

© Коллектив авторов

ПРЕНАТАЛЬНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ АЛКОГОЛЯ ИЗМЕНЯЕТ TLR4-ОПОСРЕДОВАННУЮ СИГНАЛИЗАЦИЮ В ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА У КРЫС

М.И. Айрапетов^{1,2*}, С.О. Ереско^{1,3}, 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. Акад. Лебедева, 6

Пренатальное воздействие алкоголя (ПВА) может привести к нарушениям развития центральной нервной системы (ЦНС) и умственной отсталости. Toll-подобный рецептор (TLR) 4 играет важную роль в развитии дефектов нервной системы, вызванных ПВА. Однако то, как ПВА влияет на ответ TLR4 в головном мозге, остаётся неясным. Используя модель полупринудительной алкоголизации беременных крыс, мы исследовали TLR4-опосредованную сигнализацию на 30-й день постнатального развития у их потомства. У крыс, подвергнутых ПВА, отмечена более высокая экспрессия провоспалительных цитокинов в префронтальной коре, но ослаблена TLR4-опосредованная сигнализация в ответ на липополисахарид (ЛПС). Эти данные позволяют предположить, что ПВА может приводить к нейровоспалению и подавлению TLR4-опосредованного ответа на ЛПС в префронтальной коре головного мозга молодых крыс. Поскольку врождённый иммунитет играет важную роль в развитии мозга, ПВА-индуцированное подавление TLR4-опосредованного ответа может быть одним из механизмов развития патологии ЦНС.

Ключевые слова: крысы; беременность; алкоголь; мозг; нейровоспаление

DOI: 10.18097/PBMC20216706500

ВВЕДЕНИЕ

Употребление алкоголя матерью во время беременности часто служит причиной широкого спектра неблагоприятных последствий для развивающегося плода. Поскольку этанол может проходить через гематоэнцефалический барьер [1], пренатальное воздействие алкоголя (ПВА) может привести к фетальному алкогольному синдрому (ФАС), который диагностируется по наличию аномальных черт лица, задержке роста и признакам дисфункции центральной нервной системы (ЦНС). ФАС является наиболее распространённой наследственной причиной психических расстройств у детей [2, 3]. Однако до сих пор окончательно не установлено, что служит первопричиной патологических изменений в функционировании головного мозга при ФАС. В последнее время исследователи уделяют особое внимание иммунным клеткам мозга, которые, как оказалось, принимают участие не только в активации нейровоспалительных путей с последующей элиминацией патогенов, но и способны в условиях активации высвобождать медиаторы различной природы, которые оказывают влияние на функционирование нейронов [4].

Исследования показали, что употребление этанола вызывает активацию иммунных клеток мозга посредством TLR4 (Toll-like receptor 4), который локализуется в головном мозге на поверхности клеток головного мозга, в том числе на микроглии и астроцитах [5-7]. В головном мозге TLR4 играет важную роль в инициации нейровоспалительного

процесса [5-7]. TLR4 распознаёт как эндогенные молекулы опасности, так и экзогенные чужеродные компоненты. К последним, в частности, относится и липополисахарид (ЛПС) — компонент клеточной стенки грамотрицательных бактерий, который является одним из хорошо изученных лигандов к TLR4 [8]. Взаимодействие лиганда с TLR4 запускает MyD88-зависимый и TICAM-1-зависимый пути внутриклеточной сигнализации. MyD88-зависимый путь приводит к активации TRAF6, который, в свою очередь, активирует киназу I-κB с последующим освобождением димера транскрипционного фактора NF-κB и его последующую транслокацию в ядро, где NF-κB приводит к активации множества провоспалительных генов, включая *TNF-α* и *IL-1β*. TICAM-1-зависимый путь приводит к активации транскрипционного фактора IRF3, который является одним из ключевых сигналов, регулирующих уровень транскрипции генов интерферонов первого типа. Таким образом, оба пути направлены на индукцию воспалительных реакций для устранения патогенов [5-7, 9]. Имеются убедительные доказательства того, что TLR4-сигнализация активируется при употреблении этанола и приводит к повышению содержания провоспалительных цитокинов [5-7, 10, 11]. Однако отсутствуют сведения относительно того, может ли ПВА влиять на TLR4-сигнальные пути в мозге, а именно в префронтальной коре головного мозга, изменения в функционировании которой на ранних стадиях развития плода способствуют развитию патологий при ПВА, описанных выше.

