
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ
РАБОТЫ

УДК 612.82:571.27

ДЕКСАМЕТАЗОН СНИЖАЕТ УРОВНИ мРНК ЦИТОКИНОВ И АКТИВНОСТЬ МИКРОГЛИИ В СТВОЛЕ МОЗГА НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС

© 2024 г. Т. С. Калинина^{1, 2, *}, В. В. Булыгина¹, Д. А. Ланшаков^{1, 2}, Е. В. Сухарева¹,
Н. Н. Дыгало^{1, 2}

¹Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

²Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

*E-mail: kalin@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 04.07.2024 г.

После доработки 11.07.2024 г.

Принята к публикации 17.07.2024 г.

Микроглия в перинатальный период онтогенеза выполняет функции критически важного регулятора процессов ангио-, нейро- и синаптогенеза. В условиях нормального развития, без индукции воспаления, введение глюкокортикоидного гормона — дексаметазона (0.2 мг/кг) вызывало быстрое снижение уровней мРНК как про-, так и противовоспалительных цитокинов в стволе мозга новорожденных крысят. Уменьшение экспрессии генов *Il1b*, *Tnfa* наблюдалось уже через 1 час, а *Il10*, *Tgfb1* через 4 часа после введения гормона 3-суточным крысятам. Подавление уровней мРНК цитокинов сопровождалось уменьшением числа клеток, экспрессирующих маркерный белок микроглии IBA1 в области голубого пятна ствола мозга, к 6 часу после введения глюкокортикоида. Выявленное в работе снижение экспрессии цитокинов и активности микроглии способно нарушить участие микроглии в процессах нейропластичности развивающегося мозга, что может являться одной из причин долговременного изменения его функционирования.

Ключевые слова: дексаметазон, цитокины, микроглия, мРНК, неонатальный мозг, ранние воздействия

DOI: 10.31857/S1027813324030039, **EDN:** EQUVXL

ВВЕДЕНИЕ

При развитии воспаления введение синтетического глюкокортикоида — дексаметазона подавляет экспрессию провоспалительных и стимулирует экспрессию противовоспалительных цитокинов, что оказывает иммуносупрессивный эффект [1–3]. Способность гормона снижать воспаление успешно используется в клинике. Вместе с тем, действие дексаметазона на экспрессию про- и противовоспалительных цитокинов в условиях нормального развития, а не стимулированного воспаления, остается открытым. Применение глюкокортикоидов в перинатальной медицине для купирования респираторного дистресс-синдрома новорожденных при угрозе преждевременных родов [4–6] делает вопрос о влиянии гормона на экспрессию цитокинов развивающегося мозга актуальным. Благодаря своей липофильной природе и незрелости гематоэнцефалического барьера, дексаметазон легко проникает в мозг, где основным “иммунным органом” является микроглия. Основные функции

микроглии перинатального мозга включают в себя не только очищение клеток от продуктов физиологического апоптоза и борьбу с патогенами, но и, что более важно, участие в образовании корректных и функциональных синаптических контактов формирующихся нейронных сетей [7–9]. Следовательно, повышение уровня гормона в критический период развития мозга может изменить активность микроглии и тем самым повлиять на формирование связей между нейронами и организацию нейросетей, меняя функционирование мозга в дальнейшем. Известно, что стимуляция активности микроглии в раннем онтогенезе меняет у взрослых животных стресс-реактивность, иммунный ответ, увеличивает склонность к психопатологиям [10–13]. С целью выяснения влияния дексаметазона на уровни мРНК цитокинов в работе определяли динамику быстрых изменений уровней мРНК генов провоспалительных цитокинов: интерлейкина-1 бета (*Il1b*), фактора некроза опухоли-альфа (*Tnfa*) и анти-воспалительных: интерлейкина 10 (*Il10*) и трансформирующего ростового

