

Влияние хронического стресса на относительный уровень экспрессии генов дофаминовых рецепторов

Е.В. Валева^{1,2*}, И.И. Семина², А.Г. Галеева^{1,3}, А.Д. Мухаметшина¹,
Р.Д. Мухаметшина¹, О.А. Кравцова¹

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия;

²Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Россия;

³Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности — Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт, г. Казань, Россия

Реферат

Актуальность. При воздействии хронического стресса нарушается регуляция центральной дофаминергической системы, однако остаётся малоизученной динамика изменения экспрессии дофаминовых рецепторов на периферии.

Цель. Оценка влияния разных моделей хронического стресса в условиях иммобилизации и интенсивной физической нагрузки на изменение относительного уровня экспрессии генов дофаминовых рецепторов в клетках периферической крови крыс.

Материал и методы исследования. В течение 270 дней на 88 крысах линии Вистар исследовали влияние разных моделей хронического стресса на изменение относительного уровня экспрессии генов *Drd1–5* в четырёх группах: первая группа — контроль; вторую группу подвергали интенсивной физической нагрузке в тесте «Вынужденное плавание с грузом» (7-минутное плавание с грузом 8% массы тела 2 раза в неделю); третья группа в течение 14 дней испытывала каждодневную 90-минутную иммобилизацию; четвертую группу подвергали комбинированному воздействию физической нагрузки и иммобилизации. Относительный уровень экспрессии генов рецепторов дофамина определяли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени через 90, 180 и 270 дней эксперимента в клетках периферической крови хвостовой вены. Расчёт относительного уровня экспрессии генов проводили на основе метода Ливака ($2^{-\Delta\Delta C_t}$), для оценки значимости различий применяли двухвыборочный t-критерий для независимых выборок.

Результаты. При анализе относительного уровня экспрессии генов, кодирующих дофаминовые рецепторы D1-типа, только у самцов из групп иммобилизационного стресса и контроля показано снижение уровня экспрессии гена *Drd1* через 90 дней эксперимента [RQ 0,35 ($p=0,003$) и 0,21 ($p=0,002$) соответственно], тогда как у самцов из других групп и самок активность данного гена значимо не изменялась на протяжении всего хода эксперимента. Относительный уровень экспрессии гена *Drd5* менялся только у самок. У самок, подвергавшихся интенсивной физической нагрузке, уровень экспрессии этого гена повышался практически в 4 раза (RQ 3,82, $p=0,005$) через 90 дней после начала эксперимента, а у самок контрольной группы транскрипционная активность гена снижалась в 4 раза через 180 дней эксперимента (RQ 0,25, $p=0,015$). При оценке изменения активности генов, кодирующих рецепторы D2-типа, для генов *Drd3* и *Drd4* выявлено значимое увеличение относительного уровня экспрессии во всех экспериментальных группах, причём как у самцов, так и у самок на 180-е сутки воздействия стрессовых факторов. При этом в контрольной группе активация обоих генов происходила уже через 90 дней только у особей женского пола и сохранялась ещё до 90-х суток, после чего возвращалась к исходному уровню. В клетках крови крыс экспрессия гена *Drd2* не выявлена.

Вывод. Относительный уровень экспрессии генов D1- и D2-подобных рецепторов в клетках периферической крови крыс зависит от типа хронического стресса и имеет выраженный половой диморфизм.

Ключевые слова: хронический стресс, гены дофаминергических рецепторов, относительный уровень экспрессии генов.

*Для переписки: vevaleeva@ya.ru

Поступила 09.08.2021; принята в печать 18.11.2021;

опубликована: 10.06.2022.

© Эко-Вектор, 2022. Все права защищены.

*For correspondence: vevaleeva@ya.ru

Submitted 09.08.2021; accepted 18.11.2021;

published: 10.06.2022.

© Eco-Vector, 2022. All rights reserved.

Для цитирования: Валева Е.В., Семина И.И., Галева А.Г., Мухаметшина А.Д., Мухаметшина Р.Д., Кравцова О.А. Влияние хронического стресса на относительный уровень экспрессии генов дофаминовых рецепторов. *Казанский мед. ж.* 2022;103(3):418–426. DOI: 10.17816/KMJ2022-418.

ORIGINAL STUDY | DOI: 10.17816/KMJ2022-418

Effect of chronic stress on the relative level of dopamine receptor gene expression

E.V. Valeeva^{1,2*}, I.I. Semina², A.G. Galeeva^{1,3}, A.D. Mukhametshina¹, R.D. Mukhametshina¹, O.A. Kravtsova¹

¹Kazan (Volga Region) Federal university, Kazan, Russia;

²Kazan state medical university, Kazan, Russia;

³Federal Center for toxicological, radiation, and biological safety — Federal Research Veterinary Institute, Kazan, Russia

Abstract

Background. The regulation of the central dopaminergic system under the influence of chronic stress is disturbed, however, the dynamics of changes in the dopamine receptors expression in the periphery remains poorly understood.

