
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**ВЛИЯНИЕ АКТИВАЦИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ
В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ НА АГРЕССИВНОСТЬ
И СЕКСУАЛЬНУЮ МОТИВАЦИЮ У ВЗРОСЛЫХ КРЫС ВИСТАР**

© 2023 г. И. В. Павлова¹, *, Н. Д. Брошевицкая¹

¹*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия*

**E-mail: pavlovfml@mail.ru*

Поступила в редакцию 30.06.2023 г.

После доработки 01.09.2023 г.

Принята к публикации 22.09.2023 г.

Как известно, стрессы в раннем онтогенезе способны оказывать влияние на тревожно-депрессивное, оборонительное и социальное поведение, а также на иммунную и гормональную реактивность взрослых животных. Модель раннего провоспалительного стресса предполагает активацию иммунной системы с помощью введения бактериального липополисахарида (ЛПС) в первые дни постнатального онтогенеза. Каково влияние введения ЛПС в раннем онтогенезе на агрессивность и сексуальную мотивацию взрослых особей неизвестно. Патологическая агрессивность и нарушения в сексуальном поведении характерны для многих психоневрологических заболеваний, поэтому исследование предпосылок для их возникновения высоко актуально. На 3-й и 5-й день после рождения крысам вводили либо ЛПС в дозе 50 мкг/кг (группа ЛПС), либо физиологический раствор (группа ФИЗ, контроль). Анализировали агрессивное поведение взрослых крыс в тесте резидент–интродер после недельной социальной изоляции, а также сексуальное предпочтение самцов или самок в трехкамерном тесте. Поведение крыс сопоставляли с базовым уровнем кортикостерона и интерлейкина-1β в сыворотке крови. У самцов группы ЛПС по сравнению с контролем было больше нападений на интродера в тесте резидент–интродер, причем число атак не уменьшалось к концу эксперимента. У самцов группы ЛПС увеличивалось время взаимодействия с самкой на стадии диэструс в тесте на социальное предпочтение самцов и самок. У самок не наблюдалось изменений в агрессивном поведении после введения ЛПС в раннем онтогенезе. Базовый уровень интерлейкина-1β был выше у самцов, а кортикостерона – у самок, различий между группами ЛПС и ФИЗ по биохимическим показателям обнаружено не было. Полученные результаты свидетельствуют, что у взрослых самцов после раннего провоспалительного стресса по сравнению с контролем происходило увеличение агрессивности, спровоцированной социальной изоляцией, а также сексуальной мотивации, т.е. об изменении мотивационно-эмоциональной составляющей в социальном поведении.

Ключевые слова: ранний провоспалительный стресс, липополисахарид, агрессивность, сексуальное предпочтение самцов или самок, кортикостерон, интерлейкин-1β

ВВЕДЕНИЕ

Хорошо известно, что стресс в раннем возрасте может не только оказать негативное влияние на поведение взрослых особей, но и привести к серьезным нарушениям в развитии гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и иммунной системы организма [1–3]. В экспериментах на животных в качестве модели так называемого “раннего провоспалительного стресса” применяется активация иммунной системы с помощью инъекции бактериального липополисахарида (ЛПС). ЛПС является составным компонентом внешней части мембраны грамотрицательных бактерий, и его введение приводит к развитию болезненного состояния и высвобождению большого числа эндогенных провоспалительных медиаторов (цитокины, хемокины и др.) [4]. Считается, что первая постнатальная неделя является важной для развития гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси [5] и особенно для установления функциональных связей гиппокампа, с помощью которых осуществляется отрицательная обратная связь для регуляции уровня кортикостерона. Введение ЛПС в этот критический период имеет наибольшие последствия для дальнейшего развития организма, и во многих работах инъекция осуществляется на 3-й и 5-й постнатальный день [3, 5, 6, 8].

Данные о влиянии раннего провоспалительного стресса на социальное поведение немногочисленны и противоречивы. Постнатальное системное введение ЛПС (на 3-й и 5-й постнатальные дни) либо не влияло на социальное взаимодействие [3], либо приводило к уменьшению времени социальных контактов у взрослых животных [6], что происходило за счет контактов, инициируемых интактными животными, а не крысами, получавшими ЛПС [7]. Мотивация к социальному взаимодействию у крыс после раннего введения ЛПС, наоборот, возрастала [8], о чем свидетельствовало увеличение времени взаимодействия у крыс группы ЛПС с незнакомой крысой в двухкамерном тесте. Кроме того, введение ЛПС в раннем онтогенезе приводило к более частому социальному доминированию у взрослых крыс в тесте в трубе, при этом у крыс победителей наблюдался повышенный уровень интерлейкина-1бета (ИЛ-1бета) в крови [8]. Как сказывается активация иммунной системы в раннем онтогенезе на агрессивность у взрослых животных, неизвестно. В литературе имеются сведения о связи иммунной системы с агрессивным поведением [9, 10]. На линиях высоко- и низкоагрессивных животных было показано, что высокие уровни провоспалительных цитокинов коррелировали с высоким уровнем агрессии [11, 12]. Похожие данные были получены и при исследовании пациентов с депрессией, которые демонстрировали повышенную агрессивность и высокий уровень провоспалительных цитокинов [13]. На основании этих данных можно было предположить, что ранний провоспалительный стресс будет приводить к увеличению агрессивности.

Показано, что неонатальный иммунный стресс нарушает репродуктивную физиологию и сексуальное поведение [14, 15]. В то же время некоторые виды стрессов в раннем возрасте (недостаток строительного материала для гнезда, изоляция от матери) повышают сексуальную мотивацию у самцов [16, 17]. Неизвестно, может ли активация иммунной системы в раннем возрасте повлиять на сексуальную мотивацию.