фактора бета (*Tgfb1*), а также уровень экспрессии маркерного белка микроглии IBA1 в стволе мозга неонатальных крысят.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные, введение препаратов, забор материала. В работе использовали неонатальных крысят Вистар обоего пола, содержащихся по-пометно вместе с матерями в ЦКП Вивария конвенциональных животных ИЦиГ СО РАН. Животных содержали в соответствии с Директивой Европейского Парламента и Совета ЕС 2010/63/EU от 22 сентября 2010 г., а также приказом 199н “Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики” Министерства Здравоохранения РФ, условия содержания были одобрены биоэтической комиссией ИЦиГ СО РАН – Протокол № 19 от 26 ноября 2013 года при свободном доступе к воде и корму, контролируемом световом режиме 14/10. Беременные самки были рассажены в индивидуальные клетки не позднее 18 дня беременности. День родов считали первым днем жизни. На второй день все пометы были выравнены до 8–10 крысят. Для нивелировки материнских эффектов в каждом помете находились животные контрольных и подопытных групп. Число животных было минимизировано до получения статистически достоверных результатов, каждая группа состояла из 10–12 животных, при этом в каждой экспериментальной группе были представлены крысята из не менее чем 3–4 разных пометов.

На 3-й день жизни крысятам вводили подкожно 0.2 мг/кг/20 мкл дексаметазона (KRKA, Словения), физиологический раствор (20 мкл), либо оставляли интактными. После инъекций крысят возвращали к матерям. Животных выводили из эксперимента быстрой декапитацией через 30, 60, 120, 240 и 360 минут после введений препаратов. Все манипуляции проводили в интервале с 09:00 до 15:00. Для определения уровней мРНК ($n = 7-8$) на холоду выделяли ствол мозга, включающий весь блок ткани позади четверохолмия – роstralную часть продолговатого мозга и область моста. Для иммуногистохимического анализа после холодового наркоза проводили транскардиальную перфузию крысят ($n = 4$) 0.02М фосфатно-солевым буфером (PBS) и 4% раствором параформальдегида в 0.02 М PBS, извлекали мозг и помещали в такой же фиксатор на 4 часа, а затем в 30% сахарозу в 0.02 М PBS для криопротекции.

Определение уровней мРНК. Суммарную РНК из образцов ствола мозга выделяли одностадийным гуанидин-изотиоцианатным методом, как описано нами ранее [14–16]. Синтез кДНК проводили из 3 мкг суммарной РНК с применением Oligo(dT) и ревертазы М-MuLV (“СибЭнзим”, Россия) в течение 90 мин при 42°C. Количественный

анализ уровней мРНК цитокинов относительно мРНК гена домашнего хозяйства бета-актина проводили методом ПЦР в реальном времени с использованием наборов TaqMan® Gene Expression Assays (*Il1b*: Rn00580432_m1; *Tnfa*: Rn00562055_m1; *Il10*: Rn99999012_m1; *Tgfb1*: Rn00572010_m1; *Actb*: Rn00667869_m1; Thermo Fisher Scientific, USA) на амплификаторе VIIA™7 (Thermo Fisher Scientific, USA) в соответствии с протоколом производителя и рассчитывали по методу $\Delta\Delta C_t$.

Иммуногистохимия. Иммунофлуоресцентное окрашивание проводили на сагиттальных срезах толщиной 20 мкм, собранных на адгезивных стеклах Superfrost plus (Термо, США). Неспецифическое связывание блокировали в 1.5% BSA в PBST (0.02М PBS с 0.2% Triton X-100). Использовали специфичные первичные антитела в разведении 1:250 для маркера микроглии IBA1 (ab178847, Abcam, США, rabbit) и тирозингидроксилазы (TH) (ab1542, Merck Millipore, sheep). Далее срезы инкубировали со вторичными антителами осла против IgG кролика с флуоресцентной меткой (Alexa-568, Biotium) и осла против IgG овцы с флуоресцентной меткой (Alexa-488, Jackson ImmunoResearch), каждое вторичное антитело брали в разведении 1:300.

Микрофотосъемки в области синего пятна ствола мозга (Locus coeruleus, LC) проводили на конфокальном микроскопе LSM 780 (“Carl Zeiss”, Германия). Общий уровень флуоресцентного свечения (для тирозингидроксилазы (TH)), а также средний диаметр по 10 клеткам и количество клеток на 1 мм² среза мозга, экспрессирующих IBA1, подсчитывали с помощью программного обеспечения ZEN.

