрелом возрасте, причём сильнее страдает долговременная память (Зубарева и др., 2011). В настоящем исследовании удалось подтвердить этот эффект: нарушения обучения взрослых животных, которым вводили ИЛ-1β, в тесте УРАИ выявляются уже на 2-й день тестирования: из первых 10 попыток, из вторых 10 попыток и по сумме всех попыток крысы, получавшие ИЛ-1β, совершают меньше правильных пробежек по сравнению с животными контрольных групп

(Рис. 4 А). В 3-й день теста различий между группами не выявлено ни по одному показателю.

В 4-й день обучения животные, получавшие ИЛ-1 $\beta$ , совершают меньшее количество правильных попыток из первых 10 и по сумме всех попыток по сравнению с контрольной группой, при этом отличий от интактной группы в 4-й день обучения не выявлено (Рис. 4 А). В заключительный 5-й день теста животные, получавшие ИЛ-1 $\beta$  в течение раннего постнатального периода развития, демонстрируют меньшее число правильных попыток из первых 10, из вторых 10 и по сумме всех попыток по сравнению с обеими группами контроля (Рис. 4 А).

Также показано, что аналогичные введения ЛПС в умеренно-пирогенных дозах в течение 3-й недели жизни приводят к схожим, но менее выраженным по сравнению с введениями ИЛ-1 $\beta$ , нарушениям в тесте УРАИ. Животные, которым в течение 3-й недели постнатального онтогенеза вводили ЛПС, в первые 4 дня теста УРАИ не отличаются от контрольных и интактных животных по динамике обучения, однако в 5-й день обучения совершают меньшее количество правильных попыток из первых 10, из вторых 10 и по сумме всех предъявлений по сравнению с крысами интактной группы (Рис. 4 Б).



**Рис. 4.** Влияние введений ИЛ-1 $\beta$  (А) и ЛПС (Б) в течение 3-й недели жизни на обучение взрослых крыс в тесте УРАИ.

Отличия от интактной группы: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; отличия от контрольной группы: # –  $p < 0,05$ ; ## –  $p < 0,01$ .  $n = 9-28$ . Значок достоверности различий в нижнем столбике – отличия в количестве правильных реакций из первых 10 попыток; значок достоверности различий в верхнем столбике – отличия во вторых 10 попытках; значок достоверности различий над столбиком – отличия в полном количестве попыток за день.

## Влияние введений ИЛ-1 $\beta$ и ЛПС в раннем онтогенезе на обучение взрослых животных в ВЛМ

При обучении взрослых животных поиску скрытой под водой платформы в ВЛМ крысы, получавшие ИЛ-1 $\beta$  и ЛПС в раннем постнатальном онтогенезе, не отличаются по длине дистанции, проплытой до платформы, от контрольной и интактной групп ни в одной попытке первых трёх дней теста. При этом дистанция до платформы, преодолеваемая экспериментальными крысами в 1-й попытке 4-го дня, длиннее проплываемой животными контрольных групп (Рис. 5 А, Б). В остальных трёх попытках 4-го дня обучения различий между группами не выявлено.

Таким образом, показано отдалённое нарушение формирования пространственной памяти в обеих моделях, при этом скорость плавания животных различных групп не различается.

Резюмируя, в результате проведённой работы выявлено нарушение формирования когнитивных функций взрослых животных вследствие экспериментального повышения уровня провоспалительных факторов в течение критического периода раннего постнатального онтогенеза. В дисциплинах, изучающих развитие нервной системы, хорошо описано понятие критических периодов развития – этапов онтогенеза, характеризующихся повышенной пластичностью мозга и подверженностью повреждающим воздействиям. В такие периоды воздействие на нервную систему может иметь глубокие программные и организационные эффекты

(Шаляпина *и др.*, 1995; Rice and Barone, 2000; Andersen and Teicher, 2008). Одним из таких периодов в онтогенезе крыс является 3-я неделя постнатального развития, который по общему уровню развития ЦНС, характеризующемуся интенсивностью процессов миелинизации и синаптогенеза, аналогичен позднему пренатальному – перинатальному периоду развития человека (Rice and Barone, 2000).

Следует отметить, что и в ВЛМ, и в тесте УРАИ выявлены нарушения именно долговременной памяти. Отдельно стоит подчеркнуть, что одной из основных задач исследования была оценка уровня экспрессии генов нейропластичности в процессе обучения, а не после того, как навык избегания в тесте УРАИ и поиска плат-

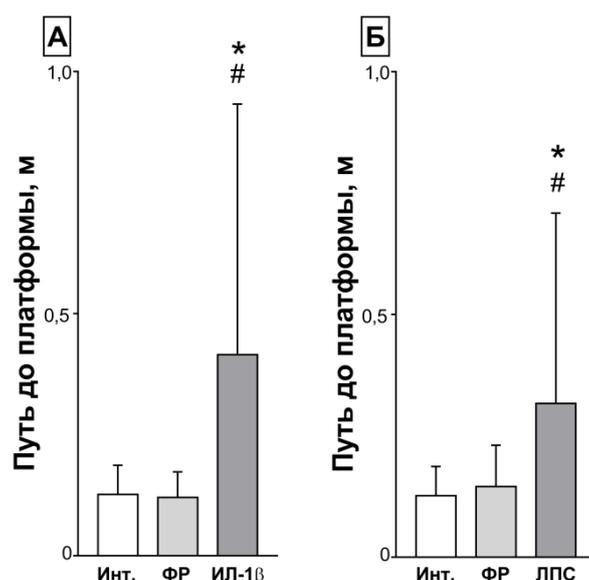


Рис. 5. Влияние введений ИЛ-1 $\beta$  (А) и ЛПС (Б) в течение 3-й недели жизни на обучение взрослых крыс в водном лабиринте Морриса; показана 1-я попытка 4-го дня тестирования.

Отличия от интактной группы: \* –  $p < 0,016(6)$ ; отличия от контрольной группы: # –  $p < 0,016(6)$ .  $n = 11-37$ .

формы в тесте ВЛМ уже сформирован, поэтому использованные в настоящей работе протоколы обучения в тесте УРАИ и ВЛМ отличаются от общепризнанных и применяемых большинством исследователей: тестирование в УРАИ было завершено на 5-й день, хотя известно, что животные достигают критерия обученности (70 % правильных попыток) к 6–7-му дню, а также не было проведено тестовой попытки без платформы в ВЛМ.

### **Влияние введений ИЛ-1 $\beta$ и ЛПС в раннем онтогенезе на экспрессию генов *Timp1* и *Mmp9***

Белок MMP9, регулирующий состав и работу внеклеточного матрикса, вовлечён в модификацию дендритных шипиков на ранних этапах развития и при нейрональной стимуляции во взрослом мозге (Wang *et al.*, 2008; Vilousova *et al.*, 2009). Повышение уровня его тканевого ингибитора TIMP1 приводит к нарушению развития долговременной потенциации в гиппокампе (Nagy *et al.*, 2006; Nagy, Bozdagi and Huntley, 2007; Wilczynski *et al.*, 2008).

