

©Коллектив авторов

АЛКОГОЛИЗАЦИЯ И ОТМЕНА ЭТАНОЛА ПРИВОДЯТ К АКТИВАЦИИ НЕЙРОИММУННОГО ОТВЕТА В ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЕ МОЗГА КРЫС

М.И. Айрапетов^{1,2}, С.О. Ереско³, А.А. Лебедев¹, Е.Р. Бычков¹, 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 государственный университет,
199034, Санкт-Петербург, Университетская набережная, 7-9

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

Исследовано влияние острого и хронического воздействия этанола на уровень провоспалительных цитокинов (IL-1 β и TNF- α), а также на уровень мРНК NF- κ B, TLR4 и его эндогенного агониста – белка HMGB1 (high-mobility group protein B1, амфотерин) в префронтальной коре головного мозга крыс. Показано, что длительная алкоголизация привела к повышению уровня мРНК TLR4, HMGB1. Отмена длительной алкоголизации приводит к дисрегуляции уровня цитокинов, TLR4 и HMGB1. Полученные данные подтверждают тот факт, что длительная алкоголизация приводит к активации TLR4-зависимой сигнализации, в том числе и в префронтальной коре головного мозга крыс, что может служить причиной развития стойкого нейровоспалительного процесса в головном мозге.

Ключевые слова: алкоголизм; отмена этанола; нейровоспаление; цитокины; TLR4; HMGB1

DOI: 10.18097/PBMC20196505380

ВВЕДЕНИЕ

Алкоголизм – мультифакториальное заболевание, и на данный момент известно множество причин, которые приводят к развитию алкоголизма [1-7]. Однако в последнее время появляется много новых сведений о дисрегуляции нейроиммунной сигнализации вследствие потребления алкоголя [6-13]. Исследования последних лет демонстрируют связь между потреблением этанола и активацией нейроиммунной сигнализации в ЦНС посредством активации толл-подобного рецептора 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) [10, 13-16].

Изначально иммуногистохимически была обнаружена повышенная экспрессия TLR4 в посмертных образцах префронтальной коры мозга у людей, страдающих при жизни алкоголизмом [10, 14]. В дальнейшем многочисленные исследования представили убедительные доказательства того, что активация TLR4, опосредованная употреблением этанола, способствует повышенному уровню выделения цитокинов и ряда иных провоспалительных факторов в ЦНС [9, 10, 13-16].

Результаты исследований свидетельствуют о том, что активация врождённого иммунного ответа и TLR4 в ЦНС в результате употребления алкоголя приводит к физиологическим и когнитивным дисфункциям [1-4, 6, 9]. Таким образом, фармакологическая коррекция путей нейроиммунной сигнализации в ЦНС представляет собой потенциальную терапевтическую стратегию для коррекций последствий, вызванных длительным употреблением алкоголя [14, 17, 18].

В данной работе проведено сравнение эффектов острого и хронического воздействия этанола, а также отмены хронической алкоголизации на уровень мРНК и концентрацию провоспалительных цитокинов (IL-1 β и TNF- α), а также на уровень мРНК TLR4 и его эндогенного агониста – белка HMGB1 в префронтальной коре мозга крыс. Полученные результаты вносят дополнительный и немаловажный вклад в понимание путей нейроиммунной сигнализации, которые изменяются в ЦНС при употреблении этанола.

МЕТОДИКА

В работе были использованы 56 половозрелых крыс самцов линии Вистар, полученных из питомника “Рапполово” (Ленинградская область, Россия).

Для моделирования острой алкогольной интоксикации применяли однократное внутрибрюшинное введение 20% этанола в дозе 2,75 г/кг (n=8), либо эквивалентный объём стерильной воды для инъекций контрольной группе крыс (n=8). Через 4 ч после однократного введения этанола или воды крыс декапитировали и извлекали необходимые структуры мозга для оценки уровня мРНК цитокинов, TLR4 и HMGB1 и уровня содержания пептидов провоспалительных цитокинов.

В экспериментах с хронической алкоголизацией (ХА) 32 половозрелые крысы (8 животных в каждой экспериментальной группе) были подвержены полупринудительной алкоголизации 15%-ным раствором этанола в качестве единственного источника жидкости в течение 6-ти месяцев.