Статистический анализ. После проверки выборок на нормальность распределения по критерию Колмогорова, обработку данных проводили с использованием дисперсионного анализа ANOVA: двухфакторного для уровней мРНК (независимые факторы: введение гормона и время) или однофакторного для результатов иммуногистохимии (фактор: введение гормона). Апостериорное сравнение групп анализировали по Фишеру, с применением, в случае необходимости, поправки на множественное сравнение (для уровней мРНК генов) или без таковой (для иммуногистохимии) в пакете программ Statistica 10 (StatSoft, США). Результаты представлены как среднее $\pm$ ошибка средней. Различия считали достоверными при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Введение дексаметазона привело к быстрому снижению уровней мРНК генов провоспалительных цитокинов (рис. 1). Уже через 1 час после гормонального воздействия уровень мРНК интерлейкина 1В (*Il1b*) в стволе мозга 3-суточных крысят достоверно снизился (рис. 1а) по сравнению

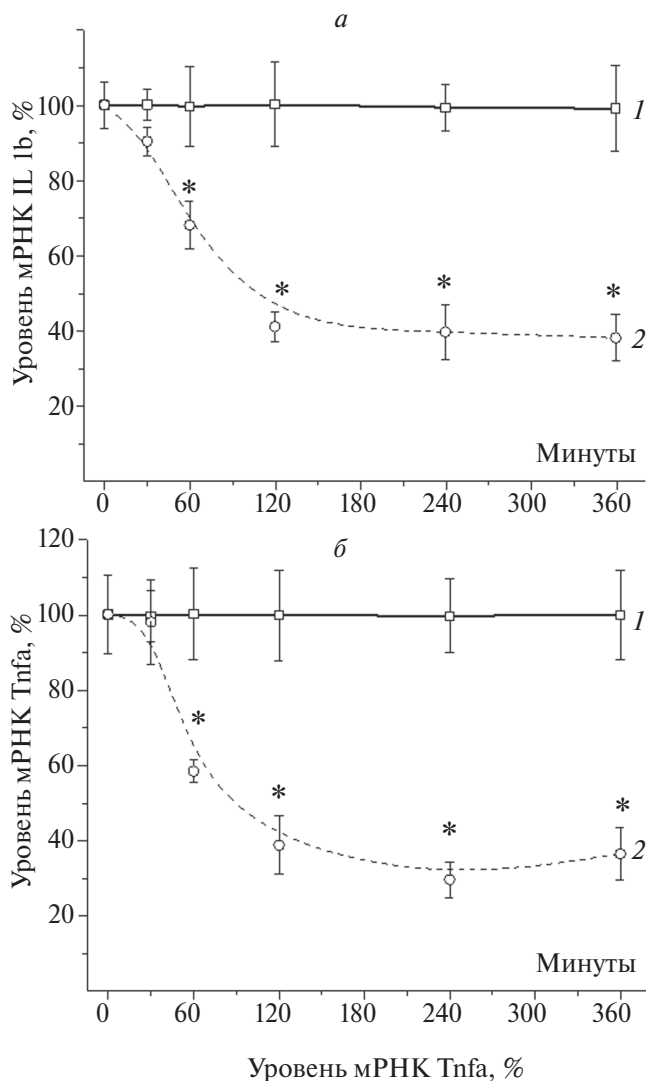


Рис. 1. Уровни мРНК интерлейкина 1В (*Il1b*) (а) и фактора некроза опухоли-альфа (*Tnfa*) (б) в стволе мозга 3-суточных крысят через 30, 60, 120, 240 и 360 минут после введения 0.2 мг/кг дексаметазона (кривая № 2) в процентах от введения физиологического раствора (кривая № 1). "0" по оси абсцисс – интактные одновозрастные крысы, * $p < 0.05$ по сравнению с контрольными животными аналогичного временного интервала.

с уровнем контрольных животных (влияние гормона: $F(1,87)=59.75$, $p<0.001$; влияние времени $F(5,87)=6.99$, $p<0.001$; взаимодействие факторов $F(5,87)=6.74$, $p<0.001$). Аналогичное снижение экспрессии гена обнаружено и для другого провоспалительного цитокина – фактора некроза опухоли-альфа (*Tnfa*) (рис. 1б), уровень мРНК которого также был значимо ниже уровня контрольных животных, начиная с первого часа после введения гормона (влияние гормона $F(1,79)=36.37$, $p<0.001$; влияние времени $F(5,79)=4.47$, $p<0.001$;

взаимодействие факторов $F(5,79)=4.43$, $p<0.001$). Снижение экспрессии генов обоих провоспалительных цитокинов оставалось на низком, относительно контрольных животных, уровне на протяжении всех 6 часов наблюдений.

