



Мухаметшина Регина  
Дилюсовна

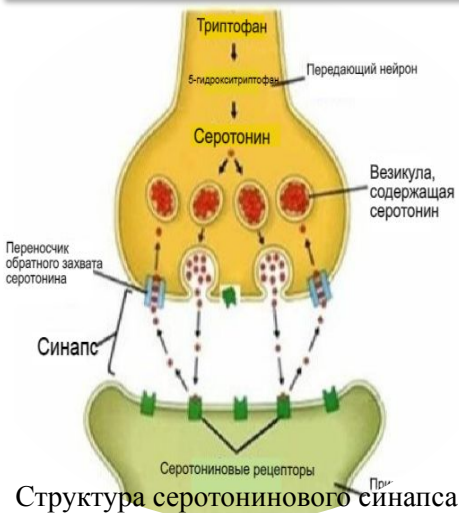
**ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ СЕРТОНИНОВОЙ СИСТЕМЫ ПОД  
ДЕЙСТВИЕМ РАЗНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ У КРЫС**

Научный руководитель:  
*доц., канд. биол. наук*  
Кравцова О.А.

Казань-2021

# Актуальность

Показано, что острый и хронический стресс вызывает изменение уровня серотонина, посредством подавления *Trh*, изменения концентрации его переносчика *Slc6a4*, числа пре- и постсинаптических серотониновых рецепторов, что, первую очередь является факторами, детерминирующими предрасположенность к развитию депрессии и другим психическим расстройствам. Поэтому изучение экспрессия генов серотониновой системы является одним из новых биомаркеров, позволяющих оценивать общее состояние организма, прогнозировать возникновение некоторых заболеваний и их ИСХОДОВ.



Структура серотонинового синапса

**Фермент *Trh* является фактором, ограничивающим скорость биосинтеза нейротрансмиссии 5-*Ht*, и играет ключевую роль в регулировании доступности, обмена и функции серотонина**

***5-Ht4*-рецептор является метаботропным, при активации повышающим количество цАМФ в клетке, что в свою очередь запускает каскад реакций, ведущий к выбросу нейромедиатора.**

**Особое значение в правильном функционировании СТС имеет инактивация высвобожденного *5-Ht*, где функционирует транспортер обратного захвата серотонина – *5-Htt*, являющийся продуктом гена *Slc6a4*. Относящийся к семейству белков-транспортёров моноаминов, осуществляющий обратный захват и транспорт серотонина из синаптической щели обратно в выделивший его пресинаптический нейрон.**

Целью настоящей работы является изучение влияния различного вида хронического стресса (иммобилизации, физической нагрузки и комбинированного комплекса данных воздействий) в динамике через 3, 6 и 9 месяцев на изменение количества мРНК генов экспрессирующихся серотониновой системой.

### Задачи:

1. Оценить изменения экспрессии генов *Trh1* и *Trh2*, *Htr4*, *Slc6a4* на вивальной модели крыс линии *Wistar* в 4-х группах в динамике:

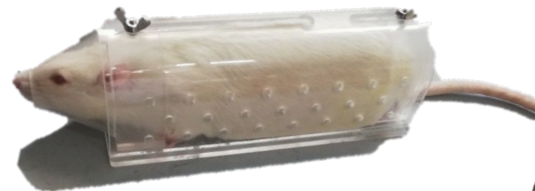
а) Контрольная группа



б) Группа с изнурительной физической нагрузкой «ФН»



в) Группа с иммобилизационным стрессом «ИС»




г) Группа с комплексом хронических стрессоров «ИС+ФН»




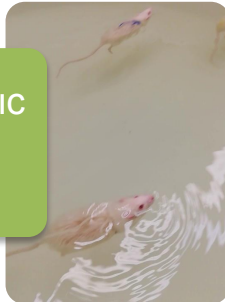
2. Оценить корреляционную зависимость между уровнем кортизола и изменением экспрессии генов СТ-системы.

3. Оценить изменения экспрессии генов *Htr4*, *Slc6a4*, *Trh1* и *Trh2* на вивальной модели крыс линии *Wistar* между группами «ИС» «ФН» «ФН+ИС» относительно группы контроля.


