

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РАБОТЫ

УДК 612.65:577.218:577.171.52

ЭКСПРЕССИЯ НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА 3 В ГИППОКАМПЕ НЕОНАТАЛЬНЫХ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ ДЕКСАМЕТАЗОНА

© 2019 г. В. В. Булыгина^{1, *}, Т. С. Калинина^{1, 2}, Д. А. Ланшаков^{1, 2}, Н. Н. Дыгало^{1, 2}

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение “Федеральный исследовательский центр
Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук”, Новосибирск, Россия

²Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

Поступила в редакцию 23.11.2018 г.

После доработки 25.03.2019 г.

Принята к публикации 03.04.2019 г.

Повышенный уровень глюкокортикоидов в перинатальном периоде онтогенеза способен провоцировать в дальнейшем развитие нейропатологии, в механизмы которой может быть вовлечен апоптоз клеток мозга, вызванный нарушениями экспрессии нейротрофинов, наименее изученным из которых является нейротрофический фактор 3 (NT3). С целью прояснения этого вопроса, в работе исследовали влияние глюкокортикоида дексаметазона (DEX) на уровни мРНК NT3 и ключевой протеазы апоптоза каспазы-3, а также белков незрелой (proNT3) и зрелой (matNT3) форм исследуемого нейротрофина в гиппокампе 3–4-дневных крысят через 6 или 24 ч после введения DEX. Через 6 ч, но не 24 ч, DEX повышал уровни мРНК NT3 в целом гиппокампе, а также содержание белков proNT3 и matNT3 в полях CA1–3 и зубчатой извилине структуры. При этом формировалось временное преобладание экспрессии апоптогенной proNT3 над matNT3, не сопровождавшееся, однако, повышением уровня мРНК каспазы-3.

Ключевые слова: matNT3, proNT3, каспаза-3, гиппокамп, дексаметазон

DOI: 10.1134/S1027813319030051

ВВЕДЕНИЕ

Глюкокортикоидная терапия при развитии респираторного дистресс-синдрома новорожденных широко используется в медицинской практике [1]. Однако перинатальное применение глюкокортикоидов может провоцировать развитие нейропатологий [2, 3], механизмы возникновения которых во многом остаются неясными. Широкий спектр генов, экспрессия которых способна меняться под влиянием глюкокортикоидов, включает гены белков апоптозного каскада [4] и регуляторов нейропластичности, среди которых и нейротрофический фактор 3 (NT3) [5, 6].

Нейротрофические факторы играют важную роль в процессе формирования головного мозга в онтогенезе [7]. При этом незрелые формы белков нейротрофинов могут избегать внутриклеточного процессинга и секретироваться из нейронов с самостоятельными сигнальными функциями [8]. В частности, пронеуротрофины, благодаря высокой аффинности к рецепторам p75NTR, активируют программируемую гибель клеток [9]. Нейроны неонатального гиппокампа могут подвер-

гаться повреждающему воздействию избытка глюкокортикоидных гормонов, поскольку в этой структуре уже в перинатальном периоде достаточно высока экспрессия глюкокортикоидных рецепторов [10]. Ранее нами [11] в гиппокампе неонатальных крысят через 24 часа после введения дексаметазона было обнаружено повышение уровня proBDNF. Это повышение сопровождалось увеличением в структуре количества клеток, экспрессирующих активную каспазу-3, что может отражать вклад данного пронеуротрофина в индукцию проапоптозных механизмов. Вместе с тем неясно, влияет ли неонатальное повышение глюкокортикоидов на экспрессию другого нейротрофического фактора – нейротрофического фактора 3, как его незрелой (proNT3), так и зрелой (matNT3) форм. С целью прояснения этого вопроса в работе был проведен анализ экспрессии NT3 и соотношения proNT3/matNT3 в гиппокампе крысят после воздействия дексаметазоном на третий день их жизни.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили на крысах линии Вистар. Крыс содержали в условиях свободного доступа к воде и корму в виварии ИЦиГ СО РАН

* Адресат для корреспонденции: 630090 Россия, Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, д. 10; тел.: +7(383)363-4958-3406; факс: +7(383)333-12-78; e-mail: veta03@mail.ru.