Патологическая агрессивность и нарушения в сексуальном поведении характерны для многих психоневрологических заболеваний, поэтому исследование предположений о их возникновении в экспериментах на животных является актуальной задачей. Целью нашей работы было изучение влияния раннего провоспалительного стресса на агрессивное поведение и сексуальное предпочтение у взрослых крыс Вистар. В задачи исследования входило сопоставление поведения взрослых крыс в группах с введением ЛПС или физиологического раствора в раннем онтогенезе в

тесте резидент—интродер, в трехкамерном тесте на сексуальное предпочтение, а также анализ базового уровня кортикостерона и ИЛ-1бета в крови.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Группы животных. В экспериментах использовали 99 крыс Вистар в возрасте от 3 до 150 дней (48 самцов и 51 самка). Крысята были выведены в виварии Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии от родителей, полученных из филиала “Столбовая” Федерального государственного бюджетного учреждения науки “Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства”, Россия. В возрасте 25 дней крысят отсаживали от матери, и в дальнейшем животных содержали в виварии при обычном 12-часовом световом режиме со свободным доступом к воде и стандартному корму.

На 3-й и 5-й постнатальный день (ПНД) половине крысят из помета вводили бактериальный ЛПС (от *Escherichia coli* serotype 026: B6, Sigma Chemical) в дозе 50 мг/кг в объеме 10 мкл/г (группа ЛПС, 50 крысят). Доза была выбрана в соответствии с данными литературы [3, 5, 6, 8] и не вызывала увеличения смертности среди крысят. Во время этой процедуры крысят отлучали от матери на 15–20 мин, взвешивали на электронных весах и вводили подкожно ЛПС в холку с помощью инсулинового шприца. Крысят группы ЛПС дополнительно метили с помощью подкожного введения у основания хвоста 10 мкл черной краски (фирма Dynamic Color, цвет Triple Black), используемой для татуировок у людей. Другой половине крысят из помета в этом же возрасте подкожно вводили физиологический раствор в объеме 10 мкл/г (группа ФИЗ, контроль, всего 49 крысят). При введении веществ старались уравнивать число самцов и самок в группах ЛПС и ФИЗ. Разделение пометов делали с целью ослабить влияние генетического фактора на результаты экспериментов. Таким образом, было сформировано четыре группы крыс: самцы группы ФИЗ (24 крысы), самцы группы ЛПС (24 крысы), самки группы ФИЗ (25 крыс) и самки группы ЛПС (26 крыс).

Тест резидент—интродер. Внутривидовое агрессивное поведение оценивали у взрослых крыс на 120–130-й ПНД при помощи теста “резидент—интродер”, перед которым уровень агрессии повышали путем содержания крыс в социальной изоляции в течение недели в индивидуальных клетках размером 35 × 55 × 20 см. Использовали усовершенствованный протокол тестирования грызунов, описанный в работе [18], который позволял исследовать агрессию как у самцов, так и самок. Тест резидент—интродер проводили в домашней клетке, в которую к резиденту подсаживали взрослую незнакомую более молодую (2.5–3 мес.) и меньшую по массе тела крысу—интродера того же пола. Далее проводили видеорегистрацию поведения обеих крыс в течение 10 мин. Тест резидент—интродер проходил в затемненной комнате с уровнем освещенности 20–25 люкс. При этом фиксировали следующие параметры: латентность и число нападений, инициируемых резидентом, которые заканчивались либо позой подчинения интродера на спине, либо дракой; число и латентность стойек напротив оппонента (боксирование); число и длительность преследований интродера с аногенитальным обнюхиванием; случаи агрессивного груминга со стороны резидента, сопровождающиеся вокализацией интродера; число “сексуальных атак” со стороны резидента. Сексуальные атаки у самцов и самок выражались во взбирании резидента на интродера сзади, за которым у самцов следовал груминг гениталий. Каждый интродер использовался в экспериментах один, максимум два раза только в случае, если первый резидент был неагрессивным.

Тест на сексуальное предпочтение. У 22 самцов на 130–140-й ПНД проводился тест на сексуальное предпочтение в камере (120 × 80 × 35 см), состоящей из трех равных отсеков (40 × 80 × 35 см), соединенных между собой дверками. Уровень

освещенности камеры достигал 100–120 люкс. В каждом боковом отсеке размещались цилиндры (диаметр 20 см) с боковыми стенками, сделанными из сетки с ячейками 10×10 мм, в одном цилиндре помещался незнакомый интактный самец (отсек с самцом), в другом — самка на стадии диэструс (отсек с самкой). Стадию диэструса определяли по присутствию лейкоцитов во влагалищном мазке, взятом утром в день опыта [19]. В качестве “гостя” использовали самок только на определенной стадии цикла, чтобы избежать влияния стадий эстрального цикла на результаты эксперимента. Исследуемая крыса в начале опыта сажалась в средний стартовый отсек, носом в сторону сплошной стены. Время тестирования составляло 10 мин. Видеорегистрацию поведения проводили с помощью программы Medi-oсruser, а построение трэков движения крысы и их анализ — с помощью программы EthoVision XT (Noldus). При обработке подсчитывали число заходов и время пребывания в отсеке с самцом и с самкой, число и длительность взаимодействия с самцом и с самкой (нос крысы находился в непосредственной близости от сетки цилиндра с самцом или самкой), пройденную дистанцию и скорость в разных отсеках, а также рассчитывали коэффициенты предпочтения $K_{\text{предп.}} = (T_{\text{взаим. с самкой}} - T_{\text{взаим. с самцом}}) / (T_{\text{взаим. с самкой}} + T_{\text{взаим. с самцом}})$, где $T_{\text{взаим.}}$ — время взаимодействия. Из анализа были исключены две крысы, которые после ухода из стартового отсека все время тестирования находились только в одном отсеке.

Иммуноферментный анализ крови. Забор крови проводили у крыс на 90–100-й ПНД до начала поведенческих тестов. Для этого крыс наркотизировали с помощью изофлуранового ингаляционного наркоза (Аэрран), на кончике хвоста делали косые надрезы скальпелем и собирали периферическую кровь в объеме 0.7–1 мл в микропробирки с добавленным гепарином (10 мкл). Затем кровь центрифугировали 15 мин при 1500 g для получения сыворотки и отбирали аликвоты объемом 50 и 150 мкл. Аликвоты сыворотки хранили при -80°C до проведения иммуноферментного анализа.

Для определения уровня кортикостерона в сыворотке крови использовали наборы для иммуноферментного анализа (DRG, Германия), с помощью которых детектировали как свободный, так и связанный с транспортными белками кортикостерон методом конкурентного иммуноферментного анализа. Содержание провоспалительного интерлейкина-1бета (ИЛ-1бета) в сыворотке крови определяли с помощью наборов производства R&D Systems (США) согласно инструкции производителя. При дальнейшей статистической обработке из выборки исключали экстремумы.

