

ВЛИЯНИЕ СТРЕССА НА ЭКСПРЕССИЮ НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА МОЗГА (BDNF) И ЕГО ПРЕДШЕСТВЕННИКА proBDNF У МЫШЕЙ, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ СЕРОТОНИНОВЫХ 5-HT_{1A} РЕЦЕПТОРОВ

© 2020 г. Е. М. Кондаурова¹, Т. В. Ильчибаева¹, Д. В. Базовкина¹,
Н. К. Попова¹, В. С. Науменко^{1, *}

¹Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения
Российской академии наук, Новосибирск, Россия

Поступила в редакцию 22.07.2019 г.

После доработки 01.10.2019 г.

Принята к публикации 03.10.2019 г.

В последнее время становится очевидным, что взаимодействие между серотониновой (5-НТ) системой и системой нейротрофического фактора мозга (BDNF) играет важную роль в механизмах регуляции поведения, различных физиологических и нейропластических процессов. При этом имеется ряд данных указывающих на вовлечение ключевого регулятора функциональной активности 5-НТ системы мозга – 5-НТ_{1A} рецептора в механизмы контроля BDNF системы. Недавно нами были созданы новые рекомбинантные линии мышей B6.CBA-D13Mit76C (B6-M76C) и B6.CBA-D13Mit76B (B6-M76B), различающиеся по чувствительности 5-НТ_{1A} рецепторов к хронической активации. В данной работе с использованием этих мышей мы исследовали вызванные острым стрессом изменения в уровнях белка BDNF и его белка-предшественника proBDNF. Было показано, что мыши B6-M76C со сниженной чувствительностью пресинаптических 5-НТ_{1A} рецепторов отличаются от мышей B6-M76B пониженным уровнем proBDNF в среднем мозге и гиппокампе и увеличенным соотношением BDNF/proBDNF в гиппокампе. При этом острый стресс вызывал снижение уровня proBDNF в среднем мозге мышей контрольной линии B6-M76B, вызывая существенное повышение соотношения BDNF/proBDNF, отражающее интенсивность “созревания” BDNF, в среднем мозге мышей линии B6-M76B, но не мышей линии B6-M76C. Таким образом, впервые обнаружено, что изменения чувствительности ключевого регулятора 5-НТ системы мозга – 5-НТ_{1A} рецептора, приводят к значительным изменениям в ответе BDNF системы на острый стресс. Также выявлено, что функция 5-НТ_{1A} рецептора связана и с паттернами базальной экспрессии элементов BDNF системы, а именно, с экспрессией белка-предшественника proBDNF. Кроме того, полученные данные дают основание предположить, что вызываемые острым стрессом изменения функциональной активности BDNF системы связаны, в первую очередь, с механизмами нейропластичности, определяющими эмоциональную и поведенческую реакцию на эмоциональный стресс.

Ключевые слова: нейротрофический фактор мозга, BDNF, белок-предшественник proBDNF, уровень белков, стресс, 5-НТ_{1A} рецепторы, рекомбинантные линии мышей

DOI: 10.31857/S1027813320030073

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время стало очевидно, что две ведущие системы нейропластичности мозга, серотонинергическая (5-НТ) и система нейротрофического фактора мозга (BDNF), тесно связаны между собой и их взаимодействие крайне важно как для функционирования обеих систем, так и для регуляции различных физиологических процессов [1, 2].

Как 5-НТ, так и BDNF системы мозга весьма сложны. BDNF производится в клетке из белка-предшественника proBDNF, который разрезается до proBDNF в аппарате Гольджи [3]. Далее proBDNF может подвергнуться редактированию с образованием BDNF [4]. И proBDNF, и BDNF обладают функциональной активностью, однако, если BDNF, связываясь с TrkB рецептором, приводит к синтезу белка, росту аксонов, созреванию дендритов, увеличивая синаптическую пластичность [3], то proBDNF связывается с p75 рецептором и ингибирует рост нейритов, сокращает размеры нейронов и запускает процессы апоптоза [5,

* Адресат для корреспонденции: 630090 Россия, Новосибирск, пр-т Академика Лаврентьева, 10; тел.: (383)3636187; e-mail: naumenko2002@bionet.nsc.ru, naumenko2002@mail.ru.