В нашем исследовании мы изучили влияние ПВА на компоненты TLR4-зависимой сигнализации в префронтальной коре головного мозга крысят, а также изучали состояние иммунного ответа при ПВА у крысят после введения липополисахарида (ЛПС).

МЕТОДИКА

Животные

В эксперименте использовали взрослых самцов (250-300 г, n=9) и самок (200-250 г, n=12) крыс породы Wistar, которые были приобретены в питомнике “Рапполово” (Россия). Самцов и самок крыс содержали отдельно. Животные получали свободный доступ к воде и стандартному корму для крыс. Каждый самец крысы был спарен с двумя крысами-самками в пластиковой клетке. Спаривание производили в конце рабочего дня. Первый день беременности устанавливали на основании обнаружения у самок сперматозоидов в вагинальном мазке. При обнаружении сперматозоидов производили маркировку (всего было 12 беременных самок), определяли массу тела крысы, отсаживали её в отдельную клетку и начинали отсчёт срока беременности [12].

Моделирование пренатального воздействия алкоголя (ПВА)

Беременные крысы были разделены на две группы: группа полупринудительной алкоголизации 15%-ным раствором этанола в качестве единственного источника жидкости (n=6) и контрольная группа, получающая воду (n=6). Все беременные самки имели неограниченный доступ к брикетированному сухому корму на протяжении всей беременности и кормления грудью. Данная модель ПВА была использована в наших предыдущих исследованиях и приводила к нарушению нормального развития головного мозга у потомства [13]. В каждом помёте было по 8-10 крысят. В контрольной и экспериментальной группах измеряли массу тела крыс во время беременности и массу тела потомства. В нашем эксперименте не было обнаружено значительных различий в массе тела между группами. Потомство было отлучено от груди на 21-й день после рождения (окончание подсосного периода) и

содержалось отдельно по группам со свободным доступом к воде и сухому брикетированному корму для крыс.

Введение липополисахарида (ЛПС)

На 30-й день постнатального развития (что соответствует инфантильному периоду), крысята экспериментальной и контрольной групп были отобраны случайным образом из каждого помёта и распределены по группам (n=8 в каждой группе): получивших однократную инъекцию ЛПС и получивших эквивалентную инъекцию физиологического раствора. Крысятам в группах ЛПС внутривентриально вводили препарат “Пирогенал”, содержащий ЛПС *Salmonella typhi* (НИЦЭМ им. Гамалеи, Россия) в пирогенной дозировке (50 мкг/кг). Через 12 ч после инъекции ЛПС или физиологического раствора животных декапитировали, префронтальную кору препарировали с использованием координат атласа мозга крысы и замораживали при -80°C до проведения молекулярно-генетических и биохимических исследований.

ОТ-ПЦР

Для определения уровней мРНК проводили обратную транскрипцию с последующей полимеразной цепной реакцией (ОТ-ПЦР). Выделяли мРНК из 20 мг пробы мозга 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), по отношению A260/A280 (в норме $\geq 1,9$) оценивали чистоту выделенного препарата. 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.

Таблица. Последовательность праймеров

| Ген | Праймеры | |
|----------------|-----------------------|----------------------|
| | Прямой (5'-3') | Обратный (5'-3') |
| <i>TLR4</i> | ACTCTGATCATGGCATTGTT | GTCTCAATTTACACCTGGA |
| <i>MyD88</i> | TCAATTGAGAAAAGGTGTCGT | AGTCGCAGATAGTGATGAAC |
| <i>TRAF6</i> | ACCAAGTCCATAAGGGATGC | CCAGGGCTATGAATGACCAC |
| <i>TICAM-1</i> | GCTCAGCTAGATGATGTGAT | TGACAGTGCAGACCTGG |
| <i>NF-κB</i> | ATACTGCTTTGACTCACTCC | AGGTATGGCCATCTGTT |
| <i>I-κB</i> | GACCTCAATAAACCGGAGCC | CGCCTTCATCTCTGTTGTCA |
| <i>TNF-α</i> | CGCCTTCATCTCTGTTGTCA | GGCTCTGAGGAGTAGACGAT |
| <i>IL-1β</i> | TGATGTTCCCATTAGACAGC | GAGAATACCACTTGTGGCT |
| <i>GAPDH</i> | CGGAGACGAATGGAATTAG | AAATCCGTTACACCGAC |