и использовали в опытах согласно правилам гуманного обращения с экспериментальными животными, утвержденными Комиссией по биоэтике ИЦиГ СО РАН в соответствии с Директивой Европейского Парламента и Совета ЕС 2010/63/EU от 22 сентября 2010 г. и “Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных” (приказ Минздрава СССР № 755 от 12 августа 1977 г.). Беременных самок за 3–4 дня до родов рассаживали в индивидуальные клетки. День родов считали первыми сутками жизни. Крысам на 3-й день жизни подкожно вводили дексаметазон (DEX) (KRKA, Словения, 0.2 мг/кг в объеме 20 мкл) либо физиологический раствор (физ. раствор). Доза гормона в настоящем исследовании эквивалентна 12 мг дексаметазона в день для человека весом 60 кг, что имитирует клиническую дозу для беременной женщины (0.2 мг/кг) [12] и соответствует дозе, применяемой нами ранее [13]. Образцы гиппокампа собирали через 6–24 ч после введения дексаметазона. Временные точки определяли, исходя из предыдущих данных [11, 14] и данных литературы [15, 16], ориентируясь на выявленные в этих работах изменения экспрессии ключевых нейротрофических факторов в гиппокампе в ответ на введение глюкокортикоидов. Суммарную РНК выделяли, применяя одностадийный гуанидин-изотиоцианатный метод, как описано ранее [14]. Для получения кДНК брали 3 мкг суммарной РНК и ревертазу MuLV (“СибЭнзим”, Россия) и инкубировали в условиях стандартной методики (90 мин при 42°C). Количественный анализ содержания мРНК генов *NT3* и *каспазы-3* относительно мРНК *actb* проводили методом ОТ-ПЦР в реальном времени с использованием наборов TaqMan® Gene Expression Assays на амплификаторе ABI VIIA™ 7 (“Applied Biosystems”, США), и рассчитывали по методу $\Delta\Delta Ct$. Для этого метода брали по 5–6 крысят каждой группы. Белки proNT3 и matNT3 определяли методом иммуногистохимии [17] по отдельности на разных срезах с использованием флуоресцентно меченных вторичных антител. После глубокого холодового наркоза крысят транскардиально перфузировали 0.02 М фосфатным буфером (PBS) и 4% раствором параформальдегида в 0.02 М PBS. Использовали специфичные к незрелому нейротрофическому фактору proNT3 первичные кроличьи антитела (AB15564 Merck Millipore) и специфичные к зрелому нейротрофическому фактору-3 matNT3 первичные кроличьи антитела (AB1532P Merck Millipore) в разведении 1 : 200. Далее срезы инкубировали со вторичными антителами осла против IgG кролика с флуоресцентной меткой (Alexa-568, Invitrogen) в разведении 1 : 350. Уровень pro-NT3 и mat-NT3 оценивали на коронарных срезах мозга по величине оптической плотности клеток на цифровых фотографиях (увеличение $\times 200$) на 4–5 полях зрения от 4–5 животных каж-

дой группы. Цифровые фотографии срезов гиппокампа были получены на лазерном сканирующем микроскопе LSM-780. Данные по относительной оптической плотности флуоресцентного сигнала были обработаны с помощью программного обеспечения ZEN (2011, SP2). Применяли двухфакторный дисперсионный анализ (ANOVA) (пакет программ STATISTICA (ver. 6.0; StatSoft, Inc., 2001), факторами которого являлись DEX и время после его введения, с последующим Post-Нос анализом межгрупповых различий по критерию Фишера LSD, различия с $p < 0.05$ считали достоверными.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Уровни обеих форм NT3, выявляемых иммуногистохимически (рис. 1), повышались во всех полях неонатального гиппокампа через 6 ч после введения DEX. Результаты двухфакторного дисперсионного анализа денситометрии препаратов, подобных изображенным на рис. 1 и их количественных оценок, усредненно представленных на рис. 2, свидетельствуют о достоверном влиянии фактора DEX на уровень иммуногистохимически выявляемого proNT3 (рис. 1а и 2а; $F_{1,13}$ = от 15.72 в зубчатой извилине до 42.24 в СА3; Post-Нос сравнения групп с предварительными за 6 ч инъекциями DEX и животных, получавших физ. раствор от $p < 0.00005$ в зубчатой извилине до $p < 0.000001$ в СА3). Вместе с тем, через сутки после введения DEX достоверных различий по уровню proNT3 между животными, получавшими гормон, и контрольной группой уже не обнаруживалось во всех полях гиппокампа (Post-Нос анализ от $p = 0.38$ в СА2 до $p = 0.91$ в СА1). Выявлено достоверное влияние фактора времени после введения DEX ($F_{1,13}$ = от 17.64 в зубчатой извилине до 45.04 в СА3) и взаимодействия факторов DEX и времени после его введения ($F_{1,13}$ = от 17.64 в зубчатой извилине до 45.04 в СА3) на содержание проформы NT3 в гиппокампе.

