

УДК 612.8

НЕОНАТАЛЬНЫЙ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС ВЫЗЫВАЕТ НАКОПЛЕНИЕ КОРТИКОСТЕРОНА И ИНТЕРЛЕЙКИНА-6 В ГИППОКАМПЕ ЮВЕНИЛЬНЫХ КРЫС: ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ МЕХАНИЗМ НАРУШЕНИЯ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ

© 2017 М.В. Онуфриев*, С.В. Фрейман, Д.И. Перегуд,
И.В. Кудряшова, А.О. Тишкина, М.Ю. Степаничев,
Н.В. Гуляева

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН,
117485 Москва, Россия; электронная почта: mikeonuf1@rambler.ru*

Поступила в редакцию 25.10.16
После доработки 17.11.16

Инфекционные болезни в раннем постнатальном онтогенезе могут индуцировать нейровоспаление, нарушать нормальное развитие ЦНС и способствовать возникновению церебральных патологий у взрослых. Для выяснения долговременных последствий таких болезней использовали модель неонатального провоспалительного стресса (НПС), в которой НПС индуцировали инъекцией бактериального липополисахарида крысам на 3-й и 5-й постнатальные дни. У животных в возрасте одного месяца в крови и регионах мозга определяли уровни кортикостерона, провоспалительных цитокинов и их мРНК, нейротрофинов и их мРНК, а в срезах гиппокампа регистрировали длительную потенциацию (ДП) как показатель синаптической пластичности. Показано, что вызванное НПС нарушение ДП в гиппокампе сопровождается повышением уровня кортикостерона и увеличением иммунореактивности ИЛ-6. В неокортексе выявлено снижение уровня экспрессии экзона IV BDNF. Предполагается, что избыточная доставка кортикостерона к рецепторам гиппокампа и провоспалительные изменения, сохраняющиеся при созревании мозга, входят в число принципиальных молекулярных механизмов, ответственных за нарушения нейропластичности в результате НПС.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: неонатальный провоспалительный стресс, липополисахарид, глюкокортикоиды, провоспалительные цитокины, нейротрофины, длительная потенциация.

Ранее нами было показано, что неонатальный провоспалительный стресс (НПС), индуцированный инъекцией бактериального липополисахарида (ЛПС) на 3-й и 5-й дни после рождения (5-й и 8-й мес. у человека), вызывает нарушения в регуляции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси (ГГНО), что приводит к повышенному уровню кортикостерона (КС) в крови, снижает реактивность кортикостероидного ответа на умеренный стресс и способствует формированию депрессивноподобного поведения у ювенильных (1 мес.) и взрослых (3 мес.) крыс [1]. Полученные результаты свидетель-

ствуют в пользу гипотезы о том, что НПС вызывает сбой в «перинатальном программировании» и способствует формированию поведенческих и физиологических отклонений у взрослых в результате нарушения нейропластичности [2]. Тем не менее остаются малоизученными молекулярные механизмы влияния НПС, лежащие в основе функциональных изменений.

В ответ на системное введение ЛПС различные типы клеток, например, макрофаги, микроглия, эндотелиальные клетки сосудов, фибробласты и нейроны, секретируют провоспалительные цитокины – ИЛ-1 β , ИЛ-6 и TNF [3]. Периферический пул провоспалительных цитокинов оказывает действие и на ЦНС, приводя к активации ГГНО с последующим высвобождением глюкокортикоидов из надпочечников [4, 5], стимулируя экспрессию провоспалительных цитокинов в иммунокомпетентных клетках мозга и тем самым стимулируя нейровоспаление и нейродегенерацию [6–8]. Активация ГГНО осуществляется за счет прямого стимулирующе-

Принятые сокращения: НПС – неонатальный провоспалительный стресс; ДП – длительная потенциация; ЛПС – липополисахарид; КС – кортикостерон; ГГНО – гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось; ИЛ – интерлейкин; TNF – фактор некроза опухоли; ГР – глюкокортикоидный рецептор; МР – минералокортикоидный рецептор; BDNF – нейротрофический фактор мозга; NGF – фактор роста нервов.

* Адресат для корреспонденции.

го влияния провоспалительных цитокинов на продукцию и высвобождение кортикотропин-рилизинг-фактора в гипоталамусе и аденокортикотропного гормона в гипофизе [9, 10].

Как известно, глюкокортикоиды взаимодействуют с двумя типами рецепторов — глюкокортикоидными (ГР) и минералокортикоидными (МР). Мозг экспрессирует высокие уровни ГР и МР, при этом последние обладают в ~10 раз более высоким сродством к лиганду [11]. ГР и МР после связывания с КС функционируют как регуляторы экспрессии генов [12, 13]. В целом совместная экспрессия ГР и МР характерна для областей мозга, связанных со стрессорной реакцией и играющих важную роль в формировании эмоций и когнитивных функций (область CA1 гиппокампа, зубчатая извилина, медиальная префронтальная кора, миндаля) [13]. С функциональной точки зрения кортикостероиды могут быстро модулировать нейронную активность по негеномному механизму через активацию мембранных ГР и МР [14, 15]. В гиппокампе активация МР обеспечивает поддержание активности нейронов, а активация ГР после стресса обуславливает подавление нейрональной возбудимости и синаптической пластичности [16, 17]. Нейротрофины, включая BDNF, NGF, NT-3 и NT-4, регулируют различные функции клеток, в т.ч. синаптическую пластичность в периферической и центральной нервных системах [18, 19]. Известно, что дисрегуляция ГГНО, а также повышение уровня провоспалительных цитокинов нарушают нейрональную пластичность, оказывая прямое или опосредованное влияние на экспрессию и функции нейротрофинов в ЦНС [20, 21].

