

©Коллектив авторов

ИНДУКЦИЯ TLR3 ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ УВЕЛИЧИВАЕТ СОДЕРЖАНИЕ ИНТЕРФЕРОНОВ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ У КРЫС ПОСРЕДСТВОМ TRAIL-СИГНАЛИЗАЦИИ

М.И. Айрапетов^{1,2}, С.О. Ереско^{1,3}, А.К. Васильев¹, В.Ю. Васильева¹,
Е.Р. Бычков¹, А.А. Лебедев¹, П.Д. Шабанов^{1,4}*

¹Институт экспериментальной медицины,
197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12; *эл. почта: interleukin1b@gmail.com

²Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет,
194100, Санкт-Петербург, Литовская ул., 2

³Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет,
197022, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, 14, лит. А

⁴Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова,
194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6

Патогенетические механизмы, связанные с употреблением алкоголя, включают в себя нарушение регуляции механизмов врожденной иммунной системы в мозге. В постмортальном материале коры мозга людей обнаружена повышенная экспрессия TLR3. Повышение активности TLR3-сигналинга приводит к индукции интерферонов (IFN). IFN связаны с депрессивными симптомами и, следовательно, могут играть роль в патогенезе алкоголизма, однако точные механизмы внутриклеточной сигнализации, опосредующие влияние этанола, до конца не известны, что и послужило целью этой работы. Результаты эксперимента показали, что длительная алкоголизация и агонист TLR3 Poly (I:C) повышали содержание мРНК TLR3, IFN β и IFN γ в префронтальной коре мозга. Кроме того, отмечено увеличение экспрессии гена *TRAIL*, которое положительно коррелировало с содержанием мРНК TLR3, IFN β и IFN γ как в условиях алкоголизации, так и после инъекций агониста TLR3. Полученные данные могут свидетельствовать, что длительная алкоголизация способна активировать TLR3-TRAIL-IFN-сигналинг в медиальной префронтальной коре (mPFC) мозга крыс.

Ключевые слова: мозг; mPFC; длительная алкоголизация; интерфероны; TLR3; TRAIL

DOI: 10.18097/PBMC20216704331

ВВЕДЕНИЕ

Механизмы регуляции врожденного иммунного ответа в мозге в условиях длительной алкоголизации в последнее время вызывают повышенный интерес. Toll-подобные рецепторы (англ. toll-like receptor, TLR) являются важной составляющей врожденной иммунной системы, которая отвечает за распознавание вирусных и бактериальных компонентов, а также за распознавание ряда собственных эндогенных молекул опасности (англ. damage-associated molecular patterns, DAMPs) [1-4]. Повышенный уровень экспрессии TLR3, TLR4 и TLR7 был обнаружен в постмортальном материале префронтальной коры (PFC) мозга людей, страдавших алкоголизмом; позднее эти данные были неоднократно подтверждены в экспериментах на животных [2, 4]. В головном мозге TLR3 локализуется внутриклеточно на эндосомах нейронов и клеток нейроглии (микроглия, астроглия, олигодендроглия) и запускают TRIF-зависимый внутриклеточный сигналинг, который приводит, в том числе, к активации генов интерферонов (англ. interferon, IFN). Изменения в содержании уровня TLR3 отмечены не только в PFC, но и в прилежащем ядре мозга после самовведения алкоголя мышами [5]. Ранее нами было показано, что в условиях длительной алкоголизации и при последующей отмене алкоголя на разных сроках уровень мРНК TLR3 изменяется у крыс в различных

структурах мозга (миндалевидное тело, гиппокамп, стриатум, медиальная префронтальная кора) [6]. Кроме того, длительная алкоголизация мышей не только активирует TLR3, но и способствует высвобождению цитокинов после введения агониста TLR3 — Poly (I:C) [7].

Одним из неблагоприятных последствий длительного употребления алкоголя является развитие депрессивных симптомов, которые у человека могут способствовать прогрессированию алкоголизма [8-11]. Имеются данные, что IFN могут быть вовлечены в развитие симптомов депрессии у людей и экспериментальных животных [12-14]. Более того, в постмортальном материале PFC мозга людей, страдавших алкоголизмом, обнаружен повышенный уровень IFN γ [15-16]; у грызунов длительное употребление этанола так же приводит к повышению уровня IFN γ [7]. Было установлено, что активация TLR3 вызывает высвобождение IFN как первого (IFN β), так и второго типов (IFN γ) [17], а также приводит к индукции генов, регулируемых IFN, в том числе гена белка TRAIL (англ. TNF-related apoptosis-inducing ligand) [18]. TRAIL — цитокин с молекулярной массой 32,5 кДа, состоящий из 281 аминокислотного остатка и относящийся к семейству факторов некроза опухоли; он способен усиливать синтез IFN и других цитокинов [19]. Механизмы, ведущие к повышению содержания IFN при длительном употреблении этанола, до сих пор остаются неизвестными.