Статистическая обработка результатов. Для обработки результатов использовали стандартную программу STATISTICA 8.0. Распределение исследованных параметров было проверено на нормальность по критерию Колмогорова–Смирнова. Если анализируемый параметр удовлетворял данному критерию, то при сравнении групп крыс использовали дисперсионный анализ ANOVA, раздел *factorial ANOVA*, *One-Way ANOVA* и *Repeated measures ANOVA*. При *post-hoc* анализе применяли *Newman–Keuls test*. Анализировали влияние факторов ПОЛ (самцы, самки), ГРУППА (ЛПС, ФИЗ), ВИД ОТСЕКА (с самцом, с самкой). При отсутствии нормальности распределения поведенческих параметров использовали непараметрические методы анализа. При сравнении двух групп применяли Mann–Whitney *U* Test. При сравнении долей использовали критерий χ^2 (2×2 Table). Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$, отмечали наличие тенденции при $0.05 \leq p < 0.1$. Данные на рисунках представлены в виде средних значений $\pm$ ошибки средних.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Тест резидент–интродер. Сопоставление с помощью Mann–Whitney *U* Test в группах ФИЗ и ЛПС различных показателей поведения показало, что число напа-

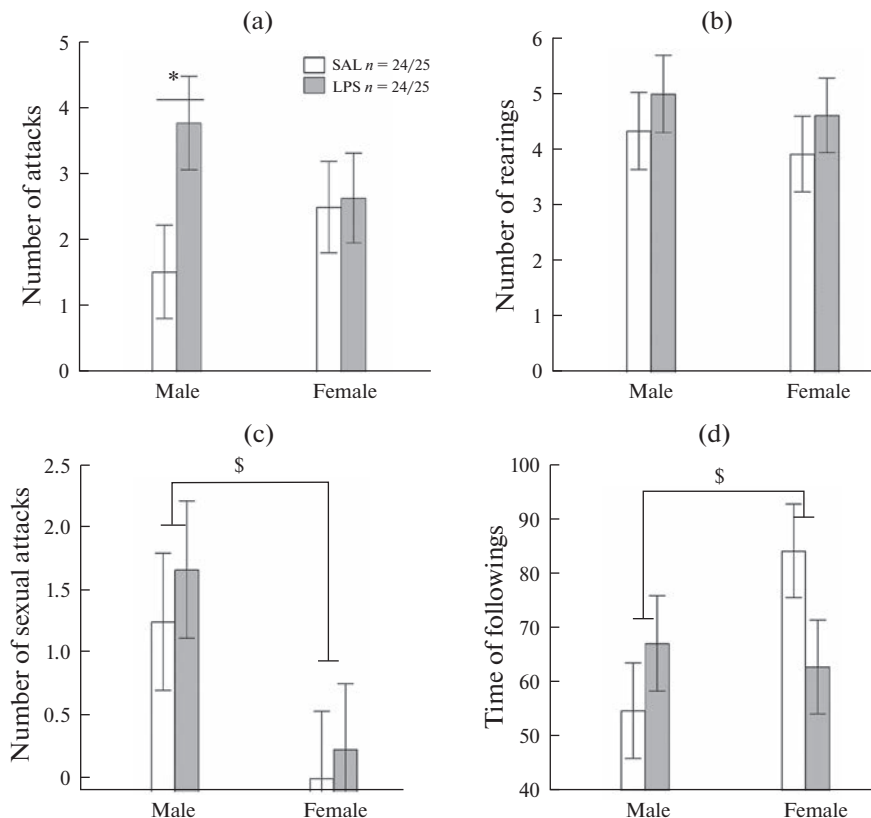


Рис. 1. Влияние раннего провоспалительного стресса на поведение крыс в тесте резидент–интродер. (a–d) – сопоставление различных показателей поведения в группах ЛПС и ФИЗ. * – статистически значимые различия между ЛПС и ФИЗ группами ($p < 0.05$), \$ – различия между самцами и самками ($p < 0.05$, Mann–Whitney U Test). n – число крыс в группе самцы/самки.

дений резидента на интродера было больше у самцов группы ЛПС (в среднем 3.7 атак), чем у самцов группы ФИЗ (1.4 атаки, $U = 184.5$, $Z = -2.134$, $p = 0.028$), число нападений у самок из групп ЛПС и ФИЗ не отличалось (2.4 и 2.5 атаки, $U = 315.5$, $Z = -0.179$, $p = 0.858$) (рис. 1a). Число стоек друг напротив друга (рис. 1b), число случаев агрессивного груминга, число сексуальных атак (рис. 1c) не различалось у крыс в группах ФИЗ и ЛПС, как у самцов, так и самок. Половые различия были обнаружены по числу сексуальных атак (рис. 1c) и времени преследования с аногенитальным обнюхиванием (рис. 1d). У самцов число сексуальных атак было больше (1.5 атаки, $U = 969$, $Z = 3.15$, $p = 0.002$), а время преследования меньше (61 с, $U = 921$, $Z = -1.98$, $p = 0.047$), чем у самок (0.1 атаки и 74 с соответственно).

Анализ гистограмм распределения крыс самцов в зависимости от числа нападений за опыт (рис. 2a) показал, что количество агрессивных самцов, совершавших от 2 до 17 нападений на интродера за опыт, было больше в группе ЛПС (75%) по сравнению с группой ФИЗ (33%, $\chi^2 = 8.39$, $p = 0.004$). Анализ гистограмм распределения самок в зависимости от числа нападений за опыт не обнаружил различий в числе агрессивных животных (не менее двух нападений) в группах ФИЗ (44%) и ЛПС (42%) (рис. 2b). Анализ гистограмм распределения нападений у самцов в за-