Цель данной работы заключалась в выяснении роли глюкокортикоидов, провоспалительных цитокинов и нейротрофических факторов в механизмах изменения пластичности мозга в результате НПС.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Моделирование НПС. В эксперименте использовали 19 крыс-самцов линии Вистар. После рождения крысят все пометы были поделены на две группы: части пометов ($n = 9$) вводили подкожно бактериальный липополисахарид (ЛПС, 50 мкг/кг, группа НПС), другой части ($n = 10$) вводили эквивалентный объем стерильного физиологического раствора (контрольная группа). Инъекции осуществляли на 3-й и 5-й постнатальные дни. По достижении возраста 1 мес. крыс выводили из эксперимента, умерщвляли декапитацией, выделяли из головного

мозга неокортекс и гиппокамп, а также собирали периферическую кровь из хвостовой вены для получения плазмы.

Гомогенизация ткани мозга. Гомогенизацию регионов мозга проводили на гомогенизаторе Поттера с использованием стандартного фосфатно-солевого буфера, содержавшего 1%-ный нонидет Р-40, 1 мМ ЭДТА, 10%-ный глицерин и коктейль ингибиторов протеаз («Thermo Scientific», США). Полученные гомогенаты центрифугировали в течение 30 мин при 13 000 g и +4° С. Аликвоты супернатантов хранили при -80° С до проведения биохимических исследований.

Определение уровня КС. Для определения уровня КС в плазме крови и супернатантах использовали наборы для иммуноферментного анализа («DRG», Германия), с помощью которых детектировали как свободный, так и связанный с транспортными белками КС методом конкурентного ИФА.

Определение факторов роста. Уровни BDNF и NGF оценивали с помощью коммерческих наборов для ИФА («Millipore», США).

Определение провоспалительных цитокинов. Содержание цитокинов (IL-1 β , IL-6, TNF) в супернатантах регионов мозга крыс оценивали с помощью наборов для ИФА («PeproTech», Германия) согласно инструкциям производителя.

Определение уровня экспрессии мРНК IL-1 β , IL-6, TNF и BDNF. Экспрессию мРНК провоспалительных цитокинов и BDNF в неокортексе и гиппокампе оценивали посредством проведения ОТ-ПЦР в реальном времени, как описано в работе Peregud et al. [22].

Электрофизиологические исследования. Оценку длительной потенциации (ДП) проводили на переживающих срезах гиппокампа крысят 17–33-дневного возраста. Срезы перфузировали средой, состоявшей из 124 мМ NaCl, 5 мМ KCl, 1,3 мМ MgSO₄ × 7 H₂O, 2,5 мМ CaCl₂, 1 мМ NaH₂PO₄, 26 мМ NaHCO₃, 10 мМ D-глюкозы, pH 7,3–7,4. Среду насыщали карбогеном (95% O₂/5% CO₂), инкубацию и регистрацию электрической активности проводили при 34° С. В пирамидном слое поля CA1 регистрировали фокальные потенциалы с помощью стеклянного микроэлектрода, заполненного 0,33 М NaCl. Стимулирующий электрод помещали в коллатералях Шаффера радиального слоя. До начала регистрации определяли величину порога стимуляции и зависимость амплитуды ответа от интенсивности стимуляции. В качестве тестовой использовали интенсивность стимуляции, которая вызывала ответ на уровне 40–45% от максимальной амплитуды. ДП вызывали высокочастотной стимуляцией коллатералей Шаффера (1 с, 100 Гц). Тестирование ответов в поле CA1 прово-

дили до и в течение 1 ч после индукции потенциации с интервалом 30 с. Всего было использовано 30 срезов от 18 крыс (контрольная группа $n = 10$ и группа НПС $n = 8$).