TLR3-СИГНАЛИНГ АКТИВИРУЕТ ИНТЕРФЕРОНЫ ПРИ АЛКОГОЛИЗАЦИИ

Данное исследование было направлено на изучение механизмов активации генов IFN в медиальной префронтальной коре (mPFC) мозга крыс в условиях стимуляции рецептора TLR3 длительной алкоголизацией и введением его агониста Poly (I:C) с целью выяснения механизмов реализации функциональной взаимосвязи между TLR3 и IFN. mPFC мозга была выбрана исходя из того, что все наблюдаемые изменения в механизмах врождённой иммунной системы, опосредованной через TLR, в условиях длительной алкоголизации наблюдаются в данном регионе мозга. Мы предполагаем, что в условиях длительного потребления алкоголя наблюдаемые повышенные уровни содержания интерферонов в PFC мозга могут быть опосредованы TRAIL-сигналингом, который, в свою очередь, может быть взаимосвязан с TLR3.

МЕТОДИКА

Животные

В эксперименте использовали 32 взрослых самца крыс породы Wistar (средняя масса тела 250-300 г), которые были приобретены в питомнике "Рапполово" (Россия). Животных содержали в условиях свободного доступа к воде и стандартному корму для крыс.

Хроническая алкоголизация

Хроническую алкоголизацию моделировали посредством введения инъекций 20% раствора этанола (2,5 г/кг, внутривентриально (в/вр)) крысам (n=8) в течение четырёх недель (одна инъекция ежедневно с понедельника по пятницу, всего 20 инъекций). Контрольные животные (n=8) получали инъекции эквивалентного объёма физиологического раствора по такой же схеме.

Инъекции Poly (I:C)

Инъекция агониста TLR3 Poly (I:C) ("Sigma-Aldrich", США) была выполнена однократно (50 мкг/кг, в/вр) (n=8). Контрольные животные (n=8) получали инъекции физиологического раствора.

Забор биоматериала

Животных умерщвляли путём декапитации через 24 ч по окончании инъекций этанола, Poly (I:C) и физиологического раствора. Далее извлекали на холоду образцы mPFC мозга крыс и незамедлительно замораживали до проведения этапа гомогенизации.

ОТ-ПЦР

Для выделения тотальной РНК образцы гомогенизировали в 20 мг пробы мозга

Таблица. Последовательность праймеров

Ген	Праймеры	
	Прямой (5'-3')	Обратный (5'-3')
<i>TLR3</i>	AACTGGAGAACCTCCAAGA	CACCCTGGAGAAAACCTCTTT
<i>IFNβ</i>	TGAACATCATCAGCAGACAG	AAAGTAGTCGTGGATGTCAC
<i>IFNγ</i>	AGCCTAGAAAGTCTGAAGAAC	ATTTTCGTGTTACCGTCCTTT
<i>TRAIL</i>	CGAGGTGAAACAGCTACAGG	GGAACAAAGCAAGTCCCTCA
<i>Gapdh</i>	CGGAGACGAATGGAAATTAG	AAATCCGTTACACCCGAC

с использованием реагента ExtractRNA ("Евроген", Россия) в полном соответствии с инструкцией производителя. Обработку проб ДНКазой ("Promega", США) проводили в полном соответствии с инструкцией производителя. После обработки ДНКазой концентрацию полученной РНК измеряли на спектрофотометре Implen NanoPhotometer P 330 ("Implen", Германия), чистоту выделенного препарата оценивали по отношению A260/A280 (в норме $\geq 1,9$). Синтез кДНК проводили методом ОТ в 25 мкл реакционной смеси с использованием набора реактивов MMLV RT kit ("Евроген"). ПЦР с детекцией в режиме реального времени проводили на амплификаторе Mx3005P ("Stratagene", США) в 10 мкл реакционной смеси, содержащей SYBR Green Master Mix ("Евроген"), смесь специфических прямых и обратных праймеров ("Beagle", Россия) (таблица). Анализ каждой пробы проводили в двух параллелях.

Полученные данные нормировали к уровню мРНК глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (Gapdh). Уровень мРНК определяли методом 2DDCT.