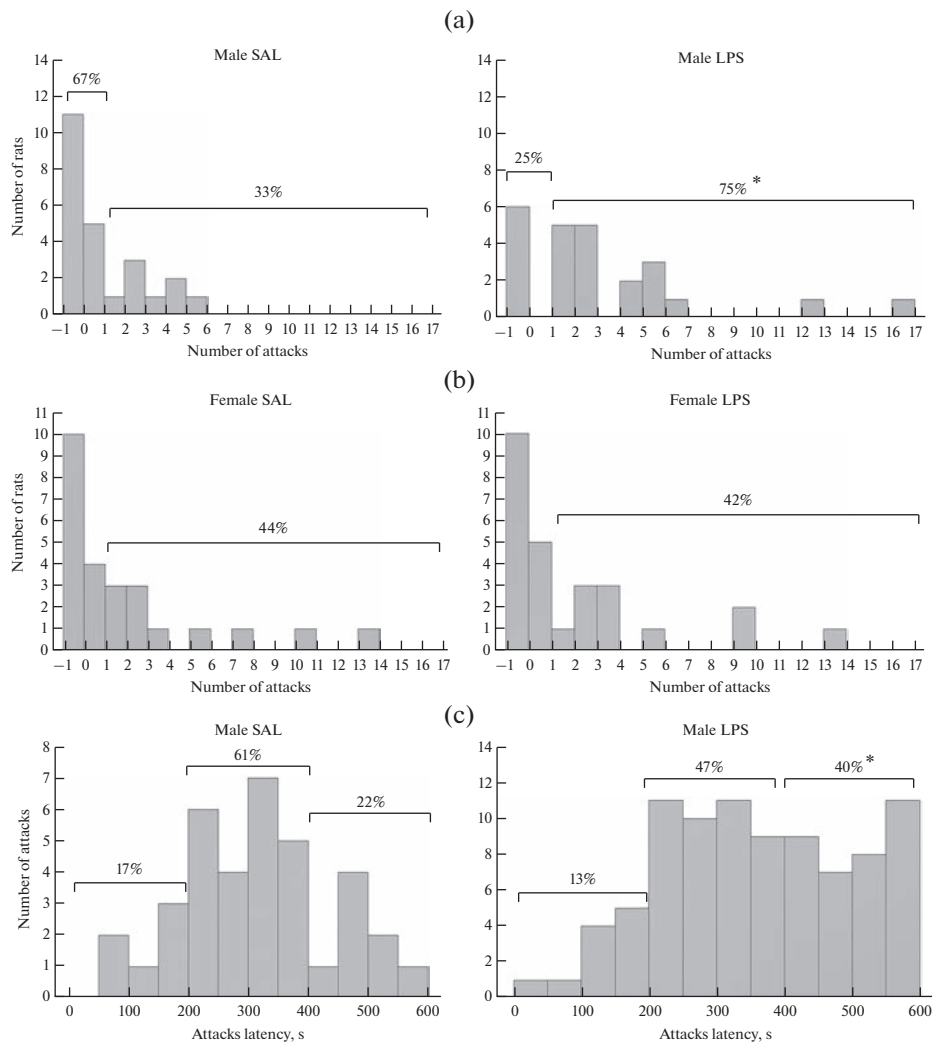


Рис. 2. Гистограммы распределения крыс в зависимости от числа атак на интродера (a, b) и гистограммы распределения атак в зависимости от их латентности (c). * — статистически значимые различия между процентными соотношениями в группах ЛПС и ФИЗ ($p < 0.05$, критерий χ^2 , 2×2 Table).

висимости от их латентности (рис. 2c), показал, что максимальное число нападений наблюдалось в интервале от 200 до 400 с как в группе ФИЗ (61%), так и ЛПС (47%). В конце опыта с 400 до 600 с число нападений у самцов группы ФИЗ уменьшалось до 22%, а в группе ЛПС было больше (40%, $\chi^2 = 3.97$, $p = 0.046$). Таким образом, тест резидент–интродер показал увеличение числа агрессивных крыс самцов в группе ЛПС, при этом уровень агрессии не снижался к концу эксперимента.

Тест сексуального предпочтения. Анализ поведения самцов в трехкамерном тесте на сексуальное предпочтение с помощью Repeated measures ANOVA выявил взаимодействие факторов ВИД ОТСЕКА $\times$ ГРУППА во влиянии на время нахождения в отсеке ($F_{1, 18} = 7.554$, $p = 0.013$), на время взаимодействия ($F_{1, 18} = 13.222$, $p = 0.002$) и на пройденную дистанцию ($F_{1, 18} = 9.578$, $p = 0.006$) в отсеках с самцом и самкой.

Post hoc анализ показал, что самцы ЛПС группы по сравнению с ФИЗ группой больше времени находились в отсеке с самкой (рис. 3а, б), больше времени взаимодействовали с самкой (рис. 2с) и проходили большую дистанцию в этом отсеке (рис. 2д). Эти показатели не отличались в отсеке с самцом у крыс ЛПС и ФИЗ групп. Коэффициенты предпочтения были выше у самцов ЛПС группы, чем у ФИЗ группы (рис. 2е, $F_{1,18} = 10.944$, $p = 0.004$, One Way ANOVA). Эти данные свидетельствуют о большем предпочтении самок у самцов ЛПС группы, чем у самцов ФИЗ группы, что может свидетельствовать о большей сексуальной мотивации у животных после раннего провоспалительного стресса.

Биохимические показатели крови. Фактор ГРУППА не оказал влияния на уровень кортикостерона и ИЛ-1 бета в сыворотке крови (Factorial ANOVA), что свидетельствовало об отсутствии различий по данным показателям в группах ЛПС и ФИЗ (рис. 4а, 4б). Фактор ПОЛ влиял на уровень ИЛ-1бета ($F_{1,74} = 12.15$, $p = 0.001$) и кортикостерона ($F_{1,85} = 6.03$, $p = 0.016$). У самцов был более высокий уровень ИЛ-1бета, чем у самок, а у самок был более высокий уровень кортикостерона, чем у самцов (рис. 4а, б).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В нашей работе введение ЛПС в раннем онтогенезе привело к изменениям уровня агрессии у взрослых крыс. У самцов группы ЛПС по сравнению с группой ФИЗ наблюдалось больше нападений на интродеров, в данной группе возрастало число агрессивных крыс, совершавших не менее двух нападений на интродера в тесте, причем число нападений не уменьшалось к концу опыта, а держалось на высоком уровне все время наблюдения. В настоящей работе использовали модификацию теста резидент–интродер после недельной социальной изоляции, что позволяло анализировать поведение не только самцов, но и самок. Известно, что социальная изоляция, даже кратковременная, приводит к увеличению агрессивности крыс [20–22]. Агрессия после социальной изоляции вызывает активацию областей мозга, которые контролируют межсамцовую агрессию – медиальной и латеральной орбитофронтальной коры, передней цингулярной коры, медиальной и базолатеральной миндалины, гипоталамической области атак, паравентрикулярного ядра гипоталамуса и др. [22]. Вентролатеральная часть вентромедиального гипоталамуса (VMHvl) является ключевой структурой для запуска агрессивного поведения [23]. Можно предположить, что нейровоспаление, возникающее в ответ на ранний провоспалительный стресс, вызывает существенные изменения в функционировании этих областей мозга и особенно гипоталамической области атак. Суммарный эффект от введения ЛПС в раннем онтогенезе и кратковременной социальной изоляции дает увеличение агрессивности у самцов группы ЛПС.

