НЕЙРОХИМИЯ, 2023, том 40, № 3, с. 265–272

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РАБОТЫ

УДК 612.82:571.27:577.25

БЫСТРЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ АКТИВНОЙ КАСПАЗЫ-3 И РЕЦЕПТОРОВ ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ В КЛЕТКАХ СТРИАТУМА ПРИ НЕЙРОВОСПАЛЕНИИ

© 2023 г. В. В. Булыгина[1, *], Г. Т. Шишкина[1], Д. А. Ланшаков[1], Т. С. Калинина[1], Н. П. Комышева[1], У. С. Дрозд[1], Е. В. Сухарева[1], Н. Н. Дыгало[1]

[1] Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук", Новосибирск, Россия

Поступила в редакцию 10.02.2023 г.
После доработки 01.03.2023 г.
Принята к публикации 10.03.2023 г.

Активация микроглии – резидентных иммунных клеток центральной нервной системы, играет ключевую роль в патогенезе неврологических расстройств, индуцированных инфекциями, а также травматическими и ишемическими событиями. Понимание ответов клеток мозга, прежде всего, микроглиальных, на повреждающие воздействия может способствовать преодолению их патологических последствий. В данной работе анализировали клеточные эффекты бактериального липополисахарида (ЛПС), широко используемого в качестве провоспалительного стимула. Введение ЛПС в область правого стриатума крыс вызывало через сутки выраженный неврологический дефицит, которому в области введения ЛПС сопутствовали: увеличение числа микроглиальных клеток, повышение плотности глюкокортикоидных рецепторов (ГР) и их транслокация в ядра клеток, коэкспрессирующих исполнительную протеазу апоптоза активную каспазу-3 и ГР. Результаты свидетельствуют об острых изменениях активности микроглиальных клеток, а также экспрессии и функциональной активности ГР в ответ на бактериальный эндотоксин. Дальнейшее выяснение функциональной роли активной каспазы-3 и ГР в микроглиальных клетках на фоне провоспалительной активации может помочь в определении мишеней для ослабления симптомов неврологического расстройства.

Ключевые слова: стриатум, липополисахарид, микроглия, активная каспаза-3, глюкокортикоидные рецепторы, неврологический дефицит

DOI: 10.31857/S102781332303007X, **EDN:** YURFGY

ВВЕДЕНИЕ

Нейровоспаление связывают с патогенезом многих неврологических расстройств, сопровождающих, например, болезни Альцгеймера [1] и Паркинсона [2], а также травматические [3] и ишемические [4, 5] повреждения мозга. В основе инициации нейровоспаления лежит активация микроглиальных клеток – резидентных макрофагов центральной нервной системы [6]. Глюкокортикоиды, гормоны гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы, могут оказывать влияние на выраженность нейровоспаления, причем, помимо считающегося классическим противовоспалительного действия, они могут его и увеличивать [7]. Введение кортикостерона взрослым самцам крыс усиливало нейровоспаление и усугубляло вызванную каиновой кислотой гибель нейронов гиппокампа [8].

Конкретный ответ нейровоспаления на глюкокортикоиды может зависеть от числа глюкокортикоидных рецепторов (ГР), в том числе и в микроглиальных клетках. На такую возможность указывают результаты, полученные на нокаутах по этим рецепторам. У мышей с отсутствием ГР в макрофагах, внутримозговое введение липополисахарида (ЛПС) приводило через сутки к более выраженному нейровоспалению и повреждению нейронов и аксонов [9]. Сходный эффект на ответ к системному введению ЛПС оказывало и общее угнетение ГР антагонистом рецепторов у нормальных животных [9].

Недавно, однако, обнаружено увеличение экспрессии и ядерной транслокации ГР в гиппокампе крысы при применении нейропептида апелина, угнетающего активацию микроглии и, следовательно, нейровоспаления [10]. Влияние глюкокортикоидов на нейровоспаление может зависеть от изменения экспрессии ГР под влиянием иммунной активации, однако такая зависимость остается

* Адресат для корреспонденции: 630090 Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, д. 10; e-mail: veta@bionet.nsc.ru.

пока не вполне ясной. С целью дальнейшего прояснения этого вопроса в работе исследовали экспрессию ГР, а также исполнительной протеазы апоптоза активной каспазы-3 в областях стриатума в условиях прямой активации микроглиальных клеток введением ЛПС в мозг.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные. В работе использовали взрослых самцов крыс линии Wistar, весом 200–250 г, которые содержались в виварии ИЦиГ СО РАН в условиях контролируемого светового режима (14 ч свет/10 ч темнота) со свободным доступом к воде и корму. Все процедуры с экспериментальными животными проводили в соответствии с директивой 2010/63/EU Европейской комиссии, а также приказом 199н "Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики" Министерства Здравоохранения РФ, и были одобрены биоэтической комиссией ИЦиГ СО РАН – Протокол № 115 от 20 декабря 2021 г.

