

Влияние неонатального введения дексаметазона на когнитивные способности взрослых самцов мышей и экспрессию генов в гипоталамусе

Н.П. Бондарь^{1, 2}✉, В.В. Решетников¹, К.В. Бурдеева³, Т.И. Меркулова^{1, 2}

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

³ Новосибирская государственная медицинская академия, Новосибирск, Россия

✉ e-mail: nbondar@bionet.nsc.ru

Ранний постнатальный период является критическим для развития нервной системы. Стресс в этот период вызывает негативные отдаленные последствия, которые отражаются как на поведенческом, так и на молекулярном уровне. В нашем исследовании для моделирования повышенного уровня глюкокортикоидов, характерного для стрессирующего воздействия в раннем возрасте, мы использовали введение дексаметазона, агониста глюкокортикоидных рецепторов, в понижающихся дозах в первые три дня жизни (0.5, 0.3, 0.1 мг/кг, п/к). У взрослых самцов мышей с неонатальным введением дексаметазона было найдено увеличение относительного веса надпочечников и снижение веса тела, при этом базальный уровень кортикостерона в крови не изменялся. Введение дексаметазона в раннем возрасте оказало негативное воздействие на скорость обучения и формирование пространственной памяти в водном лабиринте Морриса у взрослых животных. Мы проанализировали влияние повышенного уровня глюкокортикоидов в раннем возрасте на экспрессию генов *Crh*, *Avp*, *Gr*, *Mr*, участвующих в регуляции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС), в гипоталамусе взрослых животных. Уровень экспрессии гена минералокортикоидного рецептора (*Mr*) был снижен достоверно, а гена глюкокортикоидного рецептора (*Gr*) – на уровне тенденции ($p = 0.058$) у самцов мышей с неонатальным введением дексаметазона по сравнению с введением физиологического раствора. Уровень экспрессии гена, кодирующего кортикотропин-рилизинг гормон (*Crh*), не изменялся, тогда как экспрессия гена вазопрессина (*Avp*) повышалась под влиянием неонатального введения дексаметазона. Полученные данные демонстрируют возможное нарушение механизмов негативной регуляции ГГНС на уровне гипоталамуса, в которую вовлечены глюкокортикоидный и минералокортикоидный рецепторы. Нарушение функции ГГНС при активации глюкокортикоидной системы в раннем возрасте может быть причиной развития когнитивных нарушений у взрослых животных.

Ключевые слова: неонатальное введение дексаметазона; ГГНС; глюкокортикоидный рецептор; минералокортикоидный рецептор; пространственная память; экспрессия генов.

Для цитирования: Бондарь Н.П., Решетников В.В., Бурдеева К.В., Меркулова Т.И. Влияние неонатального введения дексаметазона на когнитивные способности взрослых самцов мышей и экспрессию генов в гипоталамусе. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2019;23(4):456-464. DOI 10.18699/VJ19.514

Effect of neonatal dexamethasone treatment on cognitive abilities of adult male mice and gene expression in the hypothalamus

N.P. Bondar^{1, 2}✉, V.V. Reshetnikov¹, K.V. Burdeeva³, T.I. Merkulova^{1, 2}

¹ Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

³ Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

✉ e-mail: nbondar@bionet.nsc.ru

The early postnatal period is critical for the development of the nervous system. Stress during this period causes negative long-term effects, which are manifested at both behavioral and molecular levels. To simulate the elevated glucocorticoid levels characteristic of early-life stress, in our study we used the administration of dexamethasone, an agonist of glucocorticoid receptors, at decreasing doses at the first three days of life (0.5, 0.3, 0.1 mg/kg, s.c.). In adult male mice with neonatal dexamethasone treatment, an increase in the relative weight of the adrenal glands and a decrease in body weight were observed, while the basal level of corticosterone remained unchanged. Dexamethasone treatment in early life had a negative impact on the learning and spatial memory of adult mice in the Morris water maze. We analyzed the effect of elevated glucocorticoid levels in early life on the expression of the *Crh*, *Avp*, *Gr*, and *Mr* genes involved in the regulation of the HPA axis in the hypothalamus of adult mice. The expression level of the mineralocorticoid receptor gene (*Mr*) was significantly downregulated, and the glucocorticoid receptor gene (*Gr*) showed a tendency towards decreased expression ($p = 0.058$) in male mice neonatally treated with dexamethasone, as compared with saline administration. The expression level of the *Crh* gene encoding corticotropin-

releasing hormone was unchanged, while the expression of the vasopressin gene (*Avp*) was increased in response to neonatal administration of dexamethasone. The obtained results demonstrate a disruption of negative feedback regulation of the HPA axis, which involves glucocorticoid and mineralocorticoid receptors, at the level of the hypothalamus. Malfunction of the HPA axis as a result of activation of the glucocorticoid system in early life may cause the development of cognitive impairment in the adult mice.

Key words: neonatal dexamethasone treatment; HPA; glucocorticoid receptor; mineralocorticoid receptor; spatial memory; gene expression.

For citation: Bondar N.P., Reshetnikov V.V., Burdeeva K.V., Merkulova T.I. Effect of neonatal dexamethasone treatment on cognitive abilities of adult male mice and gene expression in the hypothalamus. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2019;23(4):456-464. DOI 10.18699/VJ19.514 (in Russian)

Введение

Хорошо известно, что ранний постнатальный период чрезвычайно важен для развития центральной нервной системы и формирования поведенческого фенотипа (Teicher et al., 2016). В частности, в клинических исследованиях показано, что стрессорные события в раннем детстве могут оказывать негативное влияние на когнитивные и эмоциональные функции индивидуума, в том числе и во взрослом возрасте (Pervanidou, Chrousos, 2018; Weems et al., 2018). Исследования на грызунах также выявили связь раннего постнатального стресса с развитием ряда поведенческих и когнитивных нарушений у взрослых животных (Ladd et al., 2000; Lehmann, Feldon, 2000; Schmidt, 2010). Поскольку гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система (ГГНС) играет ключевую роль в реакции организма на стресс, предполагается, что отдаленные по времени эффекты стресса могут быть связаны с длительными изменениями в функционировании различных звеньев этой системы (De Kloet, 2013; Pervanidou, Chrousos, 2018).

Согласно классической схеме, активация ГГНС в ответ на стресс начинается с усиления экспрессии генов *Crh* и *Avp* в паравентрикулярном ядре (PVN) гипоталамуса. Продукты этих генов, кортикотропин-рилизинг гормон (КРГ, CRH) и вазопрессин (AVP), стимулируют экспрессию гена *Pomc* и секрецию адренокортикотропного гормона (АКТГ) передней долей гипофиза (Harno et al., 2018). АКТГ, в свою очередь, стимулирует синтез глюкокортикоидных гормонов надпочечниками (van Vodegom et al., 2017; Gjerstad et al., 2018). В мозге действие этих гормонов опосредовано рецепторами глюкокортикоидов (ГР) и минералокортикоидов (МР) (De Kloet, 2013). ГР экспрессируются во всех структурах мозга, с максимумом в CRH-нейронах PVN гипоталамуса и кортикотрофах аденогипофиза (Sapolsky et al., 1983; van Eekelen et al., 1991). Известно, что активация ГР в этих клетках, ингибируя, соответственно, экспрессию генов *Crh* и *Pomc* (Drouin et al., 1993; Malkoski, Dorin, 1999), запускает механизм отрицательной обратной связи, снижающий активность ГГНС и завершающий реакцию организма на гормональный сигнал (McEwen et al., 1992). Экспрессия МР происходит в основном в лимбической системе, достигая наивысшего уровня в гиппокампе (Sapolsky et al., 1983; van Eekelen et al., 1991). Предполагается, что МР также принимает участие в контроле активности ГГНС за счет как «проактивной» обратной связи, вовлеченной в поддержание ее базального уровня активности, так и контроля ингибиторного влияния гиппокампа на функцию ГГНС (Berardelli et al., 2013). Хорошо известно уча-

стие ГР и МР в формировании когнитивных функций, эмоциональных и поведенческих реакций (De Kloet, 2013; Paul et al., 2015).

