
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**АНАЛИЗ КОРРЕЛЯЦИЙ МЕЖДУ ПАРАМЕТРАМИ ПОВЕДЕНИЯ
В ПРИПОДНЯТОМ КРЕСТООБРАЗНОМ ЛАБИРИНТЕ И УРОВНЕМ
ИНТЕРЛЕЙКИНА-1БЕТА В ПЛАЗМЕ КРОВИ У КРЫС**

© 2024 г. Н. П. Комышева*, Г. Т. Шишкина, А. И. Мухамадеева, Н. Н. Дыгало

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

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

Поступила в редакцию 21.05.2024 г.

После доработки 21.06.2024 г.

Принята к публикации 21.06.2024 г.

Периферические цитокины могут влиять на психоэмоциональное поведение, однако роль интерлейкина-1бета (ИЛ-1бета) в изменении тревожности и двигательной активности в ответ на активацию воспаления остается неясной. С целью прояснения этого вопроса у взрослых самцов крыс были проанализированы корреляции между поведенческими параметрами в тесте приподнятого крестообразного лабиринта (ПКЛ) и уровнем ИЛ-1бета в плазме крови после введения в разных режимах провоспалительного стимула липополисахарида (ЛПС). ЛПС в дозах 0.5 или 5 мг/кг, а также физиологический раствор (контроль) вводили крысам внутривенно. Наиболее выраженным поведенческим эффектом через сутки после однократной инъекции было зависимое от дозы эндотоксина угнетение двигательной активности животных. После дозы 5 мг/кг через сутки также отмечалось повышенное тревожное поведение. Поведенческие изменения, вызванные высокой дозой эндотоксина, были полностью нормализованы через неделю. Поведение животных через сутки окончания повторных инъекций ЛПС в меньшей дозе в течение недели (0.5 мг/кг; 1 раз в два дня) также не отличалось от контроля. Угнетение двигательной активности после ЛПС могло быть обусловлено увеличением уровня ИЛ-1бета в плазме крови, на что указывают выявленные достоверные отрицательные корреляции между содержанием ИЛ-1бета и соответствующими поведенческими параметрами. Между периферическим уровнем ИЛ-1бета и таким классическим показателем тревожности, как процент входов в открытые рукава лабиринта, достоверной корреляции не обнаружено. В целом полученные результаты позволяют заключить, что ИЛ-1бета является несомненным участником механизма транзиторного угнетающего влияния ЛПС на двигательную активность.

Ключевые слова: липополисахарид, провоспалительные цитокины, интерлейкин-1бета, воспаление, тревожность, двигательная активность

DOI: 10.31857/S0869813924070068, **EDN:** BDQFTD

ВВЕДЕНИЕ

Многочисленные данные указывают на связь периферического воспаления с развитием аффективных расстройств [1]. Наиболее убедительные результаты получены в отношении депрессии, в провоцировании которой ключевую роль отводят провоспалительным цитокинам [2–4]. Повышенные уровни этих цитокинов, среди

которых фактор некроза опухоли (ФНО) и интерлейкины 6 (ИЛ-6), 12 (ИЛ-12) и 17 (ИЛ-17А) обнаруживаются в крови пациентов с большим депрессивным расстройством [5]. Значение периферических цитокинов в развитии тревожных расстройств традиционно привлекало меньше внимания, однако выявление воспалительных процессов у пациентов с повышенной тревожностью [6, 7] обусловило рост исследований, в том числе и в модельных экспериментах на животных, выявляющих взаимоотношения между показателями тревоги и уровнями цитокинов.

В экспериментальных работах для провоцирования воспаления наиболее часто используют бактериальный эндотоксин (липополисахарид, ЛПС). Помимо иммунной активации через экспрессирующийся на поверхности макрофагов толл-подобный рецептор-4, введение эндотоксина способно также провоцировать поведенческие изменения, аналогичные клиническим симптомам депрессии у человека [8, 9]. Наиболее типичным ответом на ЛПС является снижение двигательной активности, которое однако, как полагают, отражает развитие, особенно в первые часы после введения, так называемого «болезненного» состояния (sickness), маскирующего реальные изменения аффективного поведения [10]. Поэтому минимальным сроком для исследования механизмов влияния ЛПС на поведение, в том числе и тревожность, считаются сутки после введения, когда симптомы «болезненного» состояния, включающие снижение исследовательской активности и пищевого поведения, значительно ослабевают [9].

Механизмы индукции эндотоксином поведенческих ответов могут включать увеличение экспрессии провоспалительных цитокинов. В сыворотке и префронтальной коре самцов мышей через сутки после однократного введения ЛПС обнаружено увеличение уровней провоспалительных цитокинов, таких ИЛ-1бета, ИЛ-6 и ФНО-альфа [11]. Уровни цитокинов на периферии довольно быстро возвращаются к контрольным значениям, например, уровень ИЛ-1бета в плазме крови был значительно повышен через 90 мин после внутривенного введения ЛПС, а далее этот уровень быстро, в течение нескольких часов, снижался [12]. В то же время в центральной нервной системе, вызванные эндотоксином изменения могут наблюдаться значительно дольше, например, и через 26 дней после внутрижелудочкового введения [13], что объясняет повышенный интерес именно к центральным цитокинам в связи с поведенческими эффектами ЛПС [14–18].