Статистическая обработка результатов. Статистическую обработку результатов проводили в программе Statistica 8. Показатели ДП в срезах оценивали с помощью дисперсионного анализа (ANOVA). Использовали факторы «группа» для оценки эффекта НПС и «время» для оценки развития ДП после индукции. Достоверность различий между группами оценивали с помощью непараметрических методов – U-критерия Манна–Уитни. Данные представлены в виде $M \pm SEM$. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Уровень КС в крови (контроль – $291,8 \pm 29,9$ нг/мл; НПС – $236,1 \pm 16,2$ нг/мл), неокортексе (контроль – $10,67 \pm 0,33$ нг/г ткани; НПС – $8,20 \pm 0,92$ нг/г ткани) и гиппокампе (контроль – $10,83 \pm 0,77$ нг/г ткани; НПС – $9,21 \pm 0,69$ нг/г ткани) статистически значимо не изменился у ювенильных крыс после НПС. На сходной модели НПС Shanks et al. [23] выявили у взрослых крыс повышенную стресс-реактивность (возрастание уровня адренокортикотропного гормона и КС в крови) в ответ на иммобилизационный стресс, однако при этом базальный уровень КС в крови не отличался от контроля. В другом исследовании зарегистрировали повышенный уровень КС в крови через 4 ч после последней инъекции ЛПС на 5-й постнатальный день, тогда как у взрослых крыс этот показатель не превышал контрольных значений [24].

Для оценки эффективности доставки КС в отделы мозга мы использовали отношение уровня гормона в отделах мозга к его уровню в крови, который принимали за 100% и рассчитывали индивидуально для каждого животного экспериментальной группы (рис. 1). У животных после НПС в 1,5 раза повышена доставка КС в мозг, однако данные изменения недостоверны в неокортексе (из-за разброса данных), но статистически значимы в гиппокампе. Очевидно, что эффективность доставки КС в мозг определяет интенсивность трансдукции сигнала, опосредованного ГР и МР. Более того, повышение экспрессии ГР в префронтальной коре и гиппокампе в результате раннего постнатального стресса [25] может играть в этом процессе существенную роль. Можно предположить, что выявленные ранее нарушения в регуляции ГГНО после НПС [1] реализуются в мозге в виде более эффективного связывания лиганда с рецепто-

ром и потенциально более мощной трансдукции сигнала через ГР и/или МР.

Для оценки интенсивности нейровоспаления в неокортексе и гиппокампе после НПС определяли иммунореактивность и уровень экспрессии генов трех основных провоспалительных цитокинов – IL-1 β , IL-6 и TNF (рис. 2). Оказалось, что только уровень IL-6 достоверно повышен в гиппокампе (в 1,3 раза); избыточная секреция IL-6 характерна для хронического процесса нейровоспаления. При этом содержание IL-1 β и TNF, которое обычно возрастает на острых стадиях стрессогенных воздействий [26], не отличалось от контрольного в группе НПС.

Важно отметить, что направленность изменений иммунореактивности исследованных цитокинов ни в одном случае не совпадала с изменениями уровня экспрессии соответствующих мРНК. Так, уровень экспрессии мРНК IL-6 после НПС достоверно понизился в гиппокампе и неокортексе, тогда как иммунореактивность не изменилась в неокортексе, а в гиппокампе, как отмечено выше, повысилась. Статистически значимое снижение уровня экспрессии мРНК IL-1 β и TNF после НПС происходило только в неокортексе, но не в гиппокампе, и при этом в неокортексе иммунореактивность не изменилась.

На первый взгляд, полученные данные на уровне экспрессии генов и белка цитокинов представляются достаточно противоречивыми. Тем не менее повышенный уровень белка IL-6 на фоне сниженной экспрессии его гена говорит о том, что, несмотря на адаптивный противовоспалительный ответ, регистрируемый на уровне экспрессии гена, провоспалительная система может поддерживаться, например, за счет снижения скорости метаболизма белка IL-6. Следует отметить, что функциональное значение имеет именно иммунореактивность провоспалитель-

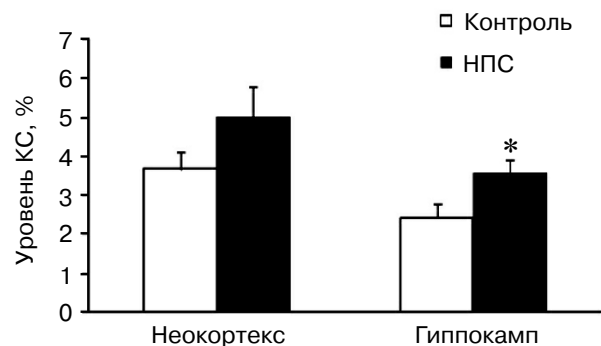


Рис. 1. Влияние НПС на отношение уровня КС в отделах мозга к уровню циркулирующего КС у 1-месячных крыс. * Достоверность отличия от контроля при $p < 0,05$

тельных цитокинов, и мы видим влияние на иммунореактивность в гиппокампе, где этот эффект обусловлен кортикостероидной регуляцией [27].

«Противоречивые» данные по влиянию НПС на иммунореактивность и экспрессию мРНК провоспалительных цитокинов встречаются и у других исследователей. Так, уровень белков IL-1 β , IL-6 и TNF не изменился в гиппокампе взрослых крыс после НПС и возрос только после последующего иммобилизационного

стресса [24]. Тем не менее в результате НПС экспрессия мРНК IL-1 β увеличилась в зубчатой фасции гиппокампа взрослых животных [28]. С другой стороны, у ювенильных крыс после НПС в префронтальной коре не изменился уровень экспрессии мРНК IL-1 β , IL-6 и TNF, в гиппокампе отсутствовали изменения уровня экспрессии мРНК IL-1 β и IL-6, но возрос уровень экспрессии мРНК TNF [29].