Уровни мРНК противовоспалительных цитокинов, интерлейкина 10 (*Il10*) и трансформирующего фактора роста бета (*Tgfb*) также снижались под действием гормона, но это действие гормона выявлялось только к 4 и 6 часу после введения дексаметазона (рис. 2): для *Il10* влияние гормона $F(1,66)=10.04$, $p<0.002$ (рис. 2а), для *Tgfb* $F(1,88)=5.01$, $p<0.03$ (рис. 2б), соответственно.

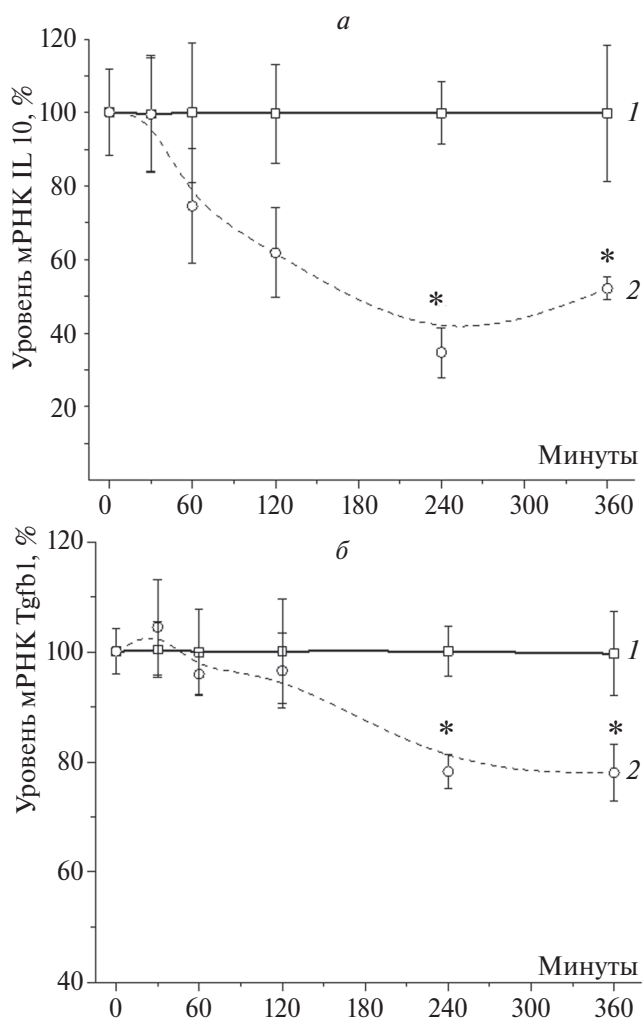


Рис. 2. Уровни мРНК интерлейкина 10 (*Il10*) (а) и трансформирующего фактора роста бета (*Tgfb*) (б) в стволе мозга 3-суточных крысят через 30, 60, 120, 240 и 360 минут после введения 0.2 мг/кг дексаметазона (кривая № 2) в процентах от введения физиологического раствора (кривая № 1). "0" по оси абсцисс – интактные одновозрастные крысы, * $p < 0.05$ по сравнению с контрольными животными аналогичного временного интервала.