Индукция нейровоспаления. Нейровоспаление вызывали липополисахаридом из *Escherichia coli* (серотип O55:B5) (Sigma-Aldrich, США; L2880), 30 мкг которого в 4 мкл физиологического раствора, как и ранее [11], вводили стереотаксически в область правого стриатума (AP = +0.5 мм, ML = = +3 мм, DV = –4.5 мм; [12]) под изофлурановой анестезией в течение 5 мин. Контрольным животным в аналогичных условиях вводили 4 мкл физиологического раствора (физ. р-р).

Через сутки после введения препаратов, животных тестировали на наличие неврологического дефицита (10 животных в группе) и собирали образцы правого и левого стриатума для молекулярных (по 7–8 животных в группе) и иммуногистохимических исследований (минимум 4 животных в группе).

Тестирование на неврологический дефицит. Выбранные тесты Гарсия [13] и тест вытягивания лап с обеих сторон (Placing test) [14] позволяют с помощью соответствующей бальной шкалы количественно оценить неврологический дефицит и расстройства двигательной активности передних конечностей [14–16]. В тесте Гарсия [13, 17] анализировали расстройства двигательной и чувствительной сфер, а также координации движений (три балла за каждое удачно выполненное испытание в шести отдельных под-тестах; максимальное количество баллов – 18). В "Placing test" подсчитывали количество подъемов крысой передних лап, свисающих без опоры, в 10 попытках для каждой лапы.

Анализ уровня мРНК ГР методом ОТ-ПЦР. Суммарную РНК из образцов стриатума правого и левого полушарий выделяли одностадийным гуанидин-изотиоцианатным методом, как описано нами ранее [18]. Синтез кДНК проводили из 3 мкг суммарной РНК с применением Oligo(dT) и ревертазы M-MuLV ("СибЭнзим", Россия) в течение 90 мин при 42°C. Количественный анализ содержания мРНК ГР относительно мРНК гена домашнего хозяйства бета-актина проводили методом ОТ-ПЦР в реальном времени с использованием наборов TaqMan® Gene Expression Assays (Nr3c1: Rn00561369_m1; actb: Rn00667869_m1; Thermo Fisher Scientific, USA) на амплификаторе VIIA™ 7 (Thermo Fisher Scientific, USA) и рассчитывали по методу ΔΔCt.

Иммуногистохимия. У животных после последовательного транскардиального перфузирования (под авертиновым наркозом) 0.02 М фосфатно-солевым буфером (PBS) и 4% раствором параформальдегида в 0.02 М PBS извлекали мозг и помещали в такой же фиксатор на 4 ч, а затем в 30% сахарозу в 0.02 М PBS для криопротекции. Ткань замораживали при –80°C и делали коронарные срезы толщиной 20 мкм на криотоме Microme HM 550 (Германия), которые собирали на адгезивные стекла Superfrost plus (Термо, США). Перед иммунофлуоресцентной реакцией срезы высушивали ночь при комнатной температуре. Затем срезы промывали 2 раза по 10 мин в 0.02 М PBS с 0.2% Triton X-100 (PBST). Неспецифическое связывание блокировали в 1.5% BSA в PBST. Использовали специфичные первичные антитела в разведении 1 : 200 кролика против активной каспазы-3 (Cleaved Caspase-3; AB 9664, Cell Signalling, США), осла против маркера микроглии Iba-1 (ab 5076, Abcam, США, кролика против глюкокортикоидных рецепторов (sc-8992 H-300, Santa Cruz Biotechnology, США). Коэкспрессию активной каспазы-3 в микроглиальных клетках оценивали, используя соответствующую пару первичных антител, иммунофлуоресцентную реакцию для определения уровня глюкокортикоидных рецепторов проводили на отдельной серии стекол. Вторичными антителами (в разведении 1 : 350) были Ig осла против IgG козы, коньюгированные с Alexa-488 (705-546-147 F(ab)2, JacksonImmunoResearch, США), Ig осла против IgG кролика, коньюгированные с Cy3 (711-166-152 F(ab)2, Jackson Immuno Research, США), Ig осла против IgG кролика, коньюгированные с Alexa-488 (711-546-152 F(ab)2, JacksonImmunoResearch, США). Специфичность каждой иммунофлюоресцентной реакции проверяли с помощью отрицательного контроля (отсутствие первичных или вторичных антител).

