

БЕЛКИ ПЛОТНЫХ КОНТАКТОВ ЦЕРЕБРАЛЬНЫХ ЭНДОТЕЛИОЦИТОВ В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ РАЗВИТИИ

**© Н. В. Кувачева,¹ А. В. Моргун, Н. А. Малиновская, Я. В. Горина,
Е. Д. Хилахжева, Е. А. Пожиленкова, Ю. А. Панина, Е. Б. Бойцова,
В. А. Рузаева, Л. В. Труфанова, А. Б. Салмина**

*Красноярский государственный медицинский университет
им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого Министерства здравоохранения РФ, Красноярск, 660022;
¹ электронный адрес: natalya.kuvacheva@gmail.com*

Формирование и функциональная пластичность гематоэнцефалического барьера неразрывно связана с молекулярными событиями, происходящими в нейроваскулярной единице головного мозга в эмбриональном и раннем постнатальном периодах развития организма. С целью изучения особенностей барьерогенеза в физиологических условиях, а также после перенесенной перинатальной гипоксии и стресса раннего периода жизни мы исследовали белки плотных контактов церебральных эндотелиоцитов (количество JAM-, ZO1- и CLDN5-позитивных клеток) крыс в возрасте 7 (P_7), 28 (P_{28}) и 70 (P_{70}) сут. Установлено, что в физиологических условиях количество клеток, экспрессирующих JAM, ZO1 и CLDN5, незначительно возрастает в период с P_7 до P_{70} в коре, гиппокампе и миндалине головного мозга. После перенесенной перинатальной гипоксии статистически значимо увеличивается количество клеток, экспрессирующих белки плотных контактов (JAM и CLDN5) к возрасту P_{28} — P_{70} , тогда как количество ZO1⁺-клеток в этот же период времени снижается. Стресс раннего периода жизни вызывает дисбаланс между экспрессией ZO1 и других белков плотных контактов, однако изменения эти противоположны по направленности.

Ключевые слова: церебральные эндотелиоциты, белки плотных контактов, гипоксия, стресс раннего периода жизни.

Принятые сокращения: CLDN5 (Claudin-5) — белок плотных контактов, JAM (Junctional adhesion molecule) — белок адгезионных контактов, ZO1 (Zonula occludens 1) — белок плотных контактов, ГЭБ — гематоэнцефалический барьер.

Формирование ГЭБ (барьерогенез) — процесс, реализуемый в эмбриональном и раннем постнатальном периодах развития, а также после перенесенного повреждения головного мозга; кроме того, признаки активации ангиогенеза в головном мозге регистрируются при развитии феномена нейропластичности и запоминания (Wallace et al., 2011; Siegenthaler et al., 2013). Молекулярные механизмы направленной миграции эндотелиальных прогениторных клеток в ткань мозга изучены недостаточно. Вероятнее всего, мобилизация и рекрутинг эндотелиальных прогениторных клеток в развивающемся и зрелом мозге осуществляются благодаря продукции паракринных и эндокринных сигналов, продуцируемых клетками нейроваскулярной единицы в (пато)физиологических условиях.

Нарушение различных этапов барьерогенеза, в том числе формирования плотных контактов церебральных эндотелиоцитов, и функционирования ГЭБ в целом индуцируется многими факторами: давлением во время внутриутробного периода вакулогенеза и нейрогенеза; влиянием патологии беременности и перинатального стресса на регуляцию развития и функционирования ГЭБ и транспортные функции клеток эндотелия с помощью