С целью дальнейшего прояснения роли периферического ИЛ-1бета в индукции эндотоксином поведенческих изменений, ассоциируемых с тревожностью и двигательной активностью, в представленной работе были проанализированы коррелятивные отношения между значениями поведенческих параметров в тесте приподнятого крестообразного лабиринта (ПКЛ) и уровнями ИЛ-1бета в плазме крови крыс после введения ЛПС в разных дозах и режимах. Мы выбрали ПКЛ, поскольку он позволяет оценивать в одном тесте тревожное поведение, а также двигательную активность животных. К ключевым параметрам, связанным с тревожностью, относят процент входов в открытые рукава, в то время как количество входов в закрытые рукава, а также общее количество входов в рукава связывают с двигательной активностью [19, 20].

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работу проводили на взрослых самцах крыс (Wistar) массой тела 200–250 г, содержащихся в виварии Института цитологии и генетики СО РАН в условиях контролируемого светового режима (14 ч свет/10 ч темнота) со свободным доступом к воде и корму.

Воспаление у крыс индуцировали внутрибрюшинным введением ЛПС (серотип O55:B5; Sigma-Aldrich, США). Было проведено два эксперимента. В первом оценивали зависимость ответов от дозы эндотоксина (0.5 или 5 мг/кг) через сутки после однократного введения. Во втором, 7-дневном эксперименте, анализировали адаптацию к повторным инъекциям (4 инъекции, 1 раз в два дня в дозе 0.5 мг/кг, исследования проводили через

сутки после последнего введения) и к однократной высокой дозе (5 мг/кг, исследовали через 7 дней). Во всех экспериментах контрольные животные получали соответствующие инъекции физиологического раствора. В каждой группе было по 6–8 животных.

ПКЛ. Тестовый аппарат ПКЛ (стандартной конфигурации) был приподнят на 65 см от пола и имел по два противоположно расположенных открытых и закрытых (со стенками высотой 40 см) рукавов, соединенных центральной площадкой (10 × 10 см). Длина рукавов – 45 см, ширина – 10 см. Животное высаживали на центральную площадку с обращением к одному и тому же открытому рукаву. Поведение животного в течение 5-минутного теста записывали с помощью видеокамеры для последующей оценки исследователями, незнакомыми с условиями эксперимента. Проанализированные поведенческие параметры представляли комбинацию исследовательского и тревожного поведения, а также общей активности животных, среди которых число входов в открытые и закрытые рукава, число вставаний на задние лапы (rears), а также продолжительность пройденного в рукавах расстояния. После каждого теста лабиринт промывался мыльной водой и просушивался бумажными полотенцами.

ИЛ-1бета. У животных после теста собирали периферическую кровь в холодные пробирки, содержащие 0.05 мл 0.25 М ЭДТА, центрифугировали при 3000 об/мин и 4 °С в течение 20 мин, затем отделяли плазму, которую хранили при –60°С до определения ИЛ-1бета иммуоферментным методом с помощью набора кат. № BMS630TEN (Invitrogen by Thermo Fisher Scientific, Австрия) в соответствии с инструкцией производителя. Вкратце, образцы или стандарт приливали в 96-луночный планшет. Затем добавляли подготовленный биотин-конъюгат и после 120-минутной инкубации при 25 °С в каждую лунку приливали стрептавидин-конъюгат пероксидазы хрена, связывающую биотин-конъюгат. После инкубации в течение 60 мин при 25 °С в лунки добавляли раствор тетраметилбензидина до появления необходимой окраски, затем приливали стоп-раствор. Абсорбцию образцов определяли при длине волны 450 нм с помощью планшетного ИФА-ридера BIOBASE BK-EL10C (Biobase Bioindustry Shandong Co, Ltd), расчет концентрации ИЛ-1бета проводили автоматически по стандартной кривой.

Статистический анализ. Статистическую обработку полученных результатов проводили однофакторным дисперсионным анализом (фактор – введение ЛПС) с последующей оценкой межгрупповых различий по критерию Тьюки. При прямых сравнениях групп использовали *t*-критерий Стьюдента. Наличие корреляционных взаимоотношений оценивали по Пирсону. Различия считали достоверными при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Поведение в тесте ПКЛ

Однофакторный дисперсионный анализ выявил значительное влияние ЛПС на процент входов в открытые рукава лабиринта (эффект ЛПС: $F_{2,18} = 3.76$; $p < 0.05$, рис. 1а). Последующие сравнения отдельных групп показали, что ЛПС в дозе 5 мг/кг достоверно снижал значение этого показателя по сравнению с контролем, что классически интерпретируется как повышение тревожно-подобного поведения. Изменение после введения ЛПС в дозе 0.5 мг/кг не достигало достоверности. Сходный, зависимый от дозы эффект, обнаружен также в отношении других ассоциированных с повышенной тревожностью параметров. Введение ЛПС в дозе 5 мг/кг уменьшало число «выглядываний» вниз с открытых рукавов (рис. 1б) и процент времени, проводимого на центральной площадке (рис. 1с). Результаты, представленные на этих рисунках, также показывают, что тревожность, повышенная через сутки после более высокой дозы, через неделю возвращалась к контрольному уровню. Тревожное поведение, оцененное в лабиринте через сутки после четырех повторных введений ЛПС в дозе 0.5 мг/кг в течение недели (1 раз в 2 дня), также не отличалось от контроля (данные не показаны).