Иммуноферментный анализ

Образцы мозга для проведения иммуноферментного анализа (ИФА) гомогенизировали в 5 объёмах PBS (фосфатно-солевой буфер, pH 7,4), содержащего по 5 мкг/мл ингибиторов протеаз, пепстатина А и апротинина, а также 1 мМ фенилметилсульфонилфторид ("Medigen", Россия). Гомогенизированные образцы центрифугировали 30 мин при 15000 g. Собираемые супернатанты хранили при -80°C до определения пептидов. Концентрацию пептида TRAIL в супернатантах определяли, используя готовый набор для ИФА ("MyBioSource", США). После окончания реакции измеряли оптическую плотность на планшетном фотометре "Synergy 2" ("Bio Tek", США). Процедуры ИФА выполняли в соответствии с указаниями производителя. Все уровни цитокинов были скорректированы по концентрации общего белка. Общий белок определяли методом Бредфорда с использованием набора Bio-Rad Protein Assay Kit ("Bio-Rad", США).

Статистическая обработка

Для статистической обработки полученных количественных данных применяли программное обеспечение Graph Pad Prism v.6. Все данные были представлены как среднее \pm стандартное отклонение. Статистическую значимость различий между группами определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA. Для сравнения только между двумя группами применялся t-критерий Стьюдента для независимых выборок.

Распределение отвечало критерию нормальности (критерий Колмогорова-Смирнова). Различия считали статистически значимыми при значении $p < 0,05$. Уровень взаимосвязи между двумя сравниваемыми переменными определяли по коэффициенту детерминации (R^2).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Содержание мРНК при длительной алкоголизации

В группе длительной алкоголизации в mPFC мозга крыс увеличилось содержание мРНК TLR3 (в 2,1 раза, $p < 0,05$), IFN β (в 2,9 раза, $p < 0,01$), IFN γ (в 2,5 раза, $p < 0,01$) и TRAIL (в 6,7 раз, $p < 0,01$) (рис. 1) относительно группы контроля.

Содержание мРНК после инъекции Poly (I:C)

Введение агониста TLR3 Poly (I:C) (50 мкг/кг) увеличивает содержание мРНК IFN β (в 5,4 раза, $p < 0,01$), IFN γ (в 3,1 раза, $p < 0,01$), а также содержание мРНК TRAIL (в 8,8 раз, $p < 0,01$) (рис. 2). Таким образом, активация TLR3-сигналинга посредством введения агониста TLR3 вызывает индукцию генов IFN β , IFN γ и TRAIL в mPFC головного мозга крыс.

Иммуноферментный анализ

При проведении иммуноферментного анализа мы обнаружили, что как в группе длительной алкоголизации, так и в группе введения Poly (I:C) увеличилось количество белка TRAIL в 1,43 раза ($p < 0,05$) и 1,36 раз соответственно ($p < 0,05$) в mPFC мозга крыс в сравнении с группой контроля (рис. 3).

Корреляционный анализ

Результаты выполненного корреляционного анализа показали функциональную зависимость между содержанием мРНК TLR3 и TRAIL ($R^2=0,93$), а также между содержанием мРНК TRAIL и IFN β ($R^2=0,91$), IFN γ ($R^2=0,91$) (рис. 4).

Корреляционный анализ также выявил функциональную взаимосвязь между содержанием мРНК TRAIL и IFN β ($R^2=0,92$), IFN γ ($R^2=0,91$) (рис. 5). Полученные данные позволяют предположить, что TRAIL вовлечён в активацию генов IFN β и IFN γ при введении агониста TLR3 Poly (I:C).

ОБСУЖДЕНИЕ

Изначально считалось, что белок TRAIL участвует в инициации путей клеточной гибели [20], однако позже было обнаружено, что функции данного белка не ограничиваются только этим. Белок TRAIL экспрессируется на клеточной мембране, но при необходимости может переходить в секретируемую форму и оказывать паракринное действие на соседние клетки. Так, было обнаружено, что белок TRAIL способен вызывать высвобождение различных цитокинов (в том числе IFN) посредством активации транскрипционных факторов IRF1, IRF7 и NF- κ B [21-23]. Взаимосвязь между белком TRAIL и IFN

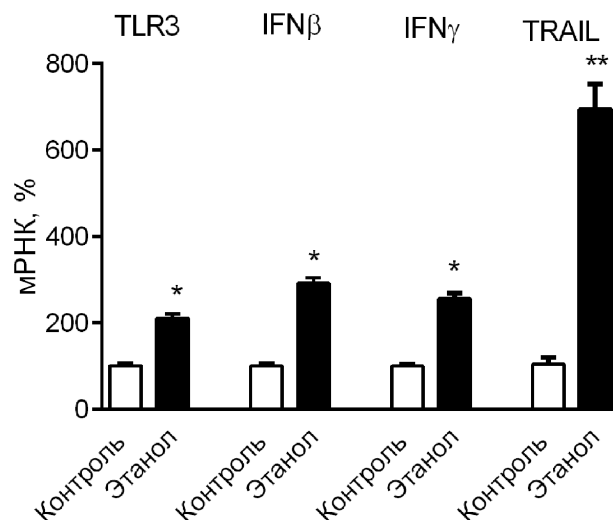


Рисунок 1. Содержание мРНК TLR3, IFN β , IFN γ и TRAIL в mPFC головного мозга при длительной алкоголизации (* — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$).