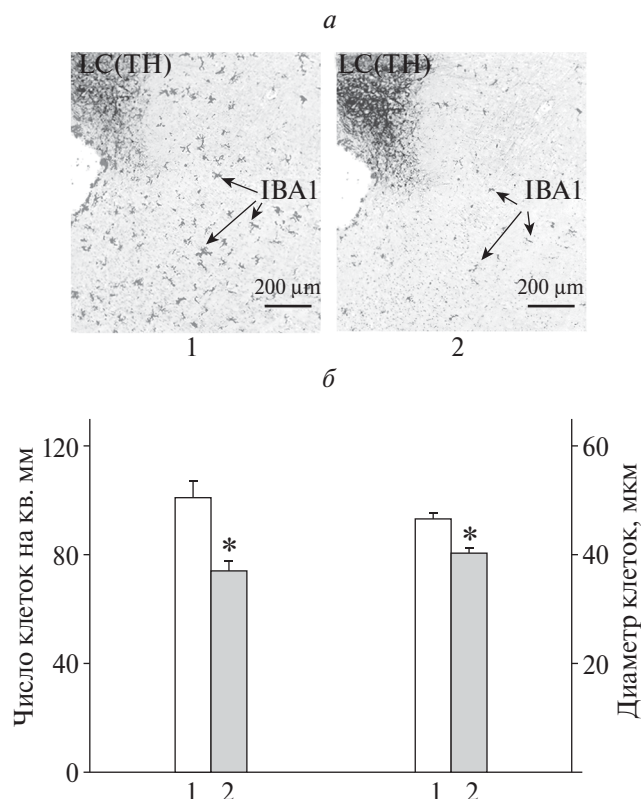


Рис. 3. (а) Репрезентативные микрофотографии окраски IBA1 в стволе мозга 3-суточных крысят контрольной группы (1) и через 6 часов после введения дексаметазона (2). Клетки микроглии отмечены стрелками, LC(TH) – область синего пятна ствола мозга (Locus Coeruleus) с окраской на тирозингидроксилазу (TH).

(б) Число клеток, экспрессирующих IBA1, и их диаметр в стволе мозга контрольных (1) и получивших 0.2 мг/кг дексаметазона (2) 3-суточных крысят через 6 часов после воздействия.

* $p < 0.05$ по сравнению с контрольной группой.

Достоверного влияния времени и взаимодействия факторов на уровни мРНК исследуемых противовоспалительных цитокинов не выявлено.

Снижение экспрессии генов про- и противовоспалительных цитокинов сопровождалось уменьшением числа микроглиальных клеток и их диаметра в стволе мозга новорожденных крысят (рис. 3). Через 6 часов после введения дексаметазона число клеток, экспрессирующих маркерный белок активированной микроглии IBA1, уровень которого оценивали иммуногистохимически, был достоверно меньше, чем у животных контрольной группы, получавших инъекцию физиологического раствора $F(1,18)=8.39$, $p<0.01$. Средний диаметр клеток микроглии после введения гормона также достоверно снижался $F(1,18)=5.37$; $p<0.03$. При этом уровень флуоресцентного сигнала для белка ключевого фермента синтеза

катехоламинов – тирозингидроксилазы (TH) в области синего пятна ствола мозга через 6 часов после введения гормона был повышен $F(1,18)=5.22$; $p<0.03$.

Таким образом, введение дексаметазона вызывает быстрое градиентное угнетение экспрессии как про-, так и, в дальнейшем, противовоспалительных цитокинов в стволе мозга неонатальных крысят, снижая к 6 часу после введения число и активность микроглиальных клеток.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Клетки микроглии в неонатальном мозге выполняют критически важные функции. В условиях нормального развития, без воспаления, именно микроглия участвует в процессах ангиогенеза, удалении избыточного числа нейронов и в синаптогенезе – образовании корректных синаптических контактов, поддерживая формирование функциональных нейронных сетей и удаляя нефункциональные связи между нейронами, тем самым микроглия участвует в формировании нейропластичности ЦНС [7–9]. Поэтому отклонение активности микроглии как в сторону ее увеличения при индукции воспаления, так и угнетения, установленного в нашей работе при введении глюкокортикоидного гормона, способно оказать долговременное влияние на функционирование мозга и регулируемые им функции.

Повышение уровня глюкокортикоидов в результате стресса или гормональной терапии в чувствительный период раннего онтогенеза, как известно, приводит к перманентным долговременным изменениям – у взрослых животных меняется реакция на стресс, нарушаются нейромедиаторные системы мозга и, соответственно, регуляция многих функций [17–21]. Многочисленные эпидемиологические исследования применения глюкокортикоидов при угрозе преждевременных родов свидетельствуют о неблагоприятных отдаленных последствиях антенатального введения гормонов и у человека [4–6], что вызывает целый ряд метаболических отклонений – от нарушения толерантности к глюкозе и развития гипертонии до выраженных патологий умственного и психоэмоционального развития, нарушению памяти, способности к обучению, вплоть до появления тяжелых тревожно-депрессивных состояний [21–23].

Введение дексаметазона неонатальным крысятам в нашем исследовании вызвало одностороннее действие на уровни мРНК как про-, так и противовоспалительных цитокинов – снижение экспрессии их генов, различное по времени проявления. Это угнетение экспрессии по всей видимости не является следствием катаболического действия глюкокортикоидов, тормозящего, как известно, синтез белка [1, 24], поскольку

изменения экспрессии гена домашнего хозяйства в исследуемом временном диапазоне выявлено не было. Молекулярной основой эффектов дексаметазона могут являться как классический вариант его действия через глюкокортикоид-отвечающие элементы промоторов цитокинов, так и неканонический механизм действия гормонов — через AP-1 элементы, имеющиеся в промоторных областях всех исследуемых генов [1, 2].