ПРЕНАТАЛЬНАЯ АЛКОГОЛИЗАЦИЯ ИЗМЕНЯЕТ TLR4-СИГНАЛИЗАЦИЮ В МОЗГЕ

Полученные данные нормировали к уровню мРНК глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (GAPDH). Уровень мРНК определяли методом ΔΔСТ.

Иммуноферментный анализ

Для проведения иммуноферментного анализа (ИФА) образцы префронтальной коры мозга 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 фенилметилсульфонилфторида ("Medigen", Россия). Гомогенизированные образцы центрифугировали 30 мин при 15000 g. Собираемые супернатанты хранили при -80°C до проведения исследования. 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. Общий белок определяли методом Бредфорда с использованием набора "Bio-Rad Protein Assay Kit" ("Bio-Rad", США).

Статистический анализ

Для статистической обработки полученных данных применяли программное обеспечение Graph Pad Prizm v.6. Все данные были представлены как среднее ± 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. Различия считали статистически значимыми при значении $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Содержание мРНК в образцах головного мозга

Анализ данных ОТ ПЦР не показал достоверной разницы относительно группы контроля в уровнях мРНК TLR4, MyD88 и TRAF6 в группах крысят, получавших инъекции физиологического раствора (рис. 1). Однако наблюдается увеличение содержания мРНК TICAM-1 в группе ПВА (в 2,3 раза, $p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой (рис. 1). Что касается нижестоящего уровня передачи