гуморальных факторов (гормонов стресса, нейропептидов и интерлейкинов); повреждением нейронов и активацией астроцитов и микроглии и развитием нейровоспаления при нейроинфекциях и ишемии. Эти факторы приводят к повышению проницаемости ГЭБ, особенно очевидному у недоношенных детей, системному воспалению и гиперпродукции провоспалительных цитокинов в перинатальном и раннем постнатальном периодах (Fan et al., 2008; Gómez-González, Escobar, 2010; Ek et al., 2012; Saunders et al., 2012; Bueno et al., 2014). Однако малоизученными остаются механизмы, посредством которых все вышеперечисленные факторы индуцируют (или усугубляют) нарушение развития головного мозга, способствуют возникновению ранних и отсроченных признаков неврологического дефицита и поведенческих расстройств. Наиболее чувствительными периодами развития мозга у млекопитающих к действию внешних факторов (в том числе социального характера) являются перинатальный и ранний постнатальный периоды (Nylander, Roman, 2012). Согласно концепции феномена раннего программирования, неблагоприятные факторы, оказывающие влияние на человека в раннем онтогенезе, могут существенным образом исказить нормальный ход разви-

тия мозга и иметь своим результатом формирование патологии спустя многие годы (Oreland et al., 2010; Cioni et al., 2011).

Целью работы явилось изучение механизмов барьерогенеза в физиологических условиях и при действии повреждающих факторов — гипоксии и социального стресса в перинатальном периоде. Задачи исследования: 1) моделирование перинатального гипоксического повреждения и стресса раннего периода жизни у крысят; 2) оценка количества эндотелиоцитов, экспрессирующих белки плотных контактов (JAM, CLDN5 и ZO1) головного мозга крыс в период с 7-х по 70-е сут постнатального развития; 3) оценка пролиферативного потенциала церебральных эндотелиоцитов (JAM^+PCNA^+ -клеток) в указанный период онтогенеза.

Материал и методика

Объектом исследования являлись крысята линии Wistar обоего пола в возрасте 1—70 сут ($n = 75$). Животных содержали в стандартных условиях вивария на основе соблюдения принципов гуманности, изложенных в Директиве Европейского сообщества (в хорошо вентилируемом, освещенном, отапливаемом помещении со своевременной уборкой, стандартным подстилочным материалом, при 12-часовом световом цикле, со свободным доступом к пище и воде).

Животных в возрасте 7, 28 и 70 сут (P_7 , P_{28} и P_{70} соответственно) делили по возрасту на 9 групп. 1—3. Контрольные (К) (интактные) группы: P_7 -К, $n = 7$; P_{28} -К, $n = 9$; P_{70} -К, $n = 10$; 4—6. Крысята с моделями стресса (С) раннего периода жизни: P_7 -С, $n = 7$; P_{28} -С, $n = 7$; P_{70} -С, $n = 6$. 7—9. Крысята с перинатальной гипоксией (Г): P_7 -Г, $n = 11$; P_{28} -Г, $n = 12$; P_{70} -Г, $n = 6$. С учетом шкалы, принятой для экстраполяции данных по развитию мозга экспериментальных животных (крыс) на человека (Clancy et al., 2007), использовали следующие соответствия (при калибровке по интенсивности нейрогенеза): P_7 — 7 сут постнатального развития человека (период новорожденности), P_{28} — 24 мес постнатального развития, а P_{70} — 11.5 года постнатального развития человека.

Моделирование перинатальной гипоксии производили путем помещения крысят на 7-е сут развития на 1.5 ч под купол с низким содержанием (8 %) кислорода при 28—30 °C согласно описанной модели (Zhang et al., 2013). Эта модель в соответствии с результатами экспериментальных исследований, выполненных авторами указанной работы, адекватно заменяет применявшуюся ранее модель гипоксически-ишемического перинатального повреждения головного мозга (Rice et al., 1981) по всему спектру морфологических и функциональных изменений, индуцируемых повреждением. Модель стресса раннего периода жизни выполняли по описанному методу (Uhelski, Fuchs, 2010) путем ежедневного отнятия крысят от матери с 2-х по 15-е сут постнатального развития (на 3 ч в условиях инкубатора). Контролем являлись интактные животные того же возраста.