Aim. Evaluation of the different models of chronic stress influence on changes in the relative level of dopamine receptor gene expression in peripheral blood cells of rats during immobilization and intense physical activity.

Material and methods. For 270 days on 88 Wistar rats, the study on the effect of different models of chronic stress on the change in the relative level of *Drd1–5* genes expression was performed in four groups: the first control group; the second group was subjected to intensive physical activity in the “Forced swimming with a load” test (7-minute swimming with a load of 8% of body weight 2 times a week); the third group experienced daily 90-minute immobilization for 14 days; the fourth group had combined exposure of physical activity and immobilization. The relative level of dopamine receptor gene expression was determined by real-time polymerase chain reaction after 90, 180, and 270 days of the experiment in peripheral blood cells of the tail vein. The calculation of the relative level of gene expression was carried out based on the Livak method ($2^{-\Delta\Delta Ct}$); the assessment of the difference significance — using a two-sample t-test for independent samples.

Results. The analysis of the relative level of genes encoding D1-type dopamine receptors expression showed that a decrease in the *Drd1* gene expression level after 90 days of the experiment was detected only in male rats from immobilization stress and control groups [RQ 0.35 ($p=0.003$) and 0.21 ($p=0.002$), respectively], while in males from other groups and females, the activity of this gene did not change significantly throughout the course of the experiment. The relative expression level of *Drd5* gene changed only in female rats. In females subjected to intense physical activity, the level of this gene expression increased almost 4 times (RQ 3.82, $p=0.005$) 90 days after the start of the experiment, and in females of the control group, the transcriptional activity of the gene decreased 4 times after 180 days of the experiment (RQ 0.25, $p=0.015$). When assessing changes in the activity of genes encoding D2-type receptors for the *Drd3* and *Drd4* genes, a significant increase in the relative expression level was revealed in all experimental groups, both in males and females, on the 180th day of exposure to stress factors. At the same time, activation of both genes was occurred after 90 days in the control group only in females and persisted up to another 90 days, after which it returned to the initial level. Expression of the *Drd2* gene wasn't detected in rat blood cells.

Conclusion. The relative level of expression of D1- and D2-like receptor genes in rat peripheral blood cells depends on the type of chronic stress and has pronounced sexual dimorphism.

Keywords: chronic stress, dopaminergic receptor genes, relative level of gene expression.

For citation: Valeeva EV, Semina II, Galeeva AG, Mukhametshina AD, Mukhametshina RD, Kravtsova OA. Effect of chronic stress on the relative level of dopamine receptor gene expression. *Kazan Medical Journal.* 2022;103(3):418–426. DOI: 10.17816/KMJ2022-418.

Актуальность

В современном мире человечество подвержено стрессу, и если острый (кратковременный) стресс, сопровождающийся процессом синтеза адреналина и норадреналина, может оказывать стимулирующее воздействие на организм, то хроническое воздействие стрессовых факторов, как правило, носит необратимо деструктивный характер [1].

Стресс — комплекс общих неспецифических реакций нейроэндокринной системы организ-

ма в ответ на дисбаланс гомеостаза организма [2]. Любой стресс является адаптивным ответом, контролируемым медиаторами и гормонами гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, которые работают по принципу прямой и обратной связи [2].

Стресс классифицируют на острый и хронический в зависимости от времени воздействия.

Острый стресс характеризуется тем, что стрессовый фактор активирует гормональную систему ответа на комплекс поведенческих и

физиологических изменений в гораздо более короткий промежуток времени (например, разовая интенсивная физическая активность, отморожение, сильный испуг и др.) [3].

Хронический стресс отличается долговременным воздействием стрессового фактора на организм, к примеру изнурительные физические тренировки без фазы восстановления у спортсменов, что приводит к более выраженному сдвигу гормонального баланса в сторону снижения уровня анаболических гормонов (инсулин, соматотропин, тестостерон и пролактин) и повышению уровня катаболических гормонов (кортизол, глюкокортикоиды, адреналин и норадреналин). Данное нарушение регуляции нейроэндокринной системы приводит к аллостатической нагрузке и, в случае гипо- или гиперактивации, к её перегрузке [4]. При этом хронический стресс способен провоцировать и более серьёзные функциональные изменения, такие как быстрое утомление, развитие депрессии, сердечно-сосудистой патологии и др. [5, 6].