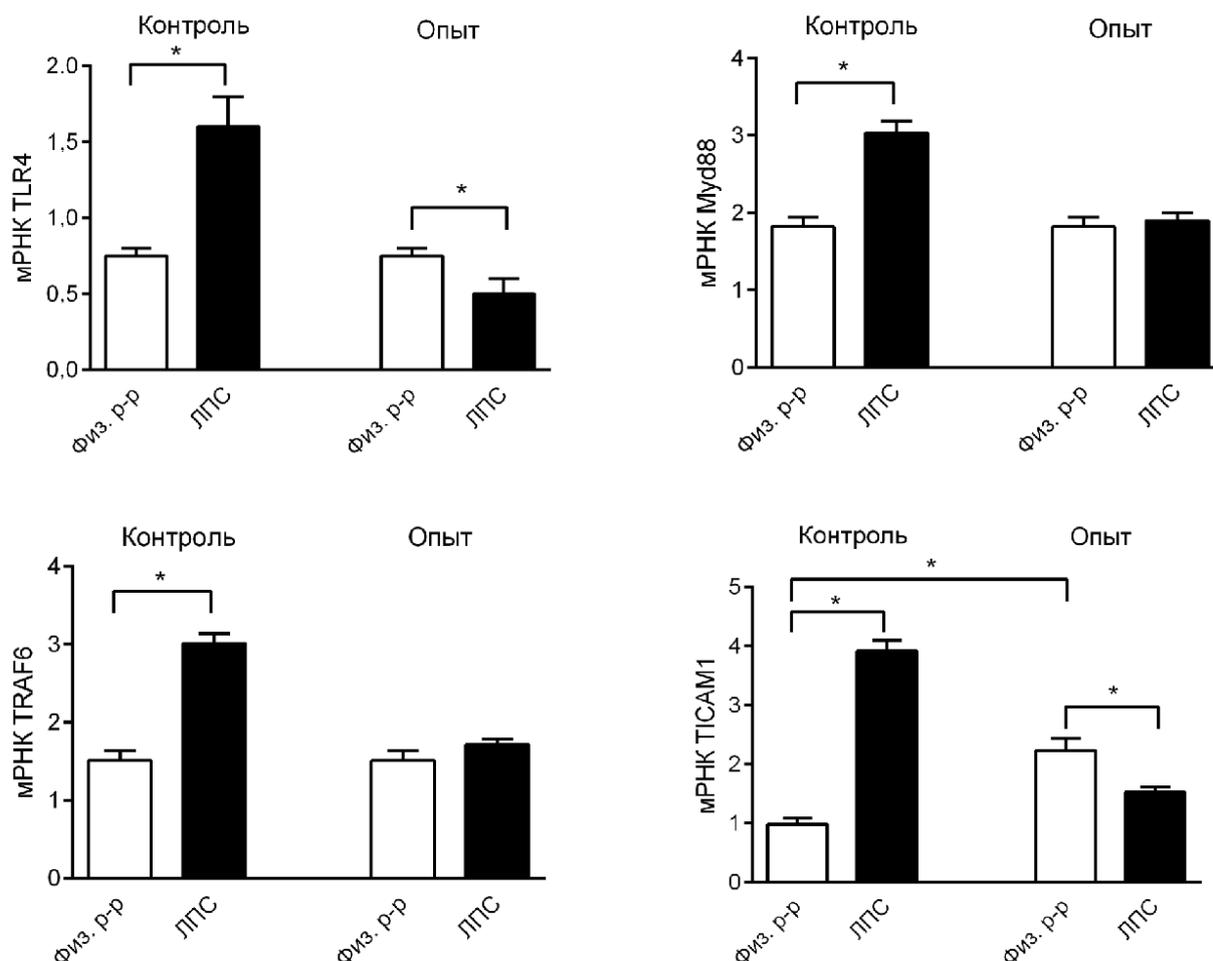


Рисунок 1. Содержание мРНК TLR4, MyD88, TRAF6, TICAM-1 в префронтальной коре головного мозга крысят через 12 ч после внутрибрюшинного введения ЛПС или физиологического раствора (* — $p < 0,05$ по сравнению с группой животных, получавших физиологический раствор).