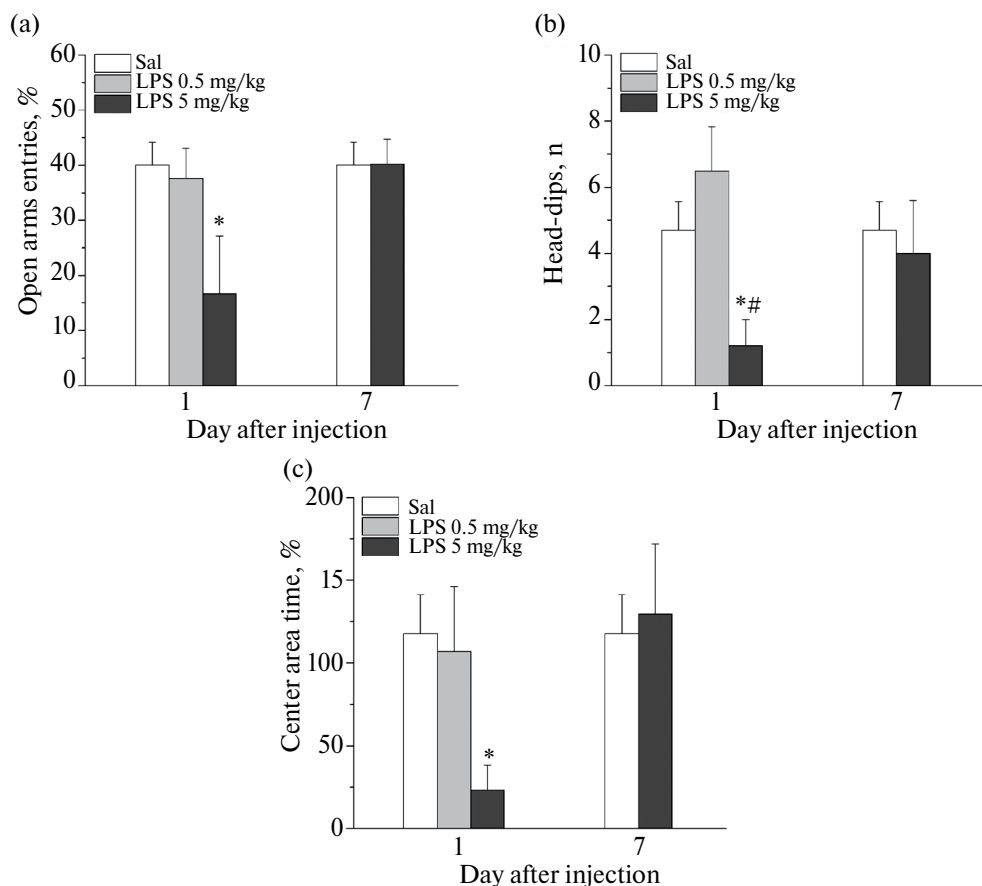


Рис. 1. Изменение параметров тревожного поведения взрослых крыс в тесте ПКЛ через 1 и 7 дней после однократного внутривбрюшинного введения ЛПС: (a) – процент входов в открытые рукава (Open arms entries, %); (b) – количество выглядываний с открытых рукавов (Head-dips, n); (c) – процент времени нахождения на центральной площадке (Center area time, %). * – $p < 0.05$ по сравнению с животными через сутки после введения физиологического раствора; # – $p < 0.05$ по сравнению с животными через сутки после введения ЛПС в дозе 0.5 мг/кг.

В тесте ПКЛ проводили также оценку двигательной активности животных. Однократное введение ЛПС, особенно в более высокой дозе, угнетало по сравнению с контролем активность, измеренную через сутки (рис. 2). После введения эндотоксина в дозе 5 мг/кг животные демонстрировали достоверное уменьшение общего числа входов в открытые и закрытые рукава (эффект ЛПС: $F_{2,18} = 3.57$; $p < 0.05$, рис. 2a), числа вставаний на задние лапы (эффект ЛПС: $F_{2,18} = 12.37$; $p < 0.001$, рис. 2b), расстояния, пройденного в закрытых рукавах (эффект ЛПС: $F_{2,18} = 7.29$; $p < 0.01$, рис. 2c) и суммарно во всех рукавах (эффект ЛПС: $F_{2,18} = 7.53$; $p < 0.01$, рис. 2d). Снижение двигательной активности, обнаруженное через сутки после введения эндотоксина, нормализовалось к 7-му дню.

Двигательная активность животных, оцененная через сутки после повторных введений ЛПС в дозе 0.5 мг/кг в течение недели (1 раз в 2 дня, 4 инъекции), не отличалась от контроля (данные не показаны).