Контрольная группа крыс (n=8) в качестве источника жидкости получала воду. Спустя 6 месяцев группа длительной алкоголизации крыс (n=8) была декапитирована и произведено извлечение необходимых структур мозга.

Отмену ХА проводили через 6 месяцев алкоголизации. Крыс декапитировали на 1-е (n=8), 3-и (n=8) и 7-е (n=8) сутки отмены алкоголя и производили забор биоматериала.

Структуры мозга, выделенные на холоде, немедленно замораживали в жидком азоте и хранили при -80°C для последующей микродиссекции коры. Ткань префронтальной коры головного мозга разделяли на две части для проведения ПЦР-анализа, а также для проведения иммуноферментного анализа.

Суммарную РНК экстрагировали из гомогенизированной пробы коры головного мозга с использованием Trizol ("Ambion", США). РНК переводили в кДНК с использованием обратной транскриптазы M-MuLV ("Promega", США) в полном соответствии с инструкцией производителя. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) с детекцией в режиме реального времени проводили на амплификаторе Mx3005P ("Stratagene", США) в 10 мкл реакционной смеси, содержащей SYBR Green, ROX ("Syntol", Россия), а также смесь специфических прямых и обратных праймеров ("Beagle", Россия; табл. 1). Полученные данные нормировали к уровню мРНК глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы и рассчитывали в относительных единицах методом 2(-Delta Delta C(T)).

Образцы префронтальной коры 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 фенолметилсульфонилфторид ("Medigen", Россия). Гомогенизированные образцы центрифугировали 30 мин при 15000 g. Собираемые супернатанты хранили при -80°C до определения пептидов. Концентрацию цитокинов IL-1β и TNF-α в супернатантах определяли, используя наборы для ИФА ("Bender MedSystems", Австрия). 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.

Для статистической обработки полученных количественных данных и построения графиков

использовали программу GraphPadPrizm v.6. с оценкой числовых переменных – средней арифметической, ошибки средней и определением статистической значимости (p). Для определения групп использовали t-критерий Стьюдента для независимых выборок с поправкой Бонферони. Распределение отвечало критерию нормальности (критерий Колмогорова-Смирнова). Критический уровень значимости принимался при значении p<0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние острого внутрибрюшинного введения этанола (2,75 г/кг) на уровень мРНК цитокинов и их концентрацию определяли через 4 ч после введения этанола. Острая алкоголизация не влияла на уровни мРНК исследуемых цитокинов (табл. 2). Не изменялись и концентрации IL-1β, однако отмечено повышение концентрации TNF-α (табл. 2).

В следующем эксперименте определяли последствия на 1-е сутки отмены хронической алкоголизации. Было отмечено значительное увеличение уровня мРНК исследуемых цитокинов в сравнении с группой контроля (табл. 3).

На 1-е сутки отмены хронической алкоголизации происходило увеличение уровня мРНК TLR4 и HMGB1; при этом уровень мРНК NF-κB оставался без изменений (табл. 3).

В отличие от повышенного содержания мРНК провоспалительных цитокинов после отмены хронической алкоголизации, концентрация цитокинов, определенная также на 1-е сутки отмены, осталась без значимых изменений (табл. 3).

После обнаружения того, что уровень мРНК провоспалительных цитокинов увеличивался на 1-е сутки отмены хронического воздействия этанола (табл. 3), уровень мРНК определяли в следующем эксперименте на разных сроках отмены этанола: 1-е, 3-и и 7-е сутки отмены (табл. 4).

В этом случае уровень мРНК цитокинов в условиях отмены хронической алкоголизации значительно увеличился (на 93,8% для IL-1β и на 107% для TNF-α) на 1-е сутки отмены этанола. В дальнейшем (на 3-и сутки и на 7-е сутки) уровень мРНК цитокинов снижался до уровня контроля (табл. 4). Уровень мРНК TLR4 на 1-е сутки отмены этанола был значительно повышен (на 60% выше группы контроля), на 3-и сутки отмены этанола уровень мРНК TLR4 снизился до уровня контроля, на 7-е сутки уровень мРНК TLR4 был ниже уровня контроля на 50% (табл. 4).