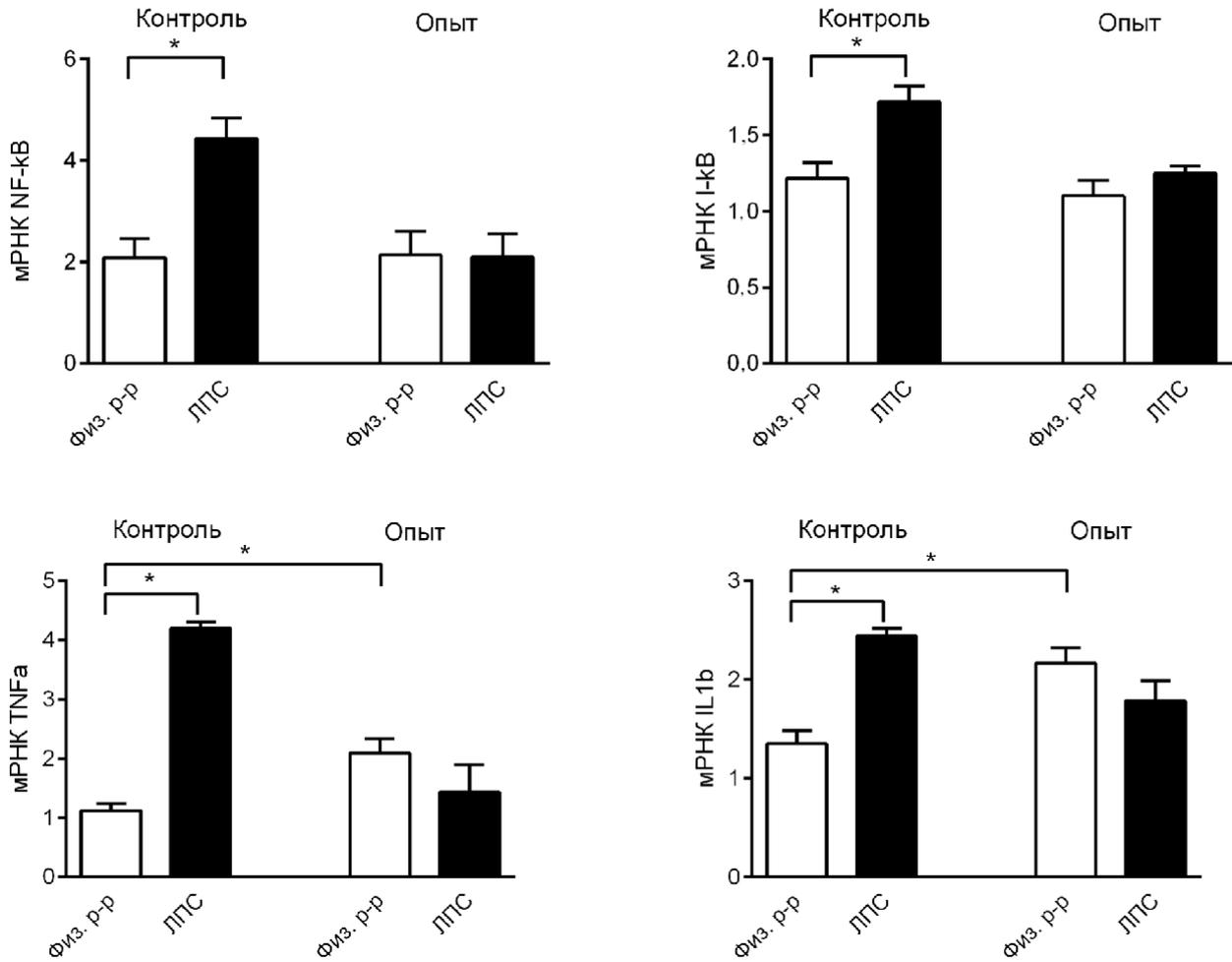


Рисунок 2. Содержание мРНК NF-κB, I-κB, TNF-α и IL-1β в префронтальной коре головного мозга крысят через 12 ч после введения ЛПС или физиологического раствора (* — $p < 0,05$ по сравнению с группой животных, получавших физиологический раствор).

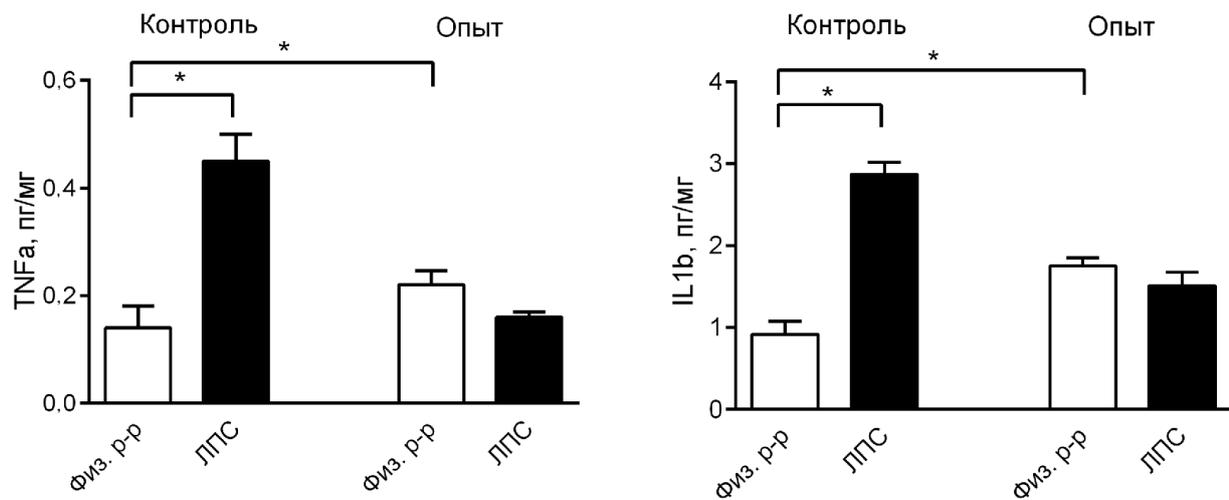


Рисунок 3. Содержание цитокинов TNF-α, IL-1β в префронтальной коре головного мозга крысят через 12 ч после введения ЛПС или физиологического раствора (* — $p < 0,05$ по сравнению с группой животных, получавших физиологический раствор).