Микрофотосъемки стриатума проводили на конфокальном микроскопе LSM 780 (Carl Zeiss, Германия), при панорамной съемки срезов для последующей статобработки использовали увеличение 20X и безиммерсионный объектив Plan-Apochromat 20X/0,8 M27, репрезентативные микрофотографии получены на конфокальном микроскопе LSM 510 (Carl Zeiss, Германия), увеличение 63X,

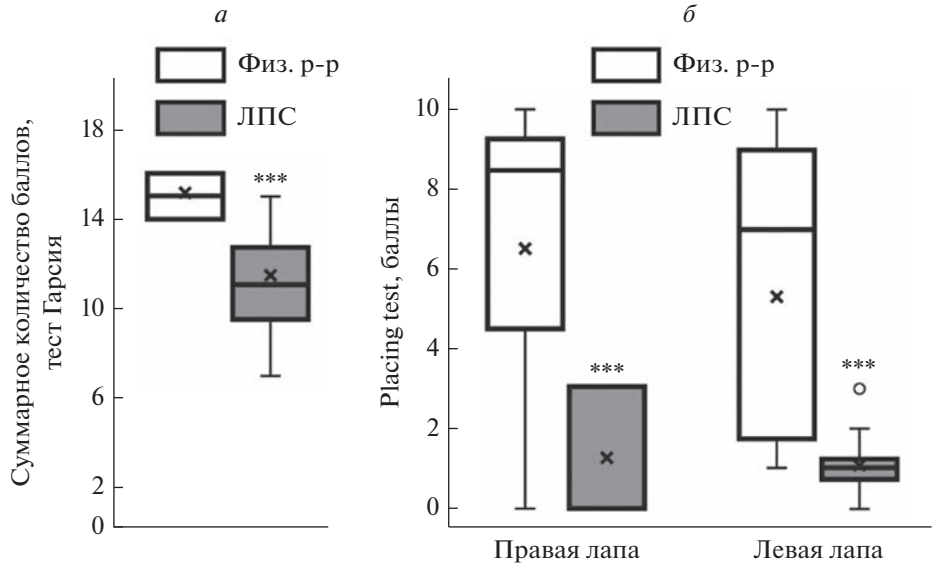

Рис. 1. Проявления неврологического дефицита через сутки после введения ЛПС в область правого стриатума. Данные представлены в виде диаграммы размаха ("ящик с усами"). Горизонтальная линия – медиана, размах усов соответствует доверительному интервалу. Белый столбик – группа с введением физиологического раствора (физ. р-р), серый столбик – группа с введением ЛПС (ЛПС). *а* – суммарное количество баллов по тесту Гарсия, *** $p < 0.001$ по сравнению со всеми группами; *б* – суммарное количество баллов по Placing Test, *** $p < 0.001$ по сравнению со всеми группами.

масляный объектив Plan-Apochromat 63X/1,4 Oil DiC. Количество клеток на 1 мм^2 среза мозга, экспрессирующих ГР, активную каспазу-3, Iba-1 и коэкспрессирующих Iba-1 и каспазу-3 подсчитывали с помощью программы QuPath-0.2.3 [19], по меньшей мере по 7 срезов от каждой крысы было сфотографировано и проанализированно. Порог интенсивности для детекции пикселей и классификации был подобран для каждого типа иммунофлуоресцентной реакции отдельно и применен ко всем фотографиям в выборке одновременно для всех групп конкретного эксперимента.

Статистический анализ. Результаты представлены в виде диаграммы размаха ("ящик с усами"). Горизонтальная линия – медиана, размах усов соответствует доверительному интервалу. Данные, полученные после иммуногистохимии, анализировали регрессионным анализом с использованием смешанных линейных моделей в пакете nlme, R статистики, так как значения параметров, полученные от одного животного считали взаимосвязанными [20], апостериорное сравнение средних проводили с использованием критерия Тьюки. При обработке данных по экспрессии мРНК использовали двухфакторный дисперсионный анализ (факторы – "ЛПС" и "сторона стриатума" (левая или правая)) в программе STATISTICA (ver. 6.0; StatSoft, Inc., 2001), с последующим апостериорным анализом межгрупповых различий по критерию Фишера LSD. Данные по неврологическому дефициту обрабатывали путем прямых парных сравнений с использованием *t*-критерия Стьюдента. Во всех статистических анализах различия считались достоверными, начиная с $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Через сутки после введения ЛПС у животных был обнаружен выраженный неврологический дефицит. В тесте Гарсия эти животные по сравнению с контролем демонстрировали снижение двигательной активности, нарушения координации и проприорецепции (*t*-критерий = 4.54; $p < 0.001$ по суммарному количеству баллов; рис. 1*а*). В Placing test (рис. 1*б*) нарушения проявлялись парезом передних лап с обеих сторон: правой (*t*-критерий = = 4.50; $p < 0.001$) и левой (*t*-критерий = 4.13; $p < < 0.001$).