6]. Противоположные функции BDNF и его предшественника дают основание считать соотношение BDNF/proBDNF ауторегуляторным механизмом синаптической пластичности [2, 7].

Действие 5-HT на нейроны опосредуется множеством рецепторов, среди которых особое внимание привлекает 5-HT_{1A} рецептор. Этот рецептор является ключевым ауторегулятором 5-HT системы мозга. Он может локализоваться как пре-, так и постсинаптически, и активация пресинаптического 5-HT_{1A} рецептора приводит к подавлению секреции 5-HT в синаптическую щель [8]. Недавно в нашей лаборатории были созданы новые рекомбинантные линии мышей B6.CBA-D13Mit76C (B6-M76C) и B6.CBA-D13Mit76B (B6-M76B) на генетическом фоне линии C57BL/6 [9]. Мыши B6-M76C несут дистальный фрагмент хромосомы 13 (102.73–110.56 Mbp), полученный от линии CBA и содержащий ген 5-HT_{1A}-рецептора, и этим мыши линии B6-M76C отличаются от линии B6-M76B. Мыши линии B6-M76B прошли те же процедуры бэккросирования и инбридинга, что и мыши линии B6-M76C, однако, вместо фрагмента линии CBA, несут все тот же фрагмент линии C57BL/6. Различия между линиями B6-M76C и B6-M76B проявляются в чувствительности 5-HT_{1A} рецепторов: хроническое введение агониста этих рецепторов 8-OH-DPAT устраняет опосредованный преимущественно постсинаптическими 5-HT_{1A} рецепторами гипотермический ответ у мышей B6-M76C, но не у мышей B6-M76B. В то же время хроническая активация 5-HT_{1A} рецептора приводит к увеличению двигательной активности только у мышей B6-M76B. Кроме того, мыши B6-M76C характеризуются сниженным метаболизмом 5-HT в гиппокампе, и этот эффект сопровождается повышенной экспрессией 5-HT_{1A} рецептора в этой структуре по сравнению с мышами B6-M76B [9]. На основании этих данных мы предположили, что перенос 102.73–110.56 Mbp фрагмента хромосомы 13, содержащего 5-HT_{1A} рецептор, от линии CBA на генетический фон линии C57BL/6 привел к усилению чувствительности постсинаптических и ослаблению чувствительности пресинаптических 5-HT_{1A}-рецепторов [9]. Интересно отметить, что мыши B6-M76C показали пониженную экспрессию гена *Bdnf* в гипоталамусе после воздействия стресса по сравнению с контрольной группой [10].

Целью работы было изучение эффектов острого эмоционального стресса на уровень белка BDNF, его белка-предшественника proBDNF и соотношения BDNF/proBDNF в структурах мозга мышей линий B6-M76C и B6-M76B, различающихся по чувствительности 5-HT_{1A} рецепторов.

МЕТОДЫ ИСЛЕДОВАНИЯ

Животные. Эксперименты проводили на взрослых (10–12 нед., 20–25 г) самцах мышей линий B6.CBA-D13Mit76C (B6-M76C) и B6.CBA-D13Mit76B (B6-M76B), полученных в ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН г. Новосибирск, путем переноса фрагмента 102.73–110.56 Mbp хромосомы 13, содержащего ген 5-HT_{1A} рецептора, из генома линии CBA (B6-M76C) или линии C57BL/6 (B6-M76B) в геном мышей линии C57BL/6 [9, 11]. Животные содержались в клетках размером 40 см × 25 см × 15 см в стандартных условиях (20–22°C, свободный доступ к еде и воде, 12-ч цикл свет/темнота). За два дня до эксперимента мышей взвешивали и рассаживали в индивидуальные клетки для снятия групповых эффектов.