сигналов от TLR4, не было значительных различий в уровнях мРНК I- κ B и NF- κ B между группами, но было отмечено значительное увеличение содержания мРНК как TNF- α (в 1,9 раза, $p < 0,05$), так и IL-1 β (в 1,6 раза, $p < 0,05$) в префронтальной коре мозга крыс, подвергнутых ПВА, по сравнению с контрольной группой (рис. 2, 3).

Внутрибрюшинное введение ЛПС крысятам контрольной группы значительно увеличивало содержание в префронтальной коре мРНК TLR4 (в 2,1 раза, $p < 0,05$), MyD88 (в 1,7 раза, $p < 0,05$), TRAF6 (в 2,0 раза, $p < 0,05$) и TICAM-1 (в 3,9 раза, $p < 0,05$). Однако в группе ПВА не было обнаружено значительных различий в уровнях мРНК MyD88 или TRAF6 между группами крысят, получивших инъекцию ЛПС и физиологический раствор. Более того, после введения ЛПС уровни мРНК значительно уменьшались TLR4 (в 1,5 раза, $p < 0,05$) и TICAM-1 (в 1,5 раза, $p < 0,05$) (рис. 1). В группе ПВА не было значимых различий между группами получивших инъекцию ЛПС и физиологический раствор в уровнях мРНК NF- κ B, I- κ B, TNF- α и IL-1 β (рис. 2).

Содержание цитокинов в образцах головного мозга

Анализ результатов ИФА показал, что повышен уровень как TNF- α (в 1,6 раза, $p < 0,05$), так и IL-1 β (в 1,9 раза, $p < 0,05$) в префронтальной коре мозга крыс, подвергнутых ПВА, по сравнению с контрольной группой (рис. 3). В контрольной группе после инъекций ЛПС был повышен уровень TNF- α (в 3,2 раза, $p < 0,05$) и IL-1 β (в 3,1 раза, $p < 0,05$) по сравнению с группой физиологического раствора. В группе ПВА не было значимых различий между группами получивших инъекцию ЛПС и физиологический раствор в уровнях цитокинов TNF- α и IL-1 β (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании была использована модель полупринудительной алкоголизации беременных крыс, использованная нами ранее [13]. Не было обнаружено значительных различий в массе тела потомства между группами, что означает, что экспериментальная модель полупринудительной алкоголизации в нашем исследовании не повлияла на их общее физическое развитие.

В префронтальной коре мозга крыс, подвергнутых ПВА, мы обнаружили, что содержание мРНК и белка TNF- α , IL-1 β и мРНК TICAM-1 было значительно повышено без стимуляции ЛПС. Примечательно, что не было значительных изменений в уровнях мРНК TLR4, MyD88, TRAF6 и NF- κ B в префронтальной коре крыс в группе ПВА. TICAM-1 является ключевым компонентом MyD88-независимого пути, который обеспечивает отсроченную активацию сигнальных каскадов, связанных с TLR [5, 9]. Неизвестно, насколько зависит высвобождение провоспалительных цитокинов от TICAM-1-зависимого пути в развивающемся мозге крыс при ПВА. Однако наши результаты показывают, что активация гена TICAM-1 может способствовать

нейровоспалению, при ПВА в отсроченном периоде (на 30 сутки после рождения). Поскольку ПВА вызывает долгосрочное повышение воспалительных цитокинов, развивающийся мозг подвергается воздействию не только этанола, но и повышенных уровней провоспалительных цитокинов. Кроме обеспечения защитного иммунного ответа, цитокины играют важную роль во многих аспектах развития ЦНС [15]. Так, например, известно, что рецепторы ко многим цитокинам локализуются не только на клетках нейроглии, но и на нейронах, и изменение в содержании таких цитокинов может отразиться на нейрогенезе потомства [5, 10].

Нарушения врожденной иммунной системы головного мозга являются причиной многочисленных нарушений ЦНС, включая аутизм, шизофрению и болезнь Альцгеймера [10, 16-18]. Следовательно, ПВА, активируя врожденный иммунный ответ в ЦНС, может нарушать нормальное развитие нервной системы, что может приводить к ФАС.