Уровень глюкокортикоидов может изменяться под действием различных стрессорных факторов в раннем возрасте или введения препаратов, влияющих на активность ГГНС. Одна из наиболее популярных моделей стресса в раннем возрасте – длительное отделение детенышей от матерей (на 3 ч в день, *maternal separation*) в первые две недели жизни. В экспериментах на грызунах установлено, что такой стресс приводит к существенным поведенческим и когнитивным нарушениям у взрослых животных (Pryce, Feldon, 2003; Aisa et al., 2007; Suri et al., 2013; Bondar et al., 2018), а также оказывает отсроченное действие на экспрессию генов, участвующих в ответе на стресс (Reshetnikov et al., 2018b). При изучении влияния эффектов такого стресса на экспрессию генов ГГНС у взрослых животных было обнаружено снижение экспрессии *Gr* в гиппокампе (Ladd et al., 2004; Aisa et al., 2007), фронтальной коре (Navailles et al., 2010) и стриатуме (Wong et al., 2015), а также усиление экспрессии *Avp* в PVN гипоталамуса (Sanchez et al., 2001; Ladd et al., 2004; Murgatroyd et al., 2009). В предыдущей работе мы показали усиление экспрессии *Avp* в гипоталамусе взрослых мышей с опытом отделения от матерей в раннем постнатальном периоде. Кроме того, у этих животных было обнаружено снижение количества mRNA *Crhr1* в гиппокампе и увеличение соотношения *Mg/Gr* mRNA в гиппокампе и гипоталамусе (Reshetnikov et al., 2018b).

Введение синтетического глюкокортикоидного гормона дексаметазона в первые дни после рождения используют также для моделирования раннего постнатального стресса на грызунах (Wong et al., 2015; Yates et al., 2016). В экспериментах на крысах хорошо изучены нарушения в поведении, возникающие у таких животных. Для них показаны изменения в тревожном и депрессивном поведении, нарушения процессов обучения и памяти (Kamphuis et al., 2004; Neal et al., 2004; Claessens et al., 2012; Vazquez et al., 2012; Ko et al., 2014). Немногочисленные работы на мышах выявляют изменения в тревожном поведении и нарушении распознавания новых объектов (Li et al., 2014a). Несмотря на большое количество исследований последствий неонатального введения глюкокортикоидов, данные об их отдаленном влиянии на экспрессию генов, участвующих в ответе на стресс, достаточно фрагментарны, особенно это касается исследований на мышах. В нескольких работах были показаны отсроченные эффекты такого «фармакологического» стресса на отдельные гены ГГНС: снижение количества ГР в стриатуме

мышей (Wong et al., 2015), снижение экспрессии гена *Gr* в гиппокампе у крыс (Vazquez et al., 2012). Однако такая важная для функционирования ГГНС структура мозга, как гипоталамус, пока остается малоизученной в контексте отдаленных эффектов неонатального повышения уровня глюкокортикоидов. В настоящей работе для исследования последствий активации ГГНС на ранних стадиях развития животных мы использовали фармакологический подход, включающий в себя прямую активацию глюкокортикоидной системы с помощью введения синтетического глюкокортикоида дексаметазона.

Задачей нашего исследования было оценить влияние неонатального введения дексаметазона на когнитивные способности взрослых мышей, а также проследить отставленное влияние препарата на экспрессию ключевых генов, регулирующих работу ГГНС на уровне гипоталамуса. Сравнение полученных данных с аналогичным экспериментом по отдаленным последствиям стресса в раннем возрасте (стресс отделения от матери) (Reshetnikov et al., 2018b) позволит оценить сходство и различие этих двух типов воздействия на организм.

Материалы и методы

Животные. Эксперимент проведен на мышах линии C57Bl/6. Животные содержались в стандартных условиях конвенционального вивария Института цитологии и генетики СО РАН (RFMEFI62117X0015) (Новосибирск, Россия) при фиксированном световом режиме 12:12 ч. Корм и воду животные получали без ограничения. Все процедуры с животными проводились в соответствии с Международными европейскими биоэтическими стандартами (86/609-EEC), Российскими правилами работы с лабораторными животными (№ 267 от 19.06.2003), а также были одобрены этической комиссией Института цитологии и генетики СО РАН (протокол № 39 от 27 сентября 2017 г.).

Схема эксперимента. Процедуру введения дексаметазона (KRKA, Словения) начинали с первого дня постнатального развития (PND1), принимая день родов за PND0. Инъекции дексаметазона проводили по следующей схеме: в первый день в дозе 0.5 мкг на 1 г массы, во второй – 0.3 мкг на 1 г массы, в третий – 0.1 мкг на 1 г массы. Контрольной группе производили инъекции физиологического раствора (10 мкл на мышь). Все инъекции выполняли подкожно один раз в сутки с 9 до 10 ч утра. Схема введения препарата и использованные дозы выбраны на основании предыдущих исследований (Kamphuis et al., 2003; Ko et al., 2014; Li et al., 2014a, b).

На PND30 детенышей отсаживали от матери и содержали однополыми однопометными группами до начала тестирования. В дальнейшем эксперименте использовали только самцов. Все экспериментальные процедуры проводили на взрослых мышах (~PND90). Для исследования уровня экспрессии генов и оценки когнитивных способностей использовались разные группы животных. Животные первой группы (по 6 особей в группе) были забиты быстрой декапитацией. Кровь собирали, выделяли и взвешивали надпочечники, выделяли гипоталамус и замораживали при -70°C . Для получения сыворотки кровь выдерживали при комнатной температуре в течение

1 ч, после этого центрифугировали на 3000 g 10 мин, сыворотку собирали и хранили при -70°C до применения. Относительную массу надпочечников определяли как отношение суммарной массы двух надпочечников (в мг) к массе животного (в г). Вторая группа животных (17 самцов с неонатальным введением физиологического раствора, 7 самцов с неонатальным введением дексаметазона) была протестирована в «Водном лабиринте Морриса».

Тест «Водный лабиринт Морриса» оценивает способность животных к формированию и сохранению пространственной памяти (Morris, 1984; Vorhees, Williams, 2006). Водный лабиринт Морриса состоит из бассейна диаметром 100 см, на внутренних стенках которого расположены четыре равноудаленных пространственных маркера, размещенных таким образом, чтобы бассейн был разделен на четыре сектора (целевой, противоположный, сектор 1 и сектор 2). В целевом секторе бассейна была установлена платформа диаметром 10 см, погруженная чуть ниже поверхности воды. Вода в бассейне подкрашивалась путем добавления сухого молока, чтобы платформа оставалась скрытой. Температура воды была $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Обучение состояло из четырех сеансов в день и проводилось в одно и то же время суток на протяжении 4 дней (всего 16 попыток). Во время каждой попытки мышь опускали в один из четырех секторов и позволяли в течение 1 мин найти скрытую под водой платформу. Если мышь не могла самостоятельно найти платформу за время теста, экспериментатор аккуратно подводил к ней животное. После обнаружения платформы животное оставляли на ней на 15 с для запоминания пространственных сигналов. Затем мышь отдыхала в клетке в течение 15 с и проводилась следующая попытка обучения. Расположение платформы на протяжении всего эксперимента не менялось. На пятый день (тестовая попытка) платформу убирали, а мышь помещали в противоположный целевому сектор и в течение 60 с оценивали время, проведенное в каждом секторе. Тест записывался и обрабатывался с использованием программного обеспечения EthoStudio (Куликов и др., 2005).

