

Долговременные изменения в цитокиновом/хемокиновом профиле у крыс, подвергшихся изоляции в раннем постнатальном периоде

Мавренкова П.В.¹, Алчинова И.Б.¹, Порошина А.С.², Деморжи М.С.¹, Карганов М.Ю.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии». 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России. 115522, Москва, Каширское шоссе, д. 24

Long-term changes in cytokine/chemokine profile in early postnatal isolation rats

Mavrenkova P.V.¹, Alchinova I.B.¹, Poroshina A.S.², Demorzhi M.S.¹, Karganov M.Yu.¹

¹ Institute of General Pathology and Pathophysiology, Baltijskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

² National Research Center Institute of Immunology of the Federal Medical-Biological Agency of Russia. Kashirskoye shosse 24, Moscow 115478, Russian Federation

Была высказана гипотеза о нарушении баланса провоспалительных и противовоспалительных реакций у пациентов с пограничным расстройством личности (ПРЛ) [1]. Сообщалось о повышении при ПРЛ воспалительных факторов в мононуклеарных клетках крови – COX2, iNOS [1], индуцируемых провоспалительными цитокинами и хемокинами. Поскольку важным средовым этиологическим фактором развития ПРЛ считают стресс в раннем периоде онтогенеза, предлагается использовать этот подход для моделирования некоторых симптомов ПРЛ (агрессивность, импульсивность, нарушение социальности) у грызунов и изучения их патогенеза [2].

Целью данного исследования была оценка уровня ряда провоспалительных и противовоспалительных цитокинов и хемокинов у самцов и самок крыс подросткового и взрослого возраста, подвергнутых отлучению от матери и сублинговой изоляции в раннем неонатальном периоде.

Методы. Все эксперименты с животными (крысы Wistar) проводили под контролем Этического комитета ФГБНУ «НИИОПП». Беременных самок содержали по одной в клетке до момента родов (нулевой постнатальный день, ПНД 0). В ПНД 1 крысят распределяли по кормящим самкам таким образом, чтобы каждая самка выкармливала 6–8 крысят обоих пола (примерно поровну самцов и самок) из разных пометов. Половина таких смешанных пометов была подвергнута процедуре ежедневного отлучения от матери и изоляции от других детенышей в течение 6 ч в ПНД 4–15 включительно (группа «Депривация», Д). Крысят остальных пометов ежедневно брали в руки и немедленно возвращали к матери

(группа «Контроль», К). Крысят отсаживали от матерей на ПНД 25 и содержали в стандартных условиях вивария. Было проведено две серии экспериментов. В серии 1 часть животных была декапитирована в ПНД 28–29 (возраст 1 мес) без тестирования поведения; у остальных животных оценили уровень двигательной и исследовательской активности, уровень тревожности, агрессивности, социальности и ангедонии в ПНД 54–58, после чего часть крыс декапитировали (возраст 2 мес); оставшихся животных декапитировали после повторного тестирования поведения в ПНД 310–311 (возраст 11 мес). В серии 2 после батареи поведенческих тестов (ПНД 56–66) крыс подвергали повторному стрессированию в ПНД 68–72. Для этого формировали пары однополых животных, одно из которых в течение 5 последовательных дней получало неизбежные удары электрическим током по лапам (0,8 мА, 5 с, 10 ударов за 10 мин с псевдослучайными интервалами) (подгруппа FS: физический + психоэмоциональный стресс); вторая крыса в паре наблюдала за этим процессом через прозрачную перегородку с отверстиями (подгруппы ES: психоэмоциональный стресс). После декапитации смешанную венозную и артериальную кровь собирали в пробирки VacPlus (Sanamedical, Россия) с активатором свертывания и центрифугировали в течение 15 мин при 2000 g (Eppendorf, Германия). Определение цитокинов/хемокинов в сыворотке крови проводили с использованием набора MILLIPLEX map Kit (Millipore-Merck, Германия) в соответствии с протоколом производителя. Поскольку распределение полученных данных отличалось от нормального, для статистического анализа применяли непараметрический дву-

сторонний U-критерий Манна–Уитни для независимых переменных и коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

Результаты. В возрасте 1 мес у самцов в группе Д ($n=11$) по сравнению с К ($n=10$) были снижены уровни лептина (1916.4 [572.4; 3326.0] и 3491.9 [2856.6; 5024.3] соответственно, $p=0,015$), VEGF (42.8 [33.8; 53.2] и 80.3 [53.2; 128.7], $p=0,003$) и фракталкина (82.1 [56.7; 88.3] и 134.2 [91.5; 172.0], $p=0,019$), и отмечена тенденция к повышению уровня IL-5 (37,6 [24.9; 37.6] и 42.8 [37.6; 65.5], $p=0,084$). У самок (Д – $n=9$, К – $n=10$) был снижен только уровень лептина (1141.8 [860.2; 1483.7] и 2178.2 [1935.7; 2845.5], $p=0,08$). У крыс обоего пола группы Д была снижена относительная масса тимуса по сравнению с К. Этот показатель коррелировал с уровнем лептина ($r=0.51$). Кроме того, у самцов выявлена корреляция с уровнем VEGF ($r=0.75$) и фракталкина ($r=0.67$).