Введение ИЛ-1 $\beta$  и ЛПС в течение 3-й недели жизни повышает уровень экспрессии гена *Timp1* и отношение *Timp1/Mmp9* в МПФК крысят через 2 ч после заключительного введения по сравнению с контрольной группой (Табл. 1). Через 2 ч после введений ИЛ-1 $\beta$  выявляется повышенный уровень экспрессии гена *Mmp9* в МПФК крысят по сравнению с контрольной группой, а введения ЛПС не изменяют этот показатель (Табл. 1). Такие изменения приводят к сдвигу баланса экспрессии этих генов, что может вызвать снижение активности MMP9 (Bozdagi *et al.*, 2007; Włodarczyk *et al.*, 2011). Принимая во внимание тот факт, что морфологические перестройки шипиков и развитие долговременной потенциации являются одними из основных механизмов регуляции научения и памяти, можно утверждать что дисрегуляция работы протеолитической системы TIMP1/MMP9 является одним из факторов, обуславливающих развитие когнитивных дисфункций у крыс, получавших в раннем онтогенезе ИЛ-1 $\beta$  и ЛПС.

Усиление экспрессии гена *Timp1*, которое при неизменной экспрессии *Mmp9* приводит к повышению отношения *Timp1/Mmp9* в МПФК крысят, – это единственный эффект ранних введений ИЛ-1 $\beta$  и ЛПС на уровне экспрессии генов, однонаправленный в обеих исследованных моделях. Все остальные эффекты – различны в двух моделях.

Введения ЛПС, но не ИЛ-1 $\beta$ , в течение 3-й недели жизни оказывают долгосрочное влияние на отношение уровня экспрессии генов *Timp1* и *Mmp9* в ДГ когнитивно интактных животных (Табл. 1).

Введения ИЛ-1 $\beta$  и ЛПС в течение 3-й недели оказывают различное действие на экспрессию генов протеолитической системы в ВГ крысят через 2 ч после заключительного введения: ЛПС повышает уровень экспрессии гена *Mmp9*, а ИЛ-1 $\beta$  не изменяет этот показатель (Табл. 1).

**Таблица 1.** Эффекты экспериментального повышения уровня ИЛ-1 $\beta$  и ЛПС на уровни мРНК *Timp1*, *Mmp9* и их отношение. \*  $p < 0,05$ ,  $n = 3-9$ .

Ген	<i>Timp1</i>						<i>Mmp9</i>						<i>Timp1/Mmp9</i>					
	Группа	Крысята	Наивные	УРАИ	ВЛМ	Среднее	Крысята	Наивные	УРАИ	ВЛМ	Среднее	Крысята	Наивные	УРАИ	ВЛМ	Среднее		
Структура	ФР	1,00 ± 0,38	0,97 ± 0,32	1,39 ± 0,49	1,89 ± 0,84	0,96 ± 0,27	0,91 ± 0,16	1,29 ± 0,25	1,26 ± 0,36	0,94 ± 0,25	1,41 ± 0,67	1,12 ± 0,29	1,53 ± 0,55	0,97 ± 0,32	0,92 ± 0,35	0,92 ± 0,35	0,33 ± 0,33	
		ИЛ-1 $\beta$	9,09 ± 3,02 *	3,26 ± 1,53	0,03 ± 0,02	0,57 ± 0,24	4,29 ± 1,51 *	1,30 ± 0,17	0,67 ± 0,53	0,71 ± 0,12	2,47 ± 0,95 *	2,21 ± 1,17	0,21 ± 0,11	0,82 ± 0,34	0,92 ± 0,35	0,92 ± 0,35	0,33 ± 0,33	
		ЛПС	1,50 ± 0,63	1,60 ± 0,66	13,91 ± 8,74	2,86 ± 1,23	2,47 ± 1,41	1,69 ± 0,65	2,73 ± 1,89	1,74 ± 0,63	1,70 ± 0,73	1,14 ± 0,26	25,60 ± 16,23	1,22 ± 0,33	1,60 ± 0,66	1,60 ± 0,66	1,60 ± 0,66	1,60 ± 0,66
	ДГ	ЛПС	38,75 ± 21,43 *	0,82 ± 0,64	0,48 ± 0,42	2,72 ± 1,34	4,41 ± 1,89	1,00 ± 0,58	1,19 ± 0,58	1,15 ± 0,27	89,24 ± 82,07 *	0,58 ± 0,13	0,38 ± 0,27	2,31 ± 0,79	0,82 ± 0,64	0,82 ± 0,64	0,82 ± 0,64	0,82 ± 0,64
		ФР	1,07 ± 0,30	1,97 ± 0,75	3,16 ± 1,20	1,11 ± 0,23	1,27 ± 0,55	1,05 ± 0,11	1,38 ± 0,35	1,35 ± 0,52	1,35 ± 0,34	1,97 ± 0,67	1,95 ± 0,51	1,15 ± 0,30	1,97 ± 0,75	1,97 ± 0,75	1,97 ± 0,75	1,97 ± 0,75
		ИЛ-1 $\beta$	0,34 ± 0,08 *	1,12 ± 0,34	0,86 ± 0,78	0,93 ± 0,16	1,22 ± 0,63	1,08 ± 0,32	0,73 ± 0,42	0,75 ± 0,11	1,94 ± 0,67	1,45 ± 0,51	0,54 ± 0,37	1,23 ± 0,06	1,12 ± 0,34	1,12 ± 0,34	1,12 ± 0,34	1,12 ± 0,34
ВГ	ЛПС	7,73 ± 2,53 *	0,33 ± 0,15	2,81 ± 0,44	1,47 ± 1,03	5,42 ± 2,78	1,16 ± 0,17	1,68 ± 0,22	1,14 ± 0,82	2,26 ± 0,51	0,30 ± 0,14 *	1,25 ± 0,43	1,50 ± 0,32	0,33 ± 0,15	0,33 ± 0,15	0,33 ± 0,15	0,33 ± 0,15	
	ФР	1,86 ± 0,53	3,55 ± 2,44	2,00 ± 1,43	1,14 ± 0,26	2,18 ± 0,79	1,52 ± 0,63	2,44 ± 1,12	1,07 ± 0,22	0,70 ± 0,10	6,89 ± 5,72	2,72 ± 2,26	1,08 ± 0,21	1,86 ± 0,53	1,86 ± 0,53	1,86 ± 0,53	1,86 ± 0,53	
	ИЛ-1 $\beta$	2,61 ± 0,74	2,05 ± 1,29	1,04 ± 1,02	2,76 ± 1,12	2,61 ± 1,08	1,42 ± 0,46	8,24 ± 7,36	2,44 ± 1,94	0,57 ± 0,15	1,17 ± 0,78	0,51 ± 0,32	2,67 ± 1,27	2,05 ± 1,29	2,05 ± 1,29	2,05 ± 1,29	2,05 ± 1,29	
ЛПС	ФР	1,74 ± 1,36	1,30 ± 0,37	1,22 ± 0,39	1,13 ± 0,30	5,83 ± 4,92	1,60 ± 0,69	1,68 ± 0,93	1,17 ± 0,27	0,89 ± 0,43	1,13 ± 0,31	1,28 ± 0,39	1,16 ± 0,34	1,30 ± 0,37	1,30 ± 0,37	1,30 ± 0,37	1,30 ± 0,37	
	ИЛ-1 $\beta$	10,73 ± 5,20	1,60 ± 0,68	0,92 ± 0,35	0,33 ± 0,33	40,43 ± 9,79 *	1,56 ± 0,56	0,69 ± 0,22	0,40 ± 0,30	0,23 ± 0,07	0,90 ± 0,16	1,57 ± 0,62	0,26 ± 0,26	10,73 ± 5,20	10,73 ± 5,20	10,73 ± 5,20	10,73 ± 5,20	
	ЛПС	10,73 ± 5,20	1,60 ± 0,68	0,92 ± 0,35	0,33 ± 0,33	40,43 ± 9,79 *	1,56 ± 0,56	0,69 ± 0,22	0,40 ± 0,30	0,23 ± 0,07	0,90 ± 0,16	1,57 ± 0,62	0,26 ± 0,26	10,73 ± 5,20	10,73 ± 5,20	10,73 ± 5,20	10,73 ± 5,20	