Выделение РНК и проведение ПЦР в режиме реального времени. Из замороженных образцов ткани выделяли РНК с использованием TRIzol Reagent (Ambion, США) согласно протоколу производителя. Очистку РНК проводили с помощью парамагнитных частиц RNAClean XP beads (Beckman Coulter, Германия) и растворяли в бидистиллированной воде. Качество и количество выделенной РНК оценивали с помощью спектрофотометра NanoDrop 2000. Для синтеза комплементарной ДНК (кДНК) использовали готовые наборы производства «Синтол», Россия. В реакцию брали 1 мкг РНК, все процедуры проводили согласно протоколам производителя.

Экспрессию генов оценивали с помощью ПЦР с детекцией в режиме реального времени с использованием амплификатора CFX96 (Bio-Rad, США). Мы оценили экспрессию генов глюкокортикоидного (*Gr*, *Nr3c1*) и минералокортикоидного (*Mr*, *Nr3c2*) рецепторов, гена кортикотропин-релизинг фактора (*Crh*), а также гена вазопрессина (*Avp*). Результаты ПЦР анализировали $\Delta\Delta\text{Ct}$ методом и нормализовали на экспрессию референсного гена актина (*Actb*). Для генов *Avp*, *Gr* и *Mr* применяли метод детекции продуктов амплификации с использованием

Таблица 1. Последовательности использованных праймеров

| Ген | | Последовательность (5'→3') | Размер продукта, bp | |
|-------------------|--|----------------------------|---|-----|
| <i>Gr (Nr3c1)</i> | <i>Nuclear receptor subfamily 3, group C, member 1</i> | For | ATGTATGACCAATGTAACACA | 132 |
| | | Rev | GCTCTTCAGACCTTCCTTAG | |
| <i>Mr (Nr3c2)</i> | <i>Nuclear receptor subfamily 3, group C, member 2</i> | For | GTGTGTGGAGATGAGGC | 155 |
| | | Rev | GGACAGTTCCTTCTCCGAAT | |
| <i>Crh</i> | <i>Corticotropin releasing hormone</i> | For | GGAGAAGAGAGCGCCCTAA | 152 |
| | | Rev | AAGAAATCAAGGGCTGCGG | |
| | | Probe | 5,6-ROX-ATGCTGTGGTGGCTCTGTCGCC-3BHQ-2 | |
| <i>Avp</i> | <i>Arginine vasopressin</i> | For | TCTCCGCTGTTTCCTGAGC | 230 |
| | | Rev | GGGCAGGTAGTTCTCCTCCT | |
| <i>Actb</i> | <i>Beta-actin</i> | For | TATTGGCAACGAGCGGTTCC | 140 |
| | | Rev | TGGCATAGAGGTCTTTACGG | |
| | | Probe | 5,6-ROX-CCAGCCTTCCTTCTTGGGTATGGAATCC-3BHQ-2 | |

EVAGreen, для гена *Crh* – метод детекции с помощью TaqMan зондов. Праймеры и зонды (табл. 1) были подобраны в программах Primer BLAST (NCBI) и PrimerQuest design tool (IDT Technology). Параметры реакции были следующие: первоначальная денатурация кДНК на 95 °C в течение 5 мин, последующие 38 циклов – денатурация при 95 °C в течение 15 с, отжиг праймеров и элонгация при 60 °C в течение 20 с. Для систем с интеркалирующим красителем EVAGreen после завершения реакции амплификации специфичность полученных продуктов оценивали с помощью кривой плавления. Каждую реакцию проводили в трех повторах. Эффективность амплификации каждой пары праймеров составляла от 90 до 110 %.

Уровень кортикостерона в сыворотке крови определяли иммуноферментным анализом с помощью Corticosterone ELISA Kit (Enzo, Нью-Йорк, США) согласно протоколам производителя. Каждую реакцию проводили в двух повторах.

Статистическую обработку результатов теста «Водный лабиринт Морриса» выполняли с помощью дисперсионного анализа ANOVA и Fisher's LSD в качестве post hoc анализа. Сравнительный анализ массы животных, относительной массы надпочечников, уровня кортикостерона и уровня экспрессии генов проводили с помощью *t*-test Стьюдента. Результаты представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего. Различия между экспериментальными группами считались статистически значимыми при $p < 0.05$, на уровне тенденции – при $p < 0.1$. Данные анализировали в пакете программ Statistica 6.0.

Результаты

Масса животных, относительная масса надпочечников и уровень кортикостерона. В группе с неонатальным введением дексаметазона масса тела животных была ниже [$t(1, 35) = 4.54, p < 0.001$], относительная масса надпочечников была повышена [$t(1, 35) = 2.26, p = 0.030$], а уровень кортикостерона не отличался [$t(1, 10) = 0.84, p = 0.419$] от группы с введением физиологического раствора (рис. 1).

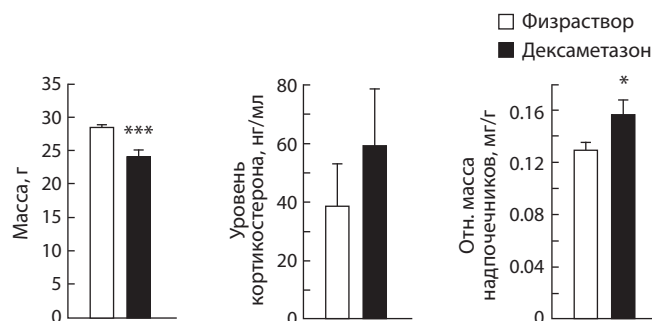


Рис. 1. Влияние неонатального введения дексаметазона на массу тела, уровень кортикостерона и относительную массу надпочечников у взрослых мышей.

* $p < 0.05$; *** $p < 0.001$ по сравнению с группой с введением физиологического раствора.

Тест «Водный лабиринт Морриса». Исследование взрослых животных с неонатальным введением дексаметазона в данном тесте выявило, что введение препарата в раннем возрасте замедлило процессы обучения в течение тренировочных попыток и нарушило ориентацию в пространстве по уже выученным сигналам. Дисперсионный анализ с повторными измерениями выявил влияние фактора «препарат» на длительность поиска платформы в тесте «Водный лабиринт Морриса». Мыши с неонатальным введением дексаметазона тратили достоверно больше времени на поиск платформы по сравнению с контролем: 7-я попытка [$F(1, 24) = 7.65, p = 0.011$], 9-я попытка [$F(1, 24) = 6.48, p = 0.018$], 10-я попытка [$F(1, 24) = 10.08, p = 0.004$], 11-я попытка [$F(1, 24) = 10.18, p = 0.004$], 12-я попытка [$F(1, 24) = 10.74, p = 0.003$], 13-я попытка [$F(1, 24) = 5.02, p = 0.034$], 14-я попытка [$F(1, 24) = 4.63, p = 0.042$] (рис. 2, а).