Стрессовые события в первую очередь влияют на уровень синтеза катехоламинов, к которым относится и дофамин, вырабатываемый в чёрной субстанции мезолимбической области и вентральной области среднего мозга. Ответ организма на стресс, прежде всего, будет выражаться в виде изменений дофаминергической нейротрансмиссии, поскольку это позволяет адаптироваться к негативному изменению условий окружающей среды [7].

Дофамин взаимодействует с пятью подтипами метаболитических рецепторов, которые подразделяют на два семейства: D1-подобные (так называемые возбуждающие, D1 и D5) и D2-подобные (так называемые ингибирующие, D2, D3 и D4), которые при активации стимулируют или подавляют активность аденилатциклазы соответственно [8].

В центральной нервной системе дофаминовые рецепторы высокоэкспрессированы, поскольку синтезированный в головном мозге дофамин участвует в важнейших функциях организма: управлении движениями, познании и нейроэндокринной секреции [9]. При остром стрессе увеличиваются уровень дофамина и активность его передачи дофаминергическими нейронами в медиальной префронтальной коре головного мозга. Так, в исследовании E. Azadmarzabadi и соавт. было показано, что профиль экспрессии генов дофаминергических путей различается у людей с разными реакциями на различные типы стрессов по данным опросников: у респондентов с острыми реакциями на стрессовые жизненные ситуации

(кризис или катастрофа) были сверхэкспрессированы гены *DRDI-4* [10]. Авторы косвенно подтвердили данные о том, что у индивидов с низкой стрессоустойчивостью в крови увеличен уровень дофамина [11].

Тем не менее, данные дофаминергической нейротрансмиссии при хроническом стрессе в центральной нервной системе носят противоречивый характер, и практически отсутствуют сведения об изменениях в функционировании дофаминергической системы на периферии [12], где дофаминовые рецепторы экспрессируются, в первую очередь, в почечной ткани и клетках сосудистой сети [8].

Цель

Целью настоящей работы была оценка влияния разных моделей хронического стресса (в условиях иммобилизации и интенсивной физической нагрузки) на изменение относительного уровня экспрессии генов дофаминовых рецепторов в периферической крови крыс.

Материал и методы исследования

Продолжительный 270-суточный эксперимент проводили на 88 крысах линии Вистар, содержащихся в отдельных клетках (54 самца с массой тела в начале эксперимента 256–316 г, в конце — 450–551 г; 34 самки с массой тела в начале эксперимента 202–266 г, в конце — 299–320 г), полученных из питомника лабораторных животных «Столбовая» (Московская область). До начала эксперимента все грызуны содержались согласно руководству по содержанию и уходу за лабораторными животными (ГОСТ 33215-2014) с соблюдением Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (Страсбург, 1986).

Исследование одобрено локальным этическим комитетом Казанского федерального (Приволжского) университета (протокол №20 от 27 декабря 2019 г.).

Моделирование различных типов хронического стресса начинали в возрасте 90 дней, на момент окончания эксперимента возраст крыс составлял 12 мес. Для моделирования различных типов хронического стресса были сформированы четыре группы животных:

- первая группа — интактные крысы (контроль, n=21, 9 самок и 12 самцов)
- вторая группа — крысы, подвергавшиеся стрессу в тесте «Вынужденное плавание с грузом», моделирующем интенсивную физическую активность (n=19, 7 самок и 12 самцов);

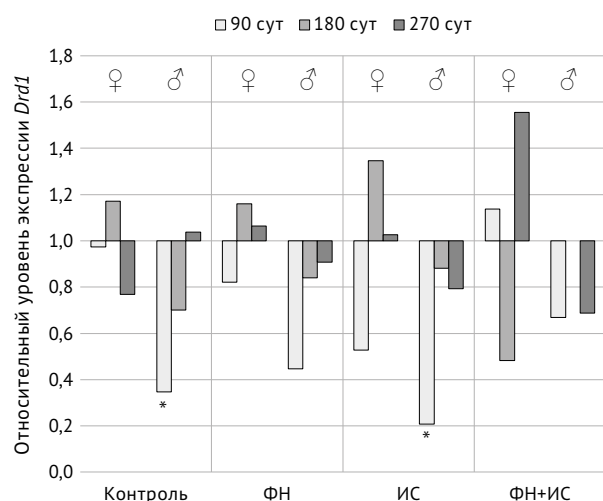


Рис. 1. Изменение относительного уровня экспрессии гена дофаминового рецептора 1-го типа (*Drd1*) в крови у самок и самцов крыс в контрольной группе и группах, подвергавшихся физической нагрузке (ФН), иммобилизационному стрессу (ИС) и комбинированному воздействию стрессовых факторов на 90, 180 и 270 сут от начала наблюдения. Уровень p отмечен звёздочкой: * $p \leq 0,005$

– третья группа — животные, подвергавшиеся иммобилизационному стрессу ($n=22$, 7 самок и 15 самцов);

– четвёртая группа — крысы, которые подвергались комплексной, физической и иммобилизационной нагрузке ($n=26$, 11 самок и 15 самцов).