После введений ЛПС в течение 3-й недели жизни направление молекулярных изменений системы TIMP1/MMP9 в ДГ было различным у крысят и взрослых животных, не подвергавшихся тестированию: уровень экспрессии *Timp1* повышался у крысят, а отношение *Timp1/Mmp9* снижалось у взрослых животных, что свидетельствует о возможном развитии компенсаторных процессов. Наличие компенсаторной реакции в зрелом возрасте подчёркивает функциональную значимость этой протеолитической системы во взрослом мозге, установленную ранее в клинических исследованиях (Bednarek *et al.*, 2012). В ДГ крысят, получавших ИЛ-1 $\beta$ , наоборот, наблюдается снижение уровня экспрессии *Timp1*, что приводит к усилению процессов пластичности в развивающемся ДГ. При этом развития компенсаторной реакции в зрелом возрасте не происходит.

Выявлено, что наиболее чувствительными структурами к действию провоспалительных факторов в раннем возрасте в отношении функционирования протеолитической системы TIMP1/MMP9 оказываются МПФК и ДГ, тогда как в ВГ наблюдается усиление экспрессии гена *Mmp9* только непосредственно после введений ЛПС. Это может быть связано с различной функциональной ролью данных структур: вовлечённостью МПФК и ДГ больше в процессы памяти, а ВГ – в связанные

со стрессом формы обучения (Bagot *et al.*, 2015). Ранее было показано, что введение ЛПС в большей степени нарушает процессы нейрональной пластичности и выживания клеток в дорзальном, нежели в вентральном гиппокампе (Järlestedt *et al.*, 2013).

Суммируя вышесказанное, показаны немедленные эффекты ИЛ-1 $\beta$  и ЛПС на уровень экспрессии генов протеолитической системы в различных областях развивающегося мозга, а также отставленное влияние ЛПС на работу этой системы в ДГ взрослых животных, не подвергавшихся когнитивной нагрузке. В модели с введениями ЛПС возможно предполагать нормализацию экспрессии данных генов в ДГ, вызванной когнитивной нагрузкой, поскольку в ДГ взрослых когнитивно интактных животных этот показатель отличается от контроля. Положительный эффект когнитивной нагрузки на различные механизмы нейрональной пластичности ранее был показан в ряде исследований (Pereira *et al.*, 2007; Stamatakis *et al.*, 2014; Smolen, Zhang and Byrne, 2016).

### Влияние введений ИЛ-1 $\beta$ и ЛПС в раннем онтогенезе на экспрессию гена *Nrg1*

**Таблица 2.** Эффекты экспериментального повышения уровня ИЛ-1 $\beta$  и ЛПС на уровень мРНК *Nrg1*. \* $p < 0,05$ .  $n = 3-9$ .

Структура	Ген	<i>Nrg1</i>			
		Крысята	Взрослые		
			Наивные	УРАИ	ВЛМ
МПФК	ФР	3,33 $\pm$ 1,78	5,92 $\pm$ 5,15	2,67 $\pm$ 1,25	1,41 $\pm$ 0,46
	ИЛ-1 $\beta$	9,76 $\pm$ 3,58	13,89 $\pm$ 6,97	1,02 $\pm$ 0,98	0,41 $\pm$ 0,10
	ФР	1,43 $\pm$ 0,50	1,68 $\pm$ 0,66	1,83 $\pm$ 1,12	4,56 $\pm$ 3,41
	ЛПС	3,62 $\pm$ 1,16	1,25 $\pm$ 0,73	0,74 $\pm$ 0,46	1,25 $\pm$ 0,36
ДГ	ФР	1,01 $\pm$ 0,30	0,91 $\pm$ 0,16	2,10 $\pm$ 0,54	1,14 $\pm$ 0,26
	ИЛ-1 $\beta$	0,47 $\pm$ 0,24	0,54 $\pm$ 0,10	1,15 $\pm$ 1,14	2,43 $\pm$ 1,55
	ФР	1,51 $\pm$ 0,60	1,03 $\pm$ 0,11	1,49 $\pm$ 0,55	6,66 $\pm$ 5,74
	ЛПС	3,11 $\pm$ 0,95	1,08 $\pm$ 0,28	1,67 $\pm$ 0,43	1,72 $\pm$ 1,34
ВГ	ФР	1,95 $\pm$ 0,68	2,09 $\pm$ 0,90	<b>4,54 <math>\pm</math> 1,32</b>	1,18 $\pm$ 0,34
	ИЛ-1 $\beta$	2,84 $\pm$ 0,92	0,84 $\pm$ 0,48	<b>0,85 <math>\pm</math> 0,85 *</b>	1,54 $\pm$ 0,62
	ФР	1,02 $\pm$ 0,89	1,54 $\pm$ 0,57	1,21 $\pm$ 0,38	1,29 $\pm$ 0,47
	ЛПС	1,02 $\pm$ 0,45	1,33 $\pm$ 0,60	1,07 $\pm$ 0,36	0,64 $\pm$ 0,13

МПФК и ДГ животных ни в раннем, ни в зрелом возрасте, при этом наличие когнитивной нагрузки также не влияет на данный показатель (Табл. 2). Ни ИЛ-1 $\beta$ , ни ЛПС не вызывают изменений уровня экспрессии гена *Nrg1* в ВГ животных непосредственно после введений, а также отставленно, во взрослом возрасте, при отсутствии когнитивной нагрузки и после обучения в ВЛМ (Табл. 2).

Нейрегулин-1, выделяемый нейронами и клетками глиии, является лигандом тирозинкиназных рецепторов и играет роль внеклеточного фактора роста и дифференцировки (Balu and Coyle, 2011). Во взрослом мозге данный белок также играет важную роль в регуляции процессов нейротрансмиссии и синаптической пластичности (Xu *et al.*, 2016).