Таблица 1. Последовательность праймеров

Ген	Праймеры	
	Прямой (5'-3')	Обратный (5'-3')
IL-1β	GAAACAGCAATGGTCGGGAC	AAGACACGGGTTCATGGGTG
TNF-α	ATGTGGAAGCTGGCAGAGGAG	ACGAGCAGGAATGAGAAGAGG
NF-κB	GGCAGCACTCCTTATCAA	GGTGTCTGCCCATCGTAG
TLR4	GCCGGAAAGTTATTGTGGTGGT	ATGGGTTTTAGGCGCAGAGTTT
HMGB1	CGCGGAGGAAAATCAACTAA	TCATAACGAGCCTTGTACAGC
GAPDH	AGACAGCCGCATCTTCTTGT	CTTGCCGTGGGTAGAGTCAT

АКТИВАЦИЯ НЕЙРОИММУННОГО ОТВЕТА В УСЛОВИЯХ АЛКОГОЛИЗАЦИИ

Таблица 2. Уровень содержания мРНК TLR4, концентрация и уровень содержания мРНК цитокинов после острого введения этанола в префронтальной коре головного мозга крыс

Группа	Уровень мРНК, усл. ед.			Концентрация пептидов, пкг/мг	
	IL-1 β	TNF- α	TLR4	IL-1 β	TNF- α
Контроль (H ₂ O)	100,0 \pm 15,5	100,0 \pm 9,0	100,0 \pm 15,7	1,11 \pm 0,04	0,14 \pm 0,04
Отмена этанола (через 4 ч)	110,8 \pm 11,3	104,4 \pm 10,6	115,8 \pm 19,6	1,16 \pm 0,03	0,35 \pm 0,04*

Примечание. Здесь и в таблицах 3 и 4: * – $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе.

Таблица 3. Уровень мРНК провоспалительных цитокинов, TLR4, HMGB1 и NF- κ B после отмены хронической алкоголизации в префронтальной коре головного мозга крыс

Группа	Уровень мРНК, усл. ед.					Концентрация пептидов, пг/мг	
	IL-1 β	TNF- α	TLR4	HMGB1	NF- κ B	IL-1 β	TNF- α
Контроль (H ₂ O)	100 \pm 17,3	100 \pm 16,9	100 \pm 15,7	100 \pm 12,7	100 \pm 15,5	1,10 \pm 0,11	0,25 \pm 0,07
Отмена этанола (1 сутки)	197,3 \pm 21,0*	225,5 \pm 24,7*	163,3 \pm 18,8*	202,8 \pm 24,6*	115,2 \pm 14,2	1,07 \pm 0,08	0,23 \pm 0,04

Таблица 4. Уровень содержания мРНК цитокинов, TLR4 и HMGB1 в префронтальной коре головного мозга крыс в период отмены этанола

Группа	IL-1 β	TNF- α	TLR4	HMGB1
Контроль	100,0 \pm 11,1	100,7 \pm 10,4	100,0 \pm 13,3	100,0 \pm 13,9
Хроническая алкоголизация (6 месяцев)	121,2 \pm 13,4	115,1 \pm 18,4	142,4 \pm 15,3*	145,5 \pm 11,2*
1-е сутки отмены	183,8 \pm 35,5*	207,3 \pm 27,7*	160,4 \pm 21,6*	225,6 \pm 21,6*
3-и сутки отмены	105,3 \pm 23,5*	155,1 \pm 14,2*	110,6 \pm 18,5	108,3 \pm 15,2
7-е сутки отмены	104,3 \pm 29,7	107,3 \pm 16,6	45,8 \pm 19,7*	52,6 \pm 24,7*

До отмены этанола (в группе хронической алкоголизации) уровень мРНК HMGB1 был повышен на 45,5% в сравнении с группой контроля. Уровень мРНК HMGB1 также был значительно повышен (на 125,6% выше контроля) на 1-е сутки отмены этанола. В дальнейшем, уровень мРНК HMGB1 снижался до уровня контроля на 3-и сутки отмены хронической алкоголизации и на 7-ые сутки снизился на 50% по отношению к группе контроля (табл. 4).

Клеточные и молекулярные механизмы, лежащие в основе алкогольной зависимости, остаются не полностью выясненными; появляется всё больше новых данных, которые свидетельствуют о вовлечённости нейроиммунной сигнализации в развитии алкогольной зависимости [15, 17, 19]. Показано, что высокие дозы этанола запускают у мышей в префронтальной коре мозга экспрессию и высвобождение медиаторов воспаления (iNOS, COX-2) [18, 20], а также многих провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1 β , MCP-1, MIP-1 α , IL-17) [18, 19].