1. Моделирование хронического стресса. Хронический стресс, вызванный интенсивной физической нагрузкой, моделировали с использованием теста «Вынужденное плавание с грузом» в водном бассейне (НПК «Открытая наука», Россия; $d=150$ см, $h=60$ см; продолжительность плавания — 7 мин, с грузом 8% массы тела) с периодичностью 2 раза в неделю в течение 270 сут [13, 14].

Хронический иммобилизационный стресс у крыс вызвали ежедневной 90-минутной иммобилизацией на протяжении 14 дней каждые 90 дней в специальном пенале-фиксаторе (16,5×5,5 см) перед очередной точкой забора крови [15].

При комбинированном воздействии крыс из второй и третьей групп подвергали стрессовым факторам в те же временные точки, однако иммобилизацию крысам в день вынужденного плавания с грузом не проводили.

2. Выделение рибонуклеиновой кислоты (РНК) и получение комплементарной дезоксирибонуклеиновой кислоты (кДНК). Для выделения РНК проводили забор крови из хвостовой вены крыс (с антикоагулянтом — 0,5 мМ эти-

лендиаминтетрауксусной кислотой) в начале эксперимента, далее через 90, 180 и 270 дней исследования на следующий день после воздействия стрессовых факторов. После отделения сыворотки из 150 мкл форменных элементов крови получали суммарный препарат РНК с использованием набора ExtractRNA (Евроген, Россия) с последующим синтезом кДНК (MMLV RT kit; Евроген, Россия) согласно инструкции фирмы-производителя.

3. Определение относительного уровня экспрессии генов. Оценку относительного уровня экспрессии генов проводили на основе данных, полученных методом полимеразной цепной реакции в реальном времени на амплификаторе CFX96 (BioRad, США) с использованием зондов TaqMan [*Drd1* (кат. №Rn03062203), *Drd2* (кат. №Rn00561126), *Drd3* (кат. №Rn00567568), *Drd4* (кат. №Rn00564071), *Drd5* (кат. №Rn00562768)] согласно инструкции фирмы-производителя (Thermo Fisher Scientific, США). В качестве референсного гена использовали ген *Gapdh* (кат. №Rn01775763).

4. Статистическая обработка полученных данных проведена с применением общепринятых методик при помощи программы Jamoviv 1.6 (www.jamovi.org, Сидней, Австралия). Нормальность распределения оценивали с помощью критерия Шапиро–Уилка. Расчёт относительного уровня экспрессии генов выполняли на основе метода $2^{-\Delta\Delta Ct}$ [16]. При оценке динамики относительного уровня экспрессии генов применяли двухвыборочный t-критерий для независимых выборок. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

Результаты

Анализ изменения активности генов дофаминовых рецепторов под действием различных типов хронического стресса проводили отдельно для самок и самцов, поскольку известно, что самки и самцы по-разному реагируют на острые и хронические стрессоры из-за гормональных особенностей [17]. Экспрессии гена *Drd2* в клетках периферической крови крыс не было выявлено.

При анализе активности генов, кодирующих дофаминовые рецепторы D1-типа, только у самцов, подвергавшихся иммобилизации, и контрольной группы показано снижение относительного уровня экспрессии гена *Drd1* через 90 дней эксперимента [RQ 0,35 ($p=0,003$) и 0,21 ($p=0,002$) соответственно], тогда как у самцов из других групп и самок активность данного гена значимо не изменялась на протяжении всего хода эксперимента (рис. 1).

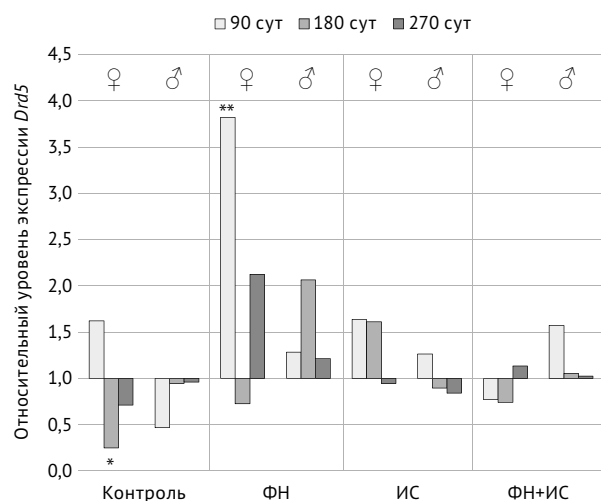


Рис. 2. Изменение относительного уровня экспрессии гена дофаминового рецептора 5-го типа (*Drd5*) в крови у самок и самцов крыс в контрольной группе и группах, подвергавшихся физической нагрузке (ФН), иммобилизационному стрессу (ИС) и комбинированному воздействию стрессовых факторов на 90, 180 и 270 сут от начала наблюдения. Уровень *p* отмечен звёздочками: **p* ≤ 0,05, ***p* ≤ 0,005