Уровень белка NGF и экспрессия гена *NGF* не изменились у ювенильных крыс после НПС

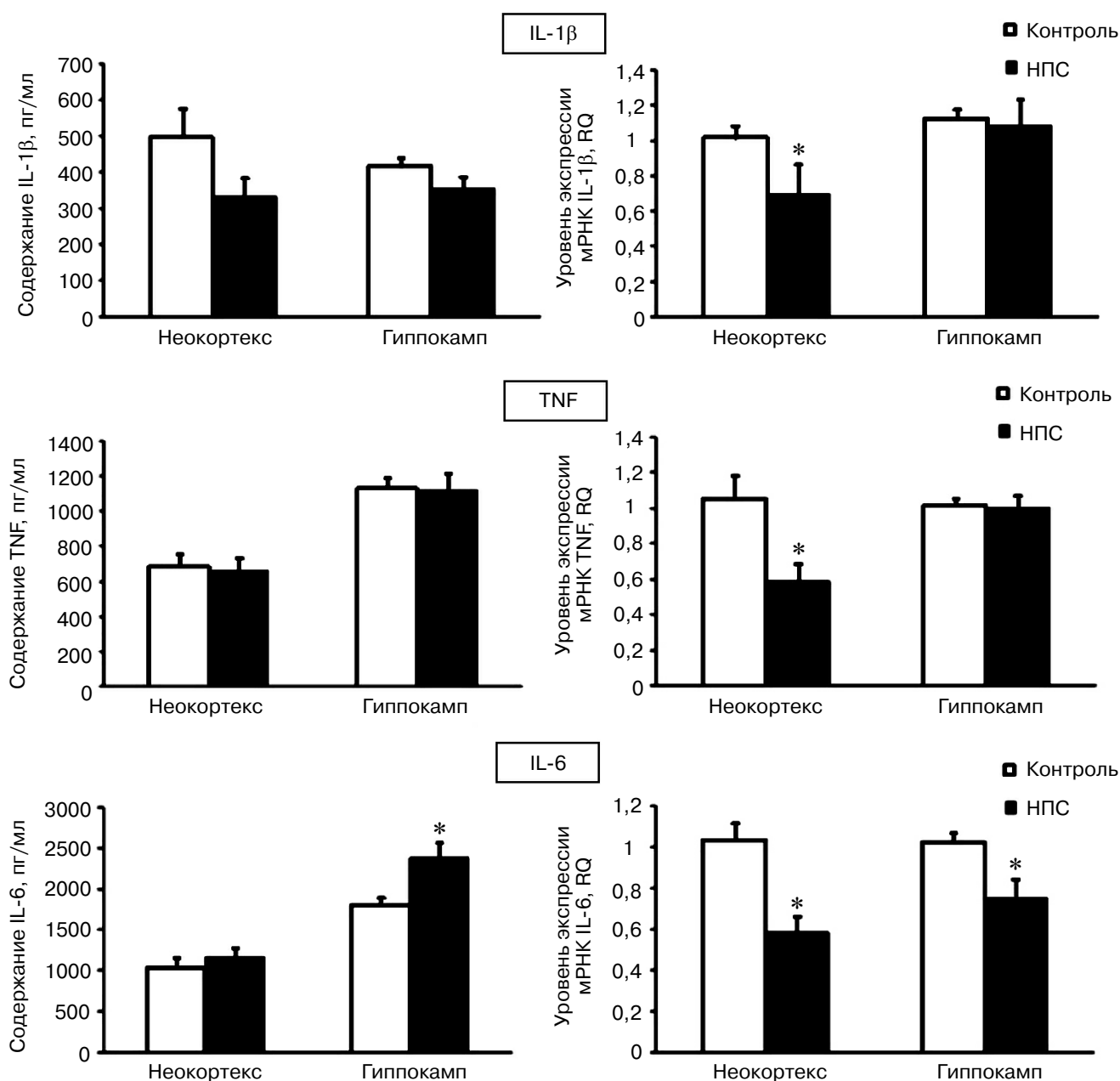


Рис. 2. Влияние НПС на уровень (слева) и экспрессию мРНК (справа) провоспалительных цитокинов в регионах мозга крыс. * Достоверность отличия от контроля при $p < 0,05$

ни в неокортексе, ни в гиппокампе (данные не приведены). Несмотря на то что после НПС не выявлены изменения ни иммунореактивности общего BDNF, ни уровня экспрессии его гена в неокортексе и гиппокампе, оценка уровня экспрессии мРНК по индивидуальным экзонам BDNF дала результат (рис. 3). Так, после НПС в неокортексе достоверно понизился (в 1,3 раза) уровень экспрессии экзона BDNF IV, который является наиболее стресс-реактивным экзоном BDNF [30]. Неокортекс и гиппокамп относятся к стресс-чувствительным регионам мозга, и снижение уровня экспрессии BDNF и его экзонов в этих структурах может быть вызвано, в частности, повышенным уровнем КС [31] и/или провоспалительных цитокинов [32]. Тем не менее в нашем исследовании снижение уровня

экспрессии мРНК экзона IV BDNF происходило только в неокортексе ювенильных крыс, перенесших НПС, и, по-видимому, является достаточно пролонгированным даже при отсутствии значимых изменений уровня влияющих на его экспрессию факторов.