Иммуногистохимическая оценка экспрессии молекул-маркеров. Регистрацию клеток, экспрессирующих целевые белки, осуществляли путем подсчета числа имmunопозитивных клеток в парафиновых срезах (5 мкм) головного мозга (гиппокампа, миндалины и коры). Окраску проводили двойным непрямым методом согласно протоколу фирмы-производителя с ис-

пользованием первичных антител к белкам плотных контактов церебральных эндотелиоцитов (JAM, CLDN5 и ZO1) и к ядерному антигену пролиферирующих клеток (PCNA) в разведении 1 : 100. В качестве вторичных использовали моноклональные антитела, меченные Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 647 и Alexa Fluor 555 в разведении 1 : 200.

Флуоресцентную микроскопию проводили при увеличении объектива 60× (микроскоп Olympus CX41, Olympus, Япония; видеосистема для анализа изображений: Nikon Coolpix 4500, Nikon, США, видеокамера Olympus DP71, Olympus, Япония; программа для обработки изображений и морфометрии Cell-F). Подсчет относительного количества клеток, экспрессирующих соответствующий антиген, проводили на 300 клетках в образце при анализе не менее 5 полей зрения. Использовали полностью автоматизированный конфокальный лазерный сканирующий микроскоп с водной иммерсией Olympus FV10i-W (Olympus, Япония). При анализе фотоснимков с конфокального микроскопа использовали программу MacBiophotonics ImageJ.

Использованные реактивы: первичные антитела к JAM и PCNA (Abcam, США: ab52647 и ab29 соответственно); к CLDN5 и ZO1 (Santa Cruz, США: sc—28670 и sc—10804 соответственно). В качестве вторичных использовали моноклональные антитела, меченные Alexa Fluor 488 (ab150117), Alexa Fluor 647 (ab150171) и Alexa Fluor 555 (ab150078; Abcam, США).

Статистический анализ. Описательная статистика дана в виде среднего значения и его ошибки. Использовали методы непараметрической статистики (критерий Манна—Уитни, Крускала—Уоллиса, критерий χ^2). Для оценки возрастных изменений экспрессии белков плотных контактов в экспериментальных группах в различных регионах головного мозга использовали метод множественной регрессии. Статистически значимыми считали различия при $P \leq 0.05$.

Все исследования выполнены с разрешения Биотехнической комиссии Локального этического комитета Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого Министерства здравоохранения РФ и с соблюдением требований контроля качества (применения валидированных экспериментальных моделей, сравнения экспериментальных и контрольных групп, оценки влияния внешних факторов и применения необходимых методов статистической обработки данных).

Результаты

Нами установлено, что в физиологических условиях в период от P_7 до P_{70} количество эндотелиоцитов, экспрессирующих JAM, ZO1 и CLDN5, возрастает. В коре головного мозга: от 20.61 ± 4.00 до 31.96 ± 1.48 ($P = 0.0005$), от 16.55 ± 1.52 до 38.79 ± 3.96 ($P = 0.0001$) и от 18.28 ± 1.80 до 50.6 ± 5.00 ($P = 0.0006$) соответственно; в гиппокампе: от 8.22 ± 0.96 до 20.56 ± 1.66 ($P = 0.001$), от 24.86 ± 2.18 до 36.61 ± 2.46 ($P = 0.003$) и от 16.87 ± 1.40 до 32.10 ± 3.44 ($P = 0.0005$) соответственно; в миндалине: от 10.50 ± 5.50 до 14.57 ± 1.54 , от 22.10 ± 3.60 до 49.80 ± 12.71 и от 14.57 ± 2.76 до 34.88 ± 3.87 ($P = 0.005$) соответственно.

Таким образом, даже в периоды онтогенеза, не характеризующиеся интенсивными процессами развития го-