Если снижение экспрессии генов провоспалительных цитокинов, в нашей работе это интерлейкин-1бета (*Il1b*) и фактор некроза опухоли-альфа (*Tnfa*), введением глюкокортикоидных гормонов хорошо известно и успешно используется в клинике [1–3], то обнаруженное в работе уменьшение уровней мРНК противовоспалительных цитокинов было неожиданным, и этот факт нуждается в дальнейшем исследовании. Продукентом противовоспалительных белков — цитокина интерлейкина-10 и трансформирующего ростового фактора-бета1, особенно в период перинатального онтогенеза, является преимущественно микроглия [25–27]. Усиление экспрессии интерлейкина 10 на уровне гена и белка активно противодействует развитию нейродегенерации при индукции воспаления [25], а TGFb1 критически важен для созревания и гомеостаза микроглии [27, 28]. Обнаруженное нами снижение уровней мРНК *Il10* и *Tgfb1* к 4 часу после введения дексаметазона в створе неонатального мозга согласуется с недавно выявленным снижением секреции белковых продуктов этих генов в культуре микроглиальных клеток при действии гормона [29].

Выявленное в работе уменьшение уровней мРНК цитокинов сопровождается снижением активности микроглии, что подтверждается обнаруженным нами уменьшением числа клеток, экспрессирующих маркерный белок IBA1, а также уменьшением среднего диаметра микроглиоцитов. Такое снижение базальной активности микроглии способно ослабить выполнение ею своих функций в неонатальном мозге и явиться причиной нарушения формирования нейронных сетей и функционирования мозга в дальнейшем.

Исследуемый в нашей работе возраст — первые дни постнатального развития — является критически важным периодом онтогенеза. Как было впервые установлено работами нашей лаборатории даже кратковременное снижение экспрессии одного единственного гена — альфа2A-адренорецептора — в этот период развития применением РНК-интерференции или антисенс-нокдауна приводит к значительным изменениям поведения и нейробиологии — значительно снижается уровень тревожности взрослых животных и повышается плотность альфа2-адренорецепторов в отделах мозга взрослых животных [14, 30, 31]. Кроме того, введение дексаметазона крысам на 3 день

постнатального развития вызывает значимое увеличение экспрессии гена и белка ключевого фермента синтеза катехоламинов — тирозингидроксилазы (ТН) [15, 32], сохраняющееся, как минимум, сутки и меняющее активность ТН у взрослых животных в створе мозга — области локализации перикарионов норадренергических нейронов [32, 33]. В нашей работе мы вновь зафиксировали рост экспрессии белка ТН в области синего пятна створа мозга через 6 часов после введения гормона. Недавно выявлена отрицательная взаимосвязь между активностью норадренергической системы мозга и микроглией: установлено, что выделение норадреналина нейронами створа мозга препятствует росту отростков и подвижности микроглиальных клеток, ослабляя нейроиммунные связи [34–37]. Исходя из этого можно полагать, что выявленное в работе снижение экспрессии цитокинов и экспрессии IBA1 может быть связано и с наблюдаемым нами ростом активности норадренергической системы мозга под действием дексаметазона.

В целом, снижение экспрессии исследуемых генов цитокинов и активности микроглии свидетельствует о возможном ослаблении трофической поддержки как незрелых, так и сформированных нейронов, снижению элиминации апоптотических клеток и некорректных синаптических контактов в критический период развития мозга [7, 38, 39], что в совокупности с обнаруженным нами ранее усилением апоптоза нейронов неонатального мозга под действием дексаметазона [16] способно привести к нарушению морфофункциональной структуры формирующегося мозга и явиться причиной длительного изменения его функционирования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Однократное введение глюкокортикоидного гормона — дексаметазона — вызывает быстрое снижение экспрессии генов как про-, так и противовоспалительных цитокинов в створе мозга новорожденных крысят. Установленное подавление уровней мРНК цитокинов сопровождается угнетением активности микроглиоцитов. Выявленные особенности действия дексаметазона способны ослабить участие микроглии в процессах нейропластичности развивающегося мозга и явиться одной из причин длительного изменения его функционирования.