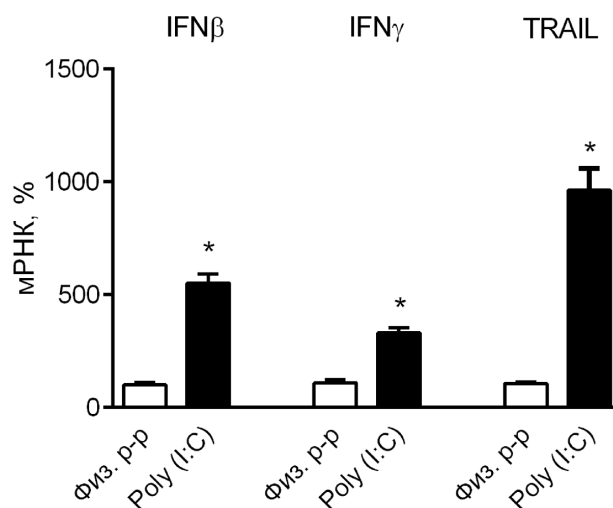


Рисунок 2. Содержание мРНК TLR3, IFN β , IFN γ и TRAIL в mPFC головного мозга после инъекции агониста TLR3 Poly (I:C) (* — $p < 0,05$).

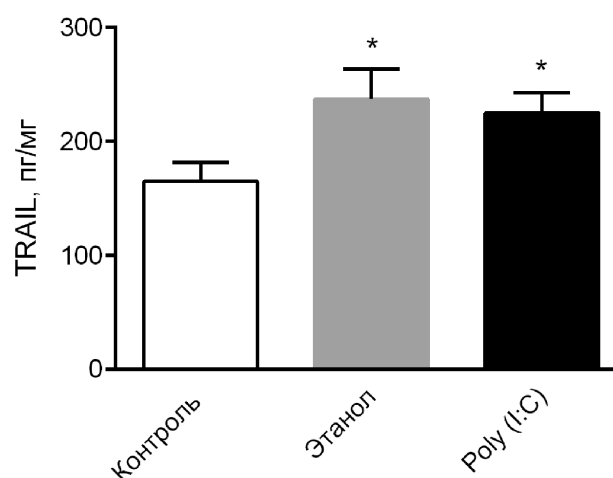


Рисунок 3. Содержание белка TRAIL в mPFC головного мозга (* — $p < 0,05$).