Повышение уровня белка proNT3 через 6 ч после введения глюкокортикоида сопровождалось и увеличением содержания зрелой формы matNT3 во всех полях гиппокампа, что отражает достоверное влияние фактора DEX (рис. 1б, 2б, $F_{1,13}$ = от 5.88 СА1 до 7.7 в СА2, $F_{1,12}$ = 7.21 в СА3, за исключением зубчатой извилины $F_{1,13}$ = 0.74) и Post-Нос сравнения групп с предварительными за 6 ч инъекциями DEX и животных, получавших физ. раствор от $p < 0.015$ в зубчатой извилине до $p < 0.0008$ в СА3. Через 24 ч после гормонального воздействия различия по уровню matNT3 между группой с введением дексаметазона и контрольной с введением физ. раствора по Post-Нос анализу нивелировались (от $p = 0.16$ в зубчатой извилине до $p = 0.48$ в СА3). Также показано достовер-

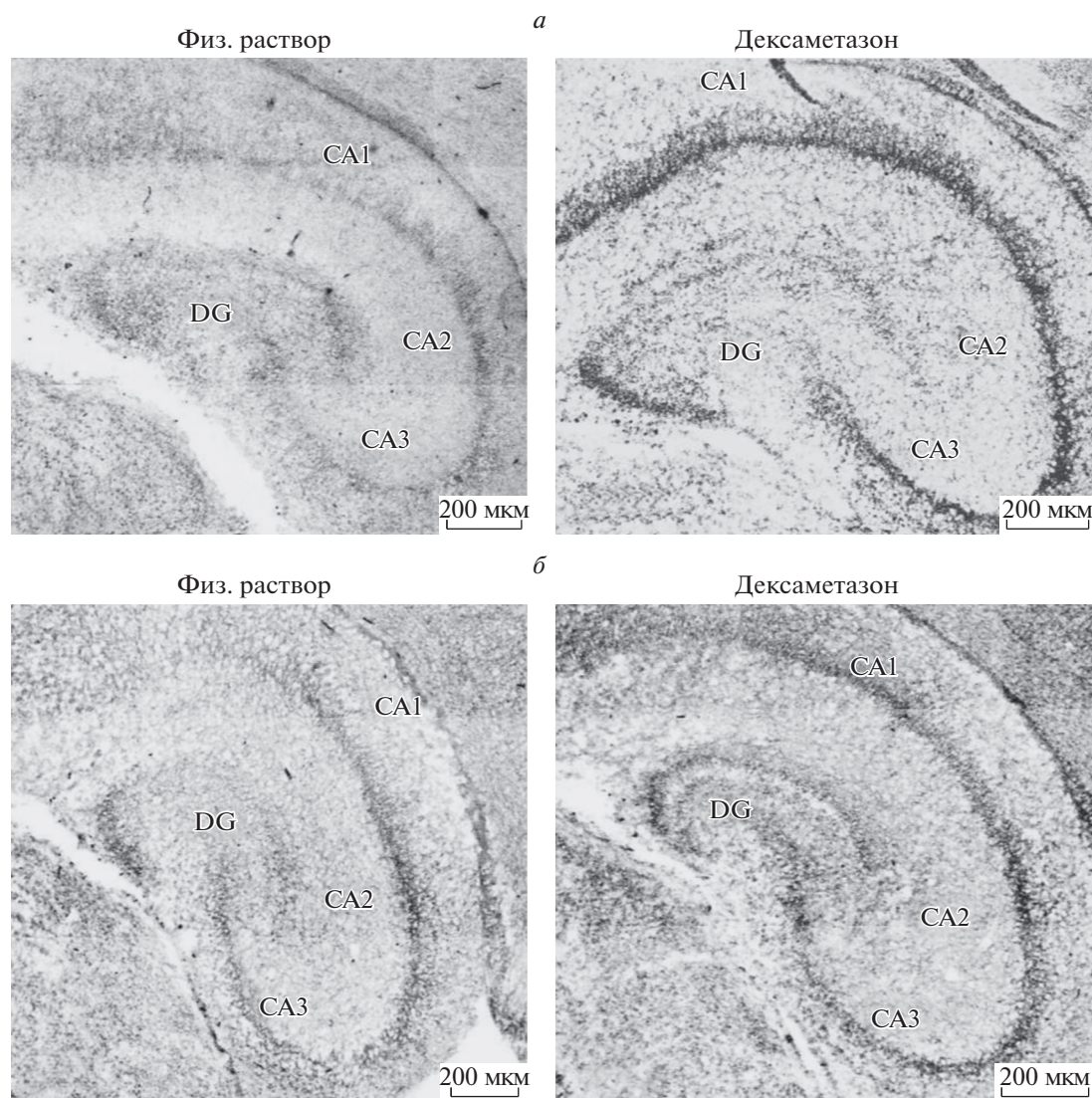


Рис. 1. Репрезентативные микрофотографии панорам гиппокампа через 6 часов после введения дексаметазона: *а* – proNT3, *б* – matNT3. Вторичные антитела мечены Alexa 568, флуоресцентный сигнал преобразован в негатив и соответствует черному цвету.

ное влияние фактора времени после введения DEX ($F_{1,13}$ = от 9.24 в зубчатой извилине до 18.44 в CA2) и взаимодействия факторов DEX и времени после его введения ($F_{1,13}$ = от 9.24 в зубчатой извилине до 18.44 в CA2) на уровень зрелого белка NT3 в гиппокампе.