В литературе имеются только единичные работы по влиянию раннего провоспалительного стресса на агрессивное поведение. Введение ЛПС на 3-й и 5-й ПНД сирийским хомякам привело к увеличению агрессивности у взрослых самок в отношении самцов при размножении [24]. Изоляция от матери в раннем онтогенезе также может вызвать агрессивное поведение в подростковом возрасте [25]. Ранее мы показали, что самцы группы ЛПС чаще оказывались победителями, чем самцы группы ФИЗ в тесте на социальное доминирование в трубе [8]. Данные по доминированию и агрессивности согласуются между собой, поскольку агрессию обычно проявляют доминантные особи [26, 27].

В тесте на сексуальное предпочтение было обнаружено большее предпочтение самок у самцов группы ЛПС по сравнению с контролем, что свидетельствовало об увеличении сексуальной мотивации у животных после активации иммунной системы в раннем онтогенезе. Большое число однополых сексуальных атак в тесте

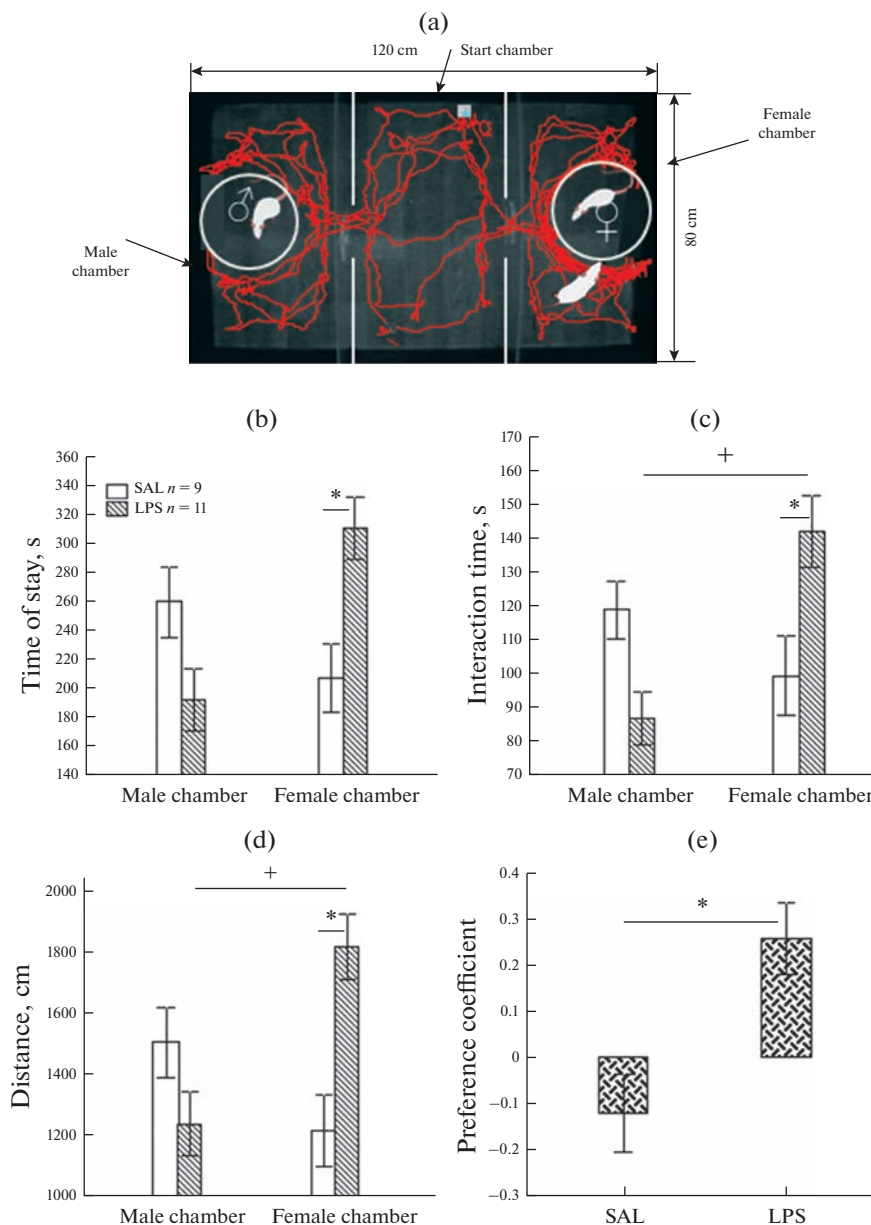


Рис. 3. Влияние раннего провоспалительного стресса на сексуальное предпочтение самцов и самок. (a) — изображение камеры с тремя отсеками для теста сексуальных предпочтений, в отсеке для самцов в сетчатом цилиндре находится самец, в отсеке для самок — самка в стадии диэструса, траектория движения экспериментального самца показана красным цветом. (b–e) — сравнение различных показателей поведения в группах ФИЗ и ЛПС. * — статистически значимые различия между группами ФИЗ и ЛПС, + — между отсеками внутри группы ($p < 0.05$, на (b–d) — Repeated measures ANOVA, post hoc анализ, Newman–Keuls test, на (e) — One Way ANOVA). n — количество крыс в группе.