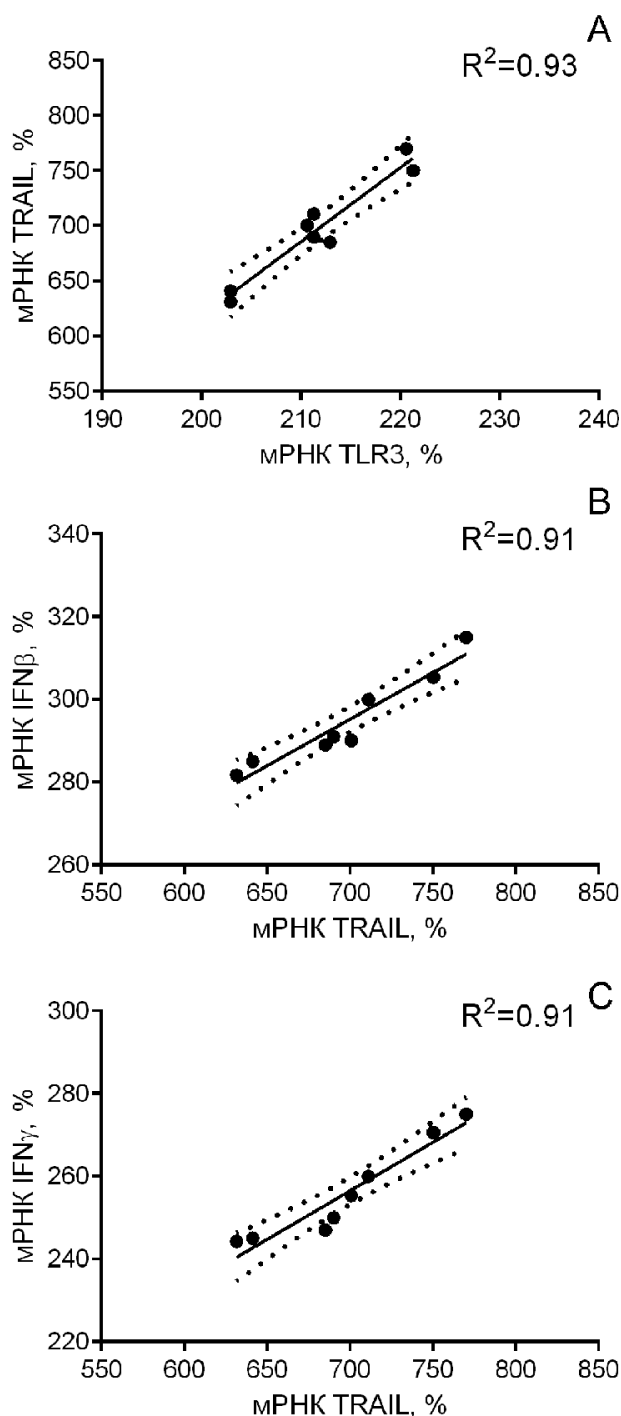


Рисунок 4. Взаимосвязь между содержанием мПНК TLR3, IFN и TRAIL в mPFC головного мозга при длительной алкоголизации.

была выявлена *in vitro* на различных типах клеток [21-22]. Например, в головном мозге астроциты запускают процесс высвобождения IFN нейронами, передавая сигнал последним паракринным способом через белок TRAIL, а продолжающая длительно повышенная регуляция этой передачи сигналов служит причиной инициации гибели нейрональных клеток, как это наблюдается при моделировании рассеянного склероза у животных [24]. Представляется интересным изучить состояние этой системы

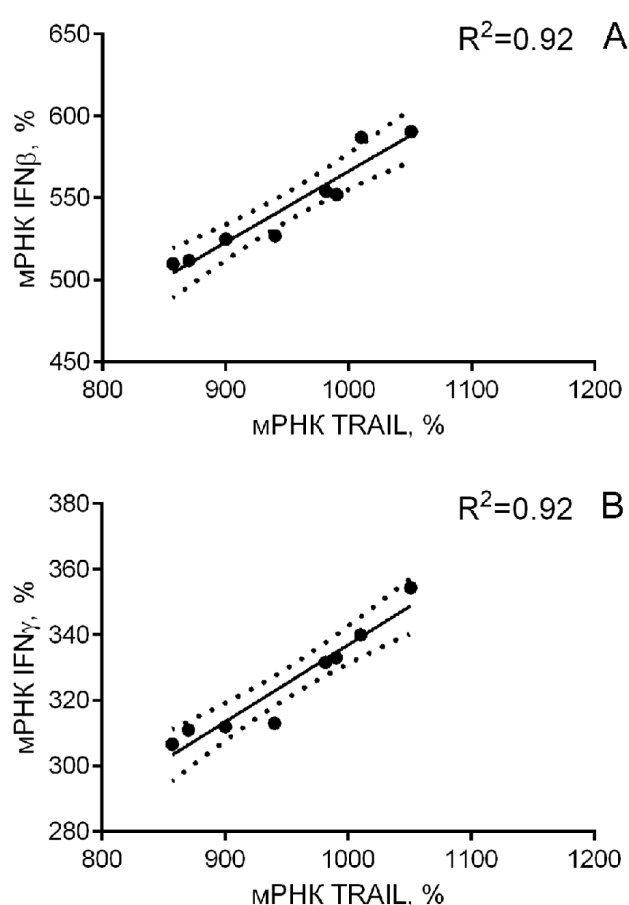


Рисунок 5. Взаимосвязь между содержанием мПНК IFN β , IFN γ и TRAIL в mPFC головного мозга крыс после инъекции агониста TLR3 Poly (I:C).

и при других патологических состояниях нервной системы, в частности, на модели длительной алкоголизации. Результаты нашего эксперимента показали, что длительная алкоголизация крыс привела к увеличению содержания мПНК и белка TRAIL в mPFC головного мозга у крыс.

Известно, что агонист TLR3 Poly (I:C) вызывает активацию TLR3-сигналинга в нервных тканях с последующим выраженным цитокиновым ответом [6]. В нашем эксперименте после однократной инъекции Poly (I:C) был отмечен повышенный уровень мПНК и белка TRAIL в mPFC головного мозга у крыс.