Тестовая попытка, когда площадка убирается из бассейна, проводилась через сутки после последнего предъявления лабиринта. Способность к запоминанию оценивалась по предпочтению сектора, где раньше находилась платформа, по сравнению с остальными секторами. Диспер-

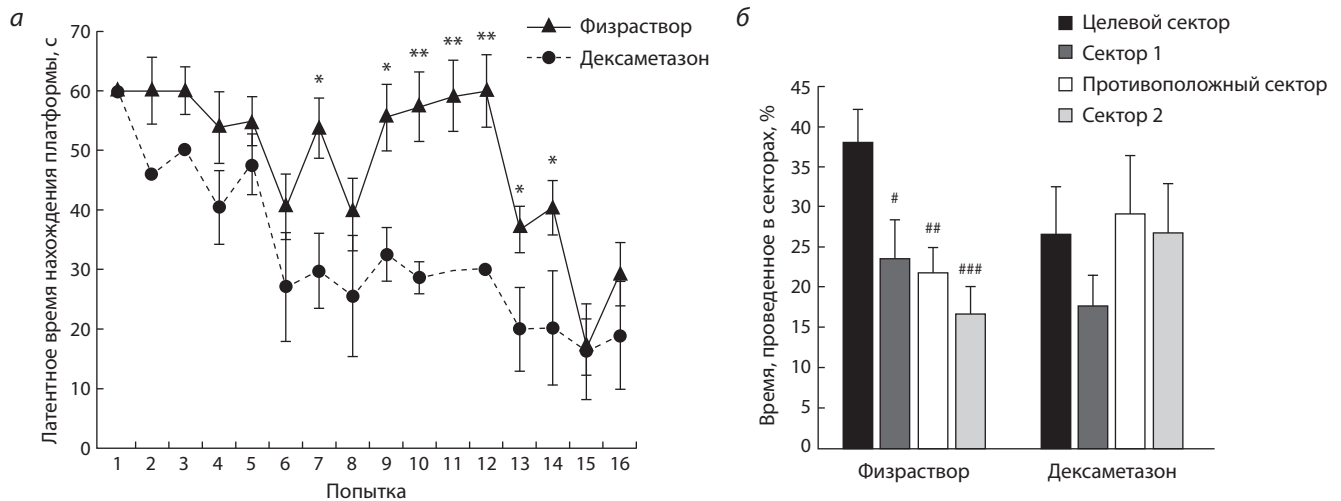


Рис. 2. Влияние неонатального введения дексаметазона на поведение взрослых самцов мышей в тесте «Водный лабиринт Морриса». а – латентное время нахождения платформы в течение ежедневных обучающих попыток (16 попыток); б – время, проведенное в каждом секторе в течение тестовой попытки (% от общего времени попытки).

Во время тестовой попытки платформа убирается и мышь помещается в водный лабиринт на 60 с. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ по сравнению с группой с введением физиологического раствора; # $p < 0.05$; ## $p < 0.01$; ### $p < 0.001$ по сравнению со временем, проведенным в целевом секторе.

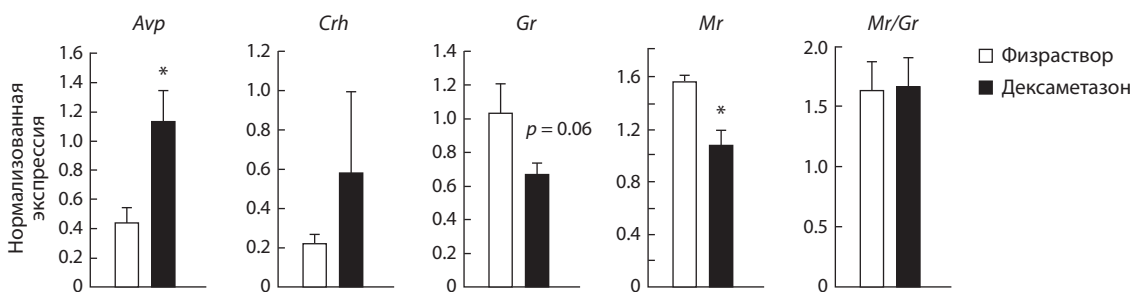


Рис. 3. Влияние неонатального введения дексаметазона на уровень экспрессии генов в гипоталамусе взрослых животных.

Уровень экспрессии генов *Avp*, *Crh*, *Gr* и *Mr* нормализован на уровень экспрессии гена *Actb*. * $p < 0.05$ по сравнению с группой с введением физиологического раствора.

сионный анализ показал различие в предпочтении секторов в группе с введением физиологического раствора [$F(3, 68) = 5.25, p = 0.003$] и отсутствие различий в предпочтении секторов в группе с неонатальным введением дексаметазона [$F(3, 28) = 0.71, p = 0.549$]. Мыши с введением физиологического раствора предпочитали целевой сектор по сравнению со всеми остальными секторами (целевой vs сектор 1, $p = 0.013$; целевой vs противоположный, $p = 0.006$; целевой vs сектор 2, $p = 0.001$). Мыши с введением дексаметазона в раннем возрасте не демонстрировали предпочтение целевого сектора и проводили равное время во всех секторах водного лабиринта, что говорит о нарушении способности к запоминанию (см. рис. 2, б).

Изменение экспрессии генов глюкокортикоидной системы в гипоталамусе. В нашей работе мы оценили экспрессию основных генов глюкокортикоидной системы – глюкокортикоидного и минералокортикоидного рецепторов, кортикотропин-рилизинг фактора и *Avp*, также участвующего в регуляции выброса АКТГ в гипоталамусе. В группе мышей с неонатальным введением дексаметазона уровень экспрессии как глюкокортикоидного (*Gr*) [$t(1, 8) = 2.21, p = 0.058$, тенденция], так и

минералокортикоидного (*Mr*) [$t(1, 8) = 3.28, p = 0.011$] рецепторов был ниже, чем в контроле, однако соотношение мРНК этих рецепторов (*Mr/Gr*) между собой не изменилось. Экспрессия гена *Avp* у мышей с неонатальным введением дексаметазона была выше, чем в контрольной группе [$t(1, 8) = 2.47, p = 0.039$], а экспрессия гена *Crh* не изменилась (рис. 3).

Обсуждение

Чрезмерная активация ГГНС на ранней стадии жизни, вызванная стрессом или введением глюкокортикоидов, приводит к значительным изменениям в структурах мозга и поведении взрослых животных. Наше исследование показало, что введение в первые дни жизни дексаметазона, агониста ГР, приводит к нарушению пространственной памяти у мышей во взрослом возрасте. Это сопровождается изменением в активности ГГНС, поскольку мы обнаружили снижение экспрессии генов *Gr* и *Mr* в гипоталамусе взрослых животных. Глюкокортикоиды и минералокортикоиды вовлечены в регуляцию ответа на стресс и отвечают за отрицательную обратную связь при активации ГГНС, поэтому снижение их экспрессии гово-

рит о возможном нарушении негативной регуляции гормонального ответа в гипоталамусе.