БЛАГОДАРНОСТИ

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

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана средствами федерального бюджета в рамках государственного задания ФГБУН ФИЦ ИЦиГ СО РАН (№ FWNR-2022-0023).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Этическое одобрение. Все экспериментальные процедуры были проведены в соответствии с международными правилами обращения с животными и одобрены биоэтической комиссией Института.

Информированное согласие. Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей в качестве объектов исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sapolsky R.M., Romero L.M., Munck A.U. // *Endocr. Rev.* 2000. V. 21. P. 55–89.
2. Sorrells S.F., Sapolsky R.M. // *Brain Behav. Immun.* 2007. V. 21. P. 259–272.
3. Manuela Z., Julien P., Elodie B., Olivier B., Jérôme M. // *Curr Neuropharmacol.* 2021. V. 19. P. 2188–2204.
4. Sarid E.B., Stoopler M.L., Morency A.M., Garfinkle J. // *Pediatr. Res.* 2022. V. 92. P. 1225–1239.
5. Melan N., Pradat P., Godbert I., Pastor-Diez B., Basson E., Picaud J.C. // *Eur. J. Pediatr.* 2024. V. 183. P. 677–687.
6. Zheng B., Zheng Y., Hu W., Chen Z. // *Arch. Toxicol.* 2024. V. 98. P. 1975–1990. doi: 10.1007/s00204-024-03733-2. Epub 2024 Apr 6. PMID: 38581585.
7. Тишкина А.О., Степанчиков М.Ю., Аниол В.А., Гыляева Н.В. // *Успехи физиологических наук.* 2014. Т. 45. №4. С. 3–18.
8. Thion M.S., Ginhoux F., Garel S. // *Science.* 2018. V. 362. P. 185–189.
9. Zengeler K.E., Lukens J.R. // *Trends in Immunology.* – 2024.
10. Bilbo S.D., Smith S.H., Schwarz J.M. // *J. Neuroimmune Pharmacol.* 2012. V. 7. P. 24–41.
11. Bilbo S.D., Block C.L., Bolton J.L., Hanamsagar R., Tran P.K. // *Exp. Neurol.* 2018. V. 299. P. 241–251.
12. Walker D.J., Spencer K.A. // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2018. V. 256. P. 80–88.
13. Wang H., He Y., Sun Z., Ren S., Liu M., Wang G., Yang J. // *J Neuroinflammation.* 2022. V. 19. P. 132.
14. Shishkina G.T., Kalinina T.S., Dygalo N.N. // *Neuroscience.* 2004. V. 129. P. 521–528.
15. Kalinina T.S., Shishkina G.T., Dygalo N.N. // *Neurochem. Res.* 2012. V. 37. P. 811–818.
16. Lanshakov D.A., Sukhareva E.V., Kalinina T.S., Dygalo N.N. // *Neurobiol. Dis.* 2016. V. 91. P. 1–9.
17. Дыгало Н.Н., Науменко Е.В. // *Докл. АН СССР. Сер. биол.* 1983. Т. 271. № 4. С. 1003.
18. Дыгало Н.Н., Юдин Н.С., Калинина Т.С., Науменко Е.В. // *Онтогенетические и генетико-эволюционные аспекты нейроэндокринной регуляции стресса.* Новосибирск: Наука. 1990. С. 136–148.
19. Kreider M.L., Tate C.A., Cousins M.M., Oliver C.A., Seidler F.J., Slotkin T.A. // *Neuropsychopharmacology.* 2006. V. 31. P. 12–35.
20. Slotkin T.A., Ko A., Seidler F.J. // *Toxicology.* 2018. V. 408. P. 11–21.
21. Tsiarli M.A., Rudine A., Kendall N., Pratt M.O., Krall R., Thiels E., DeFranco D.B., Monaghan A.P. // *Transl. Psychiatry.* 2017. V. 7. e1153.
22. O'Donnell K.J., Meaney M.J. // *Am. J. Psychiatry.* 2017. V. 174. P. 319–328. doi: 10.1176/appi.ajp.2016.16020138. Epub 2016 Nov 14. PMID: 27838934.
23. Scheinost D., Sinha R., Cross S.N., Kwon S.H., Sze G., Constable R.T., Ment L.R. // *Pediatr. Res.* 2017. V. 81. P. 214–226.
24. Meyer J.S. // *Physiol. Rev.* 1985. V. 65. P. 946–1020.
25. Park K.W., Lee H.G., Jin B.K., Lee Y.B. // *Exp. Mol. Med.* 2007. V. 39. P. 812–819.
26. Bedolla A., Wegman E., Weed M., Paranjpe A., Alkhimovitch A., Ifergan I., McClain L., Luo Y. // *bioRxiv [Preprint].* 2023. 2023.07.05.547814.
27. Spittau B., Dokalis N., Prinz M. // *Trends Immunol.* 2020. V. 41. P. 836–848.
28. Butovsky O., Jedrychowski M.P., Moore C.S., Cialic R., Lanser A.J., Gabriely G., Koeglspberger T., Dake B., Wu P.M., Doykan C.E., Fanek Z., Liu L., Chen Z., Rothstein J.D., Ransohoff R.M., Gygi S.P., Antel J.P., Weiner H.L. // *Nat. Neurosci.* 2014. V. 17. P. 131–143.
29. Hui B., Yao X., Zhang L., Zhou Q. // *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 2020. V. 393. P. 1761–1768.
30. Shishkina G.T., Kalinina T.S., Popova N.K., Dygalo N.N. // *Behav. Neurosci.* 2004. V. 118. P. 1285–1292.
31. Dygalo N.N., Kalinina T.S., Shishkina G.T. // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2008. V. 1148. P. 409–414.
32. Sukhareva E.V., Kalinina T.S., Bulygina V.V., Dygalo N.N. // *Russian Journal of Genetics: Applied Research.* 2017. V. 7. P. 226–234.
33. Kalinina T.S., Sukhareva E.V., Bulygina V.V., Lanshakov D.A., Egorova K.V., Dygalo N.N. // *European Neuropsychopharmacology.* 2019. V. 29. P. S166–S167.
34. Liu Y.U., Ying Y., Li Y., Eyo U.B., Chen T., Zheng J., Umpierre A.D., Zhu J., Bosco D.B., Dong H., Wu L.J. // *Nat. Neurosci.* 2019. V. 22. P. 1771–1781.