# Методы. Работа с крысами




Разделили крыс на группы



Подвергали крыс действию стрессоров




Забирали кровь для анализа



Для моделирования воздействия различных типов хронического стресса сформировано 4 группы крыс линии Вистар в возрасте 6 месяцев, подвергавшихся разным видам стрессорного воздействия на протяжении 9 месяцев. Первая группа («Контроль») содержалась в обычных условиях вивария без воздействия какой-либо нагрузки.

Животные второй группы («ФН») испытывали стресс в виде интенсивной физической нагрузки (7 минут с грузом 8% от массы тела) в водном лабиринте Морриса (Open Science, Россия).



У животных третьей группы («Иммобилизационный стресс», «ИС») хронический стресс вызывался ежедневной 90- минутной иммобилизацией в специальном пенале-фиксаторе (Open Science, Россия) в течение 14 дней.

Четвертая группа («ФН+ИС») включала комплексную комбинацию стрессовой нагрузки путем теста вынужденного

# Методы. Лабораторные работы

Относительный уровень экспрессии генов определяли на 3-й, 6-й и 9-й месяц эксперимента в образцах РНК, выделенных из венозной крови из хвостовой вены. Для синтеза кДНК использовали вырожденные праймеры с использованием MMLV RT kit.

Относительный уровень экспрессии генов оценивали методом 2- $\Delta\Delta$ Ct на основании результатов, полученных в ходе ПЦР в реальном времени. Корреляционную зависимость оценивали по коэффициенту корреляции Пирсона



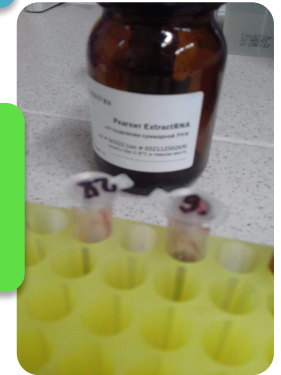
Выделяли РНК крови крыс (реагент ExtractRNA)



Синтезировали кДНК (использовали вырожденные праймеры с использованием MMLV RT kit)



Оценивали относительный уровень экспрессии генов методом 2- $\Delta\Delta$ Ct на основании результатов, полученных в ходе ПЦР



Обнаружили прямую корреляционную зависимость между уровнем глюкокортикоида и экспрессией *Slc6a4*, в зависимости от типа стрессора и его продолжительности воздействия на организм

Корреляции между уровнем кортизола и экспрессией *Htr4* не обнаружили

КГ

Зависимость наблюдали на протяжении 9 месяцев эксперимента

ФН

Зависимость наблюдали на протяжении 6 месяцев эксперимента

ИС

Зависимость наблюдали на протяжении 3 месяцев эксперимента

ФН+  
ИС

Зависимость наблюдали на протяжении 9 месяцев эксперимента

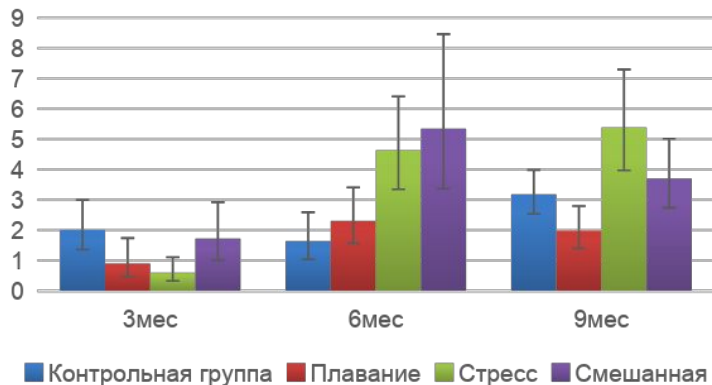
Процедура взятия крови (и смена обстановки при ее проведении) выступала источником острого стресса