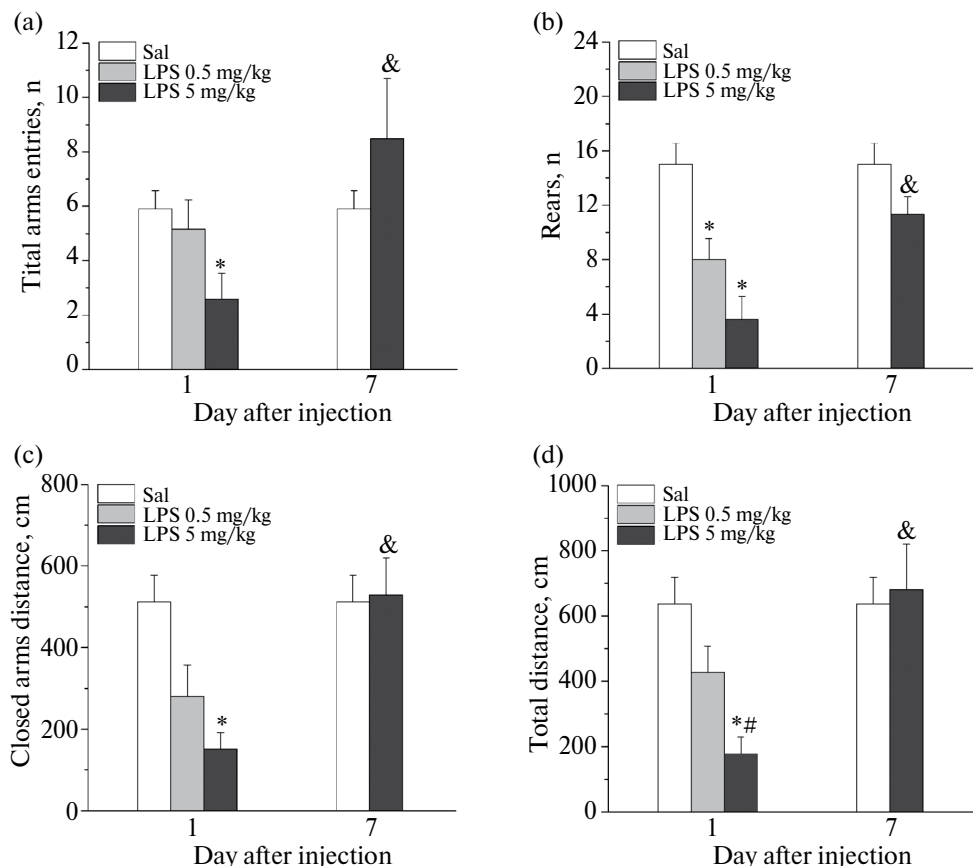


Рис. 2. Изменение параметров двигательной активности взрослых крыс в тесте ПКЛ через 1 и 7 дней после однократного внутрибрюшинного введения ЛПС: (а) – общее число входов в открытые и закрытые рукава (Total arms entries, n); (б) – число вставаний на задние лапы (Rears, n); (с) – пройденное расстояние в закрытых рукавах (Closed arms distance, cm); (д) – общее пройденное расстояние в открытых и закрытых рукавах (Total distance, cm). * – $p < 0.05$ по сравнению с животными через сутки после введения физиологического раствора; # – $p < 0.05$ по сравнению с животными через сутки после введения ЛПС в дозе 0.5 mg/kg ; & – $p < 0.05$ по сравнению с животными через сутки после введения ЛПС в дозе 5 mg/kg .

Уровень ИЛ-1бета в плазме крови

На рис. 3 представлено, что уровень ИЛ-1бета в крови животных через сутки после однократного введения ЛПС как в низкой, так и в высокой дозе был достоверно увеличен (эффект ЛПС: $F_{2,18} = 14.22$; $p < 0.001$). Этот повышенный уровень полностью нормализовался в течение последующей недели (на рисунке проиллюстрировано для более высокой дозы). Уровень цитокина через сутки после повторных введений ЛПС в дозе 0.5 mg/kg в течение недели (1 раз в 2 дня; 4 инъекции) не отличался от контроля (данные не показаны).

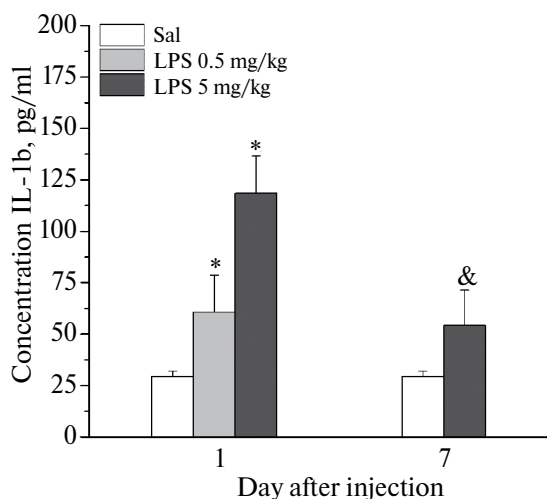


Рис. 3. Изменение уровня ИЛ-1бета в плазме крови крыс через 1 и 7 дней после однократного внутрибрюшинного введения ЛПС. * – $p < 0.05$ по сравнению с животными через сутки после введения физиологического раствора; & – $p < 0.05$ по сравнению с животными через сутки после введения ЛПС в дозе 5 мг/кг.