Развитие воспалительного процесса на фоне повышенной активности этих провоспалительных сигнальных молекул приводило в префронтальной коре мозга мышей к демиелинизации аксонов и к структурным синаптическим изменениям в результате повреждения белков миелина и синаптических белков, что в последующем сказывалось на ухудшении когнитивных параметров в тестах распознавания объектов, пассивном избегании и обонятельном поведении [18].

Однако эти эффекты этанола не вызываются у мышей с дефицитом TLR4. У мышей, нокаутных по гену *TLR4*, не наблюдалось индуцированного этанолом высвобождения цитокинов и других медиаторов воспаления [20, 21].

Также в дальнейшем было показано, что повышение уровня цитокинов коррелирует с повышением уровня экспрессии гена *TLR4* [15, 17, 22].

В посмертных образцах префронтальной коры мозга человека повышенная экспрессия гена *TLR4* коррелировала с уровнем потреблением алкоголя в течение жизни [15].

В другом исследовании инактивация у мышей TLR4 (нокаут гена *TLR4* и применение антагонистов) защищала их от возникновения когнитивных и тревожных поведенческих нарушений [18].

Исследования, выполненные на культурах клеток микроглии и астроцитов, демонстрируют, что как этанол, так и липополисахарид (агонист TLR4) способны приводить к активации TLR4-зависимой сигнализации, активируя транскрипционные факторы, такие как NF- κ B, AP-1, что приводило к высвобождению цитокинов (IL-1 β , TNF- α), а также COX-2 и iNOS [19, 21, 23, 24].

Все эти данные убедительно свидетельствуют о вовлечённости TLR4-зависимой сигнализации в механизм активации воспалительного процесса в префронтальной коре головного мозга. Однако этанол вряд ли способен напрямую активировать TLR4.

Возможно, этанол приводит к высвобождению в организме агонистов TLR4, которые приводят к активации TLR4, в том числе в головном мозге.

Предполагается, что таким эндогенным агонистом может быть белок HMGB1 [10], однако данных об изменении уровня экспрессии гена *HMGB1* в условиях алкоголизации и отмены этанола не так много, чтобы можно было сделать однозначные выводы о вкладе белка HMGB1 в патогенез алкоголизма.

Результаты нашего эксперимента также показали, что длительное употребление алкоголя крысами в течение 6 месяцев приводило к повышению уровня мРНК TLR4, однако уровень мРНК и концентрация исследуемых цитокинов в префронтальной коре мозга крыс имели значения, которые не отличались от уровня группы контроля. Исходя из этого, мы можем предположить, что TLR4 в исследуемой структуре мозга в ходе длительной алкоголизации может приводить к активации иных провоспалительных факторов. При этом наши данные показывают, что в условиях алкоголизации в префронтальной коре мозга крыс не изменяется и уровень мРНК NF-κB, что указывает также на то, что TLR4-зависимая сигнализация в данном случае имеет иной характер. Известно, что наличие TLR4-Myd88-независимой сигнализации приводит не к активации транскрипционного фактора NF-κB, а к активации транскрипционного фактора интерферона 3, обуславливая в дальнейшем активацию иных провоспалительных цитокинов, характерных для позднего ответа врождённой иммунной системы [10]. Возможно, длительная алкоголизация в течение 6 месяцев и в нашем случае приводила к активации данного TLR4-Myd88-независимого пути.

Уровень мРНК исследуемых цитокинов на 1-е сутки отмены резко возрастает, а далее он постепенно снижается, достигая уровня контрольных значений к 7-му дню отмены этанола. При этом уровень мРНК TLR4 остаётся повышенным на 1-е сутки отмены алкоголя, на 3-и сутки достигает уровня контроля и на 7-е сутки снижается ниже контрольных значений.

Следует отметить, что уровень мРНК HMGB1, повышенный в условиях длительной алкоголизации и на 1-е сутки отмены алкоголя, на 3-и сутки достигал уровня контроля, а на 7-е сутки снижался ниже контрольных значений. Результаты изменений уровня мРНК HMGB1 имеют сходный характер с изменением уровня мРНК TLR4. Исходя из этого, можем предполагать, что повышенный уровень HMGB1 может обуславливать повышенную активность TLR4 в префронтальной коре мозга крыс в условиях алкоголизации.