Содержание мПНК цитокинов IFN β , IFN γ было также повышено как в группе длительной алкоголизации крыс, так и в группе с введением агониста TLR3 Poly (I:C). Кроме того, результаты корреляционного анализа показали существование функциональной взаимосвязи между содержанием мПНК TRAIL и содержанием мПНК TLR3, IFN β и IFN γ как в группе длительной алкоголизации, так и в группе с введением агониста TLR3 Poly (I:C). Тот факт, что Poly (I:C) активирует IFN в головном мозге согласуется с исследованиями, проведенными ранее на культурах клеток астроцитов [25]. Известно, что длительная алкоголизация повышает уровень экспрессии белка TLR3 и способствует высвобождению цитокинов после введения

агониста TLR3 — Poly (I:C) [7]. Важно отметить то, что в нашем эксперименте как введение агониста TLR3 Poly (I:C), так и длительная алкоголизация вызывают увеличение уровня mPFC и белка TRAIL в мозге, что может служить подтверждением гипотезы о том, что стимуляция TLR3 может активировать TRAIL-сигналинг с последующим высвобождением IFN и прочих провоспалительных цитокинов.

Ранее на культуре клеток астроцитов было показано, что Poly (I:C) активирует и другие гены (такие как *ISG54* и *ISG56* [26]) посредством TLR3-сигналинга, что делает актуальным проведение дальнейших исследований в области TLR3-TRAIL-опосредованных ответов в мозге, особенно в условиях различных патологических состояний головного мозга [27]. На периферии IFN известны своей противовирусной активностью, в мозге они могут выполнять и иные роли. В частности, известна способность экзогенных IFN вызывать депрессию в экспериментальных условиях на грызунах [12-14]. Негативный аффект и депрессивные симптомы являются критическими компонентами алкоголизма [8-11]. И негативные аффективные/депрессивные симптомы, обнаруженные при использовании экзогенных интерферонов, и развитие негативного аффекта в моделях алкогольной зависимости на грызунах следуют аналогичным паттернам прогрессирующего начала заболевания [28, 29]. Кроме того, повышение содержания IFN γ выявлено как в постмортальных образцах mPFC хронических алкоголиков [15], так и при хронической алкоголизации *in vivo* у животных [16]. Предполагается, что IFN γ играет роль в модуляции социального поведения у мышей [30], а поведенческие тесты, выполненные на мышах с нокаутом IFN γ , указывают на вовлечённость этого интерферона в регуляцию негативного эмоционального поведения [31].

Таким образом, повышенное содержание IFN в мозге делает этот орган не только предрасположенным к развитию нейровоспалительного процесса, но может иметь и опосредованное значение, приводящее к развитию поведенческих расстройств, в частности психоэмоциональных. Развитие последних всегда сопровождается алкоголизмом на всех его стадиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Результаты нашего исследования продемонстрировали то, что как введение агониста TLR3 Poly (I:C), так и длительное потребление этанола приводит к активации TLR3-TRAIL-IFN-сигналинга в mPFC мозга крыс (рис. 6). Следовательно, блокирование индукции IFN через белок TRAIL в мозге может быть потенциальной клеточно-молекулярной мишенью при алкоголизме и других неврологических расстройствах. Имеются данные, что IFN могут быть вовлечены в развитие симптомов депрессии у людей и экспериментальных животных, а повышенное их содержание в течение длительного времени может служить причиной развития нейровоспалительного процесса. Необходимы

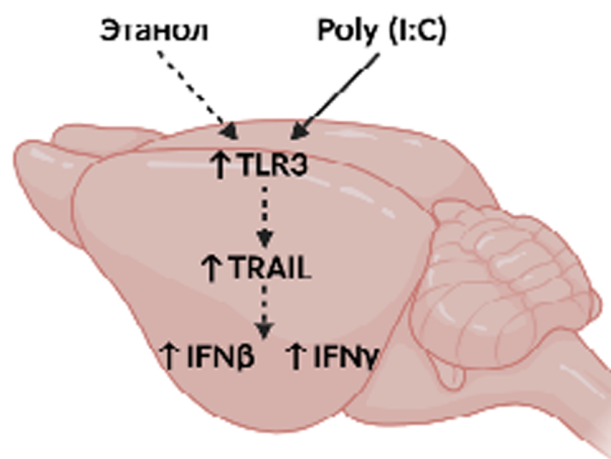


Рисунок 6. Гипотетическая схема TLR3-TRAIL-IFNs-сигналинга в головном мозге.