Корреляции между поведенческими параметрами и уровнями ИЛ-1бета в плазме крови

Увеличенные уровни ИЛ-1бета могут вовлекаться в повышение тревожности и угнетение двигательной активности животных после введения ЛПС. Проведенный корреляционный анализ выявил наличие достоверной отрицательной корреляции между уровнями ИЛ-1бета и значениями параметров, ассоциированных с двигательной активностью: с числом вставаний на задние лапы ($r = -0.73$; рис. 4а), с продолжительностью пройденного расстояния в закрытых ($r = -0.58$; рис. 4б) и суммарно в открытых и закрытых ($r = -0.49$; рис. 4с) рукавах. Вместе с тем корреляции между уровнями ИЛ-1бета и значениями параметров, ассоциированных с тревожностью и включающих процент входов в открытые рукава ($r = -0.31$; рис. 4д), не достигали достоверности.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Новым результатом, полученным в работе, является выявленное свидетельство корреляционной взаимосвязи сниженной двигательной активности животных с повышенным уровнем провоспалительного цитокина ИЛ-1бета в крови через сутки после введения ЛПС. Минимальный использованный для исследования в работе срок после введения эндотоксина – сутки, позволяет избежать маскирующего изменение аффективного поведения «болезненным» состоянием, развивающимся в первые часы после воздействия [9], и способствует отделению влияния ЛПС на двигательную активность от влияния на тревожное поведение. Например, связываемое с увеличением периферического уровня ИЛ-1бета уменьшение числа входов в открытые рукава через 2 ч после введения ЛПС в дозе 5 мг/кг, но не 1 мг/кг, полагают, обусловлено угнетением общей двигательной активности [10]. Впервые проведенный корреляционный анализ между значениями поведенческих параметров и периферическими уровнями ИЛ-1бета показал наличие достоверных отрицательных корреляций для показателей двигательной активности и отсутствие каких-либо корреляций для тревожного поведения.

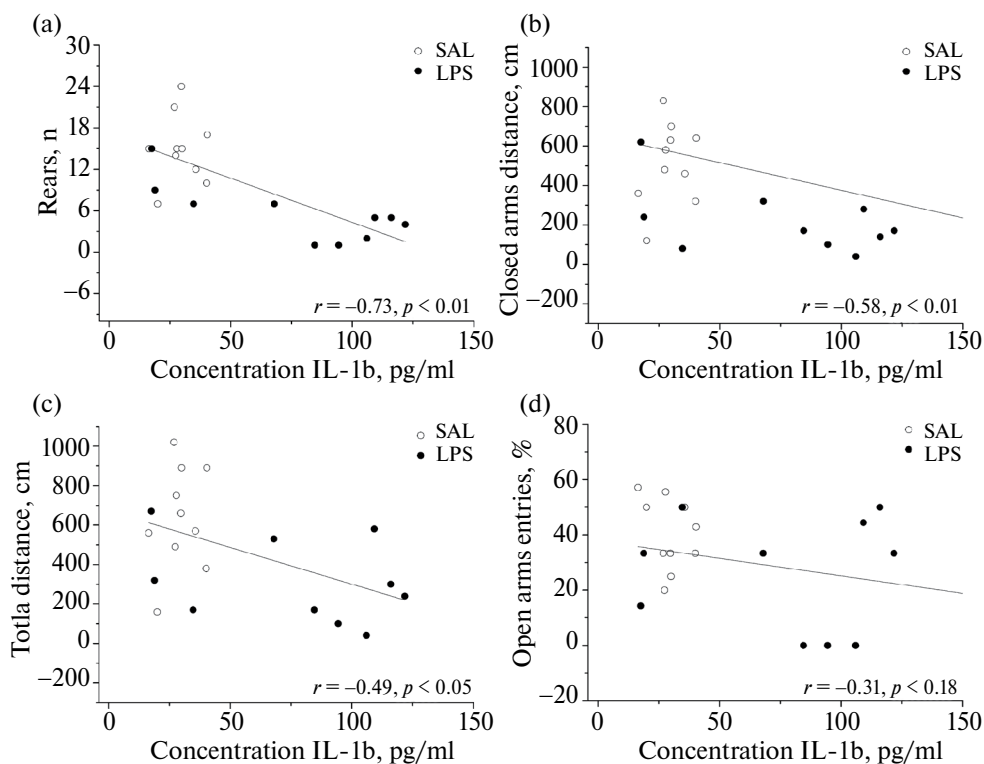


Рис. 4. Корреляции между уровнями ИЛ-1бета в плазме крови и поведенческими параметрами в тесте ПКЛ через сутки после введения ЛПС: (а) – числом вставаний на задние лапы; (б) – пройденным расстоянием в закрытых рукавах; (с) – общим пройденным расстоянием в открытых и закрытых рукавах; (д) – процентом входов в открытый рукава.

В нашей работе повышение тревожности наблюдалось через сутки после системного введения ЛПС в дозе 5 мг/кг, что согласуется с результатами теста ПКЛ в эти сроки у мышей после введения эндотоксина в дозе 1 мг/кг [15], 0.8 мг/кг [17] или 0.83 мг/кг [16]. В наших исследованиях изменений показателей тревожности не обнаружено через 24 ч после введения ЛПС в меньшей дозе – 0.5 мг/кг. Исследование зависимости ответа тревожного поведения от дозы вводимого эндотоксина обычно проводили в первые несколько часов после введения. И если через 2 ч все дозы ЛПС (0.25, 0.5 и 1 мг/кг) достоверно снижали у крыс процент входов в открытые рукава [21], то через 3 ч такой эффект был обнаружен от дозы 0.5 мг/кг, но не 0.01, 0.05 или 0.2 мг/кг [22]. Изменения тревожного поведения через 2 и 3 ч после дозы 0.5 мг/кг, в отличие от отсутствия эффекта от такой дозы в нашем исследовании, проведенном через сутки, очевидно, связано с развитием «болезненного» состояния в первые часы после введения.