В эксперименте мыши каждой линии были разделены на две группы ($n = 6–10$) – контроль и острый стресс. Мыши экспериментальной группы подвергались эмоциональному рестрикционному стрессу путем содержания в течение 40 мин в металлической трубке (8.5 см × 2.5 см) с 48 вентиляционными отверстиями диаметром 0.4 см. Ограничительное устройство позволяло мышам вытягивать лапы, но не двигаться внутри него. Непосредственно после воздействия стресса мышей декапитировали. На льду выделяли гипоталамус, гиппокамп и область ядер шва среднего мозга, замораживали структуры мозга в жидком азоте и хранили при –80°C до процедуры выделения общей РНК и белка.

Работы с животными проводились с использованием ресурсов Центра генетических ресурсов лабораторных животных ИЦиГ СО РАН (RFMEFI61914X0005 и RFMEFI62114X0010). Содержание экспериментальных животных и все процедуры выполнены в соответствии с международными правилами обращения с животными National Institute of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH Publications No. 80023), 1996.

Определение количества белка (Western blot analysis). Уровни белков proBDNF и BDNF определяли при помощи Вестерн блот анализа. Для получения общей фракции белка соответствующие структуры мозга (кора, гиппокамп и средний мозг) гомогенизировали в лизирующем буфере, содержащем 300 mM NaCl, 100 mM Tris pH 8.0, 4 mM EDTA, 0.2% Triton, 1 mM Sodium orthovanadate, 2 mM PMSF и ингибиторы протеаз (Thermo Fisher Scientific Inc., USA). Ингибиторы протеаз использовали в рекомендованных производителем концентрациях. Гомогенат оставляли на льду в течении часа, затем центрифугировали 15 мин на 12000 g при 4°C. Отбирали супернатант в чистую пробирку. Количество общего белка оценивали с помощью BCA метода (Thermo Fisher Scientific Inc., USA). В дальнейшем образцы приводили к равной концентрации 1 мг/мл с помощью 2-кратно-

Таблица 1. Список использованных антител и условия иммунодетекции

Антитела, производитель	Разведение	Время инкубации, условия
Первичные антитела кролика к белку BDNF, Abcam, UK ab 4 6176	1 : 1000 в 5% сухом молоке с TBST	Ночь при 4°C
Первичные антитела мыши к белку pro-BDNF, Santa Cruz, USA, cat. No. sc 65513	1 : 250 в 5% сухом молоке с TBST	Ночь при 4°C
Антитела к белку GAPDH, конъюгированные с пероксидазой хрена, Santa Cruz, USA, cat. No. sc 25778	1 : 500 в 5% сухом молоке с TBST	2 ч, при комнатной температуре
Вторичные антитела козы, направленные против иммуноглобулинов мыши, конъюгированные с пероксидазой хрена, Abcam, UK ab 6728	1 : 2000 в 5% сухом молоке с TBST	1 ч, при комнатной температуре
Вторичные антитела козы, направленные против иммуноглобулинов кролика, конъюгированные с пероксидазой хрена, ThermoFisher Scientific Inc. USA	1 : 10000 в 5% сухом молоке с TBST	1 ч, при комнатной температуре

го Леммли буфера (4% SDS, 12.5% Glycerol, 120 мМ Tris (pH 6.8), 10% меркаптоэтанол, 0.02% Bromphenol blue) и денатурировали в течение 5 мин при 95°C.

Белок разделяли с помощью SDS-PAGE гелеэлектрофореза, используя 15%-ный разделяющий гель, и переносили с помощью электроблоттинга на нитроцеллюлозную мембрану 0.45 мкм (Bio-Rad laboratories Ltd., USA) в течение ночи при силе тока 50 мА. Для переноса использовали буфер, содержащий 190 мМ глицина, 25 мМ Tris pH 8.3 и 20% метанола. В качестве маркера использовали смесь Precision Plus Protein™ Kaleidoscope™ Prestained Protein Standards (Bio-Rad laboratories Ltd., США). Для иммунодетекции белка мембрану блокировали с 5%-ным сухим обезжиренным молоком, разведенным в TBS буфере с 0.05% Tween 20 (Bio-Rad laboratories Ltd., USA), в течение 3-х часов при комнатной температуре и инкубировали с первичными антителами (табл. 1). После детекции белков (как описано ниже) все мембраны обрабатывали с помощью restore plus western blot stripping buffer (ThermoFisher Scientific Inc. USA), для дальнейшей реиммунодетекции внутреннего контроля GAPDH (табл. 1). Для детекции всех белков мембрану отмывали 5 × 5 мин буфером TBST, добавляли вторичные поликлональные антитела (табл. 1). Повторяли отмывку мембраны.