Оценка соотношения уровня незрелой формы нейротрофического фактора-3 proNT3 к содержанию зрелого белка этого нейротрофа matNT3 в гиппокампе 3-х дневных крысят выявила достоверное влияние фактора DEX во всем гиппокампе (рис. 3а) ($F_{1,12}$ = 7.62 в CA1, $F_{1,12}$ = 34.93 в CA2, $F_{1,13}$ = 9.55 в CA3, $F_{1,13}$ = 12.92 в зубчатой извилине), и рост этого показателя именно через 6 часов после инъекции глюкокортикоида во всех исследованных областях (Post-Нос сравнение по Фишеру

групп с введением дексаметазона или физ. раствора через 6 часов от $p < 0.02$ в CA1 до $p < 0.0009$ в CA2). Через сутки после введения дексаметазона значимых изменений в соотношениях незрелой и зрелой форм этого нейротрофина уже не наблюдалось в большинстве исследованных областей гиппокампа: CA1 $p = 0.23$, CA3 $p = 0.56$, зубчатая извилина $p = 0.18$, лишь в области CA2 повышенное соотношение незрелой к зрелой форме NT3 проявлялось и через 24 ч ($p < 0.0008$) (Post-Нос анализ 24 часовых групп, рис. 3б). Влияние фактора времени после введения DEX и взаимодействия факторов DEX и времени после его введения недостоверно для этого показателя во всех полях гиппокампа, за исключением области CA3 ($F_{1,13}$ = 4.98).