Хотя длительные, в течение двух и более недель, повторные введения ЛПС в неэффективной через сутки дозе в 0.5 мг/кг приводили к стойкому увеличению тревожности [23, 24], применение менее продолжительных, всего в течение недели, повторных введений эндотоксина в этой же дозе не повлияло на тревожное поведение животных, оцененное через сутки после последнего введения. Сходное отсутствие различий по уровню тревож-

ности между контрольными животными и животными, получавшими ежедневные в течение четырех дней инъекции ЛПС в дозе 1 мг/кг, через сутки после последнего введения было обнаружено ранее в тесте темно-светлая камера (light-dark test) [25]. Отсутствие поведенческих эффектов после повторяющихся введений эндотоксина может быть результатом развития к нему резистентности, например, за счет обнаруженного ранее адаптивного увеличения экспрессии мозгового нейротрофического фактора BDNF и антиапоптозного белка Bcl-xl в разных отделах мозга крыс после внутрибрюшинного введения ЛПС [26].

Повышенная тревожность в тесте ПКЛ после однократного введения ЛПС отмечалась у мышей и на второй день после дозы 1 мг/кг [18]. В нашей работе поведенческие изменения у крыс после введения ЛПС в дозе 5 мг/кг были полностью нивелированы на 7-й день. Эти результаты согласуются с полученными ранее на крысах данными, где через 7 дней после введения ЛПС в дозе 5 мг/кг также не было обнаружено отличий от контрольных животных по уровню тревожности в тесте ПКЛ [27].

Наиболее распространенным ответом на введение ЛПС является угнетение двигательной активности. Это угнетение, обнаруженное в ПКЛ через 24 ч после однократного введения ЛПС в дозах 0.5 и 5 мг/кг, согласуется с данными других исследователей, наблюдавших подобный эффект, например, в тесте открытого поля у мышей через сутки после введения ЛПС в дозе 0.83 мг/кг [28].

Механизмы индукции эндотоксином поведенческих ответов могут включать увеличение экспрессии провоспалительных цитокинов. В сыворотке и префронтальной коре самцов мышей через сутки после однократного введения ЛПС (0.83 мг/кг) иммуноферментным методом было обнаружено увеличение уровней провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-1бета, ИЛ-6 и ФНО-альфа [11]. Измененные уровни периферических цитокинов, в том числе и ИЛ-1бета [29, 12], как правило, быстро, в зависимости от дозы введенного эндотоксина, нормализуются. В нашей работе уровень ИЛ-1бета в плазме крови, повышенный через сутки после однократного введения ЛПС, не отличался от контроля через неделю как после однократной, так и после повторных инъекций в течение этого периода. В части последствий повторных введений следует отметить сходство наших результатов с некоторыми результатами предшествующих исследований. В этих исследованиях уровень ИЛ-1бета после окончания введения крысам ЛПС в дозах 1 или 2 мг/кг ежедневно в течение 7 дней не отличался от контроля [30]. В отличие от периферии в центральной нервной системе вызванные эндотоксином изменения могут сохраняться более длительное время, например, и через 26 дней после внутрижелудочкового введения [13], что объясняет повышенный интерес в связи с поведенческими эффектами преимущественно к центральным цитокинам. В разных работах повышению тревожного поведения через сутки сопутствовало увеличение уровня цитокина в базолатеральной миндалине [16] или экспрессии его гена в гиппокампе [15, 17] и префронтальной коре [15]. Увеличение уровня белка и мРНК ИЛ-1бета в гиппокампе обнаруживалось у мышей вместе с повышенной тревожностью и через 2 суток после введения [18]. Подавление экспрессии гена этого цитокина в гиппокампе мышей значительно ослабляло у животных тревожность, оцененную в тесте открытого поля через сутки после введения ЛПС в дозе 1 мг/кг [14].

Вызываемое эндотоксином транзиторное увеличение периферических уровней ИЛ-1бета, по-видимому, не столь важно для изменения тревожности, как для двигательной активности, что подтверждается отсутствием выявленных в нашей работе достоверных корреляций со значениями ассоциированных с повышенной тревожностью поведенческих показателей. На наличие же взаимосвязи между угнетением двигательной активности и повышением уровня ИЛ-1бета указывает выявленная впервые достоверная отрицательная корреляция между значениями этих параметров через сутки после введения ЛПС.

Таким образом, полученные результаты указывают на участие индуцированного ЛПС повышения содержания ИЛ-1бета, прежде всего, в транзиторном угнетающем влиянии эндотоксина на двигательную активность.

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы (Г. Т. Ш., Н. Н. Д.), сбор данных (Г. Т. Ш., Н. П. К.), обработка данных (Г. Т. Ш., Н. П. К., А. И. М.), написание и редактирование манускрипта (Г. Т. Ш., Н. Н. Д., Н. П. К., А. И. М.).