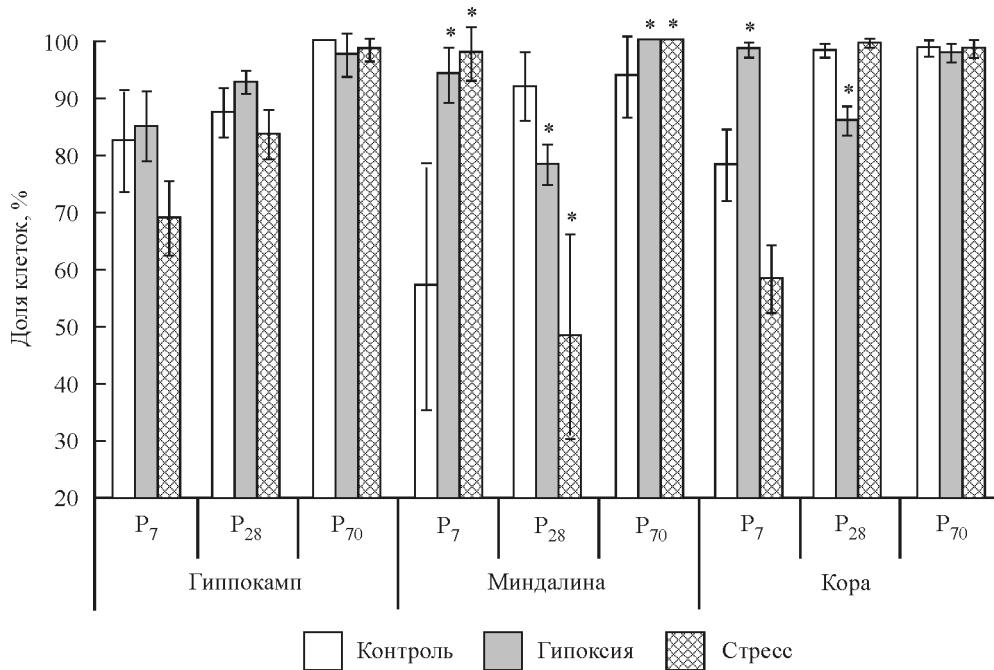


Рис. 1. Изменение количества JAM⁺PCNA⁺-клеток в различных регионах головного мозга на 7 (P₇), 28 (P₂₈) и 70-е (P₇₀) сут постнатального развития у животных контрольной группы, перенесших перинатальную гипоксию или стресс раннего периода жизни. Здесь и на рис. 2 представлены средние значения с 95%-ным доверительным интервалом. Звездочкой показаны статистически значимые отличия по отношению к контролю, $P < 0.05$.

ловного мозга (после P₂₈), мы регистрируем прогрессивное увеличение количества клеток, экспрессирующих белки плотных контактов в эндотелии церебральных сосудов различной локализации. Наиболее вероятным объяснением этому является необходимость сохранения angiогенеза как события, сопровождающего процессы пластичности мозга, в том числе опытидуцированной или связанной с действием внешних факторов различной природы.

Действительно, пролиферативная активность клеток церебрального эндотелия остается на высоком уровне вплоть до 70 сут постнатального развития, что регистрируется по увеличению количества клеток, соэкспрессирующих PCNA и JAM в гиппокампе, миндалине и коре (рис. 1). Наиболее очевидным является увеличение пролиферативного потенциала клеток эндотелия миндалины мозга в период между P₇ и P₂₈—P₇₀ (в 1.5 раза, $P = 0.003$), что может быть связано с особенностью процессов локального angiогенеза для поддержки нейрогенеза при опытидуцированной пластичности головного мозга (Bernier et al., 2002). Интересно, что перинатальная гипоксия и стресс раннего периода жизни вызывают наиболее выраженное снижение пролиферативного потенциала клеток эндотелия именно в миндалине головного мозга в период P₂₈—P₇₀, что позволяет считать этот регион мозга высокочувствительным к действию факторов, нарушающих angiогенез в развивающемся мозге.

В динамике онтогенеза в группе интактных животных количество клеток, экспрессирующих белки плотных контактов трех типов — ZO1, JAM и CLDN5, постепенно увеличивалось, что соответствовало увеличению количества PCNA⁺-клеток церебрального эндотелия (рис. 2, а), причем наиболее значительные изменения экспрессии в динамике постнатального развития были характерны для белка ZO1.