35. Mercan D., Heneka M.T. // *Nat. Neurosci.* 2019. V. 22. P. 1745–1746.
36. Stowell R.D., Sipe G.O., Dawes R.P., Batchelor H.N., Lordy K.A., Whitelaw B.S., Stoessel M.B., Bidlack J.M., Brown E., Sur M., Majewska A.K. // *Nat. Neurosci.* 2019. V. 22. P. 1782–1792.
37. Zou H.L., Li J., Zhou J.L., Yi X., Cao S. // *Ibrain.* 2021. V. 7. P. 309–317.
38. Cronk J.C., Kipnis J. // *F1000Prime Rep.* 2013. V. 5. P. 53.
39. Barry-Carroll L., Gomez-Nicola D. // *Nat. Rev. Neurosci.* 2024. V. 25. P. 414–427.

Dexamethasone Reduces Cytokine mRNA Levels and Microglial Activity in the Brainstem of Newborn Rats

T. S. Kalinina^{1, 2}, V. V. Bulygina¹, D. A. Lanshakov^{1, 2}, E. V. Sukhareva¹,
and N. N. Dygalo^{1, 2}

¹ Federal research center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

During the perinatal period of ontogenesis microglia, take part functions as a critical key-regulator of the angio-, neuro- and synaptogenesis processes. Under normal development, without inflammation induction, administration of the glucocorticoid hormone dexamethasone (0.2 mg/kg) caused a rapid decrease in the mRNA levels of both pro- and anti-inflammatory cytokines in the brainstem of neonatal rat pups. A decrease in the expression of the *Il1b*, *Tnfa* genes was observed within 1 hour, and *Il10*, *Tgfb1* 4 hours after the administration of the hormone to 3-day-old rat pups. Suppression of cytokine mRNA levels was accompanied by a decrease in the number of cells expressing the microglia marker protein IBA1 in the locus coeruleus region of the brain stem in 6 hours after glucocorticoid administration. The identified features of the dexamethasone action can weaken the participation of microglia in the processes of neuroplasticity in the developing brain, which may be one of the reasons for long-term changes in brain functioning.

Keywords: dexamethasone, cytokines, microglia, mRNA, neonatal brain, early-life exposure