У групп с действием хронических стрессоров произошла перекрестная резистентность

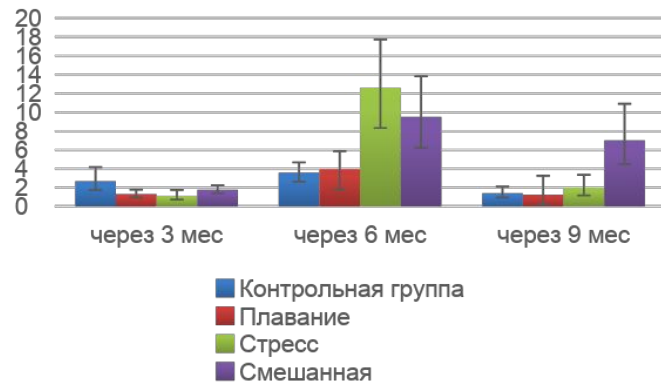
Корреляция наблюдалась только у КГ на протяжении 9 месяцев эксперимента

В данном исследовании показано отсутствие экспрессии генов *Tph1* и *Tph2* в периферической крови крыс, тогда как для генов *Slc6a4* и *Htr4* показаны статистически значимые изменения относительных уровней их активности

### Htr4 в динамике



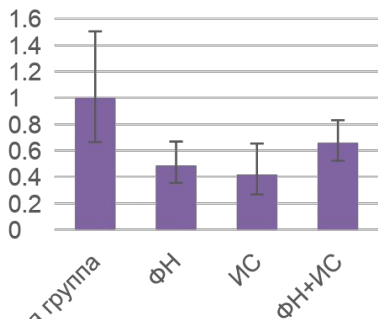
### Slc6a4 в динамике



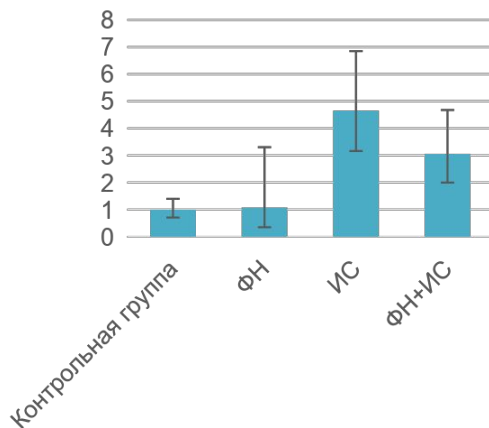
В динамике наблюдается тенденция к увеличению экспрессии генов *Htr4* и *Slc6a4* к 9 месяцу, с пиком активности в 6ом месяце эксперимента, и с небольшим уменьшением экспрессии после 3 месяцев воздействий в группе с иммобилизационным стрессом и с комплексом стрессоров (физический и иммобилизационный стрессор), тогда как в контрольной группе и группе с физической нагрузкой значимых изменений не выявлено в ходе проведения эксперимента по отношению к началу эксперимента.