Все связанные антитела визуализировались с помощью Super Signal™ West Femto Maximum Sensitivity Substrate (Thermo Fisher Scientific Inc., USA), в соответствии с инструкцией производителя, и гельдокументирующей системы Fusion FX7-820 System (Vilber Lourmat, France). Полу-

ченное изображение денситометрировали и количественно оценивали содержание белка при помощи программы Scion Image. Экспрессию белка выражали в относительных единицах и нормировали на экспрессию GAPDH, которая конститутивна для клеток мозга. Результаты представляли, в процентах относительно уровня белка у интактных мышей B6-M76B, принятого за 100%.

Статистическая обработка результатов. Экстремальные значения были определены при помощи метода Диксона [12] и исключены из анализа. Результаты представлены как $m \pm SEM$ и сравнивались с использованием двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA (фактор 1 – генотип, фактор 2 – стресс) с последующим апостериорным сравнением по Фишеру. Критерий значимости результатов – $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Мыши линии B6-M76C не отличались от мышей контрольной линии B6-M76B по уровню BDNF во всех исследованных структурах (рис. 1). Существенные различия были выявлены в экспрессии предшественника BDNF. Двухфакторный дисперсионный анализ выявил эффект генотипа ($F_{(1,14)} = 12.1, p < 0.01$) и эффект стресса ($F_{(1,14)} = 7.6, p < 0.05$) на уровень proBDNF в среднем мозге. Выявлен эффект генотипа и на уровень proBDNF в гиппокампе ($F_{(1,17)} = 4.9, p < 0.05$). Мыши B6-M76C отличались от мышей B6-M76B пониженным уровнем proBDNF в среднем мозге ($p < 0.05$) и в гиппокампе ($p < 0.05$) (рис. 2). В гипоталамусе различий по уровню proBDNF выявлено не было.

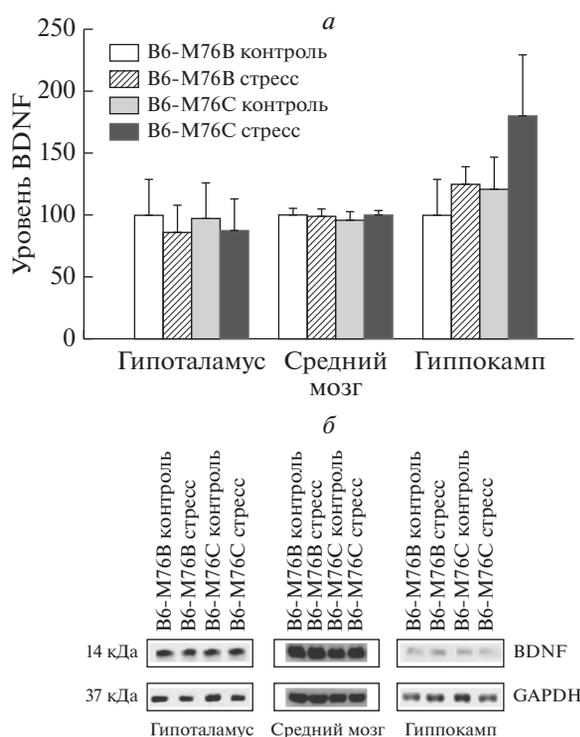


Рис. 1. *а* – Уровень белка BDNF в структурах мозга интактных и подвергавшихся острому стрессу мышей В6-М76С и В6-М76В. *б* – Хемилюминисцентный сигнал белка BDNF. Уровень белка BDNF выражали в относительных единицах хемилюминесценции и нормировали на экспрессию GAPDH. Результаты представлены в процентах относительно уровня белка у интактных мышей В6-М76В, принятого за 100%. Данные представлены как значения $m \pm SEM$ и сравнены при помощи двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA ($N \geq 4$).