Относительный уровень экспрессии другого гена, относящегося к классу D1-подобного рецептора, гена *Drd5*, изменялся только у самок. В частности, через 90 дней у самок, подвергавшихся интенсивной физической нагрузке, уровень экспрессии повышался практически в 4 раза (RQ 3,82, *p*=0,005) по сравнению с начальными значениями транскрипционной активности. У самок же из интактной группы относительный уровень экспрессии снижался в 4 раза через 180 дней эксперимента (RQ 0,25, *p*=0,015; рис. 2).

При оценке изменения активности генов, кодирующих рецепторы D2-типа, для *Drd3* и *Drd4* выявлено значительное увеличение относительного уровня экспрессии во всех экспериментальных группах, причём как у самцов, так и у самок. При этом в контрольной группе активация обоих генов происходила уже через 90 дней и наблюдалась только у особей женского пола (рис. 3, 4).

Отмечена динамика изменения профиля транскрипционной активности генов D2-подобных рецепторов в экспериментальных группах. Воздействие как отдельных изучаемых стрессовых факторов, так и при их комбинации через 180 дней приводило к значимой гиперэкспрессии генов *Drd3* и *Drd4*. При этом у самок, подвергавшихся интенсивной физической нагрузке и иммобилизационному стрессу, зарегистрирована значительная гиперэкспрессия по гену *Drd4* [RQ 56,9 (*p*=0,0004) и 134,24

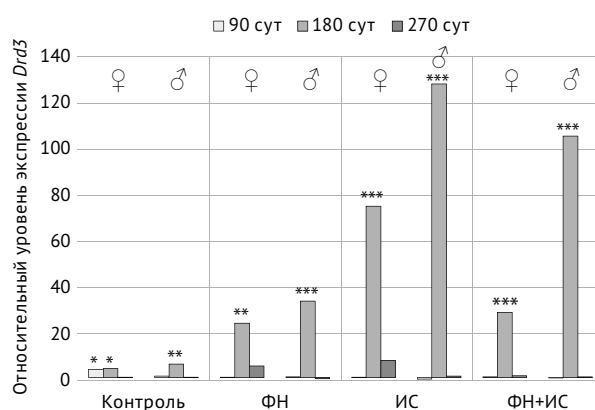


Рис. 3. Изменение относительного уровня экспрессии гена дофаминового рецептора 3-го типа (*Drd3*) в крови у самок и самцов крыс в контрольной группе и группах, подвергавшихся физической нагрузке (ФН), иммобилизационному стрессу (ИС) и комбинированному воздействию стрессовых факторов на 90, 180 и 270 сут от начала наблюдения. Уровень *p* отмечен звёздочками: **p* ≤ 0,05, ***p* ≤ 0,005, ****p* ≤ 0,001

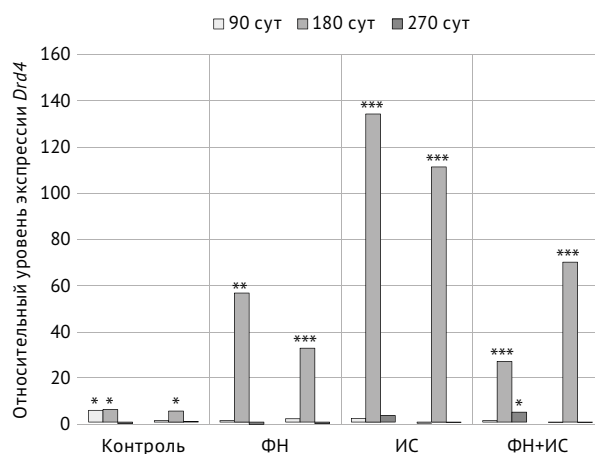


Рис. 4. Изменение относительного уровня экспрессии гена дофаминового рецептора 4-го типа (*Drd4*) в крови у самок и самцов крыс в контрольной группе и группах, подвергавшихся физической нагрузке (ФН), иммобилизационному стрессу (ИС) и комбинированному воздействию стрессовых факторов на 90, 180 и 270 сут от начала наблюдения. Уровень *p* отмечен звёздочками: **p* ≤ 0,05, ***p* ≤ 0,001, ****p* ≤ 0,0001

(*p*=1,07×10⁻⁷) соответственно], а у самцов этих же групп — гиперэкспрессия по гену *Drd3* [RQ 34,17 (*p*=2,71×10⁻⁵) и 128,23 (*p*=5,60×10⁻¹⁴) соответственно]. В группе с комбинированным воздействием стрессовых факторов у самцов гиперэкспрессия по генам *Drd3* и *Drd4* значимо превышала уровень значений экспрессии этих генов у самок [RQ 105,69 (*p*=2,60×10⁻⁸) и 70,15 (*p*=1,67×10⁻⁶) для гена *Drd3* соответственно; RQ 29,35 (*p*=7,57×10⁻⁵) и 27,23 (*p*=0,0001) для гена *Drd4* соответственно] (см. рис. 3, 4).