Известно, что эффекты экзогенных ГР сильно зависят от вида животного, стадии развития ГГНС и дозы препарата. Крысы с введением высокой дозы дексаметазона на 5–10-й день жизни демонстрируют снижение неophobia и тревожности в тесте «свет–темнота» и открытое поле без изменения двигательной активности взрослых животных (Yates et al., 2016). В то же время введение низких доз дексаметазона в первые три дня жизни может вызывать усиление тревожного поведения (Neal et al., 2004; Vazquez et al., 2012) и признаков депрессивного поведения у крыс (Ko et al., 2014; Li et al., 2014b) или, напротив, не оказывать влияния на двигательную активность, тревожное и социальное поведение крыс во взрослом возрасте (Kamphuis et al., 2004). Немногочисленные исследования на мышах демонстрируют, что взрослые мыши линии ICR с неонатальным введением дексаметазона в низких дозах в первые три дня жизни проявляют повышенную тревожность при неизменной двигательной и исследовательской активности (Li et al., 2014a). При этом наши исследования с введением низких доз дексаметазона на мышах другой линии – C57Bl6, наоборот, показали снижение тревожного поведения при аналогичном режиме введения дексаметазона (Batluk et al., 2018), что говорит о различной чувствительности линий мышей. Наиболее стабильным и характерным эффектом как неонатального, так и пренатального введения дексаметазона, который находят практически во всех исследованиях вне зависимости от вида используемых животных, является задержка физического развития и снижение массы тела животных (Neal et al., 2004; Lin et al., 2006; Wang et al., 2010; Vazquez et al., 2012; Chiu et al., 2018). Аналогичный результат получен и в нашем исследовании: взрослые мыши с неонатальным введением дексаметазона имели сниженную массу тела по сравнению с контролем. Возможно, это связано с прямым эффектом дексаметазона на катаболизм белков (Weiler et al., 1997; Leret et al., 2004) и соответствующим нарушением роста мышц и формирования костного скелета (Swolin-Eide et al., 2002), происходящим под влиянием введения препарата.

В данной работе мы выявили увеличение относительной массы надпочечников у взрослых животных с неонатальным введением дексаметазона. Поскольку уровень кортикостерона у взрослых животных не изменился, то увеличение массы надпочечников, скорее всего, связано со снижением массы тела животных, хотя мы не можем исключить и вероятность изменения активности ГГНС под влиянием введения дексаметазона в раннем возрасте.

В мозге грызунов наибольшее число глюкокортикоидных рецепторов расположено в гиппокампе, и особенно в зоне CA1, именно поэтому нейроны этой зоны наиболее чувствительны к воздействию глюкокортикоидов (van Eekelen et al., 1991). На мышах и крысах было показано, что даже небольшие дозы дексаметазона приводят к усилению активности каспазы-3 и апоптоза в гиппокампе и коре сразу после введения препарата (Feng et al., 2009; Bhatt et al., 2013; Lanshakov et al., 2016), снижают число нейронов в коре и гиппокампе (Kreider et al., 2006; Tijsseling et al., 2013) к 21-му дню жизни, а также могут

изменять в гиппокампе соотношение субъединиц NMDA-рецептора (Kamphuis et al., 2003), влияя на нейрональную пластичность. Неонатальное влияние дексаметазона на гиппокамп приводит к развитию когнитивных нарушений. В экспериментах на крысах с неонатальным введением дексаметазона отчетливо показано снижение скорости обучения и нарушение формирования пространственной памяти при тестировании в водном лабиринте Морриса (Ferguson et al., 2001; Kamphuis et al., 2003; Machhor et al., 2004; Qaheri et al., 2013), нарушение кратковременной памяти (Claessens et al., 2012), сниженное обучение в тестах на пассивное избегание (Lin et al., 2006; Wang et al., 2010; Chiu et al., 2018) и нарушение распознавания знакомых и незнакомых партнеров (Kamphuis et al., 2004; Wang et al., 2010). На мышах повреждение когнитивных способностей было показано только на примере нарушения распознавания новых объектов (Li et al., 2014a). Наше исследование одно из первых, показавшее нарушение обучения и пространственной памяти у взрослых мышей под влиянием введения дексаметазона в раннем возрасте. У мышей снижается скорость обучения, уже на второй день предъявления теста они позже находят платформу, чем контрольные животные. И через сутки после последнего предъявления теста они не предпочитают целевой сектор, где находилась платформа, демонстрируя нарушения долговременной пространственной памяти.

В ранний период жизни мыши и крысы характеризуются пониженной реакцией на стресс (гипочувствительный период) вследствие низкого базального уровня АКТГ и кортикостерона в крови и сниженного количества глюкокортикоидных рецепторов в тканях (Levine, 1994). Поэтому в раннем возрасте в ответ на большинство слабых стимулов, например изоляцию, новую ситуацию или инъекцию физраствора, не происходит активации ГГНС. Однако сильный стресс, например длительное отделение детенышей от матери, или же введение небольших доз дексаметазона приводит к чрезмерной активации ГГНС, что, в свою очередь, ведет к нарушению нормального развития организма. Введение глюкокортикоидов в раннем возрасте часто не меняет базальный уровень кортикостерона у взрослых животных, аналогично полученным нами результатам (Neal et al., 2004; Claessens et al., 2012; Vazquez et al., 2012), однако реакция на стресс изменяется. Так, введение низких доз дексаметазона в постнатальный период приводит к сглаженному выбросу кортикостерона в ответ на стресс во взрослом возрасте (Felszeghy et al., 2000; Flagel et al., 2002; Mesquita et al., 2009; Vazquez et al., 2012), а возвращение кортикостерона к базальному уровню происходит с задержкой (Neal et al., 2004).

В нашей работе мы оценили экспрессию генов, связанных с регуляцией активности ГГНС на уровне гипоталамуса: *Gr*, *Mr*, *Avp* и *Crh*. Мы показали снижение экспрессии генов *Gr* и *Mr* у мышей с неонатальным введением дексаметазона. Уровень экспрессии гена кортикотропин-рилизинг гормона *Crh* достоверно не различается между группами, однако уровень экспрессии гена *Avp*, продукт которого также участвует в регуляции синтеза АКТГ (Aguilera, Rabadan-Diehl, 2000), был достоверно повышен в группе с введением дексаметазона. При этом базальный уровень кортикостерона в крови между группами

Таблица 2. Сравнение эффектов длительного отделения от матерей в раннем возрасте (MS) и эффектов неонатального введения дексаметазона

| Параметры | MS* | Дексаметазон |
|---|------------|----------------------|
| Масса тела | = | Снижается |
| Относительная масса надпочечников | = | Повышается |
| Уровень кортикостерона | = | = |
| Уровень экспрессии генов в гипоталамусе | | |
| <i>Gr</i> | = | Тенденция к снижению |
| <i>Mr</i> | = | Снижается |
| Соотношение mRNA <i>Mr/Gr</i> | Повышается | = |
| <i>Avp</i> | Повышается | Повышается |
| <i>Crh</i> | = | = |
| Водный лабиринт Морриса | | |
| Обучение | = | Снижается |
| Долговременная память | Снижается | Снижается |

* Сравнение с (Reshetnikov et al., 2018b). Знак «=» – отсутствие изменений параметра.