Сравнение по Фишеру показало, что острый стресс вызывал существенное ($p < 0.05$) снижение уровня proBDNF в среднем мозге мышей контрольной линии В6-М76В, но не у мышей линии В6-М76С (рис. 2).

Обнаружен эффект генотипа ($F_{(1,13)} = 6.6, p < 0.05$) и эффект стресса ($F_{(1,13)} = 7.5, p < 0.05$) на соотношение BDNF/proBDNF в среднем мозге. В гиппокампе также обнаружен эффект генотипа ($F_{(1,16)} = 9.4, p < 0.01$) на соотношение BDNF/proBDNF. Действительно, мыши В6-М76С контрольной группы демонстрировали увеличенное соотношение BDNF/proBDNF по сравнению с мышами В6-М76В контрольной группы ($p < 0.05$) (рис. 3). Сравнение по Фишеру показало, что стресс вызывает существенное ($p < 0.05$) повышение отношения BDNF/proBDNF в среднем мозге мышей контрольной линии В6-М76В, но не у мышей линии В6-М76С (рис. 3).

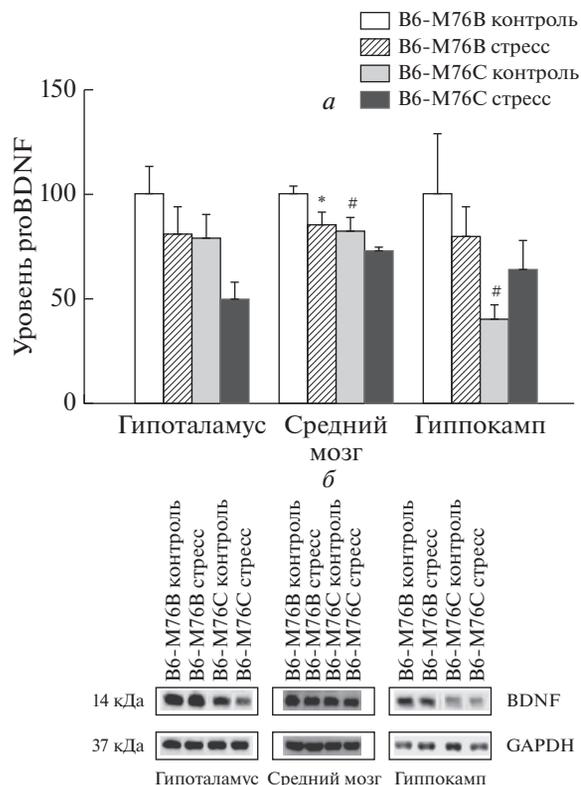


Рис. 2. *а* – Уровень белка proBDNF в структурах мозга интактных и подвергавшихся острому стрессу мышей В6-М76С и В6-М76В. *б* – Хемилюминисцентный сигнал белка proBDNF. Уровень белка proBDNF выражали в относительных единицах хемилюминесценции и нормировали на экспрессию GAPDH. Результаты представлены в процентах относительно уровня белка у интактных мышей В6-М76В, принятого за 100%. Данные представлены как значения $m \pm SEM$ и сравнены при помощи двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA ($N \geq 4$). * $p < 0.05$ – по сравнению с интактными мышами соответствующей линии; # $p < 0.05$ – по сравнению с интактными мышами линии В6-М76В.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Имеющиеся в литературе данные указывают на существование связи BDNF с 5-НТ_{1А} рецепторами мозга [13]. Также показано, что 5-НТ_{1А} рецептор может регулировать экспрессию BDNF в условиях стресса. Острый стресс в сочетании с введением агониста 5-НТ_{1А} рецепторов 8-ОН-DPAT вызывал повышение уровня мРНК *Bdnf* в структурах мозга крыс, а сочетание острого стресса с введением антагониста 5-НТ_{1А} рецепторов MDL73005, напротив, приводило к снижению уровня мРНК *bdnf* в структурах мозга крыс [14–17].