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджетного проекта № FWNR-2022–0023. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводились в соответствии с международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с лабораторными животными и были одобрены Комиссией по биоэтике Института цитологии и генетики СО РАН, протокол № 8 от 19.03.2012 г.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zhong X, Qiang Y, Wang L, Zhang Y, Li J, Feng J, Cheng W, Tan L, Yu J (2023) Peripheral immunity and risk of incident brain disorders: a prospective cohort study of 161,968 participants. *Transl Psychiatry* 13(1): 382.
<https://doi.org/10.1038/s41398-023-02683-0>
2. Petralia MC, Mazzon E, Fagone P, Basile MS, Lenzo V, Quattropani MC, Di Nuovo S, Bendtzen K, Nicoletti F (2020) The cytokine network in the pathogenesis of major depressive disorder. Close to translation? *Autoimmun Rev* 19(5): 102504.
<https://doi.org/10.1016/j.autrev.2020.102504>
3. Réus GZ, Manosso LM, Quevedo J, Carvalho AF (2023) Major depressive disorder as a neuro-immune disorder: Origin, mechanisms, and therapeutic opportunities. *Neurosci Biobehav Rev* 155: 105425.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2023.105425>
4. Chang J, Jiang T, Shan X, Zhang M, Li Y, Qi X, Bian Y, Zhao L (2024) Pro-inflammatory cytokines in stress-induced depression: Novel insights into mechanisms and promising therapeutic strategies. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 131: 110931.
<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2023.110931>
5. Syed SA, Beurel E, Loewenstein DA, Lowell JA, Craighead WE, Dunlop BW, Mayberg HS, Dhabhar F, Dietrich WD, Keane RW, de Rivero Vaccari JP, Nemeroff CB (2018) Defective Inflammatory Pathways in Never-Treated Depressed Patients Are Associated with Poor Treatment Response. *Neuron* 99(5): 914–924.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.08.001>
6. Tang Z, Ye G, Chen X, Pan M, Fu J, Fu T, Liu Q, Gao Z, Baldwin DS, Hou R (2018) Peripheral proinflammatory cytokines in Chinese patients with generalised anxiety disorder. *J Affect Disord* 225: 593–598.
<https://doi.org/10.1016/j.jad.2017.08.082>
7. Liu CH, Hua N, Yang HY (2021) Alterations in Peripheral C-Reactive Protein and Inflammatory Cytokine Levels in Patients with Panic Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Neuropsychiatr Dis Treat* 17: 3539–3558.
<https://doi.org/10.2147/ndt.s340388>
8. Yirmiya R (1996) Endotoxin produces a depressive-like episode in rats. *Brain Res* 711(1–2): 163–174.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(95\)01415-2](https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)01415-2)
9. Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW (2008) From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci* 9(1): 46–56.
<https://doi.org/10.1038/nrn2297>

10. *Swiergiel AH, Dunn AJ* (2007) Effects of interleukin-1beta and lipopolysaccharide on behavior of mice in the elevated plus-maze and open field tests. *Pharmacol Biochem Behav* 86(4): 651–659. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2007.02.010>
11. *Weng L, Dong S, Wang S, Yi L, Geng D* (2019) Macranthol attenuates lipopolysaccharide-induced depressive-like behaviors by inhibiting neuroinflammation in prefrontal cortex. *Physiol Behav* 204: 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2019.02.010>
12. *Brognara F, Castania JA, Kanashiro A, Dias DPM, Salgado HC* (2021) Physiological Sympathetic Activation Reduces Systemic Inflammation: Role of Baroreflex and Chemoreflex. *Front Immunol* 12: 637845. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.637845>
13. *Lee B, Shim I, Lee H, Hahm DH* (2018) Gypenosides attenuate lipopolysaccharide-induced neuroinflammation and anxiety-like behaviors in rats. *Anim Cells Syst (Seoul)* 22(5): 305–316. <https://doi.org/10.1080/19768354.2018.1517825>
14. *Li M, Li C, Yu H, Cai X, Shen X, Sun X, Wang J, Zhang Y, Wang C* (2017) Lentivirus-mediated interleukin-1 β (IL-1 β) knock-down in the hippocampus alleviates lipopolysaccharide (LPS)-induced memory deficits and anxiety- and depression-like behaviors in mice. *J Neuroinflammat* 14(1): 190. <https://doi.org/10.1186/s12974-017-0964-9>
15. *Alzarea S, Rahman S* (2019) Alpha-7 nicotinic receptor allosteric modulator PNU120596 prevents lipopolysaccharide-induced anxiety, cognitive deficit and depression-like behaviors in mice. *Behav Brain Res* 366: 19–28. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.03.019>
16. *Zheng ZH, Tu JL, Li XH, Hua Q, Liu WZ, Liu Y, Pan BX, Hu P, Zhang WH* (2021) Neuroinflammation induces anxiety- and depressive-like behavior by modulating neuronal plasticity in the basolateral amygdala. *Brain Behav Immun* 91: 505–518. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.11.007>
17. *Matsuura S, Nishimoto Y, Endo A, Shiraki H, Suzuki K, Segi-Nishida E* (2023) Hippocampal Inflammation and Gene Expression Changes in Peripheral Lipopolysaccharide Challenged Mice Showing Sickness and Anxiety-Like Behaviors. *Biol Pharm Bull* 46(9): 1176–1183. <https://doi.org/10.1248/bpb.b22-00729>
18. *Shentu Y, Chen M, Wang H, Du X, Zhang W, Xie G, Zhou S, Ding L, Zhu Y, Zhu M, Zhang N, Du C, Ma J, Chen R, Yang J, Fan X, Gong Y, Zhang H, Fan J* (2024) Hydrogen sulfide ameliorates lipopolysaccharide-induced anxiety-like behavior by inhibiting checkpoint kinase 1 activation in the hippocampus of mice. *Exp Neurol* 371: 114586. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2023.114586>
19. *Cruz AP, Frei F, Graeff FG* (1994) Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav* 49(1): 171–176. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(94\)90472-3](https://doi.org/10.1016/0091-3057(94)90472-3)
20. *Walf AA, Frye CA* (2007) The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nat Protoc* 2(2): 322–328. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.44>
21. *Nava F, Carta G* (2001) Melatonin reduces anxiety induced by lipopolysaccharide in the rat. *Neurosci Lett* 307(1): 57–60. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(01\)01930-9](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(01)01930-9)
22. *Bassi GS, Kanashiro A, Santin FM, de Souza GE, Nobre MJ, Coimbra NC* (2012) Lipopolysaccharide-induced sickness behaviour evaluated in different models of anxiety and innate fear in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 110(4): 359–369. <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2011.00824.x>
23. *Gong X, Hu H, Qiao Y, Xu P, Yang M, Dang R, Han W, Guo Y, Chen D, Jiang P* (2019) The Involvement of Renin-Angiotensin System in Lipopolysaccharide-Induced Behavioral Changes, Neuroinflammation, and Disturbed Insulin Signaling. *Front Pharmacol* 10: 318. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00318>
24. *Shishkina GT, Bannova AV, Komysheva NP, Dygalo NN* (2020) Anxiogenic-like effect of chronic lipopolysaccharide is associated with increased expression of matrix metalloproteinase 9 in the rat amygdala. *Stress* 23(6): 708–714. <https://doi.org/10.1080/10253890.2020.1793943>
25. *Moraes MM, Galvão MC, Cabral D, Coelho CP, Queiroz-Hazarbassanov N, Martins MF, Bondan EF, Bernardi MM, Kirsten TB* (2017) Propentofylline Prevents Sickness Behavior and Depressive-Like Behavior Induced by Lipopolysaccharide in Rats via Neuroinflammatory Pathway. *PLoS One* 12(1): e0169446. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169446>