Неврологическому дефициту после ЛПС сопутствовало достоверное увеличение в области правого стриатума (области введения эндотоксина) числа клеток, экспрессирующих исполнительную протеазу апоптоза активную каспазу-3 (влияние ЛПС: $F(3, 98) = 65.97$, $p < 0.0001$, рис. 2*а*). Этого эффекта не было в области левого стриатума, что подтверждается апостериорном сравнением средних, группа с введением ЛПС в область правого стриатума отличалась от трех других с вероятностью $p < 0.0001$. В области правого стриатума (влияние ЛПС: $F(3, 98) = 46.7$, $p < 0.0001$), но не левого (апостериорное сравнение, группа с введением ЛПС в область правого стриатума отличалась от трех других с вероятностью $p < 0.0001$), после

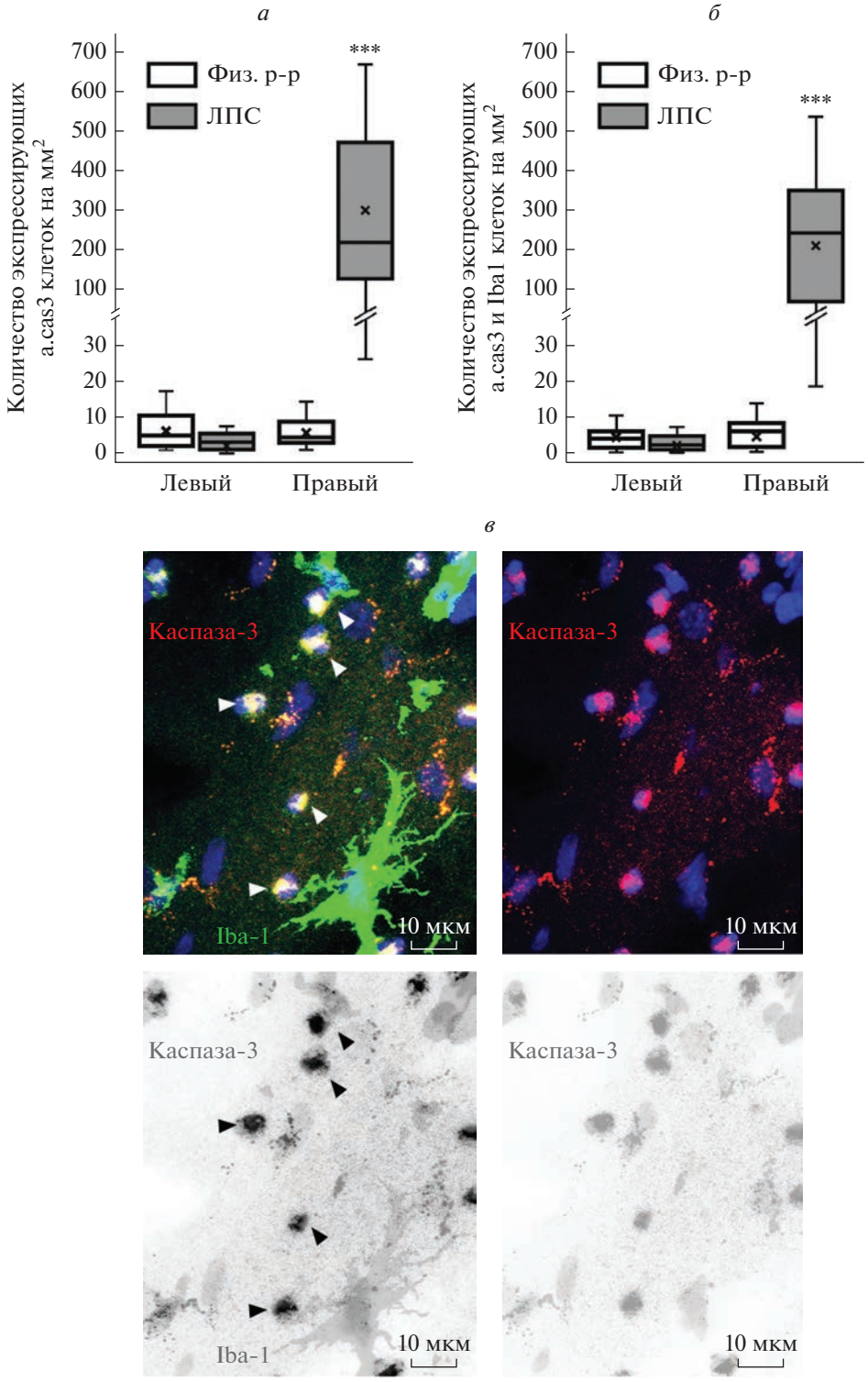

Рис. 2. Количество иммунопозитивных клеток в областях правого и левого стриатума через сутки после введения ЛПС. Данные представлены в виде диаграммы размаха (“ящик с усами”). Горизонтальная линия – медиана, размах усов соответствует доверительному интервалу. Белый столбик – группа с введением физиологического раствора (физ. р-р), серый столбик – группа с введением ЛПС (ЛПС). *а* – плотность клеток, экспрессирующих активную каспазу-3, *** $p < 0.001$ по сравнению со всеми группами; *б* – плотность микроглиальных клеток, коэкспрессирующих активную каспазу-3, *** $p < 0.001$ по сравнению со всеми группами; *в* – репрезентативная микрофотография активации микроглии в правом стриатуме в очаге введения ЛПС, стрелками отмечена экспрессия активной каспазы-3 в микроглиальных клетках.