дальнейшие исследования этих механизмов для изучения возможного терапевтического потенциала ингибирования TRAIL, а также механизмов, лежащих в основе передачи сигналов TRAIL в головном мозге.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят доцента Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета (СПбГПМУ) Л.Д. Балашова за предоставленных экспериментальных животных и помощь в проведении эксперимента.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено за счёт средств Института экспериментальной медицины (ИЭМ) в рамках государственного задания по теме “Фармакологический анализ действия нейротропных средств, изучение внутриклеточных мишеней и создание систем направленной доставки”, шифр 0557-2019-0004, а также за счёт средств СПбГПМУ. Исследование поддержано грантом Санкт-Петербурга в сфере научной, научно-технической деятельности в форме субсидий, проект “Изучение и коррекция механизмов активации врожденной иммунной системы в мозге в условиях длительного потребления этанола” утверждён распоряжением Комитета по науке и высшей школы от 22.12.2020 № 277 “О получателях грантов Санкт-Петербурга в сфере научной и научно-технической деятельности размерах предоставляемых им грантов в 2020 году”.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Используемые методы в работе были одобрены этическим комитетом по уходу и использованию животных ИЭМ (протокол №21/5 от 26.02.2015).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Airapetov M., Eresko S., Lebedev A., Bychkov E., Shabanov P. (2021) BioScience Trends, **15**(2), 74-82.
2. Айрапетов М.И., Ереско С.О., Лебедев М.И., Бычков Е.Р., Шабанов П.Д. (2020) Биомедицинская химия, **66**(3), 208-215. [Airapetov M.I., Eresko S.O., Lebedev M.I., Bychkov E.R., Shabanov P.D. (2020) Biomeditsinskaya Khimiya, **66**(3), 208-215.] DOI: 10.18097/PBMC20206603208
3. Crews F.T., Walter T.J., Coleman L.G., Vetreno R.P. (2017) Psychopharmacology, **234**(9-10), 1483-1498.
4. Mayfield J., Ferguson L., Harris R.A. (2013) Curr. Opin. Neurobiol., **23**(4), 513-520.
5. McCarthy G.M., Warden A.S., Bridges C.R., Blednov Y.A., Harris R.A. (2017) Addict Biol., **23**(3), 889-903.
6. Айрапетов М.И., Ереско С.О., Бычков Е.Р., Лебедев А.А., Шабанов П.Д. (2020) Медицинская иммунология, **22**(1), 77-86. [Airapetov M.I., Eresko S.O., Bychkov E.R., Lebedev A.A., Shabanov P.D. (2020) Medical Immunology, **22**(1), 77-86.]
7. Qin L., Crews F.T. (2012) J. Neuroinflammation, **9**, 130. DOI: 10.1186/1742-2094-9-130
8. Boden J.M., Fergusson D.M. (2011) Addiction, **106**(5), 906-914.
9. Шабанов П.Д., Калишевич С.Ю. (1998) Биология алкоголизма, Лань, СПб. [Shabanov P.D., Kalishevich S.Yu. (1998) Biology of Alcoholism, Lan', SPb.]
10. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Стрельцов В.Ф. (2008) Гормональные механизмы подкрепления, Элби-СПб, СПб. [Shabanov P.D., Lebedev A.A., Streltsov V.F. (2008) Hormonal mechanisms of reinforcement, Elby-SPb, SPb.]
11. Шабанов П.Д. (2002) Основы наркологии. Практическое руководство, Лань, СПб. [Shabanov P.D. (2002) Fundamentals of Addiction. Practical guide, Lan', SPb.]
12. Borsini A., Cattaneo A., Malpighi C. et al. (2017) Int. J. Neuropsychopharmacol., **21**(2), 187-200.
13. Callaghan C.K., Rouine J., Dean R.L., Knapp B.I. et al. (2018) Brain Behav. Immun., **67**, 152-162.
14. Pinto E.F., Andrade C. (2016) Curr. Neuropharmacol., **14**(7), 743-748.
15. Johnson S., Duncan J., Hussain S.A., Chen G. et al. (2015) Alcohol. Clin. Exp. Res., **39**(3), 476-484.
16. Pascual M., Balino P., Aragon C.M., Guerri C. (2015) Neuropharmacology, **89**, 352-359.
17. Sen G.C., Sarkar S.N. (2005) Cytokine Growth Factor Rev., **16**(1), 1-14.
18. Levy D.E., Darnell J.E. (2002) Nat. Rev. Mol. Cell Biol., **3**(9), 651-662.
19. Croft M., Siegel R.M. (2017) Nat. Rev. Rheumatol., **13**(4), 217-233.
20. Pan G., O'Rourke K., Chinnaiyan A.M., Gentz R. et al. (1997) Science, **276**(5309), 111-113.
21. Huang Y., Walstrom A., Zhang L., Zhao Y. et al. (2009) PLoS One, **4**(4), e5397. DOI: 10.1371/journal.pone.0005397
22. Peteranderl C., Herold S. (2017) Front Immunol., **8**, 313. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00313
23. Henry C.M., Martin S.J. (2017) Mol. Cell, **65**(4), 715-729.
24. Aktas O., Smorodchenko A., Brocke S., Infante-Duarte C. et al. (2005) Neuron, **46**(3), 421-432.
25. Farina C., Krumbholz M., Giese T., Hartmann G. et al. (2005) J. Neuroimmunol., **159**(1-2), 12-19.
26. Imaizumi T., Numata A., Yano C., Yoshida H. et al. (2014) Neurosci. Res., **84**, 34-42.
27. Liddelow S.A., Guttenplan K.A., Clarke L.E., Bennett F.C. et al. (2017) Nature, **541**(7638), 481-487.
28. Breese G.R., Overstreet D.H., Knapp D.J. (2005) Psychopharmacology, **178**(4), 367-380.
29. Breese G.R., Knapp D.G., Overstreet D.H., Navarro M. et al. (2008) Neuropsychopharmacology, **33**(4), 867-876.
30. Filiano A.J., Xu Y., Tustison N.J., Marsh R.L. et al. (2016) Nature, **535**(7612), 425-429.
31. Fritz M., Klawonn A.M., Jaarola M., Engblom D. (2018) Brain Behav. Immun., **67**, 54-58.