Ранее мы показали [9], что мыши В6-М76С отличаются от мышей В6-М76В повышенной чувствительностью постсинаптических и сниженной чувствительностью пресинаптических 5-НТ_{1А} рецепторов. Результаты, полученные в настоящей

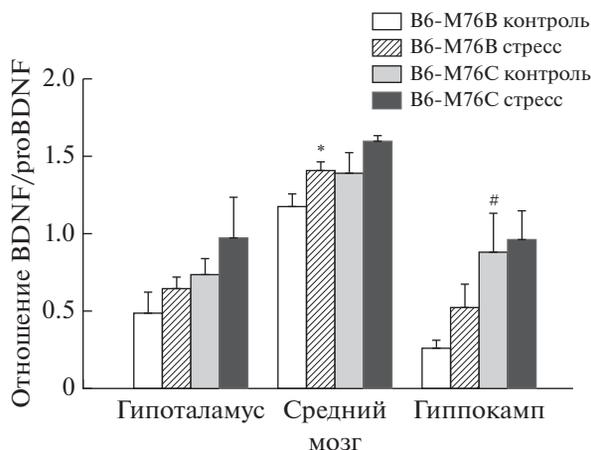


Рис. 3. Соотношение уровня белка BDNF к уровню белка proBDNF в структурах мозга интактных и подвергавшихся острому стрессу мышей В6-М76С и В6-М76В. Все данные представлены, как значения $m \pm \text{SEM}$ и сравнены при помощи двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA ($N \geq 4$). * $p < 0.05$ – по сравнению с интактными мышами соответствующей линии; # $p < 0.05$ – по сравнению с интактными мышами линии В6-М76В.

работе, выявили влияние генетически детерминированной функциональной активности 5-НТ_{1А} рецепторов на систему BDNF и ее реакцию на эмоциональный стресс. Интересно отметить, что уровень BDNF у мышей В6-М76С с измененной чувствительностью 5-НТ_{1А} рецепторов существенно не отличался от уровня контрольной линии. Основные изменения происходили в экспрессии предшественника BDNF – proBDNF. Мыши линии В6-М76С отличались от контрольной линии В6-М76В пониженным уровнем proBDNF в среднем мозге и гиппокампе, что увеличило отношение BDNF/proBDNF, отражающее интенсивность “созревания” BDNF. Достаточно неожиданно, но эти изменения оказались сходными с изменениями BDNF/proBDNF среднего мозга, обнаруженными при действии эмоционального стресса на контрольную линию мышей. Примененный эмоциональный стресс, не повлияв на уровень белка BDNF у мышей В6-М76В, понизил уровень proBDNF и увеличил отношение BDNF/proBDNF. Интересно отметить, что индуцированные стрессом изменения в экспрессии proBDNF и в соотношении BDNF/proBDNF, обнаруженные в среднем мозге контрольной линии В6-М76В, отсутствовали в среднем мозге мышей В6-М76С со сниженной чувствительностью 5-НТ_{1А} рецепторов. Средний мозг – структура мозга, где преобладают пресинаптические 5-НТ_{1А} рецепторы [18]. Это позволяет предположить, что понижение чувствительности именно пресинаптических 5-НТ_{1А} рецепторов привело к ослаблению ответа BDNF системы на острый стресс. Также можно предположить, что пониженный базальный уровень proBDNF в среднем мозге мышей В6-М76С является причиной, по которой острый эмоциональный стресс не вызвал у них сниже-

ния экспрессии proBDNF, наблюдаемого у мышей В6-М76В. Также следует иметь в виду, что количество белка proBDNF или BDNF зависит от множества факторов. Например, количество proBDNF зависит от транскрипции, трансляции, транспортировки в другие структуры и процессинга до BDNF, а количество BDNF зависит от процессинга proBDNF, транспортировки и разрушения самого BDNF.