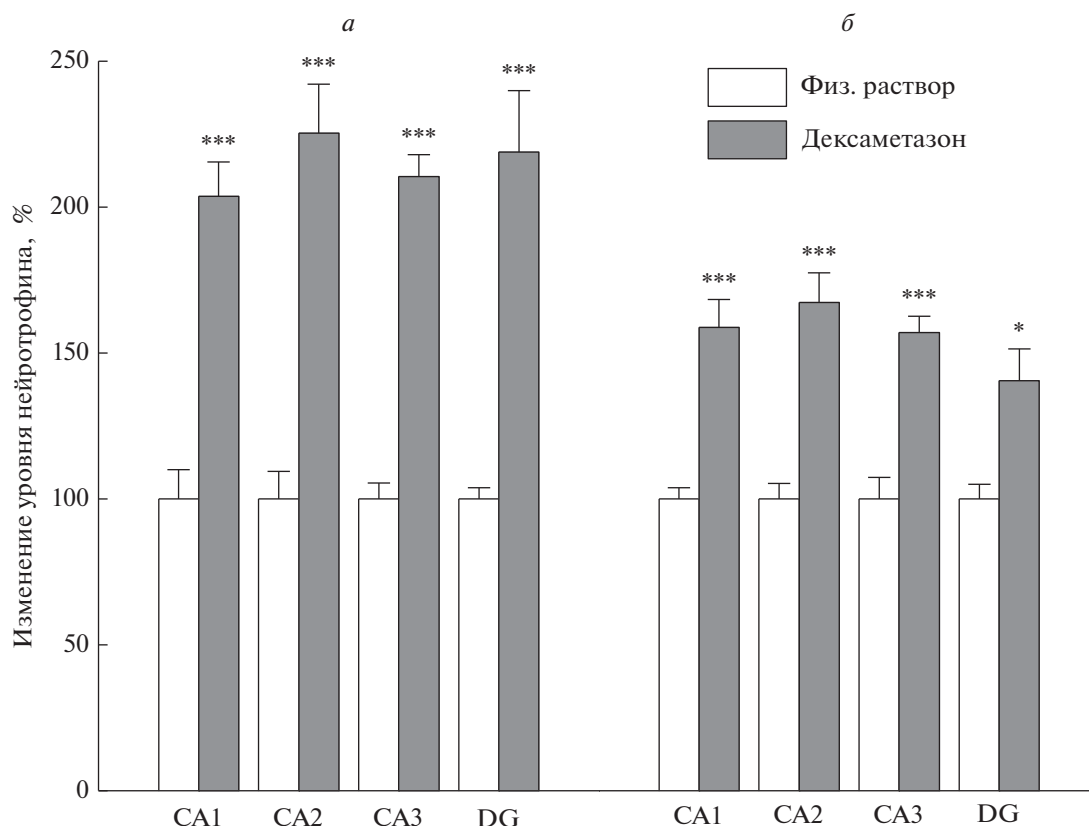


Рис. 2. Уровень proNT3 (а) и matNT3 (б) в областях гиппокампа неонатальных крысят через 6 часов после введения дексаметазона. * $p < 0.05$; *** $p < 0.001$ по сравнению с введением физ. раствора.

Уровень мРНК NT3 в гиппокампе достоверно увеличился через 6 ч после введения дексаметазона и оставался несколько повышенным и через 24 ч после гормонального воздействия (эффект — DEX $F_{1,19} = 26.96$; $p < 0.00001$, Post-Нос сравнения группы дексаметазона с введением физ. раствора 6 ч $p < 0.0001$; с введением физ. раствора 24 ч $p < 0.05$) (табл. 1).

В этих опытах уровень мРНК каспазы-3 в гиппокампе оставался неизменным как через 6 ч, так и через 24 ч после инъекции глюкокортикоида (табл. 1). Как собственно DEX, так и время после его введения, а также и взаимодействие этих факторов не оказывали существенного влияния на уровень мРНК ключевой протеазы апоптоза.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В гиппокампе глюкокортикоидные рецепторы экспрессируются на высоком уровне уже в перинатальном периоде [10], и поэтому его клетки высокочувствительны к этим гормонам. Так повышение уровня мРНК c-fos, маркера нейрональной активности [18], наблюдалось у 3-х дневных крысят в полях CA1 и CA3 гиппокампа уже через час после введения дексаметазона [14]. Ранее не было выявлено значимых признаков усиления процесса апоптотической гибели клеток в отделах неонатального головного мозга в первые часы после введения небольших, применяемых в клинике и аналогичных использованной в нашей работе, доз глюкокортикоидов [13]. Однако даже одна инъек-

Таблица 1. Уровень мРНК NT3 и каспазы-3 в гиппокампе 3-дневных крысят после введения дексаметазона

Группа	Время после воздействия, ч	Физ. раствор	Дексаметазон
NT3	6	1.00 ± 0.06	1.53 ± 0.12***
	24	0.95 ± 0.07	1.25 ± 0.12*
Каспаза-3	6	1.06 ± 0.18	1.00 ± 0.12
	24	1.12 ± 0.12	1.06 ± 0.08

* $p < 0.05$; *** $p < 0.0001$ по сравнению с физ. раствором.