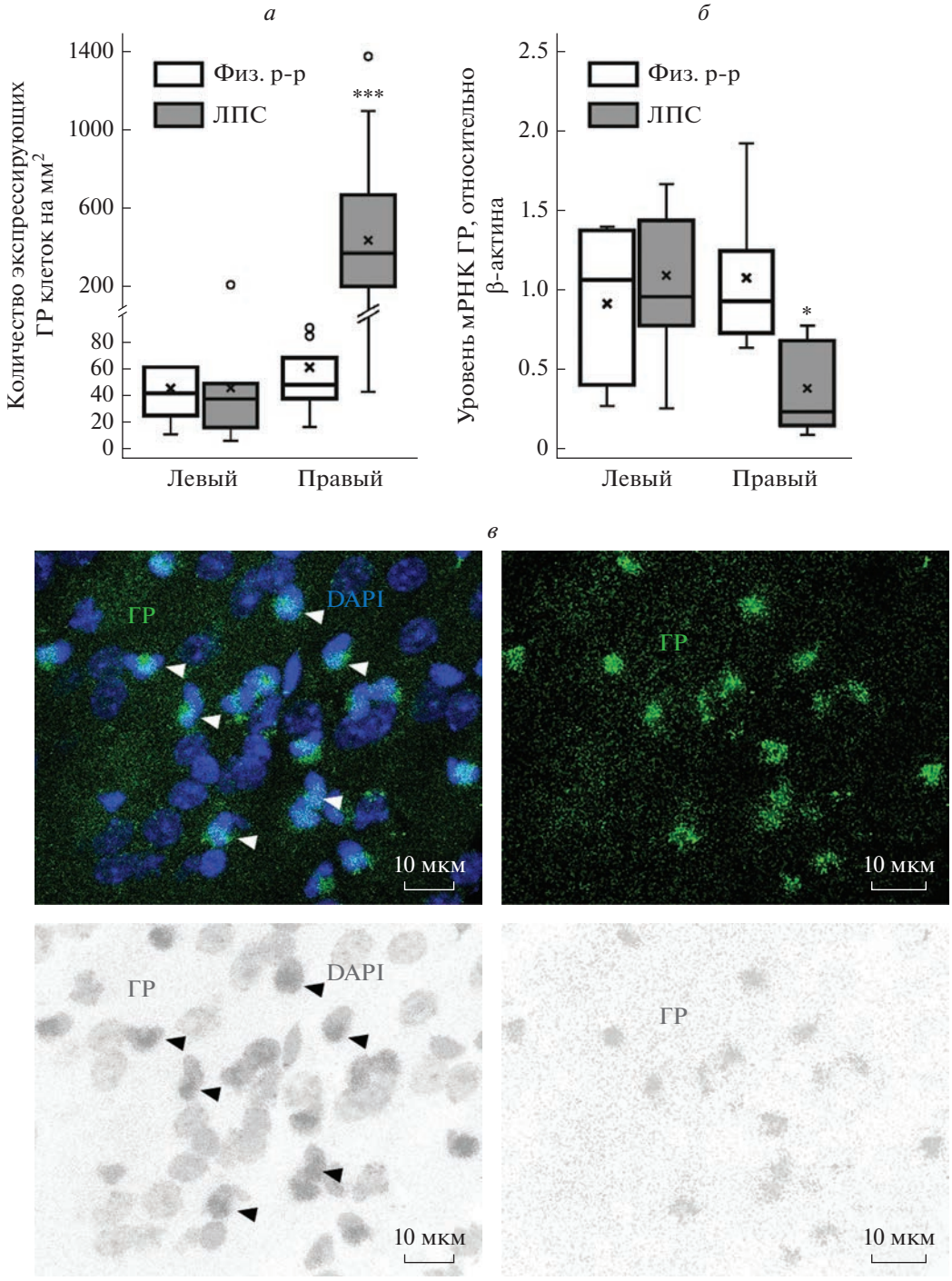

Рис. 3. Уровень мРНК и экспрессии глюкокортикоидных рецепторов в стриатуме через сутки после введения ЛПС в область правого стриатума. Данные представлены в виде диаграммы размаха (“ящик с усами”). Горизонтальная линия – медиана, размах усов соответствует доверительному интервалу. Белый столбик – группа с введением физиологического раствора (физ. р-р), серый столбик – группа с введением ЛПС (ЛПС). По оси *Y* представлено изменение уровня мРНК целевого гена в разах относительно уровня мРНК гена домашнего хозяйства бета-актина. *а* – плотность клеток в стриатуме, экспрессирующих глюкокортикоидные рецепторы, *** $p < 0.001$ по сравнению со всеми группами; *б* – уровень мРНК глюкокортикоидных рецепторов в стриатуме, * $p < 0.05$ по сравнению со всеми группами; *в* – репрезентативная микрофотография глюкокортикоидных рецепторов и их транслокации в ядра в области правого стриатума (отмечены стрелками).