Изменения экспрессии proBDNF и отношения BDNF/proBDNF в среднем мозге при неизменном уровне BDNF было отмечено нами и ранее у высоко агрессивных крыс, селекционированных в течение более 70 поколений на высокую агрессивность [19]. Это дает основание предположить, что (1) одним из факторов, модулирующих генетически детерминированную функциональную активность системы BDNF, является его предшественник proBDNF, (2) 5-НТ_{1А} рецептор регулирует экспрессию proBDNF, (3) генетически детерминированная активность 5-НТ_{1А} рецептора является одним из факторов, влияющих на уровень proBDNF и отношение BDNF/proBDNF, (4) неизменный уровень самого белка и мРНК BDNF без информации об экспрессии proBDNF может ввести в заблуждение при оценке функционального состояния системы BDNF.

Учитывая прямо противоположное влияние BDNF и proBDNF на нейрогенез – антиапоптотическое BDNF и проапоптотическое действие proBDNF, увеличение BDNF/proBDNF, обнаруженное у мышей В6-М76С и при действии стресса на мышей В6-М76В, повышает нейропластичность мозга и должно рассматриваться как положительное. На первый взгляд это противоречит сложившимся взглядам о негативном действии стресса. Однако это предположение хорошо укладывается

в представления основателя концепции стресса Ганса Селье о разном влиянии различающихся по силе и продолжительности действия стрессоров и о положительном, активирующем действии слабого или умеренного стресса (eustress) [20]. Примененный нами эмоциональный стрессор, временно ограничивающий двигательную активность мышей, относится к умеренным видам стрессирования. Существенных различий в гормональной реакции этих линий мышей обнаружено не было: базальный уровень кортикостерона в крови мышей B6-M76B и мышей B6-M76V, как и его повышение в ответ на стресс было сходным [9, 21]. Не было выявлено и изменений и в уровне BDNF и proBDNF в ключевом звене реакции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы на стресс-гипоталамусе. Это дает основание предположить, что основное влияние комплекса proBDNF–BDNF связано не с механизмами гормональной регуляции стресса, а с механизмами нейропластичности, определяющими эмоциональную и поведенческую реакцию на эмоциональный стресс.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Содержание животных осуществлялось за счет средств бюджетного проекта № 0324-2019-0041; работа поддержана грантом Российского научного фонда (грант № 19-15-00025).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Этическое одобрение. Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Popova N.K., Ilchibaeva T.V., Naumenko V.S.* // Biochemistry (Mosc.). 2017. V. 82. № 3. P. 308–317.
2. *Попова Н.К., Ильчибаева Т.В., Науменко В.С.* // Биохимия. 2017. Т. 82. № 3. С. 449–459.
3. *Benarroch E.E.* // Neurology. 2015. V. 84. № 16. P. 1693–1704.
4. *Lu B., Pang P.T., Woo N.H.* // Nat. Reviews. Neurosci. 2005. V. 6. № 8. P. 603–614.
5. *Kenchappa R.S., Tep C., Korade Z., Urra S., Bronfman F.C., Yoon S.O., Carter B.D.* // J. Biol. Chem. 2010. V. 285. № 26. P. 20358–20368.
6. *Deinhardt K., Chao M.V.* // Neuropharmacol. 2014. V. 76. Pt. C. P. 603–609.
7. *Бородинова А.А., Саложин С.В.* // Журн. высш. нервн. деят. 2016. Т. 66. С. 3–23.
8. *Popova N.K., Naumenko V.S.* // Rev. Neurosci. 2013. V. 24. № 2. P. 191–204.
9. *Kulikova E.A., Bazovkina D.V., Akulov A.E., Tsybko A.S., Fursenko D.V., Kulikov A.V., Naumenko V.S., Ponomaskin E., Kondaurova E.M.* // Br. J. Pharmacol. 2016. V. 173. № 13. P. 2147–2161.
10. *Kulikova E.A., Bazovkina D.V., Antonov Y.V., Akulov A.E., Kulikov A.V., Kondaurova E.M.* // Neurosci. Res. 2017. V. 117. P. 14–21.
11. *Кондаурова Е.М., Базовкина Д.В., Куликов А.В.* // Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2015. Т. 101. № 6. С. 670–677.
12. *Dixon W.J.* // Biometrics. 1953. V. 9. № 1. P. 74–89.
13. *Popova N.K., Naumenko V.S.* // Exp. Opin. Ther. Targ. 2019. V. 23. № 3. P. 227–239.
14. *Jiang D.G., Jin S.L., Li G.Y., Li Q.Q., Li Z.R., Ma H.X., Zhuo C.J., Jiang R.H., Ye M.J.* // Neural Regen. Res. 2016. V. 11. № 9. P. 1471–1479.
15. *Nibuya M., Morinobu S., Duman R.S.* // J. Neurosci. 1995. V. 15. № 11. P. 7539–7547.
16. *Altar C.A.* // Trends Pharmacol. Sci. 1999. V. 20. № 2. P. 59–61.
17. *Castren E., Rantamaki T.* // Dev. Neurobiol. 2010. V. 70. № 5. P. 289–297.
18. *Barnes N.M., Sharp T.* // Neuropharmacol. 1999. V. 38. № 8. P. 1083–1152.
19. *Ilchibaeva T.V., Kondaurova E.M., Tsybko A.S., Kozhemyakina R.V., Popova N.K., Naumenko V.S.* // Behav. Brain Res. 2015. V. 290. P. 45–50.
20. *Selye H.* // J. Hum. Stress. 1975. V. 1. № 2. P. 37–44.
21. *Попова Н.К., Понимаскин Е.Г., Науменко В.С.* // Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2015. Т. 101. № 11. С. 1270–1278.