В возрасте 2 мес у самцов в группе Д ($n=16$) по сравнению с К ($n=10$) статистически значимых отличий в уровнях цитокинов и хемокинов не выявлено. У самок (Д – $n=12$, К – $n=15$) были снижены уровни фракталкина (32.6 [25.6; 39,1] и 47.1 [30.9; 80.5], $p=0,043$), IL-10 (13.3 [10.3; 37.2] и 47.8 [16.2; 130.6], $p=0,023$) и IP-10 (207.1 [231.6; 288.2] и 318.7 [370.7; 510.6], $p=0,011$), а уровни IL-6 (753.3 [539.6; 1132.8] и 539.6 [140.6; 539.6], $p=0,031$), IL-12 (145.6 [120.9; 164.2] и 104.0 [61.8; 132.0], $p=0,032$), IL-5 (100.0 [83.8; 106.0] и 65.5 [37.6; 103.0], $p=0,050$) и LIX (1406.4 [1132.8; 1460.5] и 963.1 [723.5; 1633.4], $p=0,064$) были повышены. У крыс опытной группы отмечены признаки гиперактивного фенотипа, в частности, зарегистрирована повышенная горизонтальная двигательная активность в тесте «автоматизированное открытое поле». У самок обнаружена отрицательная корреляционная связь уровня локомоторной активности с уровнем IL-10 ($r=-0.60$) и IP-10 ($r=-0.66$), и положительная – с уровнем IL-5 ($r=0.48$) и LIX ($r=0.58$). Кроме того, у самок группы Д относительная масса тимуса была больше, чем в К, выявлена отрицательная корреляция с уровнем IL-10 ($r=-0.62$) и IP-10 ($r=-0.60$).

В возрасте 11 мес самцы группы Д ($n=8$) не отличались от К ($n=16$). У самок (Д – $n=6$, К – $n=13$) выявлены

повышенные уровни MIP-1 α ($p=0,011$), IL-1b ($p=0,008$), IL-2 ($p=0,028$), IL-10 ($p=0,001$), IP-10 ($p=0,004$), VEGF ($p=0,008$), фракталкина ($p<0,0001$). У самок группы Д на этом сроке наблюдения была снижена относительная масса надпочечников и выявлена отрицательная корреляционная связь этого показателя с уровнем IL-10 ($r=-0.50$).

В серии 2 в группе К у самцов К-ES ($n=13$) по сравнению с К-FS ($n=10$) был ниже уровень лептина, MIP-1 α , IFN-g, LIX, TNF- α . ($p<0,05$; с учетом FDR – выраженная тенденция) и VEGF ($p=0,006$). В группе Д статистически значимых различий между Д-ES ($n=12$) и Д-FS ($n=12$) ни по одному анализу не выявлено. Подгруппы К-FS и Д-FS также не различались по уровню цитокинов. В подгруппе Д-ES по сравнению с К-ES отмечен более высокий уровень MIP-1 α , IFN-g, LIX, MCP-1, IL-18 ($p<0,01$), лептина и TNF- α ($p<0,05$). У самок не выявлено отличий в содержании цитокинов/хемокинов в подгруппах К-FS ($n=11$) и К-ES ($n=10$). В подгруппе Д-ES ($n=11$) уровень IL-5 и MIP-2 был выше ($p<0,05$), чем в Д-FS ($n=11$). В подгруппе Д-FS по сравнению с К-FS были повышены уровни лептина и RANTES ($p<0,05$), а в подгруппе Д-ES по сравнению с К-ES повышены лептин, IL-17, MCP-1 и MIP-2 ($p<0,05$).

Заключение. Стресс отлучения от матери и сиблингов в неонатальном периоде приводил к развитию гиперактивного фенотипа у самцов и самок взрослых (2 мес) крыс и к нарушениям иммунного статуса (по уровню ряда цитокинов/хемокинов), которые по-разному проявлялись у самцов и самок в подростковом, раннем и позднем взрослом возрасте. Выявлены половые различия в изменении уровня цитокинов в ответ на физический или эмоциональный стресс у крыс, подвергнутых аверсивному воздействию в раннем онтогенезе.

Список литературы

1. Díaz-Marsá M., Macdowell K.S., Guemes I., Rubio V., Carrasco J.L., Leza J.C. Activation of the cholinergic anti-inflammatory system in peripheral blood mononuclear cells from patients with borderline personality disorder. *J. Psychiatr. Res.* 2012; 46(12): 1610–1617. DOI: 10.1016/j.jpsychires.2012.09.009
2. Cornique M.B., Koenigsberg H.W., Likhtik E. Toward an animal model of borderline personality disorder. *Psychopharmacology (Berl)*. 2019; 236(8): 2485–2500. DOI: 10.1007/s00213-019-05289-x