Перинатальная гипоксия головного мозга вызвала увеличение количества клеток эндотелия, экспрессирующих ZO1, в гиппокампе миндалине и коре только к P₇ с последующим снижением до уровня контроля или даже ниже его. Количество клеток, экспрессирующих JAM и CLDN5, увеличилось во все периоды наблюдения и во всех исследуемых регионах мозга (рис. 2, б). Примечательным является 3-кратное увеличение количества JAM⁺-клеток эндотелия сосудов миндалины головного мозга животных, перенесших гипоксию, в период с P₂₈ до P₇₀.

Стресс раннего периода жизни вызвал увеличение количества ZO1⁺-клеток к P₂₈ с последующим их сохранением до P₇₀. Количество клеток, экспрессирующих JAM, в гиппокампе и миндалине головного мозга значительно возросло, тогда как количество CLDN5⁺-клеток значимо не изменилось после действия стрессорного фактора (рис. 2, в).

Проведенный анализ множественной регрессии показал зависимость между количеством клеток, экспрессирующих белки плотных контактов (JAM, ZO1 и CLDN5), в гиппокампе, миндалине и коре головного мозга в физиологических условиях (см. таблицу). Перинатальная гипоксия нарушает связи между экспрессией белков плотных контактов (JAM, ZO1 и CLDN5) в гиппокампе. При перенесенном стрессе раннего периода жизни незначительно изменяются регрессионные связи между экспрессией белков плотных контактов (JAM, ZO1 и CLDN5).

Обсуждение

Функционирование гематоэнцефалического барьера определяется сбалансированной экспрессией белков плотных контактов и белков-транспортеров. CLDN5 —