The Influence of Stress on the Expression of the Neurotrophic Brain Factor (BDNF) and Its Precursor proBDNF in Mice With Different by Sensitivity of Serotonin 5-HT_{1A} Receptors

E. M. Kondaurova^a, T. V. Ilchibaeva^a, D. V. Bazovkina^a, N. K. Popova^a, and V. S. Naumenko^a

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

Recently, it became apparent that the interaction between the serotonin (5-HT) system and the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) system plays an important role in the mechanisms of regulation of behavior, various physiological and neuroplastic processes. Moreover, there is a series of data indicating the involvement of a key regulator of the functional activity of the 5-HT brain system, 5-HT_{1A} receptor, in the control

mechanisms of the BDNF system. Recently, we have created new recombinant mouse strains B6.CBA-D13Mit76C (B6-M76C) and B6.CBA-D13Mit76B (B6-M76B) with different sensitivity of 5-HT_{1A} receptors to chronic activation. In this paper, using these mice, we studied acute stress-induced changes in the levels of the BDNF protein and its precursor protein proBDNF. It was shown that B6-M76C mice with reduced sensitivity of presynaptic 5-HT_{1A} receptors differ from B6-M76B mice in a lower level of proBDNF in the midbrain and hippocampus and an increased BDNF/proBDNF ratio in the hippocampus. In this case, acute stress caused a decrease in the level of proBDNF in the midbrain of mice of the control strain B6-M76B, causing a significant increase in the BDNF/proBDNF ratio, which reflects the intensity of “maturation” of BDNF in the midbrain of B6-M76B mice but not B6-M76C mice. Thus, it was discovered that changes in the sensitivity of the key regulator of the 5-HT system of the brain, 5-HT_{1A} receptors, lead to significant changes in the response of the BDNF system to acute stress. It was also revealed that the function of 5-HT_{1A} receptor is associated with patterns of basal expression of elements of the BDNF system, namely, with the expression of the proBDNF precursor protein. In addition, the data obtained suggest that the changes in the functional activity of the BDNF system caused by acute stress are associated primarily with neuroplasticity mechanisms that determine the emotional and behavioral response to emotional stress.

Keywords: brain neurotrophic factor, BDNF, proBDNF precursor protein, protein level, stress, 5-HT_{1A} receptors, recombinant mouse lines