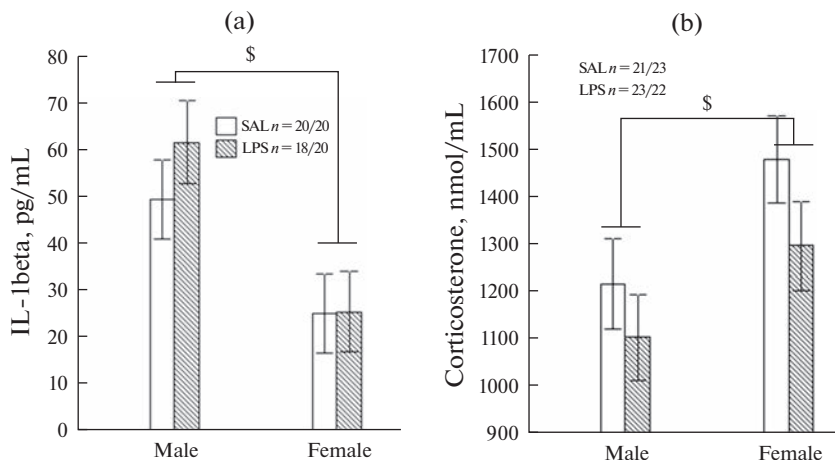


Рис. 4. Усредненные по группам данные по базовому уровню ИЛ-1бета (а) и кортикостерона (б). *n* — число самцов/самок в группе. \$ — различия между самцами и самками ($p < 0.05$, Factorial ANOVA).

резидент—интродер также может говорить о возрастании сексуальной мотивации. У самцов группы ФИЗ предпочтение отсека с самкой в нашей работе не проявлялось, это, возможно, было связано с тем, что использовали не рецептивных самок на стадии диэструс. В норме самцы предпочитали рецептивных самок в стадии эструс по сравнению с овариоэктомированными самками [17].

В литературе имеются сведения об увеличении сексуальной мотивации под влиянием различных стрессов в раннем онтогенезе. Так, например, стресс в виде недостатка строительного материала для гнезда в раннем онтогенезе приводил к увеличению времени, проводимого в отсеке с противоположным полом в трехкамерном тесте на сексуальное предпочтение [16]. Возрастание сексуальной мотивации после стресса изоляции от матери в раннем онтогенезе могло проявляться и в виде уменьшения латентностей копулятивного поведения самцов [17]. С другой стороны, в литературе имеются сведения о негативном влиянии стрессов в раннем онтогенезе на сексуальное поведение и репродуктивную физиологию как самцов, так и самок. Введение ЛПС на 3-й и 5-й ПНД приводило у самок хомяков к нарушению эстрального цикла и уменьшению числа яйцеклеток [24]. Введение ЛПС на 10-й и 25-й день приводило к задержке полового созревания у самцов и уменьшению сексуального поведения у самцов и самок крыс [15, 28]. Ранний стресс в виде изоляции от матери на несколько часов со 2-ого по 10-й ПНД также мог приводить к нарушениям в сексуальном поведении самцов, проявляющихся в большей латентности взбирания на самку, уменьшении животных с эякуляцией [29]. Нарушения в сексуальном поведении самок после раннего провоспалительного стресса связывают с уменьшением экспрессии рецепторов прогестерона в гипоталамусе [15].

В целом, увеличение доминантности [8], агрессивности и сексуальной мотивации у самцов крыс, переживших ранний провоспалительный стресс, дает животным, по-видимому, конкурентные преимущества в эволюционном плане. Это может быть связано с тем, что нами использовалась минимальная доза ЛПС (50 мкг/кг) из применяемых в исследованиях (50—1000 мкг/кг) на крысах в таком раннем возрасте. Негативные последствия, оказываемые на тревожно-депрессивное поведение, после такой активации иммунной системы практически исчезали во взрослом возрасте [30].

В нашей работе мы не выявили различий в базовом уровне кортикостерона и ИЛ-1бета у крыс в группах ЛПС и ФИЗ. Важно отметить, что кровь брали перед кратковременной социальной изоляцией, предшествующей тесту резидент–интродер. Ранее в нашей работе было показано, что самцы группы ЛПС имеют более высокий уровень ИЛ-1бета по сравнению с группой ФИЗ после стрессирующих воздействий в виде теста вынужденного плавания [30]. Для появления агрессивного поведения, вероятно, более важным является увеличение уровня ИЛ-1бета в ответ на социальную изоляцию и социальные конфликты, чем базовый уровень данного цитокина. У животных и людей, проявляющих агрессивность, показан увеличенный уровень провоспалительных цитокинов после социального стресса [11–13]. Наличие корреляции между соотношением провоспалительных/противовоспалительных цитокинов и агрессией позволила ряду авторов высказать гипотезу о связи агрессии с изменениями в уровне цитокинов [10].

В заключение необходимо отметить, что ранний провоспалительный стресс оказывал влияние только на самцов в тесте резидент–интродер. Сходные половые различия наблюдали ранее при анализе влияния введения ЛПС в раннем возрасте на социальное доминирование и взаимодействие [8]. Более выраженные изменения в тревожно-депрессивном поведении также происходили у самцов под влиянием введения ЛПС в раннем онтогенезе [30]. Большая уязвимость самцов к влиянию ЛПС объясняется тем, что нейровоспалительный процесс протекает по-разному у самцов и самок [31]. У самцов и самок может различаться набор выделяемых цитокинов, их локализация и клеточный источник при нейровоспалении. У самцов микроглия считается вероятным клеточным источником, опосредующим нейровоспалительный прайминг, выделение цитокинов увеличивается после дополнительного стресса. У самок при этом не происходит увеличение выделения цитокинов из микроглии [32]. Кроме того, известно, что эстрогены самок способны оказывать противовоспалительное действие. Эстрогены ускоряют протекание воспалительного процесса в сторону его деактивации, большая роль при этом отводится противовоспалительному IL-4 [33]. Эстрогены способны затормозить выработку провоспалительных цитокинов [34].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пережитый провоспалительный стресс в раннем онтогенезе оказывал существенное влияние на эмоционально-мотивационную составляющую социального поведения взрослых крыс. Самцы оказались наиболее чувствительными к данному негативному воздействию. Введение ЛПС в дозе 50 мкг/кг на 3-й и 5-й ПНД приводило к увеличению агрессивности у взрослых самцов по сравнению с контролем в тесте резидент–интродер после недельной социальной изоляции, а также вызывало увеличение сексуальной мотивации в тесте на сексуальное предпочтение. Полученные данные важны для понимания предпосылок возникновения патологической агрессивности и нарушений в сексуальном поведении, которые характерны для многих психоневрологических заболеваний.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В экспериментах соблюдали принципы гуманности, изложенные в директивах Европейского Сообщества (2010/63/EU) и положения Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии о работе с экспериментальными животными.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках государственного задания Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН по теме “Фундаментальные нейробиологические механизмы поведения, памяти и обучения в норме и при патологии” (номер государственной регистрации АААА-А17-117-92040002-6).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