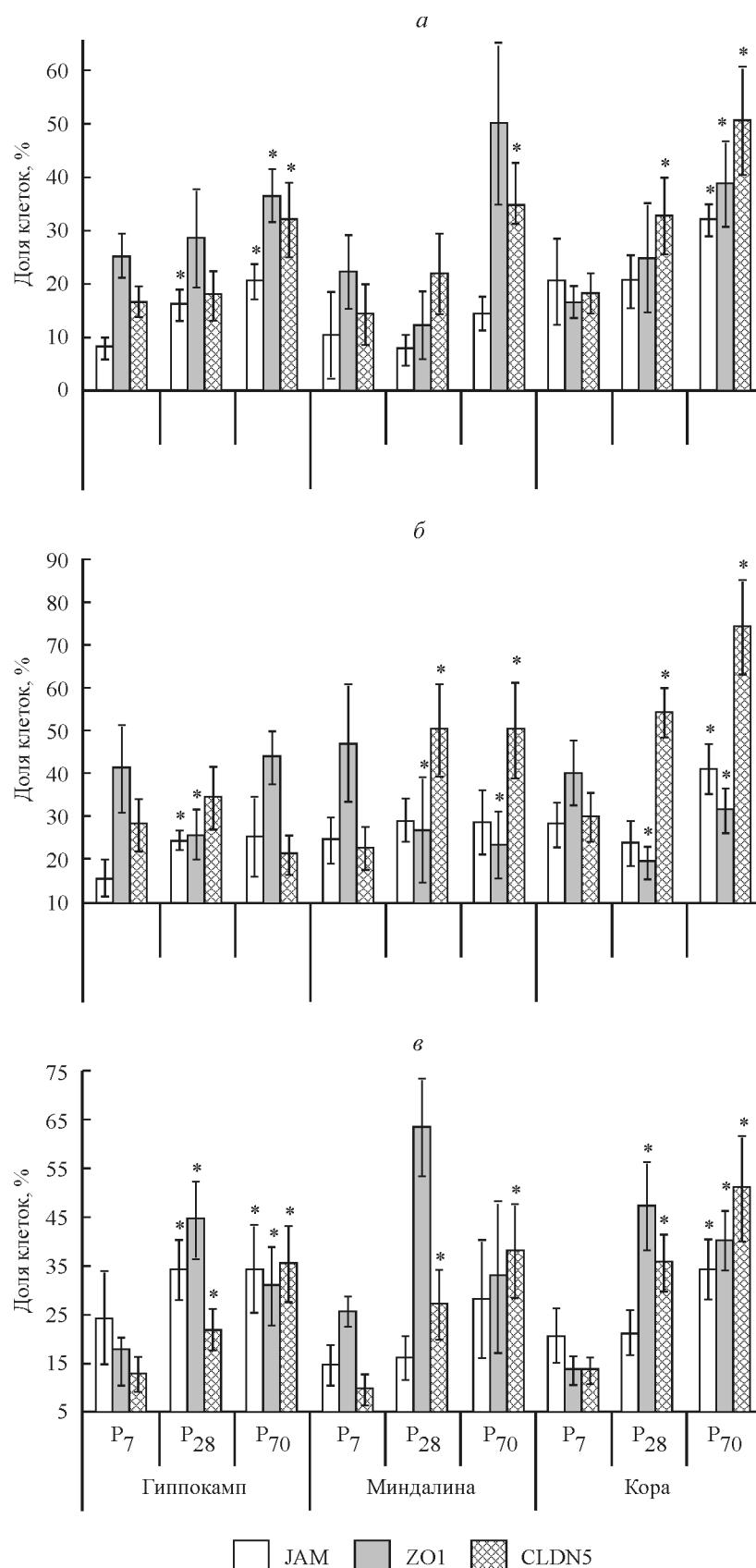


Рис. 2. Изменение количества JAM^+ -, $ZO1^+$ - и $CLDN5^+$ -клеток в различных регионах головного мозга на 7, 28 и 70-е сут постнатального развития в физиологических условиях (*a*), у животных, перенесших перинатальную гипоксию (*b*) и стресс раннего периода жизни (*c*).

Звездочкой показаны статистически значимые отличия по отношению к P_7 , $P < 0.05$.

Коэффициент множественной регрессии между экспрессией белков плотных контактов в экспериментальных группах в различных регионах головного мозга в онтогенезе (7–70-е сут развития)

Белок	Контроль			Гипоксия			Стресс		
	Г	М	К	Г	М	К	Г	М	К
JAM/ZO1	0.62 ^a	0.57 ^a	0.60 ^a	0.11	0.69 ^a	0.61 ^a	0.53 ^a	0.46	0.63 ^a
JAM/CLDN5	0.70 ^a	0.68 ^a	0.77 ^a	0.32	0.66 ^a	0.86 ^a	0.81 ^a	0.88 ^a	0.82 ^a
ZO1/CLDN5	0.60 ^a	0.72 ^a	0.78 ^a	0.31	0.76 ^a	0.85 ^a	0.81 ^a	0.83 ^a	0.83 ^a

Примечание. Г — гиппокамп, М — миндалина, К — кора. ^a — статистическая значимость при $P \leq 0.05$.

один из самых распространенных белков плотных контактов клеток церебрального эндотелия, обеспечивающий плотность их прилегания друг к другу (Enerson, Drewes, 2006). JAM — белок, регулирующий полярность эндотелиоцитов и структурную целостность эндотелиального слоя (Ebnet et al., 2003). Адаптерный белок ZO1 регулирует заякоривание CLDN5 и JAM к белкам цитоскелета, снижение экспрессии ZO1 приводит к увеличению проницаемости ГЭБ (Bauer et al., 2014). Предполагают, что ZO1 может регулировать пролиферацию клеток церебрального эндотелия (Bauer et al., 2014).

Изменение экспрессии белков плотных контактов сопровождает травматическое и гипоксическое повреждение головного мозга (Jiao et al., 2011; Wen et al., 2014). С использованием двух экспериментальных моделей — перинатальной гипоксии и стресса раннего периода жизни — мы обнаружили, что сохранение пролиферативного потенциала клеток микрососудов гиппокампа, миндалины и коры головного мозга в возрастной период до P_{70} сопровождается увеличением числа клеток, экспрессирующих белки плотных контактов, что, вероятно, определяет сохранность структурной и функциональной целостности ГЭБ при ангиогенезе в развивающемся головном мозге.