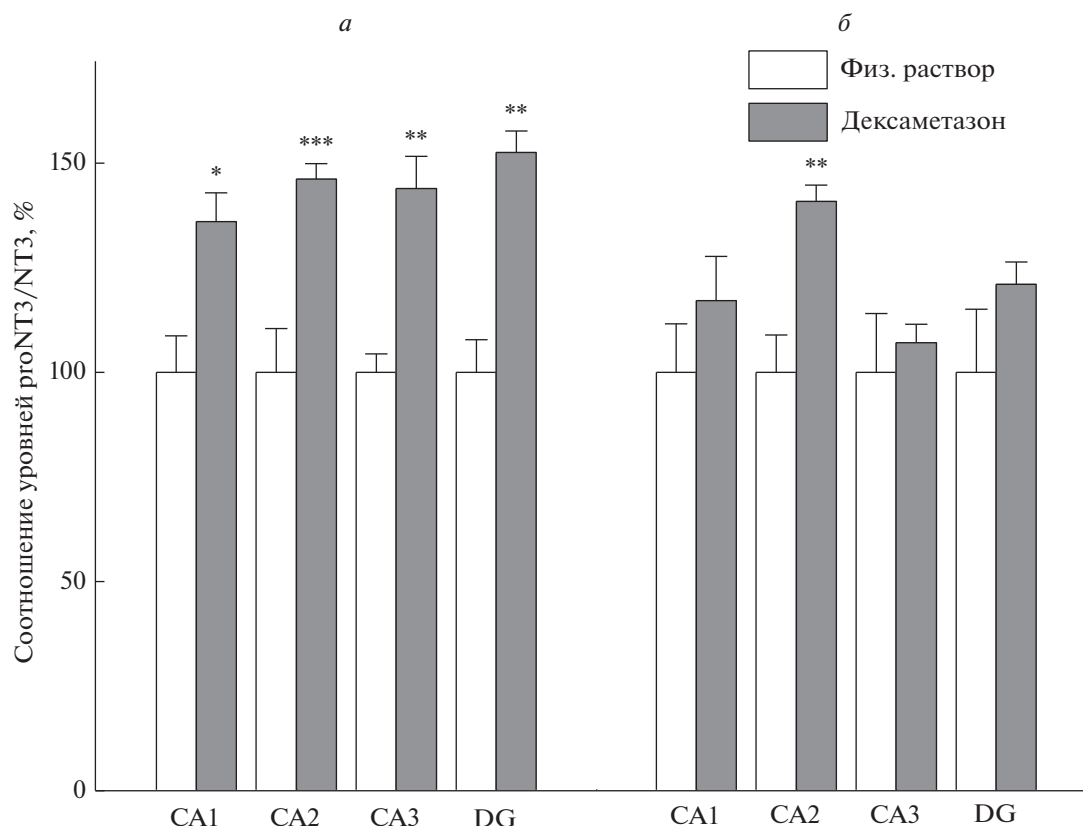


Рис. 3. Отношение уровней proNT3 к matNT3 в областях гиппокампа неонатальных крысят через 6 (а) или 24 ч (б) после введения им дексаметазона. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ по сравнению с введением физ. раствора.

ция подобной дозы дексаметазона приводила к поведенческим нарушениям у неонатальных крысят [19]. Механизмы патологических эффектов глюкокортикоидов на неонатальный головной мозг не ясны, и могут затрагивать в том числе и модификацию нейротрофических процессов, которая проявляется как в первые часы после инъекции дексаметазона, так и через сутки после воздействия [11], что определило выбор временных интервалов после введения дексаметазона в текущем эксперименте.

В данной работе обнаружено, что введение дексаметазона уже в первые часы приводит к значимому увеличению в гиппокампе экспрессии NT3 как на уровне мРНК, так и на уровнях проформы и зрелой формы нейротрофина. Эти факты согласуются с важной и неоднозначной, очевидно из-за особенностей экспериментов, ролью глюкокортикоидных гормонов в регуляции нейротрофических процессов в головном мозге, установленной, прежде всего, на примере мозгового нейротрофического фактора BDNF [20, 21]. Так, у взрослых животных после введения дексаметазона или стресса, повышающего уровень глюкокортикоидов в крови, в гиппокампе наблюдали как снижение экспрессии BDNF [22, 23],

так, и напротив, повышение, уровня этого нейротрофина [24, 25], а после хронического стресса, отмечалось также и повышение уровня мРНК NT3 в этой структуре мозга [5]. Глюкокортикоиды влияют на экспрессию BDNF, как путем связывания активированного гормоном его рецептора с регуляторными участками гена *bdnf* [26], так и через эпигенетические механизмы — ацетилирование гистонов [27]. В настоящее время какие-либо сведения о возможных механизмах регуляции экспрессии NT3 глюкокортикоидами в литературе не обнаружены, и эта проблема нуждается в исследовании.