При введении ИЛ-1 $\beta$  и ЛПС не выявлено изменений уровня мРНК гена *Nrg1* по сравнению с контролем в

Введение ИЛ-1 $\beta$  в течение 3-й недели приводит к снижению уровня экспрессии гена *Nrg1* в ВГ взрослых животных через 2 ч после заключительной попытки в тесте УРАИ. Введение ЛПС подобного эффекта не вызывает (Табл. 2).

Известно, что функция белка NRG1 может нарушаться при развитии воспаления в ЦНС (Ofek-Shlomai and Berger, 2014). Данный механизм также может обуславливать более выраженные нарушения обучения взрослых животных в тесте УРАИ в модели с введениями ИЛ-1 $\beta$  по сравнению с моделью с введениями ЛПС, поскольку ВГ ответственен за связанные со стрессом формы обучения, к которым относится и УРАИ (Bagot *et al.*, 2015). Ранее было показано, что нейрегулин вовлечён в нарушения развития мозга, вызываемые ранним воспалением, а введение данного белка предложено в качестве возможного терапевтического подхода (Dammann *et al.*, 2008). Показано, что введения нейрегулина могут иметь противовоспалительный и антиоксидантный эффект (Xu *et al.*, 2004), что подчёркивает терапевтическую значимость данного белка для предотвращения негативных эффектов раннего воспалительного процесса на развивающийся мозг (Dimayuga *et al.*, 2003).

В настоящем исследовании обнаружен сниженный уровень экспрессии гена *Nrg1* в ВГ животных, получавших в раннем возрасте ИЛ-1 $\beta$ , по сравнению с контролем при обучении в тесте УРАИ, что также свидетельствует об отставленных нарушениях стресс-реакции животных после неонатального воспалительного воздействия.

### **Влияние введений ИЛ-1 $\beta$ и ЛПС в раннем онтогенезе на экспрессию гена *Dtnbp1***

Белок дисбиндин 1 синтезируется в клетках-предшественницах нейронов, зрелых нейронах и является компонентом комплекса BLOC-1, ответственного за биогенез лизосомальных органелл и необходимого для регуляции направленного везикулярного транспорта мембранных белков от комплекса Гольджи к мембране в нейрональных отростках (Wang *et al.*, 2017). Комплекс BLOC-1 вовлечён в процесс роста и спраутинга нейритов. Известно, что дисбиндин 1 регулирует нейротрансмиссию и продукцию постсинаптических рецепторов в процессе развития мозга (Paraleo *et al.*, 2014). При нарушении функции данного белка наблюдается ухудшение гиппокамп-зависимых форм памяти (Jentsch *et al.*, 2009).

Уровень экспрессии гена *Dtnbp1* в МПФК крысят повышается только после введения ЛПС, но не при введениях ИЛ-1 $\beta$  (Табл. 3). Во взрослом возрасте, независимо от когнитивной нагрузки, ни ИЛ-1 $\beta$ , ни ЛПС не приводят к изменению уровня мРНК гена *Dtnbp1* в МПФК животных по сравнению с контрольными группами (Табл. 3).

В ДГ животных не выявлены эффекты ИЛ-1 $\beta$  и ЛПС на уровень мРНК гена *Dtnbp1* ни в раннем, ни в половозрелом возрасте (Табл. 3).

**Таблица 3.** Эффекты экспериментального повышения уровня ИЛ-1 $\beta$  и ЛПС на уровень мРНК *Dtnbp1*. \* $p < 0,05$ .  $n = 3-9$ .

Структура	Ген	<i>Dtnbp1</i>				
		Группа	Крысята	Взрослые		
				Наивные	УРАИ	ВЛМ
МПФК	ФР	2,10 $\pm$ 0,70	2,44 $\pm$ 1,19	1,60 $\pm$ 0,56	1,30 $\pm$ 0,40	
	ИЛ-1 $\beta$	4,52 $\pm$ 1,42	5,21 $\pm$ 3,18	1,18 $\pm$ 0,45	0,61 $\pm$ 0,21	
	ФР	<b>0,80 <math>\pm</math> 0,29</b>	1,34 $\pm$ 0,40	1,15 $\pm$ 0,54	2,23 $\pm$ 1,14	
	ЛПС	<b>7,84 <math>\pm</math> 2,91 *</b>	0,84 $\pm$ 0,39	2,87 $\pm$ 1,34	1,03 $\pm$ 0,38	
ДГ	ФР	1,12 $\pm$ 0,37	1,11 $\pm$ 0,19	1,31 $\pm$ 0,27	1,17 $\pm$ 0,32	
	ИЛ-1 $\beta$	1,00 $\pm$ 0,54	0,88 $\pm$ 0,19	0,90 $\pm$ 0,38	1,03 $\pm$ 0,34	
	ФР	1,96 $\pm$ 0,99	1,02 $\pm$ 0,09	2,42 $\pm$ 1,26	2,18 $\pm$ 1,50	
	ЛПС	3,09 $\pm$ 0,96	1,24 $\pm$ 0,12	3,15 $\pm$ 0,76	0,98 $\pm$ 0,53	
ВГ	ФР	2,63 $\pm$ 0,81	2,39 $\pm$ 1,12	1,59 $\pm$ 0,53	1,16 $\pm$ 0,32	
	ИЛ-1 $\beta$	2,08 $\pm$ 0,74	1,26 $\pm$ 0,55	0,60 $\pm$ 0,32	1,34 $\pm$ 0,54	
	ФР	8,34 $\pm$ 5,99	1,51 $\pm$ 0,66	1,84 $\pm$ 1,09	<b>1,27 <math>\pm</math> 0,27</b>	
	ЛПС	8,67 $\pm$ 2,84	2,73 $\pm$ 0,98	2,50 $\pm$ 1,45	<b>0,25 <math>\pm</math> 0,25 *</b>	

#### Влияние введений ИЛ-1 $\beta$ и ЛПС в раннем онтогенезе на экспрессию гена *Gap43*

**Таблица 4.** Эффекты экспериментального повышения уровня ИЛ-1 $\beta$  и ЛПС на уровень мРНК *Gap43*. \* $p < 0,05$ .  $n = 3-9$ .