И.В.П. — идея, планирование экспериментов, обработка материала, написание статьи.
Н.Д.Б. — подготовка групп животных, проведение экспериментов, обработка результатов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cristino LMF, Chaves Filho AJM, Custódio CS, Vasconcelos SMM, de Sousa FCF, Sanders LLO, de Lucena DF, Macedo DS (2022) Animal model of neonatal immune challenge by lipopolysaccharide: a study of sex influence in behavioral and immune/neurotrophic alterations in juvenile mice. *Neuroimmunomodulation* 29: 391–401.
<https://doi.org/10.1159/000522055>
2. Juruena MF, Bourne M, Young AH, Cleare AJ (2021) Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysfunction by early life stress. *Neurosci Lett* 759: 136037.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2021.136037>
3. Custódio CS, Mello BSF, Filho AJMC, de Carvalho Lima CN, Cordeiro RC, Miyajima F, Réus GZ, Vasconcelos SMM, Barichello T, Quevedo J, de Oliveira AC, de Lucena DF, Macedo DS (2018) Neonatal immune challenge with lipopolysaccharide triggers long-lasting sex- and age related behavioral and immune/neurotrophic alterations in mice: relevance to autism spectrum disorders. *Mol Neurobiol* 55(5): 3775–3788.
<https://doi.org/10.1007/s12035-017-0616-1>
4. Alexander C, Rietschel ET (2001) Bacterial lipopolysaccharides and innate immunity. *J Endotoxin Res* 7: 167–202.
5. Shanks N, Meaney MJ (1994) Hypothalamic-pituitary-adrenal activation following endotoxin administration in the developing rat: a CRH-mediated effect. *J Neuroendocrinol* 6(4): 375–383.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.1994.tb00596.x>
6. MacRae M, Kenkel WM, Kentner AC (2015) Social rejection following neonatal inflammation is mediated by olfactory scent cues. *Brain Behav Immun* 49: 43–48.
<https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.02.026>
7. Kentner AC, Khan U, MacRae M, Dowd SE, Yan S (2018) The effect of antibiotics on social aversion following early life inflammation. *Physiol Behav* 194: 311–318.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.06.006>
8. Broshevitskaya ND, Pavlova IV, Zaichenko MI (2022) Early proinflammatory stress affects the social behavior of adult rats: effects of sex and the basal level of interleukin 1-beta in the blood. *Neurochem J* 16: 302–310.
<https://doi.org/10.1134/S1819712422030023>
9. Кудрявцева НН (2013) Нейробиология агрессии: мыши и люди. Новосибирск. Наука-Центр. [Kudryavtseva NN (2013) Neurobiology of aggression: mice and humans. Novosibirsk. Nauka-Center. (In Russ)].
10. Das S, Deuri SK, Sarmah A, Pathak K, Baruah A, Sengupta S, Mehta S, Avinash PR, Kalita KN, Hazarika J (2016) Aggression as an independent entity even in psychosis – the role of inflammatory cytokines. *J Neuroimmunol* 292: 45–51.
<https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2016.01.012>
11. Idova GV, Markova EV, Gevorgyan MM, Alperina EL, Zhukov EN (2016) Changes in production of cytokines by C57Bl/6J mouse spleen during aggression provoked by social stress. *Bull Exp Biol Med* 160: 679–682.
<https://doi.org/10.1007/s10517-016-3248-y>
12. Alperina E, Idova G, Zhukova E, Zhanaeva S, Kozhemyakina R (2019) Cytokine variations within brain structures in rats selected for differences in aggression. *Neurosci Lett* 692: 193–198.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.11.012>
13. Takahashi A, Flanigan ME, McEwen BS, Russo SJ (2018) Aggression, social stress, and the immune system in humans and animal models. *Front Behav Neurosci* 12: 56.
<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00056>