Для оценки состояния синаптической пластичности гиппокампа использовали парадигму ДП. В основе ДП лежит увеличение эффективности синапсов в результате высокочастотной стимуляции афферентных входов. ДП – один из хорошо известных феноменов синаптической пластичности, связанной со способностью химического синапса поддерживать высокий уровень трансмиссии сигнала в результате определенного паттерна стимуляции. Для исследования ДП часто используют срезы гиппокампа –

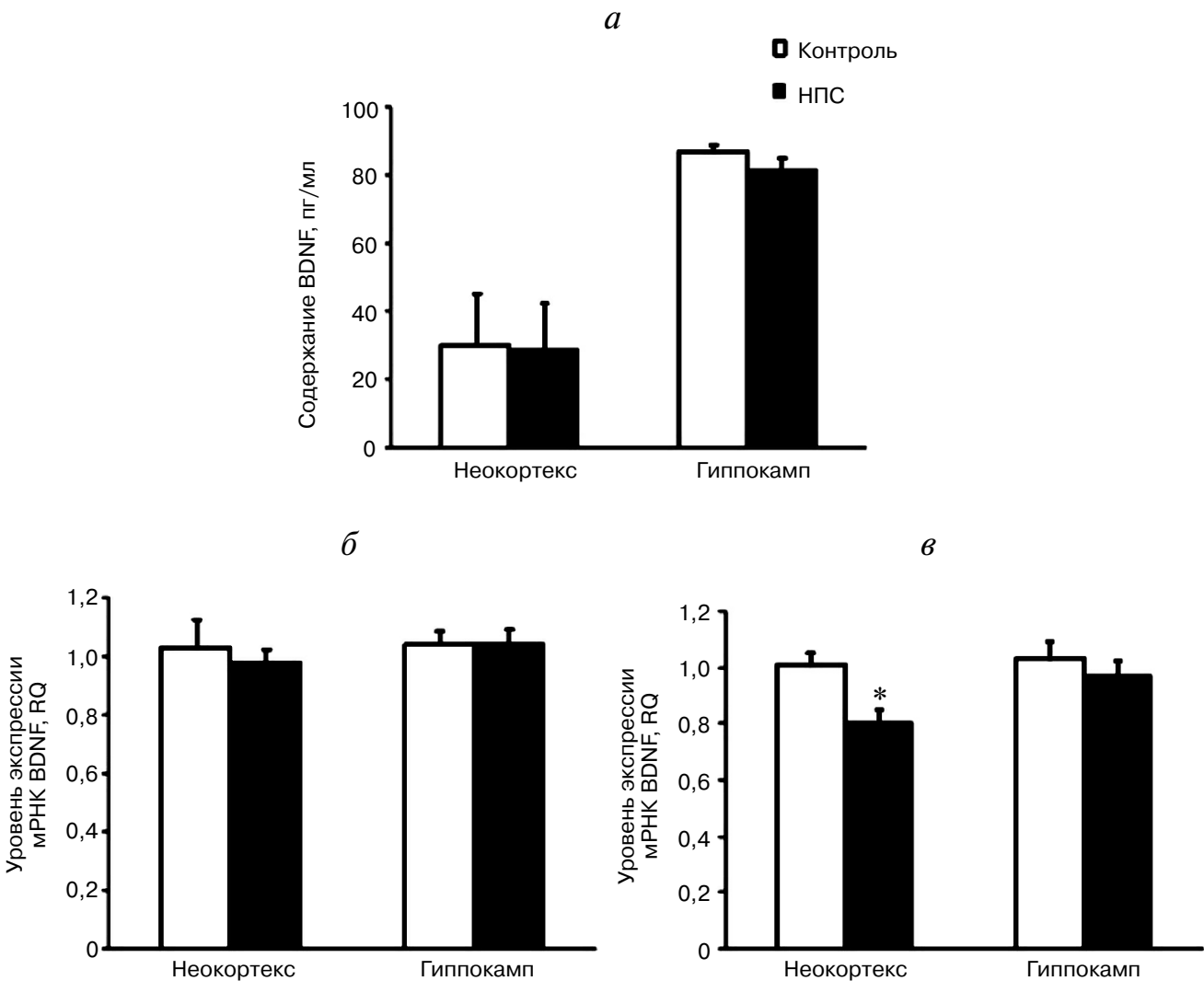


Рис. 3. Влияние НПС на уровень BDNF (а), экспрессию мРНК BDNF (б) и экспрессию мРНК экзона IV BDNF (в) в регионах мозга крыс. * Достоверность отличия от контроля при $p < 0,05$