Структура	Ген	<i>Gap43</i>				
		Группа	Крысята	Взрослые		
				Наивные	УРАИ	ВЛМ
МПФК	ФР	2,36 $\pm$ 0,84	2,39 $\pm$ 1,62	1,76 $\pm$ 0,68	1,30 $\pm$ 0,38	
	ИЛ-1 $\beta$	5,79 $\pm$ 1,81	5,65 $\pm$ 2,11	1,17 $\pm$ 0,38	0,54 $\pm$ 0,14	
	ФР	1,59 $\pm$ 0,69	1,39 $\pm$ 0,54	1,33 $\pm$ 0,39	1,84 $\pm$ 0,73	
	ЛПС	11,99 $\pm$ 5,45	1,02 $\pm$ 0,39	4,67 $\pm$ 2,44	1,22 $\pm$ 0,49	
ДГ	ФР	<b>1,09 <math>\pm</math> 0,35</b>	1,07 $\pm$ 0,16	1,66 $\pm$ 0,56	1,16 $\pm$ 0,30	
	ИЛ-1 $\beta$	<b>0,20 <math>\pm</math> 0,06 *</b>	0,89 $\pm$ 0,16	1,37 $\pm$ 0,45	1,17 $\pm$ 0,19	
	ФР	0,98 $\pm$ 0,31	1,24 $\pm$ 0,34	2,82 $\pm$ 1,83	2,49 $\pm$ 1,84	
	ЛПС	3,55 $\pm$ 1,42	1,45 $\pm$ 0,18	3,00 $\pm$ 0,86	0,50 $\pm$ 0,21	
ВГ	ФР	1,75 $\pm$ 0,49	2,11 $\pm$ 1,04	1,57 $\pm$ 0,55	1,05 $\pm$ 0,16	
	ИЛ-1 $\beta$	2,15 $\pm$ 0,94	1,17 $\pm$ 0,62	0,35 $\pm$ 0,18	1,89 $\pm$ 0,82	
	ФР	2,80 $\pm$ 1,59	2,81 $\pm$ 1,68	24,23 $\pm$ 10,28	<b>1,34 <math>\pm</math> 0,38</b>	
	ЛПС	20,05 $\pm$ 6,98	3,76 $\pm$ 1,29	50,01 $\pm$ 21,71	<b>0,23 <math>\pm</math> 0,22 *</b>	

Введение ИЛ-1 $\beta$  в течение 3-й недели жизни снижает уровень экспрессии гена *Gap43* в ДГ крысят через 2 ч после заключительного введения; введение ЛПС в те же сроки не влияет на этот показатель (Табл. 4). Введения ЛПС, но не ИЛ-1 $\beta$ , вызывают снижение уровня мРНК *Gap43* в ВГ взрослых животных через 2 ч после обучения в ВЛМ (Табл. 2).

Введение ЛПС в течение 3-й недели приводит к снижению уровня экспрессии гена *Dtnbp1* в ВГ взрослых животных по сравнению с контрольными крысами через 2 ч после обучения в ВЛМ, при этом введения ИЛ-1 $\beta$  подобного действия не оказывают (Табл. 3). Ни ИЛ-1 $\beta$ , ни ЛПС не оказывают влияния на уровень мРНК *Dtnbp1* в ВГ непосредственно после введений, а также в зрелом мозге когнитивно интактных животных и крыс, обучавшихся в тесте УРАИ (Табл. 3).

Внутриклеточный белок роста и пластичности нейромодулин (GAP43) в большом количестве присутствует в конусах нейронального роста в процессе развития отростков и регенерации аксонов (Holahan, 2015). Во взрослом мозге нейромодулин является ключевым компонентом регенеративного ответа в нервной системе, а также играет важную роль в процессах научения и памяти, регулируя нейрональную и синаптическую пластичность (Holahan, 2017).

Снижение уровня экспрессии гена *Gap43* в ДГ крысят после введений ИЛ-1 $\beta$  может быть одним из механизмов формирования отставленного когнитивного дефицита. Известно, что нейромодулин играет важную роль в регуляции дифференцировки и миграции нейронов, а также роста аксонов и формирования синапсов в развивающейся ЦНС (Denny, 2006; Latchney *et al.*, 2014). Нарушения его работы вызывают аномальное разрастание нейронных отростков и снижение синаптогенеза (Holahan, Honegger and Routtenberg, 2010), в долгосрочной перспективе приводящее к нарушениям различных форм гиппокамп-зависимого обучения (Holahan and Routtenberg, 2008), а также повышенной стресс-реактивности (Zaccaria *et al.*, 2010), что может объяснять, в частности, гораздо более выраженные нарушения формирования УРАИ в модели введения ИЛ-1 $\beta$ , по сравнению с моделью ЛПС.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявлено, что курсовые (моделирующие многократные / хронические патологические процессы) введения провоспалительных факторов ИЛ-1 $\beta$  и ЛПС в умеренно-пирогенной дозе в течение 3-й недели постнатального онтогенеза, одного из критических периодов развития крысы, схожего с перинатальным периодом онтогенеза человека по уровню развития ЦНС, вызывают схожие между собой отсроченные поведенческие нарушения. Так, для животных подросткового возраста, получавших в раннем возрасте инъекции ИЛ-1 $\beta$  либо ЛПС, характерны снижение исследовательского и усиление тревожноподобных форм поведения при обследовании нового пространства, для половозрелых – нарушение обучения в водном лабиринте Мориса и формирования условного рефлекса активного избегания с преимущественным нарушением процессов долговременной, но не кратковременной памяти. Несмотря на различную степень выраженности, можно говорить об однонаправленности поведенческих нарушений, выявляемых у животных, получавших в раннем возрасте ИЛ-1 $\beta$  и ЛПС, чего нельзя сказать о характере выявляемых нарушений экспрессии исследованных в данной работе генов.

Однонаправленные изменения уровня мРНК для животных, получавших ИЛ-1 $\beta$  и ЛПС, показаны только непосредственно после введений для уровня гена *Timp1* и отношения *Timp1/Mmp9* в МПФК. Данный молекулярный механизм представляется вероятным общим звеном развития поведенческих нарушений, вызываемых введениями ИЛ-1 $\beta$  и ЛПС, а различия в степени их выраженности для двух использованных моделей объясняются следующими фактами:

- 1) использованные дозы провоспалительных факторов были подобраны исходя из выраженности умеренно-пирогенного эффекта, при этом влияние на содержание провоспалительных цитокинов в крови и мозге, а также на работу гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы могло быть различным;

- 2) применялись различные схемы курсового введения ИЛ-1 $\beta$  и ЛПС: цитокин вводили каждый день на протяжении недели, а эндотоксин – 3 раза по схеме «день через два», учитывая наличие молекулярно-клеточного механизма развития толерантности организма к ЛПС;
- 3) клеточные эффекты ИЛ-1 $\beta$  и ЛПС опосредуются различными рецепторами (IL-1R1 и TLR4, соответственно), которые могут быть распределены на клетках мозга по-разному;
- 4) несмотря на то что основным молекулярным эффектом обоих провоспалительных факторов на иммунные, нервные и глиальные клетки является усиление продукции провоспалительных цитокинов, существуют также и различные эффекты цитокина и эндотоксина: так, только IL-1R1-, но не TLR4-активируемый каскад приводит к увеличению экспрессии одного из основных генов нейропластичности *Creb1* в нейронах, поэтому более выраженные нарушения когнитивных функций взрослых животных, получавших в раннем возрасте ИЛ-1 $\beta$ , при сопоставлении с моделью с введениями ЛПС, возможно, объясняются и наличием компенсаторной реакции в отношении экспрессии гена *Creb1*.