## Относительный уровень экспрессии гена Slc6a4 после 3, 6 и 9 месяцев воздействий между разными группами крыс

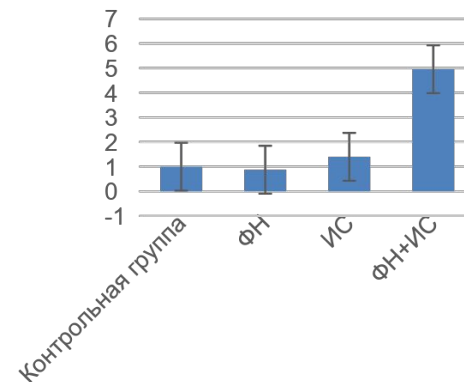
3 месяца



6 месяцев



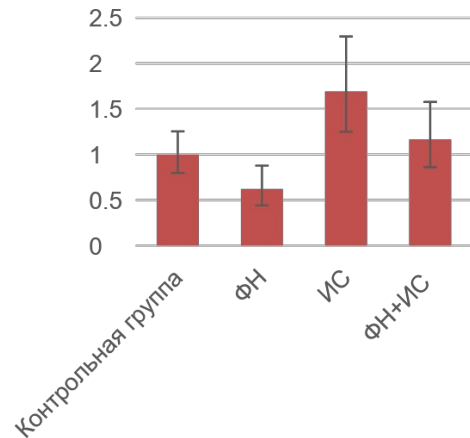
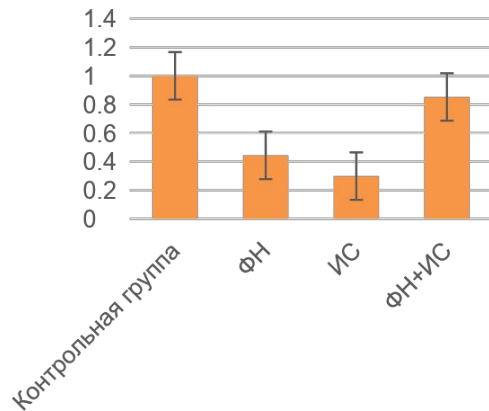
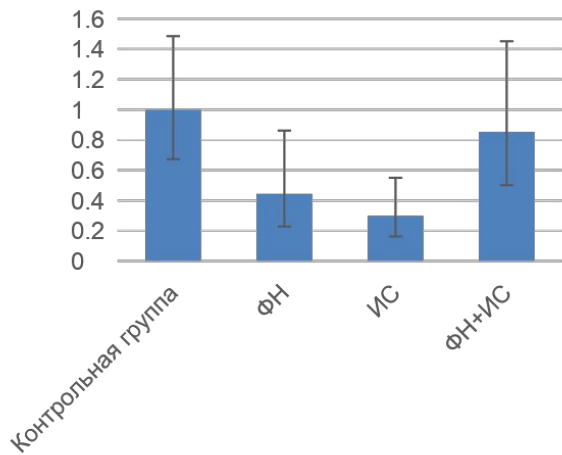
9 месяцев



В сравнении с контрольной группой после 3 месяцев воздействий стрессовых факторов на организм можно наблюдать понижение относительного уровня экспрессии генов СТС во всех группах (в связи с чем с повышается риск развития депрессивноподобных состояний). При более долгом воздействии (6 мес.) стрессоров происходит повышение активности экспрессии во всех группах, кроме «плавцов», после 9 месяцев повышение уровня экспрессии можно наблюдать только у группы, наиболее сильно подверженных стрессорам – «ФН+ИС», тогда как и группа с ФН и группа с ИС сравняла уровень



## Относительный уровень экспрессии гена Htr4 после 3, 6 и 9 месяцев воздействий между разными группами крыс



При изучении экспрессии рецепторного гена также наблюдается падение экспрессии во всех группах крыс после 3 месяцев эксперимента, но данная тенденция к падению активности экспрессии продолжается и к 6 месяцу. Однако, также как и с экспрессией переносчика серотонина более долгим воздействием (9 мес.) стрессоров происходит повышение активности экспрессии в группах с ИС – «ИС» и «ФН+ИС», тогда как и группа с ФН произошло сравнение

# Выводы

1. На вивальной модели крыс линии Wistar показано значимое изменение активности экспрессии генов СТС, как в динамике (после 3, 6 и 9 месяцев эксперимента), так и между различными группами крыс. В данном исследовании показано отсутствие экспрессии генов Trh1 и Trh2 в периферической крови крыс, тогда как для генов Slc6a4 и Htr4 показаны статистически значимые изменения относительных уровней их активности. В динамике наблюдается тенденция к увеличению экспрессии генов Htr4 и Slc6a4 к 9 месяцу эксперимента, с небольшим падением активности после 3 месяцев эксперимента в группе с иммобилизационным стрессом и с комплексом стрессоров (физический и иммобилизационный стрессор), тогда как в контрольной группе и группе с физической нагрузкой значимых изменений не выявлено.

2. Наиболее сильным изменением экспрессии генов СТ системы в ходе проведения эксперимента относительно контрольной группы были подвержены группы крыс, где присутствует ИС- группы «ИС» и «ФН+ИС», наименьшим изменениям подверглась группа с изнурительной физической активностью «ФН».



3. На вивальной модели крыс показана прямая корреляционная зависимость между уровнем глюкокортикоидов крыс и экспрессией гена переносчика серотонина в контрольной группе на протяжении всего эксперимента, в группе с ФН после 3 и 6 месяцев эксперимента, а в группах «ИС» и «ИС+ФН» только после 3 месяцев эксперимента, тогда как между уровнем кортизола и экспрессией гена рецептора серотонина зависимость не выявлена.

# Благодарности

Большую благодарность выражаю своей сестре, без тебя я бы не справилась