структуры мозга, участвующей в процессах обучения и формирования памяти. Измерения величины популяционного спайка проводят на пирамидных нейронах, которые получают афферентный сигнал от коллатералей Шаффера, подвергающихся действию стимула с высокой частотой. Как следует из полученных результатов, высокочастотная стимуляция коллатералей Шаффера приводила к индукции ДП в синапсах СА3–СА1 (фактор «время» $p < 0,01$) как в срезах гиппокампа контрольных животных, так и в срезах крыс, перенесших НПС (рис. 4; фактор «группа» $p > 0,1$). Анализ величины прироста ответа после высокочастотной стимуляции с помощью ANOVA выявил наличие статистически значимого взаимодействия факторов «группа» × «время» ($p < 0,001$), что свидетельствует об особенностях развития долговременной потенциации у животных, перенесших НПС. Действительно, НПС существенно изменял свойства долговременной потенциации в гиппокампе ювенильных крыс. Наиболее выражен этот эффект был в ранней фазе потенциации. В частности, сравнение динамики синаптических модификаций именно в течение первых 15 мин после тетанизации выявило наличие статистически значимого взаимодействия факторов «группа» × «время» ($p < 0,001$), что было обусловлено особенностями протекания изменений после стимуляции в первую очередь у крыс, перенесших НПС. И у крыс контрольной группы, и у крыс, перенесших НПС, после высокочастотной стимуляции наблюдался период постактивационной синаптической депрессии. Во всех срезах гиппокампа крыс из контрольной группы, так же как и в семи срезах гиппокампа крыс из группы НПС, после периода депрессии величина ответов возрастала. В то же время в девяти срезах гиппокампа крыс из группы НПС ранняя фаза потенциации отсутствовала. Вместе с тем, когда индукция потенциации была успешной, фаза ее поддержания в срезах гиппокампа крыс, перенесших НПС, не отличалась существенно от таковой в срезах гиппокампа контрольной группы (взаимодействие факторов «группа» × «время» $p > 0,7$). Как было показано ранее, и КС, и IL-6 способны ингибировать ДП в гиппокампе [32, 33]. По-видимому, полученные нами результаты о стимулирующем влиянии НПС на доставку КС и уровень IL-6 в гиппокампе могут отражать конкретные механизмы нарушения нейропластичности в этом регионе мозга.

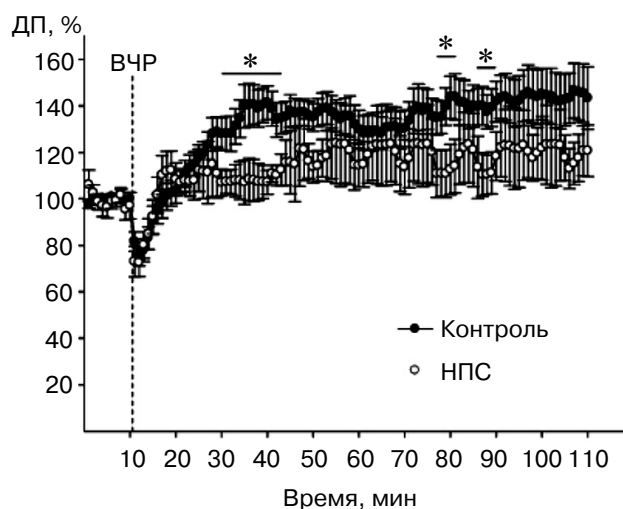


Рис. 4. Влияние НПС на развитие долговременной потенциации (ДП) в срезах гиппокампа. ВЧР — высокочастотное раздражение. Темные символы — средние значения по всем срезам контрольной группы, светлые символы — средние значения по всем срезам группы НПС. * Достоверность отличия от контроля при $p < 0,05$