В нашем эксперименте введение ЛПС крысам, подвергнутым ПВА, на 30-й день после рождения не активировало TLR4-опосредованный сигнальный путь в префронтальной коре мозга. Уровни мРНК MyD88-зависимого пути (включая TRAF6) и NF- κ B (включая I- κ B) не были повышены. Содержание мРНК TLR4 и TICAM-1 — другого адаптерного белка MyD88-независимого пути — было снижено. Эти данные указывают на то, что алкоголизация беременных крыс ослабляет врожденный иммунный ответ в ЦНС у их потомства при введении ЛПС. Таким образом, MyD88-независимый путь подвержен изменению в большей степени, чем MyD88-зависимый путь. Мы предполагаем, что ПВА длительно подавляет TLR4 сигнализацию в мозге в раннем периоде жизни крыс, потому что этот эффект был обнаружен спустя месяц после прекращения действия алкоголя.

В нашем исследовании алкоголизация беременных крыс привела к ослаблению иммунного ответа у их потомства на введение ЛПС, что согласуется с данными о том, что ПВА ослабляет ЛПС-индуцированную лихорадку у крыс [19]. Это может быть связано с понижением чувствительности TLR4 к своим лигандам. Воздействие этанола на клетки врожденного иммунитета вызывает состояние временной рефрактерности к последующему воздействию лиганда TLR4 (ЛПС), а гипореактивность к ЛПС может приводить к неблагоприятным последствиям для головного мозга [20].

На ранних этапах онтогенеза префронтальная кора мозга уязвима к различным неблагоприятным факторам, в том числе к алкоголю [21]. При ПВА подавляется пролиферация глии [22], а повреждение глии может привести к ослаблению её ответной реакции на стимуляцию TLR4.

Наши результаты показали, что последствия ПВА могут подавлять как MyD88-зависимый, так и MyD88-независимый врожденный иммунный ответ в ЦНС.