При гипоксическом перинатальном повреждении головного мозга мы зарегистрировали дисбаланс между белками плотных контактов: увеличение количества ZO1⁺-клеток в раннем периоде действия повреждающих факторов и увеличение количества JAM⁺-клеток на протяжении всего периода наблюдения, а также изменение коэффициента множественной регрессии в экспрессии белков плотных контактов в онтогенезе. Действие стресса раннего периода жизни имеет своим результатом отсроченные изменения количества клеток, экспрессирующих эти белки. С учетом данных о том, что нарушение экспрессии белков плотных контактов знаменует собой интенсификацию ангиогенеза при некоторых видах патологии головного мозга (Biron et al., 2011), мы предполагаем, что перинатальная гипоксия и стресс раннего периода жизни приводят к интенсификации ангиогенеза, что сопровождается дисбалансом между белками плотных контактов и нарушениями формирования плотных контактов в клетках церебрального эндотелия.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 14-25-00054 от 12.08.2014).

Список литературы

- Bauer H. C., Krizbai I. A., Bauer H., Traweger A. 2014. «You shall not pass» — tight junctions of the blood brain barrier. *Front Neurosci.* 8 : 392. doi : 10.3389/fnins.2014.00392.
- Bernier P. J., Bedard A., Vinet J., Levesque M., Parent A. 2002. Newly generated neurons in the amygdala and adjoining cortex of adult primates. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 99 : 11 464—11 469.
- Biron K. E., Dickstein D. L., Gopaul R., Jefferies W. A. 2011. Amyloid triggers extensive cerebral angiogenesis causing blood brain barrier permeability and hypervascularity in Alzheimer's disease. *PLoS ONE.* 6 : e23789. doi : 10.1371/journal.pone.0023789.
- Bueno D., Parvas M., Hermelo I., Garcia-Fernández J. 2014. Embryonic blood-cerebrospinal fluid barrier formation and function. *Front Neurosci.* 8 : 343. doi : 10.3389/fnins.2014.00343.
- Cioni G., D'Acunto G., Guzzetta A. 2011. Perinatal brain damage in children: neuroplasticity, early intervention, and molecular mechanisms of recovery. *Prog. Brain Res.* 189 : 139—154. doi : 10.1016/B978-0-444-53884-0.00022-1.
- Clancy B., Finlay B. L., Darlington R. B., Anand K. J. 2007. Extrapolating brain development from experimental species to humans. *Neurotoxicology.* 28 : 931—937.
- Ebnet K., Aurrand-Lions M., Kuhn A., Kiefer F., Butz S., Zander K., Meyer zu Brickwedde M. K., Suzuki A., Imhof B. A., Vestweber D. 2003. The junctional adhesion molecule (JAM) family members JAM-2 and JAM-3 associate with the cell polarity protein PAR-3 : a possible role for JAMs in endothelial cell polarity. *J. Cell Sci.* 116 : 3879—3891.
- Ek C. J., Dziegielewska K. M., Habgood M. D., Saunders N. R. 2012. Barriers in the developing brain and neurotoxicology. *Neurotoxicology.* 33 : 586—604. doi : 10.1016/j.neuro.2011.12.009.
- Enerson B. E., Drewes L. R. 2006. The rat blood-brain barrier transcriptome. *J. Cereb. Blood Flow. Metab.* 26 : 959—973.
- Fan Q. Y., Ramakrishna S., Marchi N., Fazio V., Hallene K., Janigro D. 2008. Combined effects of prenatal inhibition of vasculogenesis and neurogenesis on rat brain development. *Neurobiol. Dis.* 32 : 499—509. doi : 10.1016/j.nbd.2008.09.007.
- Gómez-González B., Escobar A. 2010. Prenatal stress alters microglial development and distribution in postnatal rat brain. *Acta Neuropathol.* 119 : 303—315. doi : 10.1007/s00401-009-0590-4.
- Jiao H., Wang Z., Liu Y., Wang P., Xue Y. 2011. Specific role of tight junction proteins claudin-5, occludin, and ZO1 of the blood-brain barrier in a focal cerebral ischemic insult. *J. Mol. Neurosci.* 44 : 130—139. doi : 10.1007/s12031-011-9496-4.
- Nylander I., Roman E. 2012. Neuropeptides as mediators of the early-life impact on the brain; implications for alcohol use disorders. *Front Mol. Neurosci.* 5 : 77. doi : 10.3389/fnmol.2012.00077.
- Oreland S., Nylander I., Pickering C. 2010. Prolonged maternal separation decreases granule cell number in the dentate gyrus of 3-week-old male rats. *Int. J. Develop. Neurosci.* 28 : 139—144. doi : 10.1016/j.ijdevneu.2009.12.005.
- Rice J. E. 3rd, Vannucci R. C., Brierley J. B. 1981. The influence of immaturity on hypoxic-ischemic brain damage in the rat. *Ann. Neurol.* 9 : 131—141.