не отличается из-за больших разбросов внутри групп и не коррелирует с уровнем экспрессии *Crh*, хотя и имеет тенденцию к повышению. Уровень ГР напрямую связан с динамикой гормонального ответа на стресс у животных. При повышении уровня кортикостерона в крови активация ГР в гипоталамусе приводит к снижению выброса КРГ и, соответственно, АКТГ в гипофизе, нормализуя уровень стрессовых гормонов (De Kloet et al., 1998). Снижение экспрессии гена *Gr* в гипоталамусе, показанное в нашей работе, может приводить и к снижению уровня самого ГР, что, в свою очередь, приводит к нарушению механизмов восстановления нормального гормонального уровня после воздействия стресса. Снижение уровня экспрессии *Gr* или количества его белкового продукта в разных отделах мозга находят в некоторых работах по отставленным эффектам введения глюкокортикоидов. Так, у крыс с неонатальным введением дексаметазона было найдено снижение уровня экспрессии *Gr* в гиппокампе (Vazquez et al., 2012), а также показано снижение способности ГР связывать гормон в гиппокампе и гипоталамусе (Felszeghy et al., 1996). Снижение количества ГР было выявлено и в стриатуме мышей после введения дексаметазона в раннем возрасте (Wong et al., 2015). Однако, по нашим сведениям, снижение экспрессии генов *Gr* и *Mr* в гипоталамусе у мышей с неонатальным введением дексаметазона ранее показано не было. Таким образом, наши данные дополняют картину отставленных изменений в ГГНС после неонатального введения дексаметазона.

Поскольку введение дексаметазона в первые дни жизни может имитировать стресс, перенесенный в раннем возрасте, мы сравнили полученные данные с нашей предыдущей работой по влиянию стресса в ранний период жизни на когнитивные способности и экспрессию генов в гипоталамусе у мышей (табл. 2) (Reshetnikov et al., 2018b).

В отличие от неонатального введения дексаметазона, длительное отделение детенышей от матерей в первые две недели жизни не меняет скорость обучения в водном лабиринте Морриса – мыши обучались находить скрытую платформу так же быстро, как контрольная группа. Однако через сутки животные не могли выбрать сектор, где была ранее расположена платформа, что говорит о нарушении долговременной пространственной памяти. Таким образом, неонатальное введение дексаметазона вызывает более глубокие нарушения когнитивных способностей, чем просто стресс отделения от матери, поскольку затрагивает как процесс обучения, так и процесс воспроизведения заученной информации. Сравнивая с доступными данными по другим аспектам когнитивных функций, можно отметить схожие нарушения в распознавании новых объектов, показанные как под влиянием стресса в раннем возрасте (Reshetnikov et al., 2018a), так и при неонатальном введении дексаметазона (Li et al., 2014a).

Более сильные отдаленные эффекты неонатального введения глюкокортикоидов, чем раннего постнатального стресса, можно видеть и при сравнении изменений в экспрессии генов. Так, экспрессия генов *Gr* и *Mr* не изменялась под влиянием стресса в раннем возрасте, но снижалась при неонатальном введении дексаметазона. Стресс в раннем возрасте привел к увеличению соотношения *Mr/Gr* как в гипоталамусе, так и в гиппокампе за счет небольшого повышения экспрессии *Mr*, что, возможно, объясняет более слабое влияние данного стресса на обучение, поскольку баланс этих рецепторов участвует в ответе на стресс и формировании долговременной памяти (De Kloet, 2013). Под влиянием неонатального введения дексаметазона соотношение *Mr/Gr* не изменилось, снижение экспрессии одного типа рецепторов сопровождается снижением экспрессии другого типа, не приводя к компенсаторному изменению баланса рецепторов, направленному на восстановление нормальной функции ГГНС. Экспрессия *Avp* под влиянием неонатального введения дексаметазона повышается в два раза сильнее, чем в случае раннего постнатального стресса, а экспрессия *Crh* не изменяется при обоих видах воздействия. Таким образом, неонатальное введение дексаметазона приводит к более сильным отдаленным последствиям как на когнитивные способности, так и на экспрессию генов в гипоталамусе, по сравнению со стрессом отделения от матерей в первые недели жизни.

Заключение

Наши результаты показали, что у мышей с неонатальным введением дексаметазона во взрослом возрасте снижается скорость обучения и нарушается формирование пространственной памяти в водном лабиринте Морриса. При этом у взрослых мышей с неонатальным введением дексаметазона был найден пониженный уровень экспрессии генов *Gr* и *Mr* и повышенный уровень экспрессии *Avp* в гипоталамусе, что может говорить о долговременных нарушениях в регуляции ГГНС. Ранний постнатальный стресс отделения от матери и постнатальное введение дексаметазона приводят к односторонним изменениям когнитивных способностей и функции ГГНС у взрослых животных, но неонатальное введение дексаметазона вы-

зывает более сильные отставленные изменения, что, вероятно, связано с разным уровнем активации ГГНС при этих воздействиях.