Таким образом, в настоящем исследовании на модели полупринудительной алкоголизации беременных крыс было показано, что: ПВА вызывает долгосрочную активацию выработки провоспалительных цитокинов в головном мозге; ПВА приводит к ослаблению реакции врождённого иммунитета к введению ЛПС, особенно по MyD88-независимому пути в головном мозге крысы. Известно, что как врождённая, так и адаптивная иммунные системы необходимы для нормального развития мозга. Результаты нашего исследования показывают, что ПВА вызывает нейровоспаление и приводит к ослаблению реакции врождённого иммунного ответа в мозге в инфантильном периоде у крыс, что может нарушать нормальное развитие ЦНС. Поскольку врождённая иммунная система играет решающую роль в развитии мозга, наша работа даёт более глубокое понимание того, каким образом ПВА нарушает TLR4-опосредованную сигнализацию и это может быть одним из механизмов развития патологии ЦНС.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят доцента Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета (СПбГПМУ) Балашова Л.Д. 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 врождённой 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 в работе методы соответствовали международным стандартам и были одобрены Этическим комитетом по уходу и использованию животных ИЭМ (протокол №21/5 заседания локального Этического комитета при ИЭМ от 26.02.2015).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cornford E.M., Braun L.D., Oldendorf W.H., Hill M.A. (1982) Am. J. Physiol., **243**(3), C161-C168.
2. Moore E.M., Migliorini R., Infante M.A., Riley E.P. (2014) Curr. Dev. Disord. Rep., **1**(3), 161-172.
3. Колосейцева И.А. (1989) Акушерство и гинекология, №1, 46-50. [Kolomeitseva I.A. (1989) Obstetrics and Gynecology, no. 1, 46-50.]
4. Pfeiffer T., Attwell D. (2020) Nature, **586**, 366-367.
5. Coleman L.G., Zou J., Crews F.T. (2017) J. Neuroinflammation, **14**(1), 1-15.
6. Coleman L.G., Zou J., Qin L., Crews F.T. (2018) Brain Behav. Immun., **72**(8), 61-77.
7. Walter T.J., Vetreiro R.P., Crews F.T. (2017) Alcohol. Clin. Exper. Res., **41**(12), 2066-2081.
8. Pociennikowska A., Hromada-Judycka A., Borzecka K., Kwiatkowska K. (2015) Cell. Mol. Life Sci., **72**(3), 557-581.
9. Akira S., Takeda K. (2004) Nat. Rev. Immunol., **4**(7), 499-511.
10. Айрапетов М.И., Ереско С.О., Лебедев А.А., Бычков Е.Р., Шабанов П.Д. (2020) Биомедицинская химия, **66**(3), 208-215. [Airapetov M.I., Eresko S.O., Lebedev A.A., Bychkov E.R., Shabanov P.D. (2020) Biomeditsinskaya Khimiya, **66**(3), 208-215.] DOI: 10.18097/PBMC20206603208.
11. 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.]
12. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А. (1962) Лабораторные животные, их разведение, содержание и использование в эксперименте. Киев: Государственное медицинское издательство УССР. [Zapadnyuk I.P., Zapadnyuk V.I., Zakharia E.A. (1962) Laboratory animals, their breeding, maintenance and use in the experiment. Kiev: State Medical Publishing House of the Ukrainian SSR.]
13. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Бычков Е.Р., Айрапетов М.И. (2011) Наркология, **10**, 51-56. [Shabanov P.D., Lebedev A.A., Bychkov E.R., Airapetov M.I. (2011) Narkologiya, **10**, 51-56.]
14. Bodnar T.S., Hill L.A., Weinberg J. (2016) Brain Behav. Immun., **58**(11), 130-141.
15. Deverman B.E., Patterson P.H. (2009) Neuron, **64**(1), 61-78.
16. Noto C., Ota V.K., Santoro M.L. et al. (2016) Mol. Neurobiol., **53**(8), 5701-5709.
17. Zeineh M.M., Chen Y., Kitzler H.H. (2015) Neurobiol. Aging, **36**(9), 2483-2500.
18. Krakowiak P., Goines P.E., Tancredi D.J., Ashwood P. (2017) Biol. Psychiatry, **81**(5), 442-451.
19. Yirmiya R., Pilati M.L., Chiappelli F., Taylor A.N. (1993) Alcohol. Clin. Exper. Res., **17**(4), 906-910.
20. Pardon M.C. (2015) J. Morphol. Embryol., **56**(3), 903-913.
21. Komada M., Hara N., Kawachi S., Kawachi K. (2017) Sci. Rep., **7**(1), 1-12.
22. Kane C.J., Phelan K.D., Han L., Smith R.R. (2011) Brain Behav. Immun., **25**(1), 137-145.

Поступила в редакцию: 19. 10. 2021.
После доработки: 14. 11. 2021.
Принята к печати: 15. 11. 2021.

PRENATAL EXPOSURE TO ALCOHOL ALTERS TLR4 SIGNALING
IN THE PREFRONTAL CORTEX IN RATS

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

¹Institute of Experimental Medicine,

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

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

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

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

Prenatal alcohol exposure (PAE) can lead to developmental disorders of the central nervous system (CNS) and mental retardation. Toll-like receptor (TLR) 4 plays an important role in the development of defects in the nervous system caused by PAE. However, how PAE affects the TLR4 response in the brain remains unclear. Using the model of semi-forced alcoholization of pregnant rats, we investigated TLR4-mediated signaling on the 30th day of postnatal development in their offspring. Rats exposed to PAE showed a higher expression of proinflammatory cytokines in the prefrontal cortex, but TLR4-mediated signaling in response to lipopolysaccharide (LPS) was weakened. These data suggest that PAE can lead to neuroinflammation and suppression of the TLR4-mediated response to LPS in the prefrontal cortex of young rats. Since innate immunity plays an important role in brain development, PAE-induced suppression of the TLR4-mediated response may be one of the mechanisms for the development of CNS pathology.

Key words: rats; pregnancy; alcohol; brain; neuroinflammation

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 SPbGPMU. 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 of St. Petersburg in the field of scientific and scientific and technical activities, the amount of grants provided to them in 2020”.

Received: 19.10.2021, revised: 14.11.2021, accepted: 15.11.2021.