Таким образом, НПС вызывал различные долгосрочные регионспецифичные изменения в исследованных нами нейрохимических системах. Именно в гиппокампе наблюдается усиление доставки КС и развиваются процессы нейровоспаления, которые, очевидно, участвуют в выявленном нарушении синаптической пластичности. В данном исследовании не проведена нейрофизиологическая оценка пластичности неокортекса, однако изменения уровня экспрессии экзона IV BDNF в этой области свидетельствуют о потенциальном нарушении пластичности и этой области мозга. Полученные результаты подтверждают концепцию о том, что регионарные нарушения кортикостероидной сигнализации и нейротрофиновой системы, а также нейровоспаление формируют механизмы психоэмоциональных и когнитивных дефектов, проявляющихся в процессе развития у людей, перенесших ранний провоспалительный стресс.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 14-25-00136).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Tishkina, A., Stepanichev, M., Kudryashova, I., Freiman, S., Onufriev, M., Lazareva, N., and Gulyaeva, N. (2016) Neonatal proinflammatory challenge in male Wistar rats: effects on behavior, synaptic plasticity, and adrenocortical stress response, *Behav. Brain Res.*, **304**, 1–10.
- Walker, A., Nakamura, T., Byrne, R.J., Naicker, S., Tynan, R.J., Hunte, M., and Hodgson, D.M. (2009) Neonatal lipopolysaccharide and adult stress exposure predisposes rats to anxiety-like behaviour and blunted corticosterone responses: implications for the double-hit hypothesis, *Psychoneuroendocrinology*, **34**, 1515–1525.
- Silverman, M.N., Pearce, B.D., Biron, C.A., and Miller, A.H. (2005) Immune modulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis during viral infection, *Viral Immunol.*, **18**, 41–78.
- Gwosdow, A.R., Kumar, M.S., and Bode, H.H. (1990) Interleukin 1 stimulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, *Am. J. Physiol.*, **258**, E65–E70.
- Turnbull, A.V., and Rivier, C.L. (1999) Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action, *Physiol. Rev.*, **79**, 1–71.
- Gatti, S., and Bartfai, T. (1993) Induction of tumor necrosis factor- α mRNA in the brain after peripheral endotoxin treatment: comparison with interleukin-1 family and interleukin-6, *Brain Res.*, **624**, 291–294.
- Dantzer, R. (2004) Cytokine-induced sickness behaviour: a neuroimmune response to activation of innate immunity, *Eur. J. Pharmacol.*, **500**, 399–411.
- Chung, D.W., Yoo, K.Y., Hwang, I.K., Kim, D.W., Chung, J.Y., Lee, C.H., Choi, J.H., Choi, S.Y., Youn, H.Y., Lee, I.S., and Won, M.H. (2010) Systemic administration of lipopolysaccharide induces cyclooxygenase-2 immunoreactivity in endothelium and increases microglia in the mouse hippocampus, *Cell Mol. Neurobiol.*, **30**, 531–541.
- Chida, D., Imaki, T., Suda, T., and Iwakura, Y. (2005) Involvement of corticotropin-releasing hormone- and interleukin (IL)-6-dependent proopiomelanocortin induction in the anterior pituitary during hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation by IL-1 α , *Endocrinology*, **146**, 5496–5502.
- Kageyama, K., Tamasawa, N., and Suda, T. (2011) Signal transduction in the hypothalamic corticotropin-releasing factor system and its clinical implications, *Stress*, **14**, 357–367.
- De Kloet, E.R., Fitzsimons, C.P., Datson, N.A., Meijer, O.C., and Vreugdenhil, E. (2009) Glucocorticoid signaling and stress-related limbic susceptibility pathway: about receptors, transcription machinery and microRNA, *Brain Res.*, **1293**, 129–141.
- Herman, J.P., Figueiredo, H., Mueller, N.K., Ulrich-Lai, Y., Ostrander, M.M., and Choi, D.C. (2003) Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness, *Front. Neuroendocrinol.*, **24**, 151–180.
- Reul, J.M., and De Kloet, E.R. (1985) Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation, *Endocrinology*, **117**, 2505–2511.
- Dallman, M.F. (2005) Fast glucocorticoid actions on brain: back to the future, *Front. Neuroendocrinol.*, **26**, 103–108.
- Tasker, J.G., Di, S., and Malcher-Lopes, R. (2006) Minireview: rapid glucocorticoid signaling via membrane-associated receptors, *Endocrinology*, **147**, 5549–5556.
- Joels, M., Karst, H., Krugers, H., and Lucassen, P. (2007) Chronic stress: implications for neuronal morphology, function and neurogenesis, *Front. Neuroendocrinol.*, **28**, 72–96.
- Kim, J.J., and Diamond, D.M. (2002) The stressed hippocampus, synaptic plasticity and lost memories, *Nature Rev. Neurosci.*, **3**, 453–462.
- Chao, M.V., Rajagopal, R., and Lee, F.S. (2006) Neurotrophin signalling in health and disease, *Clin. Sci. (Lond.)*, **110**, 167–173.
- Ohira, K., and Hayashi, M. (2009) A new aspect of the TrkB signaling pathway in neural plasticity, *Curr. Neuropharmacol.*, **7**, 276–285.
- Wosiski-Kuhn, M., Erion, J.R., Gomez-Sanchez, E.P., Gomez-Sanchez, C.E., and Stranahan, A.M. (2014) Glucocorticoid receptor activation impairs hippocampal plasticity by suppressing BDNF expression in obese mice, *Psychoneuroendocrinology*, **42**, 165–177.
- Tong, L., Prieto, G.A., Kramar, E.A., Smith, E.D., Cribbs, D.H., Lynch, G., and Cotman, C.W. (2012) Brain-derived neurotrophic factor-dependent synaptic plasticity is suppressed by interleukin-1 β via p38 mitogen-activated protein kinase, *J. Neurosci.*, **32**, 17714–17724.
- Peregud, D.I., Yakovlev, A.A., Stepanichev, M.Y., Onufriev, M.V., Panchenko, L.F., and Gulyaeva, N.V. (2016) Expression of BDNF and TrkB phosphorylation in the rat frontal cortex during morphine withdrawal are NO dependent, *Cell Mol. Neurobiol.*, **36**, 839–849.
- Shanks, N., Larocque, S., and Meaney, M.J. (1995) Neonatal endotoxin exposure alters the development of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: early illness and later responsiveness to stress, *J. Neurosci.*, **15**, 376–384.
- Walker, A.K., Nakamura, T., and Hodgson, D.M. (2010) Neonatal lipopolysaccharide exposure alters central cytokine responses to stress in adulthood in Wistar rats, *Stress*, **13**, 506–515.
- Meaney, M.J., Aitken, D.H., van Berkel, C., Bhatnagar, S., and Sapolsky, R.M. (1988) Effect of neonatal handling on age-related impairments associated with the hippocampus, *Science*, **239**, 766–768.
- Himmerich, H., Fischer, J., Bauer, K., Kirkby, K.C., Sack, U., and Krugel, U. (2013) Stress-induced cytokine changes in rats, *Eur. Cytokine Netw.*, **24**, 97–103.
- Пискунов А.К., Яковлев А.А., Степаничев М.Ю., Онуфриев М.В., Гуляева Н.В. (2011) Селективная чувствительность гиппокампа к энтероцептивному стрессу: эффект интерлейкина-1 β и эритропоэтина, *Нейрохимия*, **28**, 216–219.
- Bilbo, S.D., Barrientos, R.M., Eads, A.S., Northcutt, A., Watkins, L.R., Rudy, J.W., and Maier, S.F. (2008) Early-life infection leads to altered BDNF and IL-1 β mRNA expression in rat hippocampus following learning in adulthood, *Brain Behav. Immun.*, **22**, 451–455.
- Bland, S.T., Beckley, J.T., Watkins, L.R., Maier, S.F., and Bilbo, S.D. (2010) Neonatal *Escherichia coli* infection alters glial, cytokine, and neuronal gene expression in response to acute amphetamine in adolescent rats, *Neurosci. Lett.*, **474**, 52–57.
- Nair, A., Vadodaria, K.C., Banerjee, S.B., Benekareddy, M., Dias, V.G., Duman, R.S., and Vaidya, V.A. (2007) Stressor-specific regulation of distinct brain-derived neurotrophic factor transcripts and cyclic AMP response element-binding protein expression in the postnatal and adult rat hippocampus, *Neuropsychopharmacology*, **32**, 1504–1519.
- Dwivedi, Y., Rizavi, H.S., and Pandey, G.N. (2006) Antidepressants reverse corticosterone-mediated decrease in BDNF expression: dissociation in regulation of specific exons by antidepressants and corticosterone, *Neuroscience*, **139**, 1017–1029.
- Sharvit, A., Segal, M., Kehat, O., Stork, O., and Richter-Levin, G. (2015) Differential modulation of synaptic plasticity and local circuit activity in the dentate gyrus and CA1 regions of the rat hippocampus by corticosterone, *Stress*, **18**, 319–327.
- Li, A.J., Katafuchi, T., Oda, S., Hori, T., and Oomura, Y. (1997) Interleukin-6 inhibits long-term potentiation in rat hippocampal slices, *Brain Res.*, **748**, 30–38.