26. *Komyшева NP, Shishkina GT, Kalinina TS, Dygalo NN* (2021) Features of the Responses of the Protective Systems of the Brain in Adult Rats to Stressors and Lipopolysaccharide. *Neurosci Behav Physiol* 51: 367–371.
<https://doi.org/10.1007/s11055-021-01080-8>
27. *Bossù P, Cutuli D, Palladino I, Caporali P, Angelucci F, Laricchiuta D, Gelfo F, De Bartolo P, Caltagirone C, Petrosini L* (2012) A single intraperitoneal injection of endotoxin in rats induces long-lasting modifications in behavior and brain protein levels of TNF- α and IL-18. *J Neuroinflammation* 9: 101.
<https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-101>
28. *Wang X, Zhu L, Hu J, Guo R, Ye S, Liu F, Wang D, Zhao Y, Hu A, Wang X, Guo K, Lin L* (2020) FGF21 Attenuated LPS-Induced Depressive-Like Behavior via Inhibiting the Inflammatory Pathway. *Front Pharmacol* 11: 154.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00154>
29. *Wang Q, Timberlake MA 2nd, Prall K, Dwivedi Y* (2017) The recent progress in animal models of depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 77: 99–109.
<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2017.04.008>
30. *Salari M, Esmailpour K, Mohammadipoor-Ghasemabad L, Taheri F, Hosseini M, Sheibani V* (2024) Impact of Sleep Deprivation on the Brain's Inflammatory Response Triggered by Lipopolysaccharide and Its Consequences on Spatial Learning and Memory and Long-Term Potentiation in Male Rats. *Neuroimmunomodulation* 31(1): 12–24.
<https://doi.org/10.1159/000535784>

Analysis of Correlations Between Behavioral Parameters in the Elevated Plus Maze and the Levels of Interleukin-1beta in Blood Plasma in Rats

N. P. Komyшева^{a,*}, G. T. Shishkina^a, A. I. Mukhamadeeva^a, and N. N. Dygalo^a

^a*Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*

*e-mail: agarina@bionet.nsc.ru

Peripheral cytokines may influence psychoemotional behavior, but the role of interleukin-1beta (IL-1beta) in altering anxiety and motor activity in response to inflammatory activation remains unclear. To clarify this issue, correlations between behavioral parameters in the elevated plus maze (EPM) test and plasma levels of IL-1beta after administration of the proinflammatory stimulus lipopolysaccharide (LPS) in different modes were analyzed in adult male rats. LPS in doses of 0.5 or 5 mg/kg, as well as physiological solution (control), were administered to rats intraperitoneally. The most pronounced behavioral effect 24 hours after a single injection was an endotoxin dose-dependent inhibition of the animals' motor activity. After a dose of 5 mg/kg, increased anxious behavior was also noted every other day. The behavioral changes caused by the high dose of endotoxin were completely normalized after a week. The behavior of the animals one day after the end of repeated injections of LPS at a lower dose for a week (0.5 mg/kg; once every two days) also did not differ from the control. The inhibition of motor activity after LPS could be due to an increase in the level of IL-1beta in the blood plasma, as indicated by the identified significant negative correlations between IL-1beta and the corresponding behavioral parameters. No significant correlation was found between the peripheral level of IL-1beta and such a classic indicator of anxiety as the percentage of entries into the open arms of the maze. In general, the obtained results allow us to conclude that IL-1beta is an undoubted participant in the mechanism of the transient inhibitory effect of LPS on motor activity.

Keywords: lipopolysaccharide, proinflammatory cytokines, interleukin-1beta, inflammation, anxiety, motor activity