14. Sylvia KE, Demas GE (2017) Overcoming neonatal sickness: Sex-specific effects of sickness on physiology and social behavior. *Physiol Behav* 179: 324–332.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.07.002>
15. Mayila Y, Matsuzaki T, Iwasa T, Tungalagsuvd A, Munkhzaya M, Yano K, Yanagihara R, Tokui T, Minato S, Takeda A, Sachiko Endo S, Maeda T, Irahara M (2020) The reduction in sexual behavior of adult female rats exposed to immune stress in the neonatal period is associated with reduced hypothalamic progesterone receptor expression. *Gen Comp Endocrinol* 288: 113360.
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2019.113360>
16. Davis LK, Bolton JL, Hanson H, Guarraci FA (2020) Modified limited bedding and nesting is a model of early-life stress that affects reproductive physiology and behavior in female and male Long-Evans rats. *Physiol Behav* 224: 113037.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2020.113037>
17. Greisen MH, Bolwig TG, Husum H, Nedergaard P, Wortwein G (2005) Maternal separation affects male rat copulatory behaviour and hypothalamic corticotropin releasing factor in concert. *Behav Brain Res* 158: 367–375.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2004.09.018>
18. Tonelli LH, Katz M, Kovacsics CE, Gould TD, Joppy B, Hoshino A, Hoffman G, Komarow H, Posolache TT (2009) Allergic rhinitis induces anxiety-like behavior and altered social interaction in rodents. *Brain Behav and Immunity* 23: 784–793.
<https://doi.org/10.1016/j.bbi.2009.02.017>
19. Becker JB, Arnold AP, Berkley KJ, Blaustein JD, Eckel LA, Hampson E, Herman JP, Marts S, Sadee W, Steiner M, Taylor J, Young E (2005) Strategies and methods for research on sex differences in brain and behavior. *Endocrinology* 146: 1650–1673.
<https://doi.org/10.1210/en.2004-1142>
20. Oliveira VEM, Neumann ID, de Jong TR (2019) Post-weaning social isolation exacerbates aggression in both sexes and affects the vasopressin and oxytocin system in a sex-specific manner. *Neuropharmacology* 156: 107504.
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.01.019>
21. Biro L, Toth M, Sipos E, Bruzsik B, Tulogdi A, Bendahan S, Sandi C, Haller J (2017) Structural and functional alterations in the prefrontal cortex after post-weaning social isolation: relationship with species-typical and deviant aggression. *Brain Struct Funct* 222: 1861–1875.
<https://doi.org/10.1007/s00429-016-1312-z>
22. Toth M, Tulogdi A, Biro L, Soros P, Mikics E, Halle Jr (2012) The neural background of hyperemotional aggression induced by post-weaning social isolation. *Behav Brain Res* 233: 120–129.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.04.025>
23. Hashikawa Y, Hasikawa K, Falkner AL, Lin D (2017) Ventromedial hypothalamus and the generation of aggression. *Front System Neuroscie* 11: 1–13.
<https://doi.org/10.2289/fnsys.2017.00094>
24. Sylvia KE, Ramos PB, Demas GE (2018) Sickness-induced changes in physiology do not affect fecundity or same-sex behavior. *Physiol Behav* 184: 68–77.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.11.002>
25. Shin SY, Han SH, Woo R-S, Jang SH, Min SS (2016) Adolescent mice show anxiety- and aggressive-like behavior and the reduction of long-term potentiation in mossy fiber-CA3 synapses after neonatal maternal separation. *Neuroscience* 316: 221–231.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.12.041>
26. Yang CR, Bai YY, Ruan CS, Zhou HF, Liu D, Wang XF, Shen LJ, Zheng HY, Zhou XF (2015) Enhanced aggressive behaviour in a mouse model of depression. *Neurotox Res* 27: 129–142.
<https://doi.org/10.1007/s12640-014-9498-4>
27. Barabas AJ, Lucas JR, Erasmus MA, Cheng HW, Gaskill BN (2021) Who's the boss? Assessing convergent validity of aggression-based dominance measures in male laboratory mice, *Mus Musculus*. *Front Vet Sci* 8: 695948.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2021.695948>
28. Mayila Y, Matsuzaki T, Iwasa T, Tungalagsuvd A, Munkhzaya M, Yano K, Yanagihara R, Tokui T, Kato T, Kuwahara A, Irahara M (2018) The reduction in sexual behavior induced by neonatal immune stress is not related to androgen levels in male rats. *Int J Dev Neurosci* 71: 163–171.
<https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2018.08.003>
29. Rhees RW, Lephart ED, Eliason D (2001) Effects of maternal separation during early postnatal development on male sexual behavior and female reproductive function. *Behav Brain Res* 123: 1–10.
[https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(00\)00381-8](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(00)00381-8)
30. Broshevitskaya N, Pavlova I, Zaichenko M, Gruzdeva V, Grigoryan GA (2021) Effects of early pro-inflammatory stress on anxiety and depression-like behavior in rats of different ages. *Neurosci Behav Physiol* 51: 390–401.
<https://doi.org/10.1007/s11055-021-01083-5>

31. Grigoryan GA (2020) Sex differences in behaviour and biochemical markers in animals in response to neuroinflammatory stress. *Uspehi Physiol Nauk* 51: 18–32.
<https://doi.org/10.31857/S0301179820010051>
32. Fonken LK, Frank MG, Gaudet AD, D'Angelo HM, Daut RA, Hampson EC, Ayala MT, Watkins LR, Maier SF (2018) Neuroinflammatory priming to stress is differentially regulated in male and female rats. *Brain Behav Immun* 70: 257–267.
<https://doi.org/10.1016/j.bbi.2018.03.005>
33. Villa A, Rizzi N, Vegeto E, Ciana P, Maggi A (2015) Estrogen accelerates the resolution of inflammation in macrophagic cells. *Sci Rep* 5: 15224.
<https://doi.org/10.1038/srep15224>
34. Najjar F, Ahmad M, Lagace D, Leenen FHH (2018) Sex differences in depression-like behavior and neuroinflammation in rats post MI: role of estrogens. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 315: H1159–H1173.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00615.2017>

Influence of Immune System Activation in Early Ontogenesis on Aggressiveness and Sexual Motivationi Adult Wistar Rats

I. V. Pavlova^a, * and N. D. Broshevitskaya^a

^a*Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, RAS, Moscow, Russia*

*e-mail: pavlovfml@mail.ru

Stresses in early ontogenesis can influence anxiety-depressive, defensive and social behavior, as well as the immune and hormonal reactivity of adult animals. The model of early proinflammatory stress assumes activation of the immune system by the introduction of bacterial lipopolysaccharide (LPS) in early ontogenesis. Whether neonatal LPS stress impacts aggressive behavior or sexual motivation is still unknown. Pathological aggressiveness and disorders in sexual behavior are characteristic of many neuropsychiatric diseases, therefore, the study of the prerequisites for their occurrence is highly relevant. On the 3rd and 5th day after birth, the rats were injected with either LPS at a dose of 50 mcg/kg (LPS group) or saline solution (SAL group, control). The aggressive behavior of adult rats in the resident-intruder test after a week of social isolation was analyzed, as well as the sexual preference of males or females in a three-chamber test. The behavior of rats was compared with baseline levels of corticosterone and interleukin-1beta in blood serum. The males of the LPS group compared with the control had more attacks on the intruder in the resident-intruder test, and the number of attacks did not decrease by the end of the experiment. The males of the LPS group had an increased interaction time with the female at the diestrus stage in the social preference test of males and females. There were no changes in aggressive behavior in females after the administration of LPS in early ontogenesis. The baseline level of interleukin-1beta was higher in males, and corticosterone was higher in females, there were no differences between the LPS and PHYS groups in biochemical parameters. The results obtained indicate an increase in aggressiveness provoked by social isolation, as well as sexual motivation in adult males after early pro-inflammatory stress, i.e., a change in the motivational and emotional component in social behavior.

Keywords: early pro-inflammatory stress, lipopolysaccharide, aggression, sexual preference, corticosterone, interleukin-1β