Список литературы / References

- Куликов А.В., Куликов В.А., Базовкина Д.В. Цифровая обработка визуальной информации в поведенческом эксперименте. *Журн. высш. нерв. деятельности им. И.П. Павлова*. 2005;55(1):126-132. [Kulikov A.V., Kulikov V.A., Bazovkina D.V. Digital registration and analysis of visual information in behavioral experiment. *Zhurnal Vysshey Nervnoy Deyatel'nosti im. I.P. Pavlova = I.P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity*. 2005;55(1):126-132. (in Russian)]
- Aguilera G., Rabadan-Diehl C. Vasopressinergic regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: implications for stress adaptation. *Regul. Pept.* 2000;96(1-2):23-29.
- Aisa B., Tordera R., Lasheras B., Del Rio J., Ramirez M.J. Cognitive impairment associated to HPA axis hyperactivity after maternal separation in rats. *Psychoneuroendocrinology*. 2007;32(3):256-266. DOI 10.1016/j.psyneuen.2006.12.013.
- Batluk U.I., Burdeeva K.V., Degtyareva A.O., Dolganova O.M., Ershov N.I., Merkulova T.I., Bondar N.P. The long-term consequences of early-life dexamethasone treatment on the cognitive ability of male mice and gene expression in the hippocampus. In: 11th Int. Conf. on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure Systems Biology (BGRS/SB-2018). Novosibirsk, August 20–25. Novosibirsk, 2018;7.
- Berardelli R., Karamouzis I., D'Angelo V., Zichi C., Fussotto B., Giordano R., Ghigo E., Arvat E. Role of mineralocorticoid receptors on the hypothalamus-pituitary-adrenal axis in humans. *Endocrine*. 2013;43(1):51-58. DOI 10.1007/s12020-012-9750-8.
- Bhatt A.J., Feng Y., Wang J., Famuyide M., Hersey K. Dexamethasone induces apoptosis of progenitor cells in the subventricular zone and dentate gyrus of developing rat brain. *J. Neurosci. Res.* 2013;91(9):1191-1202. DOI 10.1002/jnr.23232.
- Bondar N.P., Lepeshko A.A., Reshetnikov V.V. Effects of early-life stress on social and anxiety-like behaviors in adult mice: sex-specific effects. *Behav. Neurol.* 2018;2018:1538931. DOI 10.1155/2018/1538931.
- Chiu H.F., Chan M.W.Y., Cheng C.Y., Chou J.L., Lin J.M., Yang Y.L., Lu K.T. Neonatal dexamethasone treatment suppresses hippocampal estrogen receptor α -expression in adolescent female rats. *Mol. Neurobiol. Publ. online* 2018. *Publ.* 2019;56:2224-2233. DOI 10.1007/s12035-018-1214-6.
- Claessens S.E., Daskalakis N.P., Oitzl M.S., de Kloet E.R. Early handling modulates outcome of neonatal dexamethasone exposure. *Horm. Behav.* 2012;62(4):433-441. DOI 10.1016/j.yhbeh.2012.07.011.
- De Kloet E.R. Functional profile of the binary brain corticosteroid receptor system: mediating, multitasking, coordinating, integrating. *Eur. J. Pharmacol.* 2013;719(1-3):53-62. DOI 10.1016/j.ejphar.2013.04.053.
- De Kloet E.R., Vreugdenhil E., Oitzl M.S., Joels M. Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocr. Rev.* 1998;19(3):269-301. DOI 10.1210/edrv.19.3.0331.
- Drouin J., Sun Y.L., Chamberland M., Gauthier Y., De Lean A., Nemer M., Schmidt T.J. Novel glucocorticoid receptor complex with DNA element of the hormone-repressed POMC gene. *EMBO J.* 1993;12(1):145-156.
- Felszeghy K., Bagdy G., Nyakas C. Blunted pituitary-adrenocortical stress response in adult rats following neonatal dexamethasone treatment. *J. Neuroendocrinol.* 2000;12(10):1014-1021.
- Felszeghy K., Gaspar E., Nyakas C. Long-term selective down-regulation of brain glucocorticoid receptors after neonatal dexamethasone treatment in rats. *J. Neuroendocrinol.* 1996;8(7):493-499.
- Feng Y., Rhodes P.G., Liu H., Bhatt A.J. Dexamethasone induces neurodegeneration but also up-regulates vascular endothelial growth factor A in neonatal rat brains. *Neuroscience*. 2009;158(2):823-832. DOI 10.1016/j.neuroscience.2008.10.024.
- Ferguson S.A., Paule M.G., Holson R.R. Neonatal dexamethasone on day 7 in rats causes behavioral alterations reflective of hippocampal, but not cerebellar, deficits. *Neurotoxicol. Teratol.* 2001;23(1):57-69.
- Fligel S.B., Vazquez D.M., Watson S.J., Jr., Neal C.R., Jr. Effects of tapering neonatal dexamethasone on rat growth, neurodevelopment, and stress response. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2002;282(1):R55-63. DOI 10.1152/ajpregu.2002.282.1.R55.
- Gjerstad J.K., Lightman S.L., Spiga F. Role of glucocorticoid negative feedback in the regulation of HPA axis pulsatility. *Stress*. 2018; 21(5):403-416. DOI 10.1080/10253890.2018.1470238.
- Harno E., Gali Ramamoorthy T., Coll A.P., White A. POMC: The Physiological Power of Hormone Processing. *Physiol. Rev.* 2018;98(4):2381-2430. DOI 10.1152/physrev.00024.2017.
- Kamphuis P.J., Croiset G., Bakker J.M., Van Bel F., Van Ree J.M., Wiegant V.M. Neonatal dexamethasone treatment affects social behaviour of rats in later life. *Neuropharmacology*. 2004;47(3):461-474. DOI 10.1016/j.neuropharm.2004.04.008.
- Kamphuis P.J., Gardoni F., Kamal A., Croiset G., Bakker J.M., Cattabeni F., Gispen W.H., van Bel F., Di Luca M., Wiegant V.M. Long-lasting effects of neonatal dexamethasone treatment on spatial learning and hippocampal synaptic plasticity: involvement of the NMDA receptor complex. *FASEB J.* 2003;17(8):911-913. DOI 10.1096/fj.02-0333fje.
- Ko M.C., Hung Y.H., Ho P.Y., Yang Y.L., Lu K.T. Neonatal glucocorticoid treatment increased depression-like behaviour in adult rats. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2014;17(12):1995-2004. DOI 10.1017/S1461145714000868.
- Kreider M.L., Tate C.A., Cousins M.M., Oliver C.A., Seidler F.J., Slotkin T.A. Lasting effects of developmental dexamethasone treatment on neural cell number and size, synaptic activity, and cell signaling: critical periods of vulnerability, dose-effect relationships, regional targets, and sex selectivity. *Neuropsychopharmacology*. 2006;31(1):12-35. DOI 10.1038/sj.npp.1300783.
- Ladd C.O., Huot R.L., Thirivikraman K.V., Nemeroff C.B., Meaney M.J., Plotsky P.M. Long-term behavioral and neuroendocrine adaptations to adverse early experience. *Prog. Brain Res.* 2000;122:81-103.
- Ladd C.O., Huot R.L., Thirivikraman K.V., Nemeroff C.B., Plotsky P.M. Long-term adaptations in glucocorticoid receptor and mineralocorticoid receptor mRNA and negative feedback on the hypothalamo-pituitary-adrenal axis following neonatal maternal separation. *Biol. Psychiatry*. 2004;55(4):367-375. DOI 10.1016/j.biopsych.2003.10.007.
- Lanshakov D.A., Sukhareva E.V., Kalinina T.S., Dygalo N.N. Dexamethasone-induced acute excitotoxic cell death in the developing brain. *Neurobiol. Dis.* 2016;91:1-9. DOI 10.1016/j.nbd.2016.02.009.
- Lehmann J., Feldon J. Long-term biobehavioral effects of maternal separation in the rat: consistent or confusing? *Rev. Neurosci.* 2000; 11(4):383-408.
- Leret M.L., Peinado V., Suarez L.M., Tecedor L., Gamallo A., Gonzalez J.C. Role of maternal adrenal glands on the developing serotonergic and aminoacidergic systems of the postnatal rat brain. *Int. J. Dev. Neurosci.* 2004;22(2):87-93. DOI 10.1016/j.ijdevneu.2003.12.005.
- Levine S. The ontogeny of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. The influence of maternal factors. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1994;746:275-288; discussion 289-293.
- Li S.X., Fujita Y., Zhang J.C., Ren Q., Ishima T., Wu J., Hashimoto K. Role of the NMDA receptor in cognitive deficits, anxiety and depressive-like behavior in juvenile and adult mice after neonatal dexamethasone exposure. *Neurobiol. Dis.* 2014a;62:124-134. DOI 10.1016/j.nbd.2013.09.004.
- Li S.X., Zhang J.C., Wu J., Hashimoto K. Antidepressant effects of ketamine on depression-like behavior in juvenile mice after neonatal dexamethasone exposure. *Clin. Psychopharmacol. Neurosci.* 2014b; 412(2):124-127. DOI 10.9758/cpn.2014.12.2.124.
- Lin H.J., Huang C.C., Hsu K.S. Effects of neonatal dexamethasone treatment on hippocampal synaptic function. *Ann. Neurol.* 2006; 59(6):939-951. DOI 10.1002/ana.20885.