При стимуляции экспрессии нейротрофина дексаметазоном формировалось преобладание proNT3 над matNT3. Баланс незрелых и зрелых форм нейротрофинов важен, поскольку пронейротрофины способны индуцировать апоптоз даже в присутствии трофической поддержки жизнеспособности клеток зрелыми формами факторов [28]. Проапоптозную функцию в формирующемся мозге, по-видимому, способен выполнять и предшественник нейротрофического фактора 3 — proNT3. Это показано на культуре нервных клеток *in vitro* [29], а также *in vivo* [30]. Однако, в данном эксперименте, несмотря на преобладание в первые ча-

сы после гормонального воздействия proNT3 над matNT3 во всем гиппокампе, признаков значимой модификации процесса апоптоза как по уровню мРНК каспазы-3 в данной работе, так и по числу активной каспазы-3-позитивных клеток исследованных ранее [11], в этом отделе мозга через 6 часов после введения дексаметазона не обнаружено. Через сутки после воздействия существенных эффектов глюкокортикоида на уровни matNT3 или proNT3 и их соотношение в большинстве областей гиппокампа уже не наблюдалось, за исключением зоны CA2, где уровень proNT3 превышал таковой matNT3.

Следует отметить, что повышение уровня matNT3 стимулирует образование возбуждающих синапсов глутаматергической системы [31], что в свою очередь способно индуцировать эксайтотоксическую гибель клеток [14]. Однако эксайтотоксический фактор, также как и особенности экспрессии proNT3/matNT3 в первые часы после введения дексаметазона, судя по нашим результатам определения уровня мРНК ключевой исполнительной протеазы программируемой гибели клеток — каспазы 3, и ранее полученных данных неизменности числа активной каспазы-3 экспрессирующих клеток в гиппокампе [11], по-видимому, не оказывают заметного влияния на апоптоз клеток гиппокампа неонатального мозга. Это может быть, по крайней мере частично, обусловлено параллельной активацией гормоном антиапоптозных процессов. Действительно, через 6 ч после введения дексаметазона у 3-дневных крысят наблюдалось повышение уровней антиапоптозного белка Bcl-xL и его мРНК в гиппокампе [10] и в стволе головного мозга [32].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе впервые обнаружена способность глюкокортикоидов индуцировать экспрессию нейротрофического фактора 3 в гиппокампе неонатальных крысят. При этом формировалось временное преобладание proNT3 над matNT3, которое однако, судя по уровню мРНК каспазы-3, и предыдущим данным по отсутствию роста числа клеток, экспрессирующих активную каспазу-3 не сопровождалось значимой модификацией протекания апоптоза в этой структуре головного мозга.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность ЦКП микроскопического анализа биологических объектов СО РАН.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Выполнение работы поддержано бюджетным проектом № 0324-2019-0041 и грантом РФФИ 18-315-20028.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kreider M.L., Aldridge J.E., Cousins M.M., Oliver C.A., Seidler F.J., Slotkin T.A. // *Neuropsychopharmacology*. 2005. V. 30. P. 1841–1855.
2. Murphy V.E., Smith R., Giles W.B., Clifton V.L. // *Endocr. Rev.* 2006. V. 27. P. 141–169.
3. Waffarn F., Davis E.P. // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2012. V. 207. P. 446–454.
4. Duksal F., Kilic I., Tufan A.C., Akdogan I. // *Brain Res.* 2009. V. 1250. P. 75–80.
5. Smith M.A., Makino S., Altemus M., Michelson D., Hong S.K., Kvetnansky R., Post R.M. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1995. V. 92. P. 8788–8792.
6. Roskoden T., Otten U., Schwegler H. // *Exp. Brain Res.* 2004. V. 154. P. 183–191.
7. Roth T., Sweatt J. // *Horm. Behav.* 2011. V. 59. P. 315–320.
8. Yang J., Harte-Hargrove L.C., Siao C.J., Marinic T., Clarke R., Ma Q., Jing D., Lafrancois J.J., Bath K.G., Mark W., Ballon D., Lee F.S., Scharfman H.E., Hempstead B.L. // *Cell Rep.* 2014. V. 7. P. 796–806.
9. Hempstead B. // *Handb. Exp. Pharmacol.* 2014. V. 220. P. 17–32.
10. van Eekelen J.A., Bohn M.C., de Kloet E.R. // *Dev. Brain Res.* 1991. V. 61. P. 33–43.
11. Bulygina V.V., Kalinina T.S., Lanshakov D.A., Dygalo N.N. // *European Neuropsychopharmacology*. 2017. V. 27 (S4). P. S609.
12. Miracle X., Di Renzo G.C., Stark A., Fanaroff A., Xavier Carbonell-Estrany X., Saling E. // *J. Perinat. Med.* 2008. V. 36. № 3. P. 191–196.
13. Menshanov P.N., Bannova A.V., Bulygina V.V., Dygalo N.N. // *Physiol. Res.* 2013. V. 62. P. 205–213.
14. Lanshakov D.A., Sukhareva E.V., Kalinina T.S., Dygalo N.N. // *Neurobiol. Dis.* 2016. V. 91. P. 1–9.
15. Lindholm D., Castren E., Hengeler B., Zafra F., Benninger B., Thoenen H. // *Eur. J. Neurosci.* 1992. V. 4. № 5. P. 404–410.
16. Suri D., Vaidya V.A. // *Neuroscience*. 2013. V. 239. P. 196–213.
17. Lanshakov D.A., Bulygina V.V., Romanova I.V., Dygalo N.N. // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2009. V. 147. № 5. P. 635–638.
18. Kovács K.J. // *Neurochem. Int.* 1998. V. 33. P. 287–297.
19. Menshanov P.N., Bannova A.V., Dygalo N.N. // *Behav. Brain Res.* 2014. V. 271. P. 43–50.
20. Jeanneteau F., Chao M.V. // *Neuroscience*. 2013. V. 239. P. 173–195.
21. Numakawa T., Odaka H., Adachi N. // *Int. J. Mol. Sci.* 2017. V. 18. № 11. P. e2312. doi:10.3390/ijms18112312
22. Vellucci S.V., Parrott R.F., Mimmack M.L. // *Res. Vet. Sci.* 2001. V. 70. P. 157–162.