Таким образом, в результате работы описаны нераскрытые ранее молекулярно-клеточные механизмы, лежащие в основе развития поведенческого дефицита в зрелом возрасте в результате действия провоспалительных факторов в раннем периоде постнатального онтогенеза. Выявлены молекулярные мишени, в частности, компоненты внеклеточной протеолитической системы головного мозга MMP9 и TIMP1, воздействуя на которые возможно скорректировать негативное влияние повышенного уровня воспалительных факторов в организме и действующих в перинатальный период развития ЦНС, с целью предотвращения формирования когнитивных нарушений.

## ВЫВОДЫ

1. Введение интерлейкина-1 $\beta$  и липополисахарида в течение 3-й недели постнатального онтогенеза нарушает исследовательское поведение, повышает тревожность и общую локомоторную активность животных подросткового возраста (42–47 дней).
2. Введение провоспалительных агентов в течение 3-й недели постнатального онтогенеза нарушает способность животных к формированию условного рефлекса активного избегания; введение интерлейкина-1 $\beta$  вызывает также нарушение пространственной памяти.
3. Хроническое введение провоспалительных агентов в течение 3-й недели постнатального онтогенеза, вызывающее умеренно-пирогенный ответ, приводит к фактор-специфическим изменениям экспрессии генов нейропластичности:

- a) введение интерлейкина-1 $\beta$  повышает уровень экспрессии гена *Timp1* и отношение уровня экспрессии генов *Timp1* и *Mmp9* в медиальной префронтальной коре, при этом снижается уровень экспрессии генов *Timp1* и *Gap43* в дорзальной области гиппокампа;
  - b) введение липополисахарида повышает уровень экспрессии гена *Timp1* и отношение уровня экспрессии генов *Timp1* и *Mmp9*, а также гена *Dtnbp1* в медиальной префронтальной коре, повышает уровень экспрессии гена *Timp1* в дорзальной области гиппокампа и *Mmp9* в вентральной области гиппокампа.
4. Введение провоспалительных агентов в течение 3-й недели постнатального онтогенеза вызывает фактор-специфическое отставленное изменение экспрессии генов нейропластичности, зависящее от когнитивной нагрузки:
- a) введение интерлейкина-1 $\beta$  снижает уровень экспрессии гена *Nrg1* в вентральной области гиппокампа через 2 ч после обучения в тесте УРАИ и не оказывает влияния на экспрессию исследованных генов в медиальной префронтальной коре и дорзальном отделе гиппокампа;
  - b) введение липополисахарида снижает отношение уровня экспрессии генов *Timp1* и *Mmp9* в дорзальной области гиппокампа наивных животных, а также генов *Dtnbp1* и *Gap43* в вентральной области гиппокампа через 2 ч после обучения в водном лабиринте Морриса.

#### СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ИССЛЕДОВАНИЙ

##### Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК:

1. **Трофимов А.Н.** Влияние неонатальных повышений уровня интерлейкина-1 $\beta$  на формирование пространственной памяти взрослых крыс / А.Н. Трофимов, О.Е. Зубарева, А.С. Симбирцев, В.М. Клименко // Росс. физиол. ж. им. И.М. Сеченова. – 2012. – Т. 98. – № 6. – С. 782-792. (перевод: **Trofimov A.N.** Effects of neonatal increases in interleukin-1 $\beta$  levels on the formation of spatial memory in adult rats / A.N. Trofimov, O.E. Zubareva, A.S. Simbirtsev, V.M. Klimenko // Neuroscience and Behavioral Physiology. – 2014. – Т. 44. – № 3. – С. 359-364) DOI: 10.1007/s11055-014-9918-1
2. **Трофимов А.Н.** Экспрессия генов *Fgf2* и *Timp1* в мозге взрослых крыс после введения интерлейкина-1 $\beta$  в раннем постнатальном онтогенезе / А.Н. Трофимов, О.Е. Зубарева, А.П. Шварц, А.М. Ищенко, В.М. Клименко // Росс. физиол. ж. им. И.М. Сеченова. – 2014. – Т. 100. – № 9. – С. 1025-1037. (перевод: **Trofimov A.N.** Expression of the *Fgf2* and *Timp1* genes in the adult rat brain after administration of interleukin-1 $\beta$  during early postnatal ontogeny / A.N. Trofimov, O.E. Zubareva, A.P. Shvarts, A.M. Ishchenko, V.M. Klimenko // Neuroscience and Behavioral Physiology. – 2016. – Т. 46. – № 4. – С. 413-420). DOI: 10.1007/s11055-016-0252-7
3. **Трофимов А.** Postnatal LPS challenge impacts escape learning and expression of plasticity factors *Mmp9* and *Timp1* in rats: effects of repeated training / А. Trofimov, Т. Strekalova, N. Mortimer, О. Zubareva, А. Schwarz, Е. Svirin, А. Umriukhin, К.-Р. Lesch, V. Klimenko // Neurotoxicity Research. – 2017. – Т. 32. – № 2. – С. 175-186. DOI: 10.1007/s12640-017-9720-2