ЛПС было также достоверно увеличено число клеток, коэкспрессирующих маркер активированной микроглии Iba-1 и активную каспазу-3 (рис. 2*б*, *в*).

Анализ экспрессии ГР показал, что введение ЛПС приводило через сутки к достоверному увеличению числа ГР-иммунопозитивных клеток в области правого стриатума, но не левого (влияние ЛПС: $F(3, 68) = 24.72$, $p < 0.0001$; апостериорное сравнение, группа с введением ЛПС в область правого стриатума отличалась от трех других с вероятностью $p < 0.0001$) (рис. 3*а*). Повышение экспрессии белка ГР после введения ЛПС в область правого стриатума контрастировало со снижением уровня его мРНК в этом отделе (влияние ЛПС: $F(1, 22) = 2.33$, $p = 0.14$; взаимодействие факторов: $F(1, 22) = 5.98$, $p < 0.03$; апостериорное сравнение, группа с введением ЛПС в область правого стриатума отличалась от трех других с вероятностью $p < 0.05$) (рис 3*б*).

Результаты иммуногистохимического анализа свидетельствуют не только об увеличении экспрессии ГР в области правого стриатума после ЛПС, но и об активации в области введения функциональной активности рецепторов. На этот эффект указывает усиление транслокации рецепторов из цитоплазмы в ядро, проиллюстрированное на репрезентативных микрофотографиях (рис. 3*в*).

ОБСУЖДЕНИЕ

Бактериальный ЛПС широко используется для экспериментального моделирования ассоциированных с нейровоспалением психопатологий [21]. Эндотоксин чаще вводят периферически. Центральное введение включает как желудочки мозга, так и отдельные структуры, например, черную субстанцию для моделирования болезни Паркинсона [22], или стриатум для моделирования постишемических последствий [11]

Бальная оценка неврологической функции показала значительный неврологический дефицит у животных после ЛПС. Следует отметить, что использованные тесты, прежде всего, тест Гарсия [13] был разработан для подтверждения наличия ишемического повреждения в модельных экспериментах на грызунах, однако он также используется с аналогичными целями и после травматического повреждения головного мозга на этих животных. Центральное введение препаратов, безусловно, травматическая процедура, а отличие результатов двух групп, одной из которых вводили физиологический раствор, а другой ЛПС, указывает на зависимость поведенческих эффектов от провоспалительного воздействия.

Развитию неврологического дефицита после ЛПС сопутствовало увеличение экспрессии активной каспазы-3 в области введения, что согласуется с представлением о связи неврологического нарушения с активацией апоптоза [23] или пироптоза [24, 25]. Вместе с тем, остается неясным функциональное значение повышенной экспрессии каспазы-3 конкретно в микроглиальных клетках. Одно из объяснений – участие в механизмах активации микроглии. Подобный эффект был обнаружен через 24 ч после введения ЛПС в черную субстанцию крысы, а нокдаун или химическое угнетение каспазы-3 ослабляли активацию микроглии [26, 27]. Активная каспаза-3 в микроглиальных клетках может также вовлекаться в провоспалительную функцию клеток, провоцируя процесс протеолиза и выброс про-воспалительных цитокинов в межклеточное пространство [28]. Поскольку сама активация каспазы-3 не всегда вызывает гибель микроглиальных клеток [29], важно принимать во внимание и другие регуляторные факторы развития нейровоспаления. Непосредственное участие в модуляции активации микроглии при нейровоспалительных патологиях головного мозга принимают глюкокортикоиды. Повышение их уровня коррелирует с увеличением выброса микроглией провоспалительных цитокинов [8].