Результаты же острой алкоголизации показали, что уровень мРНК TLR4 и исследуемых цитокинов не изменился относительно уровня контрольных значений. Концентрация IL-1β также имела значение, не отличающееся от уровня контроля.

ВЫВОДЫ

В данном исследовании были получены результаты об изменении уровня мРНК и концентрации провоспалительных цитокинов (IL-1β и TNF-α), мРНК NF-κB, TLR4 и его эндогенного агониста HMGB1 в префронтальной коре головного мозга крыс при острой и хронической алкоголизации, а также при отмене этанола. В условиях длительной алкоголизации уровень TLR4, HMGB1 и провоспалительных цитокинов (IL-1β и TNF-α) был достоверно выше в сравнении с контрольной группой. Отмена алкоголя приводит к дисрегуляции уровня цитокинов, TLR4 и HMGB1. При изменении уровня мРНК TLR4 и HMGB1 наблюдается сходная закономерность. Полученные данные подтверждают, что длительная алкоголизация приводит к активации нейроиммунной системы, проявляющейся увеличением уровня мРНК HMGB1 и TLR4.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность к.б.н. А.Н. Трофимову (Институт экспериментальной медицины) за предоставленные реагенты для биохимических исследований и к.м.н., доц. Л.Д. Балашову (СПб государственный педиатрический медицинский университет) за помощь в обеспечении экспериментальными животными.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все используемые методы были одобрены Этическим комитетом по уходу и использованию животных Института экспериментальной медицины (выписка из протокола заседания №2/15).

ЛИТЕРАТУРА

1. Айрапетов М.И., Сексте Э.А., Ереско С.О., Бычков Е.Р., Лебедев А.А., Шабанов П.Д. (2018) Биомед. химия, **64**(5), 451-454. [Airapetov M.I., Sexte E.A., Eresko S.O., Bychkov E.R., Lebedev A.A., Shabanov P.D. (2018) Biomed. khimiya, **64**(5), 451-454.]
2. Айрапетов М.И., Сексте Э.А., Хохлов П.П. и др. (2013) Наркология, **9**, 61-65. [Airapetov M.I., Sexte E.A., Khokhlov P.P. et al. (2013) Narcology, **9**, 61-65.]
3. Айрапетов М.И., Хохлов П.П., Бычков Е.Р. и др. (2015) Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии, **13**(2), 10-13. [Airapetov M.I., Khokhlov P.P., Bychkov E.R. et al. (2015) Reviews in Clinical Pharmacology and Drug Therapy, **13**(2), 10-13.]
4. Анохина И.П. (2002) Основные биологические механизмы алкогольной и наркотической зависимости, Медпрактика, Москва. [Anokhina I.P. (2002) Basic biological mechanisms of alcohol and drug addiction, Medpraktika, Moscow.]
5. Шабанов П.Д. (2015) Наркология, ГЭОТАР-Медиа, Москва. [Shabanov P.D. (2015) Narcology, GEOTAR-Media, Moscow.]