## Иные публикации:

1. **Трофимов А.Н.** Влияние неонатальных введений интерлейкина-1 $\beta$  на формирование пространственной памяти крыс / А.Н. Трофимов // XVI Межгородская конференция молодых учёных «Актуальные проблемы патофизиологии», Санкт-Петербург, Россия. – 2010. – С. 172-173.
2. **Trofimov A.N.** Spatial memory derangements are caused by increased level of interleukin-1 $\beta$  in early postnatal ontogenesis / A.N. Trofimov, O.E. Zubareva, A.S. Simbirtsev, V.M. Klimenko // 14<sup>th</sup> International conference on neuroscience and biological psychiatry “Stress and Behavior”, Санкт-Петербург, Россия. – 2010. – С. 17-18.
3. **Трофимов А.Н.** Нарушения пространственной памяти, возникающие при повышении уровня интерлейкина-1 $\beta$  в раннем постнатальном онтогенезе / А.Н. Трофимов, О.Е. Зубарева, А.С. Симбирцев, В.М. Клименко // VI Российская конференция «Нейроиммунопатология», Москва, Россия. – 2010. – Патогенез. – Т. 8. – № 1. – С. 62.
4. Зубарева О.Е. Нарушения когнитивных функций у взрослых крыс, вызванные введением интерлейкина-1 $\beta$  в раннем постнатальном онтогенезе / О.Е. Зубарева, М.И. Айрапетов, **А.Н. Трофимов**, А.С. Симбирцев, В.М. Клименко // XXI Съезд Физиологического общества им. И.П. Павлова, Калуга, Россия. – 2010. – С. 235.
5. **Трофимов А.Н.** Введение умеренно пирогенных доз интерлейкина-1 $\beta$  в раннем постнатальном онтогенезе вызывает нарушение пространственной памяти крыс / А.Н. Трофимов, А.П. Шварц // XIV Научная школа-конференция молодых учёных по физиологии высшей нервной деятельности и нейрофизиологии, Москва, Россия. – 2010. – С. 60.
6. **Трофимов А.Н.** Нарушения пространственной памяти, вызванные введением интерлейкина-1 $\beta$  в раннем постнатальном онтогенезе / А.Н. Трофимов, А.П. Шварц // Всероссийская научная конференция молодых учёных «Проблемы биомедицинской науки третьего тысячелетия», Санкт-Петербург, Россия. – 2010. – Медицинский академический журнал. – Т. 10. – № 5. – С. 35.
7. Симбирцев А.С. Роль иммунных факторов в формировании предрасположенности к шизофрении / А.С. Симбирцев, В.М. Клименко, **А.Н. Трофимов**, О.Е. Зубарева, М.Н. Карпенко, А.П. Шварц // I Международная Интернет-Конференция «Молекулярные Механизмы Шизофрении», Казань, Россия. – 2011. – С. 5-7.
8. **Трофимов А.Н.** Нарушения пространственной памяти крыс, вызванные введениями интерлейкина-1 $\beta$  в раннем постнатальном онтогенезе / А.Н. Трофимов // 15-я Международная Пущинская школа-конференция молодых учёных «Биология – Наука XXI века», Пущино, Россия. – 2011. – С. 161.
9. Zubareva O.E. Proinflammatory cytokines as a factor for forming of cognitive impairments in early postnatal ontogenesis / O.E. Zubareva, A.P. Shvarts, **A.N. Trofimov**, A.S. Simbirtsev, V.M. Klimenko // VII International interdisciplinary congress “Neuroscience for Medicine and Psychology”, Судак, Украина. – 2011. – С. 186-187.
10. Зубарева О.Е. Нарушение когнитивных функций и экспрессии мРНК дофаминовых рецепторов в мозге взрослых крыс после неонатальных введений интерлейкина-1 $\beta$  / О.Е. Зубарева, А.П. Шварц, В.И. Людыно, **А.Н. Трофимов**, С.В. Калеменин, А.С. Симбирцев, В.М. Клименко // XIV Международное совещание и VII школа по эволюционной физиологии, Санкт-Петербург, Россия. – 2011. – С. 84.
11. **Трофимов А.Н.** Неонатальное повышение уровня интерлейкина-1 $\beta$  вызывает нарушение формирования пространственной памяти взрослых крыс / А.Н. Трофимов, О.Е. Зубарева, В.М. Клименко // Всероссийская молодёжная конференция-школа «Нейробиология интегративных функций мозга», Санкт-Петербург, Россия. – 2011. – Медицинский академический журнал. – Т. 11 (спецвыпуск). – С. 55.
12. **Трофимов А.Н.** Молекулярно-клеточные механизмы формирования отдалённого когнитивного дефицита, вызванного неонатальным повышением уровня интерлейкина-1 $\beta$  / А.Н. Трофимов, А.П. Шварц // XIX Международная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов», Москва, Россия. – 2012.
13. **Трофимов А.Н.** Неонатальное повышение уровня интерлейкина-1 $\beta$  приводит к отдалённым нарушениям функционирования дофаминэргической системы мозга и экспрессии генов, вовлечённых в регуляцию нейропластичности / А.Н. Трофимов, А.П. Шварц // 16-я Международная Пущинская школа-конференция молодых учёных «Биология – Наука XXI века», Пущино, Россия. – 2012. – С. 449.
14. **Трофимов А.Н.** Молекулярно-клеточные механизмы отставленных нарушений когнитивных функций, вызванных неонатальным повышением уровня интерлейкина-1 $\beta$  / А.Н. Трофимов, О.Е. Зубарева // XVIII Межгородская конференция молодых учёных «Актуальные проблемы патофизиологии», Санкт-Петербург, Россия. – 2012. – С. 129-131.
15. Зубарева О.Е. Нарушение продукции мРНК *Fgf2* и *Timp1* в клетках гиппокампа взрослых крыс после введений интерлейкина-1 $\beta$  в раннем постнатальном онтогенезе / О.Е. Зубарева, **А.Н. Трофимов**, А.П. Шварц, В.М. Клименко // I Всероссийская интернет-конференция с международным участием «Биологические основы психических расстройств», Казань, Россия. – 2012. – С. 26-28.
16. **Trofimov A.N.** Cellular and molecular mechanisms of the formation of delayed cognitive deficit caused by increased level of interleukin-1 $\beta$  in neonatal period / A.N. Trofimov, A.P. Schwarz, O.E. Zubareva // 17<sup>th</sup> International conference on neuroscience and biological psychiatry “Stress and Behavior”, Санкт-Петербург, Россия. – 2012. – С. 27-28.
17. Зубарева О.Е. Повышение уровня интерлейкина-1 $\beta$  в раннем постнатальном онтогенезе как фактор формирования когнитивных дисфункций / О.Е. Зубарева, **А.Н. Трофимов**, А.П. Шварц, Е.А. Вениаминова, М.Н. Карпенко, В.М. Клименко // II Всероссийская конференция с международным участием «Гиппокамп и память: норма и патология», Пущино, Россия. – 2012. – С. 79-80.
18. Fomalont K.J. Delayed disturbance of exploratory behavior in rats after administration of bacterial endotoxin in early postnatal development / K.J. Fomalont, O.E. Zubareva, **A.N. Trofimov**, A.P. Schwarz, V.M. Klimenko // 19<sup>th</sup> Interna-