23. Murakami S., Imbe H., Morikawa Y., Kubo C., Senba E. // *Neurosci. Res.* 2005. V. 53. P. 129–139.
24. Marmigère F., Givalois L., Rage F., Arancibia S., Tapia-Arancibia L. // *Hippocampus*. 2003. V. 13. P. 646–655.
25. Li X.H., Liu N.B., Zhang M.H., Zhou Y.L., Liao J.W., Liu X.Q., Chen H.W. // *Chin. Med. J. (Engl.)*. 2007. V. 120. P. 669–674.
26. Chen H., Lombès M., Le Menuet D. // *Mol. Brain*. 2017. V. 10. № 1. P. 12.
<https://doi.org/10.1186/s13041-017-0295-x>
27. Fuchikami M., Morinobu S., Kurata A., Yamamoto S., Yamawaki S. // *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2009. V. 12. P. 73–82.
28. Volosin M., Trotter C., Cragnolini A., Kenchappa R.S., Light M., Hempstead B.L., Carter B.D., Friedman W.J. // *J. Neurosci.* 2008. V. 28. P. 9870–9879.
29. Yano H., Torkin R., Martin L.A., Chao M.V., Teng K.K. // *J. Neurosci.* 2009. V. 29. P. 14790–14802.
30. Zanin E.A., Abercrombie E., Friedman W.J. // *eLife*. 2016. V. 5. P. e16654.
<https://doi.org/10.7554/eLife.16654>
31. Ammendrup-Johnsen, Naito Y., Craig A.M., Takahashi H. // *J. Neurosci.* 2015. V. 35. P. 12425–12431.
32. Shishkina G.T., Kalinina T.S., Bulygina V.V., Lanshakov D.A., Babluk E.V., Dygalo N.N. // *PLoS One*. 2015. V. 10. № 12. P. e0143978.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143978>

Expression of the Neurotrophic Factor 3 in the Hippocampus of Neonatal Rats after Administration of Dexamethasone

V. V. Bulygina^a, T. S. Kalinina^{a, b}, D. A. Lanshakov^{a, b}, and N. N. Dygalo^{a, b}

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

^b*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

Received November 23, 2018;

Revised March 25, 2019;

Accepted April 3, 2019

Elevated levels of glucocorticoids in the perinatal period of ontogeny may provoke further development of neuropathology, whose mechanisms may involve apoptosis of brain cells caused by impaired expression of neurotrophins, including practically unstudied neurotrophic factor 3 (NT3). In order to clarify this issue, we studied the effect of glucocorticoid dexamethasone (DEX) on levels of NT3 mRNA and key apoptotic protease caspase-3, as well as immature (proNT3) and mature (matNT3) forms of the studied neurotrophin in the hippocampus of 3–4-day-old rats 6 or 24 hours after DEX administration. In 6 hours but not in 24 hours DEX increased the levels of NT3 mRNA in the entire hippocampus, as well as the content of proNT3 and matNT3 proteins in the CA1–3 fields and the dentate gyrus of the structure. In this case, the expression of apoptogenic proNT3 temporarily predominated over matNT3, however, this was not accompanied by an increase in the level of caspase-3 mRNA.

Keywords: matNT3, proNT3, caspase-3, hippocampus, dexamethasone