**NEONATAL PROINFLAMMATORY STRESS
INDUCES ACCUMULATION OF CORTICOSTERONE
AND INTERLEUKIN-6 IN THE HIPPOCAMPUS
OF JUVENILE RATS: POTENTIAL MECHANISM
OF SYNAPTIC PLASTICITY DISTURBANCE**

**M. V. Onufriev*, S. V. Freiman, D. I. Peregud,
I. V. Kudrjashova, A. O. Tishkina, M. Yu. Stepanichev,
and N. V. Gulyaeva**

*Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology,
Russian Academy of Sciences, 117485 Moscow, Russia;
E-mail: mikeonuf1@rambler.ru*

Received October 25, 2016
Revision received November 17, 2016

Infectious disease in early postnatal ontogenesis may induce neuroinflammation, disturb normal development of the CNS, and contribute to pathogenesis of cerebral pathologies in adults. To study long-term consequences of such early stress, we used a model of neonatal proinflammatory stress (NPS) induced by administration of a bacterial lipopolysaccharide to rat pups on the third and fifth postnatal days. In one-month-old animals, corticosterone levels, as well as proinflammatory cytokines, neurotrophin immunoreactivity, and mRNA were assessed in the hippocampus and neocortex. Long-term potentiation (LTP) was studied in hippocampal slices as an index of synaptic plasticity. NPS-induced LTP disturbance was accompanied by the accumulation of corticosterone and IL-6 immunoreactivity in the hippocampus. In the neocortex, a decrease in exon IV BDNF mRNA was detected. We suggest that excessive corticosterone delivery to hippocampal receptors and proinflammatory changes persisting during brain maturation are among principal molecular mechanisms responsible for neuroplasticity impairments due to early stress.

Keywords: neonatal proinflammatory stress, lipopolysaccharide, corticosterone, proinflammatory cytokines, neurotrophins, long-term potentiation (LTP)