Поступила в редакцию: 23. 02. 2021.
После доработки: 17. 06. 2021.
Принята к печати: 17. 06. 2021.

**THE TLR3 INDUCTION INCREASES CONTENT OF INTERFERONS IN RAT'S BRAIN
BY TRAIL SIGNALING DURING LONG-TERM ALCOHOLIZATION**

M.I. Airapetov^{1,2}, S.O. Eresko^{1,3}, A.K. Vasilev¹, V.Y. Vasileva¹, E.R. Bychkov¹, A.A. Lebedev¹, P.D. Shabanov^{1,4}*

¹Institute of Experimental Medicine,
12 Acad. Pavlova str., St. Petersburg, 197376 Russia; *e-mail: interleukin1b@gmail.com

²Saint Petersburg State Pediatric Medical University,
2 Litovskaya str., St. Petersburg, 194100 Russia

³Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University,
14 Prof. Popov str., St. Petersburg, 197022 Russia

⁴Kirov Military Medical Academy,
6 Acad. Lebedev str., St. Petersburg, 194044 Russia

The pathogenetic mechanisms associated with alcohol use include dysregulation of the innate immune system mechanisms in the brain. TLR3 expression is increased in the postmortem material of the prefrontal cortex of humans. An increase in the TLR3 signaling activity leads to the induction of interferons (IFN). IFN are associated with depressive symptoms and, therefore, may play a role in the pathogenesis of alcoholism; however, the exact mechanisms of intracellular signaling mediated by the influence of ethanol are not fully elucidated and their study was the purpose of this work. The experimental results showed that ethanol and the TLR3 agonist Poly (I:C) increased the content of TLR3, IFN β , and IFN γ mRNA in the prefrontal cortex. In addition, expression of the TRAIL encoding gene also increased, and this increase positively correlated with the mRNA content of TLR3, IFN β and IFN γ both under alcoholization conditions and after injections of the TLR3 agonist. The data obtained may indicate that alcoholization is able to activate TLR3-TRAIL-IFN-signaling in the prefrontal cortex of the brain.

Key words: brain; mPFC; long-term alcoholization; interferons; TLR3; TRAIL

Funding. The study was carried out at the expense of the IEM within the framework of the state assignment on the topic “Pharmacological analysis of the action of neurotropic drugs, the study of intracellular targets and the creation of targeted delivery systems”, code 0557-2019-0004, as well as at the expense of the Saint-Petersburg State Pediatric Medical University. The study was supported by a grant from St. Petersburg in the field of scientific, scientific and technical activities in the form of subsidies, the project “Study and correction of the mechanisms of activation of the innate immune system in the brain under conditions of prolonged consumption of ethanol” was approved by the order of the Committee on Science and Higher Education dated December 22, 2020 No. 277 “On the recipients of grants in St. Petersburg in the field of scientific and scientific and technical activities, the amount of grants provided to them in 2020”.

Received: 23.02.2021, revised: 17.06.2021, accepted: 17.06.2021.