АКТИВАЦИЯ НЕЙРОИММУННОГО ОТВЕТА В УСЛОВИЯХ АЛКОГОЛИЗАЦИИ

6. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Мецеров Ш.К. (2002) Дофамин и подкрепляющие системы мозга, Лань, СПб. [Shabanov P.D., Lebedev A.A., Meshcherov Sh.K. (2002) Dopamine and brain support systems, Lan', St. Petersburg.]
7. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Сексте Э.А., Айрапетов М.И., Ереско С.О., Хохлов П.П., Бычков Е.Р. (2017) Материалы XXIII съезда физиологического общества им. И.П. Павлова с международным участием, сс. 2530-2532. [Shabanov P.D., Lebedev A.A., Sexte E.A., Airapetov M.I., Eresko S.O., Khokhlov P.P., Bychkov E.R. (2017) Materials of the XXIII Congress of the Physiological Society named after I.P. Pavlov with international participation, pp. 2530-2532.]
8. Antón M., Rodríguez-González A., Rodríguez-Rojo I.C., Pastor A., Correas A., Serrano A., Orio L. (2017) *Addiction Biology*, **23**(6), 1242-1250.
9. Coleman L.G., Crews F.T. (2018) *Handbook Experimental Pharmacology*, **248**, 369-396.
10. Coleman L.G., Zou J., Crews F.T. (2017) *J. Neuroinflamm.*, **14**(1), 22.
11. Das N., Dewan V., Grace P.M., Gunn R.J., Tamura R., Tzarum N., Watkins L.R., Wilson I.A., Yin H. (2016) *Cell Reports*, **17**, 1128-1140.
12. Gong G., Yuan L.B., Hu L., Wu W., Yin L., Hou J.L., Liu Y.H., Zhou L.S. (2012) *Acta Pharmacol.*, **33**, 11-18.
13. Goodwin G.H., Sanders C., Johns E.W. (1973) *Eur. J. Biochem.*, **38**, 14-19.
14. Coleman L.G., Zou J., Qin L., Crews F.T. (2018) *Brain Behav. Immun.*, **72**, 61-77.
15. Crews F.T., Qin L., Sheedy D., Vetreno R.P., Zou J. (2013) *Biol. Psychiatry*, **73**(7), 602-612.
16. Fernandez-Lizarbe S., Pascual M., Guerri C. (2009) *J. Immunology*, **183**(7), 4733-4744.
17. Kim S.W., Jin Y., Shin J.H., Kim I.D., Lee H.K., Park S., Han P.L., Lee J.K. (2012) *Neurobiol. Dis.*, **46**, 147-156.
18. Crews F.T., Walter T.J., Coleman L.G., Vetreno R.P. (2017) *Psychopharmacology*, **234**(9), 1-16.
19. Montesinos J., Pascual M., Pla A., Maldonado C., Rodriguez-Arias M., Minarro J., Guerri C. (2015) *Brain Behav. Immun.*, **45**, 233-244.
20. Breese G.R., Knapp D.J., Overstreet D.H., Navarro M., Wills T.A., Angel R.A. (2008) *Neuropsychopharmacology*, **33**, 867-876.
21. Alfonso-Loeches S., Pascual-Lucas M., Blanco A.M., Sanchez-Vera I., Guerri C. (2010) *J. Neuroscience*, **30**(24), 8285-8295.
22. Crews F.T., Zou J., Qin L. (2011) *Brain Behav. Immun.*, **25**(1), 4-12.
23. Blanco A.M., Valles S.L., Pascual M., Guerri C. (2005) *J. Immunol.*, **175**, 6893-6899.
24. Fernandez-Lizarbe S., Pascual M., Gascon M.S., Blanco A., Guerri C. (2008) *Molecular Immunology*, **45**(7), 2007-2016.

Поступила в редакцию: 22. 02. 2019.
После доработки: 23. 06. 2019.
Принята к печати: 25. 06. 2019.

ALCOHOLIZATION AND ETHANOL WITHDRAWAL LEADS TO THE ACTIVATION OF NEUROIMMUNE RESPONSE IN THE PREFRONTAL RAT BRAIN

M.I. Airapetov^{1,2*}, S.O. Eresko³, A.A. Lebedev¹, E.R. Bychkov¹, P.D. Shabanov^{1,4}

¹Institute of Experimental Medicine,

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

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

³St. Petersburg State University, 7-9 Universitetskaya emb., St. Petersburg, 199034 Russia

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

The effects of acute (single) and chronic ethanol administration on the level of pro-inflammatory cytokines (IL-1 β and TNF- α), as well as on the level of mRNA NF- κ B, TLR4 and its endogenous agonist, HMGB1 protein, were investigated in rats. It was shown that the level of TLR4, HMGB1 and cytokines was significantly higher than in control group. The ethanol withdrawal after prolonged administration resulted in dysregulation of cytokine levels, TLR4 and HMGB1. Changes in the level of TLR4 and HMGB1 mRNA demonstrated a similar pattern. The obtained data confirm that prolonged alcoholization leads to the activation of TLR4-dependent signaling in the prefrontal cortex of rats, and this can lead to a prolonged neuro-inflammatory process in the brain.

Key words: alcoholism; ethanol withdrawal; neuroinflammation; cytokines; TLR4; HMGB1

Received: 22.02.2019, revised: 23.06.2019, accepted: 25.06.2019.