В данном эксперименте воздействие провоспалительным стимулом привело через сутки к увеличению экспрессии ГР с одновременным снижением мРНК этих рецепторов через 24 ч после введения ЛПС, что может быть связано с авторегуляцией экспрессии ГР. Эти эффекты могли быть обусловлены увеличением уровня кортикостерона в крови [30]. Снижение уровня мРНК ГР в гиппокампе при вызванном острым стрессом повышении глюкокортикоидов наблюдалось в ряде работ [31–33]. Функциональное значение как активации, так и ингибирования функции ГР при воспалении пока не ясно. Исходя из имеющихся в настоящее время сведений, ГР, по-видимому, могут вовлекаться как в механизмы потенциации провоспалительной активации, так и ее ограничения. Факторы, обусловливающие про- или анти-воспалительное действие ГР в головном мозге, требуют дальнейшего исследования, учитывающие стадию нейровоспалительного процесса, и, особенно, изоформы ГР. Например, на культурах разных клеток человека показано зависимое от типа клетки повышающее влияние ЛПС преимущественно на альфа изоформу ГР [34].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Прямое внутримозговое введение ЛПС (в область правого стриатума крыс) вызывало у животных через сутки выраженный неврологический дефицит, которому в области введения ЛПС сопутствовало увеличение числа клеток, экспрессирующих исполнительную протеазу апоптоза активную каспазу-3, а также числа микроглиальных клеток, коэкспрессирующих эту каспазу. Через сутки после введения ЛПС в правом стриатуме

была также увеличена плотность ГР. Результаты свидетельствуют об острых изменениях активности микроглиальных клеток, а также экспрессии и функциональной активности ГР в ответ на бактериальный эндотоксин. Дальнейшее выяснение функциональной роли активной каспазы-3 и ГР в микроглиальных клетках в условиях провоспалительной активации может помочь в определении мишеней для ослабления симптомов неврологического расстройства.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность ЦКП микроскопического анализа биологических объектов ИЦиГ СО РАН.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 20-64-47013). Содержание животных осуществлялось за счет средств бюджетного проекта № FWNR-2022-0023.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов: Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Этическое одобрение: Все применимые международные, национальные и институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Si Z.Z., Zou C.J., Mei X., Li X.F., Luo H., Shen Y., Hu J., Li X.X., Wu L., Liu Y.* // Neural Regen. Res. 2023. V.18. № 4. P. 708–715.
2. *Öberg M., Fabrik I., Fabrikova D., Zehetner N., Härtlova A.* // Scand. J. Immunol. 2021. V. 93. № 5.
3. *Schimmel S.J., Acosta S., Lozano D.* // Brain Circ. 2017. V. 3. № 3. P. 135–142.
4. *Thiel A., Cechetto D.F., Heiss W.D., Hachinski V., Whitehead S.N.* // Stroke. 2014. V. 45. № 9. P. 2825–2829.
5. *Shishkina G.T., Kalinina T.S., Gulyaeva N.V., Lanshakov D.A., Dygalo N.N.* // Biochemistry (Mosc.). 2021. V. 86. № 6. P. 657–666.
6. *Kettenmann H., Hanisch U.K., Noda M., Verkhratsky A.* // Physiol Rev. 2011. V. 91. № 2. P. 461–553.
7. *Bolshakov A.P., Tret'yakova L.V., Kvichansky A.A., Gulyaeva N.V.* // Neuroinflammation. Biochemistry (Mosc.). 2021. V. 86. № 2. P. 156–167.
8. *Sorrells S.F., Munhoz C.D., Manley N.C., Yen S., Sapolsky R.M.* // Neuroendocrinology. 2014. V. 100. № 2–3. P. 129–140.
9. *Carrillo-de Sauvage M.Á., Maatouk L., Arnoux I., Pasco M., Sanz Diez A., Delahaye M., Herrero M.T., Newman T.A., Calvo C.F., Audinat E., Tronche F., Vyas S.* // Cell Death Differ. 2013. V. 20. № 11. P. 1546–1557.
10. *Hu S., Shen P., Chen B., Tian S.W., You Y.* // Neuroscience Letters. 2022. V. 788. P. 136850.
11. *Shishkina G.T., Gulyaeva N.V., Lanshakov D.A., Kalinina T.S., Onufriev M.V., Moiseeva Y.V., Sukhareva E.V., Babenko V.N., Dygalo N.N.* // Biomedicines. 2021. V. 9. № 12. P. 1840.
12. *Paxinos G., Watson C.* // The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. Academic Press, 1998.
13. *Garcia J.H., Wagner S., Liu K.F., Hu X.* // Stroke. 1995. V. 26. № 4. P. 627–635.
14. *Hua Y., Schallert T., Keep R.F., Wu J., Hoff J.T., Xi G.* // Stroke. 2002. V. 33. № 10. P. 2478–2484.
15. *Дайнеко А.С., Шмонин А.А., Шумеева А.В., Коваленко Е.А., Мельникова Е.В., Власов Т.Д.* // Экспериментальные исследования, 2014. V. 13. № 1. С. 68–78.
16. *Shi X., Bai H., Wang J., Wang J., Huang L., He M., Zheng X., Duan Z., Chen D., Zhang J., Chen X., Wang J.* // Frontiers in Neurology. 2021. V. 12.
17. *Shmonin A., Melnikova E., Galagudza M., Vlasov T.* // International Journal of Stroke. 2012. V. 9. № 6. P. 793–801.
18. *Lanshakov D.A., Sukhareva E.V., Kalinina T.S., Dygalo N.N.* // Neurobiol. Dis. 2016. V. 91. P. 1–9.
19. *Bankhead P., Loughrey M.B., Fernández J.A., Dombrowski Y., McArt D.G., Dunne P.D., McQuaid S., Gray R.T., Murray L.J., Coleman H.G., James J.A., Salto-Tellez M., Hamilton P.W.* // Scientific Reports. 2017. V. 7. № 1.
20. *Четвериков А.А.* // Российский журнал когнитивной науки. 2015. V. 2. № 1. С. 41–51.
21. *Batista C.R.A., Gomes G.F., Candelario-Jalil E., Fiebich B.L., de Oliveira A.C.P.* // International Journal of Molecular Sciences. 2019. V. 20. № 9. P. 2293.
22. *García-Revilla J., Herrera A.J., de Pablos R.M., Venero J.L.* // J. Parkinson's Dis. 2022. V. 12. P. S165–S182.
23. *Kim J.A., Kim Y.Y., Lee S.H., Jung C., Kim M.H., Kim D.Y.* // Int. J. Mol. Sci. 2022. V. 23. № 13. P. 6975.
24. *Yu P., Zhang X., Liu N., Tang L., Peng C., Chen X.* // Signal Transduction and Targeted Therapy. 2021. V. 6. № 1.
25. *Bahatyrevich-Kharitonik B., Medina-Guzman R., Flores-Cortes A., García-Cruzado M., Kavanagh E., Burguillos M.A.* // Frontiers in Cell and Developmental Biology. 2022. V. 9.
26. *Burguillos M.A., Deierborg T., Kavanagh E., Persson A., Hajji N., Garcia-Quintanilla A., Cano J., Brundin P., Englund E., Venero J.L., Joseph B.* // Nature. 2011. V. 472. № 7343. P. 319–324.
27. *Kavanagh E., Rodhe J., Burguillos M.A., Venero J.L., Joseph B.* // Cell Death & Disease. 2014. V. 5. № 12. P. e1565.
28. *Jiang M., Qi L., Li L., Li Y.* // Cell Death Discovery. 2020. V. 6. № 1.
29. *Sarić N., Hashimoto-Torii K., Jevtović-Todorović V., Ishibashi N.* // Trends in Neurosciences. 2022. V. 45. № 6. P. 446–458.