- tional conference on neuroscience and biological psychiatry “Stress and Behavior”, Санкт-Петербург, Россия. – 2013. – С. 16.
19. **Трофимов А.Н.** Нарушения поведения подростков крыс, вызванные введением бактериального эндотоксина в раннем возрасте: возможная роль NMDA рецепторов / А.Н. Трофимов, О.Е. Зубарева, К.Дж. Фомалонт, Е.А. Вениаминова, А.П. Шварц, С.В. Калеманев, В.М. Клименко // XXII Съезд Физиологического общества им. И.П. Павлова, Волгоград, Россия. – 2013. – С. 530.
  20. **Трофимов А.Н.** Введение липополисахарида в раннем постнатальном онтогенезе вызывает нарушение формирования пространственной памяти взрослых крыс / А.Н. Трофимов // Всероссийская конференция молодых учёных «Нейробиология интегративных функций мозга», Санкт-Петербург, Россия. – 2013. – С. 67.
  21. Шварц А.П. Изменение стресс-реактивности взрослых крыс, вызванное действием бактериального эндотоксина в раннем постнатальном онтогенезе / А.П. Шварц, **А.Н. Трофимов**, К.Дж. Фомалонт, В.О. Манюхина // Всероссийская медико-биологическая научная конференция молодых учёных "Фундаментальная наука и клиническая медицина" (Ежегодная конференция "Человек и его здоровье"), Санкт-Петербург, Россия. – 2014. – С. 511-512.
  22. **Трофимов А.Н.** Введение липополисахарида в течение раннего постнатального периода онтогенеза нарушает формирование исследовательского поведения и условно-рефлекторной деятельности взрослых крыс / А.Н. Трофимов, М.С. Сечина // 18-я Международная Пушинская школа-конференция молодых учёных «Биология – наука XXI века», Пушкино, Россия. – 2014. – С. 366.
  23. **Трофимов А.Н.** Изменения исследовательского поведения и когнитивные дисфункции взрослых крыс, вызванные повышением уровня провоспалительных факторов течение раннего периода постнатального онтогенеза, связаны с нарушением экспрессии генов, регулирующих процессы нейропластичности / **А.Н. Трофимов**, А.П. Шварц, Е.А. Вениаминова, М.С. Сечина, О.Е. Зубарева, В.М. Клименко // XIII Всероссийская молодёжная научная конференция института физиологии Коми НЦ УрО РАН «Физиология человека и животных: от эксперимента к клинической практике», Сыктывкар, Россия. – 2014. – С. 159-161.
  24. **Trofimov A.N.** Altered exploratory behavior and cognitive dysfunction in mature rats caused by neonatal administration of pro-inflammatory factors are associated with impairment in the expression of neuroplasticity genes / A.N. Trofimov, A.P. Schwarz, M.S. Sechina, E.A. Veniaminova, K.J. Fomalont, O.E. Zubareva, V.M. Klimenko // 21<sup>st</sup> Annual International "Stress and Behavior" Neuroscience and Biopsychiatry Conference, Санкт-Петербург, Россия. – 2014. – С. 21.
  25. Fomalont K.J. Early-life LPS administrations induce cognitive decline and changes in NMDA receptor subunit gene expression in the rodent brain / K.J. Fomalont, E.A. Veniaminova, S.V. Kalemenev, **A.N. Trofimov**, A.P. Schwarz, O.E. Zubareva // 21<sup>st</sup> Annual PNIRS Scientific Meeting, Филадельфия, США. – 2014. – Brain, Behavior, and Immunity. – T. 40 (Suppl.). – С. e26-e27.
  26. **Трофимов А.Н.** Когнитивные дисфункции вследствие перинатальной патологии: возможная роль внеклеточной протеолитической системы *Mmp9/Timp1* / А.Н. Трофимов, А.П. Шварц, М.С. Сечина, В.А. Щукина, Е.А. Вениаминова, Н.А. Маркова, К.Дж. Фомалонт // Санкт-Петербургский научный форум, посвящённый 100-летию Физиологического общества им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия. – 2017. – С. 107-108.
  27. **Трофимов А.Н.** Формирование когнитивного дефицита вследствие перинатальной патологии: возможная роль внеклеточной протеолитической системы *Mmp9/Timp1* / А.Н. Трофимов, А.П. Шварц, М.С. Сечина, В.А. Щукина, Е.А. Вениаминова, Н.А. Маркова, К.Дж. Фомалонт // XX Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье», Санкт-Петербург, Россия. – 2017. – С. 563-564.
  28. **Trofimov A.N.** Effects of neonatal lipopolysaccharide treatment on *Mmp9* and *Timp1* mRNA expression in the rat brain / A.N. Trofimov, A.P. Schwarz, K.J. Fomalont, V.A. Schukina, E.A. Veniaminova, N.A. Markova, O.E. Zubareva, V.M. Klimenko // 24<sup>th</sup> Multidisciplinary International Neuroscience and Biological Psychiatry Conference “Stress and Behavior”, Санкт-Петербург, Россия. – 2017. – С. 39.
  29. **Trofimov A.N.** Immediate and long-lasting effects of early life LPS treatment on *Mmp9* and *Timp1* mRNA expression in the rat brain: rescue by learning / A.N. Trofimov, A.P. Schwarz, K.J. Fomalont, O.E. Zubareva, V.M. Klimenko // 6<sup>th</sup> International Symposium of “Interactions of the Nervous and Immune Systems in Health and Disease”, Санкт-Петербург, Россия. – 2017. – С. 81.
  30. Schwarz A.P. Early postnatal pro-inflammatory treatment affects the development of cognitive functions and brain neuroplasticity-related gene expression / A.P. Schwarz, **A.N. Trofimov**, E.A. Veniaminova, O.E. Zubareva // ISN-ESN Meeting, Париж, Франция. – 2017. – Journal of Neurochemistry. – T. 142 (Suppl. 1). – С. 152.
  31. **Trofimov A.N.** Immediate and delayed effects of neonatal inflammatory process on *Mmp9* and *Timp1* mRNA expression in the rat brain: rescue by repeated training / A.N. Trofimov, A.P. Schwarz, K.J. Fomalont // FENS Regional Meeting, Печ, Венгрия. – 2017.
  32. **Trofimov A.N.** Learning deficit and altered *Mmp9* and *Timp1* gene expression in adult rats exposed to bacterial endotoxin during early postnatal development / A.N. Trofimov, A.P. Schwarz, K.J. Fomalont, V.A. Schukina, E.A. Veniaminova, N.A. Markova, O.E. Zubareva, V.M. Klimenko // 17<sup>th</sup> Global Neuroscience Conference, Осака, Япония. – 2017. – Journal of Neurology and Neuroscience. – T. 8. – № 6. – С. 48.
  33. **Трофимов А.Н.** Дизрегуляция протеолитической системы в результате раннего воспалительного процесса как фактор нарушения развития мозга / А.Н. Трофимов, А.П. Шварц, Е.А. Вениаминова, Н.А. Маркова, В.А. Щукина, О.Е. Зубарева, А.М. Ищенко, В.М. Клименко // III Всероссийская молодёжная конференция с международным участием «Нейробиология интегративных функций мозга», посвящённая 100-летию Физиологического общества им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия. – 2017. – Медицинский академический журнал.

## Список сокращений

<b>ВГ</b>	– вентральная область гиппокампа
<b>ВЛМ</b>	– водный лабиринт Морриса
<b>ГЭБ</b>	– гематоэнцефалический барьер
<b>ДГ</b>	– дорзальная область гиппокампа
<b>ИЛ</b>	– интерлейкин
<b>ЛПС</b>	– липополисахарид
<b>МПФК</b>	– медиальная префронтальная кора
<b>ОП</b>	– открытое поле
<b>УРАИ</b>	– условный рефлекс активного избегания
<b>ФНО</b>	– фактор некроза опухоли
<b>ФР</b>	– физиологический раствор
<b>ANOVA</b>	(analysis of variance) – дисперсионный анализ
<b>BDNF</b>	(brain-derived neurotrophic factor) – мозговой нейротрофический фактор
<b>DTNBP1</b>	(dystrobrevin-binding protein-1, dysbindin) – дистробревин-связывающий белок-1, дисбиндин
<b>GAP43</b>	(growth-associated protein-43) – связанный с ростом белок-43, нейромодулин
<b>IGF-1</b>	(insulin-like growth factor-1) – инсулиноподобный фактор роста-1
<b>IL-1R</b>	(IL-1 receptor) – рецептор к ИЛ-1
<b>MMP9</b>	(matrix metalloproteinase-9) – матриксная металлопротеиназа-9
<b>NRG1</b>	(neuregulin-1) – нейрегулин-1
<b>TIMP1</b>	(tissue inhibitor of metalloproteinases-1) – тканевой ингибитор металлопротеиназ-1
<b>TLR</b>	(toll-like receptor) – toll-подобный рецептор