В группе контроля как у самцов, так и у самок отмечена одинаковая динамика изменения

активности генов *Drd3* и *Drd4*. У самок относительный уровень экспрессии этих генов повышался через 90 дней эксперимента [RQ 4,60 ($p=0,02$) и 6,15 ($p=0,009$) соответственно], и эта активность сохранялась ещё до 180-го дня эксперимента [RQ=4,94 ($p=0,04$) и 6,38 ($p=0,05$) соответственно], возвращаясь к первоначальному уровню только через 270 дней. У самцов же происходила постепенная активация обоих генов, достигая максимума к 180-м суткам эксперимента [RQ 6,92 ($p=0,003$) и 5,73 ($p=0,02$) соответственно], с возвращением к первоначальному уровню через 270 дней (см. рис. 3, 4).

Таким образом, при воздействии различных типов хронического стресса возникает различный ответ в активации D1-подобных дофаминовых рецепторов в зависимости от половой принадлежности, а также синергизм в изменении относительного уровня экспрессии генов D2-подобных рецепторов.

Обсуждение

В данной работе была проведена оценка изменения относительного уровня экспрессии генов дофаминовых рецепторов в клетках крови крыс, подвергавшихся разным типам хронического стресса в течение 270 дней.

В качестве моделей хронического стресса были выбраны иммобилизация животных, интенсивная физическая нагрузка в виде плавания с грузом, а также их комбинированное воздействие. Выбор данных моделей был обусловлен тем, что иммобилизацию принято считать комплексным стрессором, так как во время иммобилизации в ходе попытки борьбы за освобождение животное испытывает интенсивную психическую и физиологическую нагрузку [15].

В тесте «Вынужденное плавание с грузом» при низкой температуре воды (20–21 °C) крысы подвергаются тяжёлому виду стресса, характеризующегося катаболизмом белков и окислительным стрессом, развитием дисгомеостаза, приводящим впоследствии к клеточной гибели [18, 19]. При этом мобилизуется катехоламинергическая система в отдельных структурах мозга, активируется нейроэндокринная гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система, включается компенсаторно-приспособительный механизм в виде изменения биохимических и гормональных показателей [20, 21].

В собственном исследовании во всех экспериментальных группах крыс в клетках цельной крови выявлена экспрессия генов всех подтипов дофаминовых рецепторов (*Drd1–5*), за исключением гена *Drd2*. При этом обнаружен половой диморфизм экспрессии генов в испы-

туемых и контрольной группах, причём для генов, кодирующих D1- и D2-подобные рецепторы, выявлена разная динамика изменения активности генов. Так, у самцов, подвергавшихся иммобилизации, наиболее выраженное снижение относительного уровня экспрессии *Drd1* было показано через 90 дней, однако при повторном воздействии иммобилизации на 180-е и 270-е сутки уровень активности возвращался практически к первоначальному, то есть до начала эксперимента. Возможно, это происходит из-за адаптации организма путём изменения аллостатического состояния при столкновении с повторным хроническим стрессором.

В ряде исследований также показано снижение уровня матричной РНК (мРНК) гена *Drd1* в прилежащем ядре при материнской депривации и воздействии непредсказуемого стресса [22]. Полагаем, что такое различие обусловлено несколькими причинами. Синтез и высвобождение дофамина регулируются половыми гормонами [23–25]. Относительные уровни экспрессии генов дофаминовых рецепторов *Drd3* и *Drd4* демонстрировали схожий профиль изменений через 180 дней эксперимента у самок и самцов, подвергнутых принудительному плаванию, иммобилизационному стрессу и комбинированному воздействию данных стрессоров, где уровень их значимо повышался. И напротив, в исследовании I.L. Kovalenko и соавт. у мышей в отдельных областях головного мозга таких значимых изменений в уровне экспрессии генов *Drd3–5* не было при воздействии хронического социального стресса, однако значимо уменьшалась экспрессия гена *Drd1* в полосатом теле и гена *Drd2* в ядре шва среднего мозга [26]. Таким образом, мы предполагаем, что различные модели хронического стресса могут по-разному влиять на экспрессию генов дофаминергических рецепторов как в центральной нервной системе, так и на периферии у грызунов.