30. *Brkic Z., Petrovic Z., Franic D., Mitic M., Adzic M.* // Psychopharmacology (Berl.). 2016. V. 18. P. 3315–3330.

31. *Romeo R.D., Ali F.S., Karatsoreos I.N., Bellani R., Chhua N., Vernov M., McEwen B.S.* // Neuroendocrinology. 2007. V. 87. № 3. P. 160–167.

32. *Noguchi T., Makino S., Matsumoto R., Nakayama S., Nishiyama M., Terada Y., Hashimoto K.* // Endocrinology. 2010. V. 151. № 9. P. 4344–4355.

33. *Green M.R., Nottrodt R.E., Simone J.J., McCormick C.M.* // Psychoneuroendocrinology. 2016. V. 73. P. 32–41.

34. *Molina M.L., Guerrero J., Cidlowski J.A., Gatica H., Goecke A.* // J. Inflamm. 2017. V. 14. P. 22.

Rapid Changes in the Expression of Active Caspase-3 and Glucocorticoid Receptors in Striatum Cells Induced by Neuroinflammation

V. V. Bulygina[a], G. T. Shishkina[a], D. A. Lanshakov[a], T. S. Kalinina[a], N. P. Komysheva[a], U. S. Drozd[a], E. V. Suhareva[a], and N. N. Dygalo[a]

[a] *The Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, The Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*

Activation of microglia, resident immune cells of the central nervous system, plays a key role in the pathogenesis of neurological disorders induced by infections, as well as traumatic and ischemic events. Understanding the responses of brain cells, primarily microglial cells, to damaging effects can help overcome their pathological consequences. In this work, we analyzed the cellular effects of bacterial lipopolysaccharide (LPS), which is widely used as a pro-inflammatory stimulus. The injection of LPS into the area of right striatum of rats caused a pronounced neurological deficit in a day, which was accompanied by an increase in the number of microglial cells, an increase in the density of glucocorticoid receptors (GR) and their translocation into the nuclei of cells co-expressing the executive protease of apoptosis, active caspase-3 and GR, in the area of LPS injection. The results indicate acute changes in the activity of microglial cells, as well as in the expression and functional activity of GR in response to bacterial endotoxin. Further elucidation of the functional role of active caspase-3 and GR in microglial cells under conditions of pro-inflammatory activation may help identify targets for alleviating the symptoms of a neurological disorder.

Keywords: striatum, lipopolysaccharide, microglia, cleaved caspase-3, glucocorticoid receptors, neurological deficit