- Machhor N., Balaji T., Raju T.N. Postnatal dexamethasone and long term learning and memory functions in developing rats: effect of postnatal age and gender. *Life Sci.* 2004;74(15):1925-1935. DOI 10.1016/j.lfs.2003.09.044.
- Malkoski S.P., Dorin R.I. Composite glucocorticoid regulation at a functionally defined negative glucocorticoid response element of the human corticotropin-releasing hormone gene. *Mol. Endocrinol.* 1999;13(10):1629-1644. DOI 10.1210/mend.13.10.0351.
- McEwen B.S., Gould E.A., Sakai R.R. The vulnerability of the hippocampus to protective and destructive effects of glucocorticoids in relation to stress. *Br. J. Psychiatry.* 1992;160(S15):18-23.
- Mesquita A.R., Wegerich Y., Patchev A.V., Oliveira M., Leao P., Sousa N., Almeida O.F. Glucocorticoids and neuro- and behavioural development. *Semin. Fetal Neonatal Med.* 2009;14(3):130-135. DOI 10.1016/j.siny.2008.11.002.
- Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J. Neurosci. Methods.* 1984;11(1):47-60.
- Murgatroyd C., Patchev A.V., Wu Y., Micale V., Bockmuhl Y., Fischer D., Holsboer F., Wotjak C.T., Almeida O.F., Spengler D. Dynamic DNA methylation programs persistent adverse effects of early-life stress. *Nat. Neurosci.* 2009;12(12):1559-1566. DOI 10.1038/nn.2436.
- Navailles S., Zimnisky R., Schmauss C. Expression of glucocorticoid receptor and early growth response gene 1 during postnatal development of two inbred strains of mice exposed to early life stress. *Dev. Neurosci.* 2010;32(2):139-148. DOI 10.1159/000293989.
- Neal C.R., Jr., Weidemann G., Kabbaj M., Vazquez D.M. Effect of neonatal dexamethasone exposure on growth and neurological development in the adult rat. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2004;287(2):R375-385. DOI 10.1152/ajpregu.00012.2004.
- Paul S., Jeon W.K., Bizon J.L., Han J.S. Interaction of basal forebrain cholinergic neurons with the glucocorticoid system in stress regulation and cognitive impairment. *Front. Aging Neurosci.* 2015;7:43. DOI 10.3389/fnagi.2015.00043.
- Pervanidou P., Chrousos G.P. Early-life stress: from neuroendocrine mechanisms to stress-related disorders. *Horm. Res. Paediatr.* 2018; 89(5):372-379. DOI 10.1159/000488468.
- Pryce C.R., Feldon J. Long-term neurobehavioural impact of the postnatal environment in rats: manipulations, effects and mediating mechanisms. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2003;27(1-2):57-71. DOI 10.1016/S0149-7634(03)00009-5.
- Qaheri S.N., Ali A.B., Alalwaan A.A., Ahmed F.A., Ahmed M.M., Kamal A.H. Neonatal dexamethasone exposure in rats resulted in hippocampal learning and memory defects with decreased convulsion threshold later in adult life. *Neurosciences (Riyadh).* 2013;18(4): 388-390.
- Reshetnikov V.V., Lepeshko A.A., Ryabushkina J.A., Studenikina A.A., Merkulova T.I., Bondar N.P. The long-term effects of early postnatal stress on cognitive abilities and expression of genes of the glutamatergic system in mice. *Neurochem. J.* 2018a;12(2):142-151. DOI 10.1134/S1819712418020095.
- Reshetnikov V.V., Studenikina A.A., Ryabushkina J.A., Merkulova T.I., Bondar N.P. The impact of early-life stress on the expression of HPA-associated genes in the adult murine brain. *Behaviour.* 2018b; 155(2-3):181-203. DOI 10.1163/1568539X-00003482.
- Sanchez M.M., Ladd C.O., Plotsky P.M. Early adverse experience as a developmental risk factor for later psychopathology: evidence from rodent and primate models. *Dev. Psychopathol.* 2001;13(3):419-449.
- Sapolsky R.M., McEwen B.S., Rainbow T.C. Quantitative autoradiography of [3H]corticosterone receptors in rat brain. *Brain Res.* 1983; 271(2):331-334.
- Schmidt M.V. Molecular mechanisms of early life stress – lessons from mouse models. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2010;34(6):845-852. DOI 10.1016/j.neubiorev.2009.05.002.
- Suri D., Veenit V., Sarkar A., Thiagarajan D., Kumar A., Nestler E.J., Galande S., Vaidya V.A. Early stress evokes age-dependent biphasic changes in hippocampal neurogenesis, BDNF expression, and cognition. *Biol. Psychiatry.* 2013;73(7):658-666. DOI 10.1016/j.biopsych.2012.10.023.
- Swolin-Eide D., Dahlgren J., Nilsson C., Albertsson Wikland K., Holmang A., Ohlsson C. Affected skeletal growth but normal bone mineralization in rat offspring after prenatal dexamethasone exposure. *J. Endocrinol.* 2002;174(3):411-418.
- Teicher M.H., Samson J.A., Anderson C.M., Ohashi K. The effects of childhood maltreatment on brain structure, function and connectivity. *Nat. Rev. Neurosci.* 2016;17(10):652-666. DOI 10.1038/nrn.2016.111.
- Tijsseling D., Camm E.J., Richter H.G., Herrera E.A., Kane A.D., Niu Y., Cross C.M., de Vries W.B., Derks J.B., Giussani D.A. Statins prevent adverse effects of postnatal glucocorticoid therapy on the developing brain in rats. *Pediatr. Res.* 2013;74(6):639-645. DOI 10.1038/pr.2013.152.
- van Bodegom M., Homberg J.R., Henckens M. Modulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by early life stress exposure. *Front. Cell. Neurosci.* 2017;11:87. DOI 10.3389/fncel.2017.00087.
- van Eekelen J.A., Bohn M.C., de Kloet E.R. Postnatal ontogeny of mineralocorticoid and glucocorticoid receptor gene expression in regions of the rat tel- and diencephalon. *Dev. Brain Res.* 1991;61(1):33-43.
- Vazquez D.M., Neal C.R., Jr., Patel P.D., Kaciroti N., Lopez J.F. Regulation of corticoid and serotonin receptor brain system following early life exposure of glucocorticoids: long term implications for the neurobiology of mood. *Psychoneuroendocrinology.* 2012;37(3):421-437. DOI 10.1016/j.psyneuen.2011.07.012.
- Vorhees C.V., Williams M.T. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nat. Protoc.* 2006;1(2):848-858. DOI 10.1038/nprot.2006.116.
- Wang Y.C., Huang C.C., Hsu K.S. The role of growth retardation in lasting effects of neonatal dexamethasone treatment on hippocampal synaptic function. *PLoS One.* 2010;5(9):e12806. DOI 10.1371/journal.pone.0012806.
- Weems C.F., Russell J.D., Neill E.L., McCurdy B.H. Annual research review: pediatric posttraumatic stress disorder from a neurodevelopmental network perspective. *J. Child Psychol. Psychiatry.* First publ. 2018. *Publ.* 2019;60(4):395-408. DOI 10.1111/jcpp.12996.
- Weiler H.A., Wang Z., Atkinson S.A. Whole body lean mass is altered by dexamethasone treatment through reductions in protein and energy utilization in piglets. *Biol. Neonate.* 1997;71(1):53-59. DOI 10.1159/000244397.
- Wong P., Sze Y., Gray L.J., Chang C.C., Cai S., Zhang X. Early life environmental and pharmacological stressors result in persistent dysregulations of the serotonergic system. *Front. Behav. Neurosci.* 2015;9:94. DOI 10.3389/fnbeh.2015.00094.
- Yates N.J., Robertson D., Rodger J., Martin-Iverson M.T. Effects of neonatal dexamethasone exposure on adult neuropsychiatric traits in rats. *PLoS One.* 2016;11(12):e0167220. DOI 10.1371/journal.pone.0167220.

ORCID ID

N.P. Bondar orcid.org/0000-0002-5602-5149
V.V. Reshetnikov orcid.org/0000-0002-2932-0804

Благодарности. Работа поддержана Российским научным фондом, проект 16-15-10131.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 07.11.2018. После доработки 17.02.2019. Принята к публикации 20.02.2019.