По данным E. Azadmarzabadi, изменение уровня экспрессии рецепторов нейромедиаторов в головном мозге положительно коррелирует с уровнем их экспрессии в клетках периферической крови, в частности в лимфоцитах [10]. Однако в другой работе G.P. Kirillova и соавт. было продемонстрировано, что уровень мРНК генов *Drd3* и *Drd4* в мононуклеарах соответствует таковому в клетках головного мозга, тогда как уровень экспрессии генов *Drd2* и *Drd5* был значимо снижен [27]. В собственной работе корреляции экспрессии генов крови со структурами головного мозга не было показано. По этой причине вопрос о взаимосвязи данных

структур остаётся открытым и требует дальнейших экспериментов.

Y. Li и соавт. было показано на трансгенных линиях репортёрных мышей по дофаминовому рецептору D3, что самки и самцы различаются по уровню экспрессии дофаминовых рецепторов: в прилежащем ядре у самцов обнаружена высокая коэкспрессия мРНК рецепторов D3/D1 и D3/D2 на 35-е и 70-е постнатальные сутки, а самки только на 35-е постнатальные сутки имели более высокую коэкспрессию мРНК рецепторов D3/D2 по сравнению с самцами [28]. Данный факт подтверждает собственные выводы о различной толерантности экспрессии генов дофаминовых рецепторов в ответ на стресс у особей разного пола.

Необходимо подчеркнуть, что при долгом испытываемом стрессе часто развивается депрессивное состояние [7]. Так, в исследовании у больных депрессивными расстройствами была показана гиперэкспрессия гена *DRD4* в базальном ядре миндалина у относительно здоровых людей [29]. Возможно, что собственные результаты демонстрируют развитие у крыс тревожно-депрессивного состояния через 180 дней эксперимента за счёт истощения иммунной системы после стрессовых воздействий, однако ближе к 270-му дню исследования у крыс развивалась адаптация к неизбежным стрессорам.

К тому же в научной литературе было показано, что дофамин по-разному активизирует различные области в стриатуме в зависимости от вида стресса. Так, острый и повторяющийся стресс активизирует всю дофаминергическую систему, главным образом в дорсальном стриатуме, а в случае депрессии, вызванной хроническим стрессом, наоборот, притупляет передачу дофамина в нейронах вентромедиального стриатума [12, 30]. Предполагают, что разные системы так опосредуют ответ дофаминергической системы на реакцию стресса, который меняется в зависимости от продолжительности воздействия стресса и тревоги (острый повторяющийся стресс) по сравнению с депрессией (хронический стресс) [11]. Это подтверждает выводы о том, что даже разные модели хронического стресса по-разному влияют на ответ нейротрансмиттерных систем периферической и центральной нервной системы.

Согласно приведённым ранее работам, уровень экспрессии генов дофаминергических рецепторов варьирует в зависимости от типа тканей и органов. Несмотря на существующую корреляцию экспрессии генов периферических дофаминовых рецепторов с аналогичными генами центральной нервной системы, необхо-

димы дальнейшие исследования для понимания данной взаимосвязи.

Выводы

1. Оценка влияния факторов хронического стресса в течение 270 сут, таких как интенсивная физическая нагрузка в виде плавания с грузом, повторяющаяся иммобилизация (долговременный дистресс) каждые 90 дней и их комбинированное воздействие, на относительный уровень экспрессии генов дофаминовых рецепторов бывает информативной в разный период воздействия стрессовых факторов.

2. Различные типы хронического стресса влияют по-разному на уровень экспрессии генов дофаминовых рецепторов D1–5 в клетках периферической крови у самок и самцов крыс. Тем самым, определение транскрипционной активности генов дофаминовых рецепторов в клетках крови можно использовать в качестве маркера при оценке дисгомеостаза, вызываемого хроническим стрессом.

Участие авторов. Е.В.В. — проведение исследования, поиск литературных источников, сбор и статистическая обработка материала, анализ результатов, написание и редактирование рукописи; И.И.С. — редактирование окончательного варианта рукописи; А.Г.Т., А.Д.М. и Р.Д.М. — помощь в проведении исследования; О.А.К. — руководство исследованием, редактирование окончательного варианта рукописи.