- Saunders N. R., Liddelow S. A., Dziegielewska K. M. 2012. Barrier mechanisms in the developing brain. *Front Pharmacol.* 3 : 46. doi: 10.3389/fphar.2012.00046.
- Siegenthaler J.A., Sohet F., Daneman R. 2013. «Sealing off the CNS»: cellular and molecular regulation of blood-brain barrier-gensis. *Curr. Opin. Neurobiol.* 23 : 1057—1064. doi : 10.1016/j.conb.2013.06.006.
- Uhelski M. L., Fuchs P. N. 2010. Maternal separation stress leads to enhanced emotional responses to noxious stimuli in adult rats. *Behav. Brain Res.* 212 : 208—212. doi : 10.1002/dev.20559.
- Wallace C. S., Withers G. S., Farnand A., Lobingier B. T., McCleery E. J. 2011. Evidence that angiogenesis lags behind neu-
- ron and astrocyte growth in experience-dependent plasticity. *Develop. Psychobiol.* 53 : 435—442.
- Wen J., Qian S., Yang Q., Deng L., Mo Y., Yu Y. 2014. Overexpression of netrin-1 increases the expression of tight junction-associated proteins, claudin-5, occludin, and ZO1, following traumatic brain injury in rats. *Exp. Ther. Med.* 8 : 881—886.
- Zhang Q., Ding Y., Yao Y., Yu Y., Yang L., Cui H. 2013. Creating rat model for hypoxic brain damage in neonates by oxygen deprivation. *PLoS ONE.* 8 : e83589. doi: 10.1371/journal.pone.0083589.

Поступила 25 I 2015

TIGHT JUNCTIONS PROTEINS IN CEREBRAL ENDOTHELIAL CELLS DURING EARLY POSTNATAL DEVELOPMENT

N. V. Kuvacheva,¹ A. V. Morgun, N. A. Malinovskaya, Ya. V. Gorina,
E. D. Khilazheva, E. A. Pozhilenkova, Yu. A. Panina, E. B. Boytsova,
V. A. Ruzaeva, L. V. Trufanova, A. B. Salmina

Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V. F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, 660022;

¹ e-mail: natalya.kuvacheva@gmail.com

Formation and functional plasticity of the blood-brain barrier is associated with the molecular events that occur in the brain neurovascular unit in the embryonic and early postnatal development. To study the characteristics of barriergenesis under physiological conditions, as well as recovering from perinatal hypoxia and early life stress, we examined the expression of proteins of cerebral endothelial tight junctions (JAM, ZO1, CLDN5) in rats aged 7, 28 and 70 days of postnatal development (P_7 — P_{70}). Under physiological conditions, we have found that the number of endothelial cells expressing JAM, ZO1, CLDN5 slightly increases in the cortex, hippocampus and amygdala of the brain in the period from P_7 to P_{70} . Perinatal hypoxia significantly increased the number of cells expressing proteins of tight junction proteins (JAM, CLDN5) up to the age P_{28} — P_{70} , whereas the number of cells expressing ZO1 was reduced in the same period of time. Early life stress led to an imbalance between the number of cells expressing ZO1 proteins and that expressing tight junctions proteins, but these changes were in opposite direction to that observed in perinatal hypoxia.

Key words: cerebral endothelial cells, tight junctions, hypoxia, early life stress.