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №19-34-90171.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дюжикова Н.А., Даев Е.В. Геном и стресс-реакция у животных и человека. *Экологическая генетика*. 2018;16(1):4–26. [Dyuzhikova NA, Daev EV. Genome and stress-reaction in animals and humans. *Ecological Genetics*. 2018;16(1):4–26. (In Russ.)] DOI: 10.17816/ecogen1614-26.
2. Everly JrGS, Rosenfeld R. *The nature and treatment of the stress response: A practical guide for clinicians*. Springer Science & Business Media; 2012. 232 p.
3. Кузнецов С.Л., Капитонова М.Ю., Дегтярь Ю.В., Загребин В.Л. Стресс и нейроэндокринная система: современные морфофункциональные аспекты. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2008;(2):10–15. [Kuznetsov SL, Kapitonova MYu, Degtyar YuV, Zagrebin VL. Stress and neuroendocrine system: modern morphological and functional aspects. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*. 2008;(2):10–15. (In Russ.)]
4. Juster RP, McEwen BS, Lupien SJ. Allostatic load biomarkers of chronic stress and impact on health and cogni-

tion. *Neurosci Biobehav Rev.* 2010;35(1):2–16. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2009.10.002.

5. Wang X, Xu J, Wang Q, Ding D, Wu L, Li Y, Wu C, Meng H. Chronic stress induced depressive-like behaviors in a classical murine model of Parkinson's disease. *Behav Brain Res.* 2020;399:112816. DOI: 10.1016/j.bbr.2020.112816.

6. Chauvet-Gelinier JC, Bonin B. Stress, anxiety and depression in heart disease patients: A major challenge for cardiac rehabilitation. *Ann Phys Rehabil Med.* 2017;60(1):6–12. DOI: 10.1016/j.rehab.2016.09.002.

7. Baik JH. Stress and the dopaminergic reward system. *Exp Mol Med.* 2020;52(12):1879–1890. DOI: 10.1038/s12276-020-00532-4.

8. Missale C, Nash SR, Robinson SW, Jaber M, Caron MG. Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev.* 1998;78(1):189–225. DOI: 10.1152/physrev.1998.78.1.189.

9. Jaber M, Robinson SW, Missale C, Caron MG. Dopamine receptors and brain function. *Neuropharmacology.* 1996;35(11):1503–1519. DOI: 10.1016/S0028-3908(96)00100-1.

10. Azadmarzabadi E, Haghghatfard A, Mohammadi A. Low resilience to stress is associated with candidate gene expression alterations in the dopaminergic signalling pathway. *Psychogeriatrics.* 2018;18(3):190–201. DOI: 10.1111/psyg.12312.

11. Bloomfield MAP, McCutcheon RA, Kempton M, Freeman TP, Howes O. The effects of psychosocial stress on dopaminergic function and the acute stress response. *Elife.* 2019;8:e46797. DOI: 10.7554/elife.46797.

12. Holly EN, Miczek KA. Ventral tegmental area dopamine revisited: effects of acute and repeated stress. *Psychopharmacology.* 2016;233(2):163–186. DOI: 10.1007/s00213-015-4151-3.

13. Beaton JR, Feleki V. Effect of diet and water temperature on exhaustion time of swimming rats. *Can J Physiol Pharmacol.* 1967;45(2):360–363. DOI: 10.1139/y67-042.

14. Каркищенко Н.Н., Каркищенко В.Н., Шустов Е.Б., Берзин И.А., Капанадзе Г.Д., Фокин Ю.В., Семёнов Х.Х., Станкова Н.В., Болотова В.Ц. *Биомедицинское (доклиническое) изучение лекарственных средств, влияющих на физическую работоспособность. Методические рекомендации.* М.: Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства; 2017. 133 с. [Karkishchenko NN, Karkishchenko VN, Shustov EB, Berzin IA, Kapanadze GD, Fokin YuV, Semenov KhKh, Stankova NV, Bolotova VTs. *Biomeditsinskoe (doklinicheskoe) izuchenie lekarstvennykh sredstv vliyayushchikh na fizicheskuyu rabotosposobnost'. Metodicheskie rekomendatsii.* (Biomedical (preclinical) study of drugs affecting physical performance. Methodological recommendations.) Moscow: Nauchnyy tsentr biomeditsinskikh tekhnologiy Federal'nogo mediko-biologicheskogo agentstva; 2017. 133 p. (In Russ.)]

15. Bhatia N, Jaggi AS, Singh N, Anand P, Dhawan R. Adaptogenic potential of curcumin in experimental chronic stress and chronic unpredictable stress-induced memory deficits and alterations in functional homeostasis. *J Nat Med.* 2011;65(3–4):532–543. DOI: 10.1007/s11418-011-0535-9.

16. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔCT} method. *Methods.* 2001;25(4):402–408. DOI: 10.1006/meth.2001.1262.

17. McCarthy MM, Arnold AP. Reframing sexual differentiation of the brain. *Nat Neurosci.* 2011;14(6):677–683. DOI: 10.1038/nn.2834.

18. Voltarelli FA, Gobatto CA, de Mello MAR. Minimum blood lactate and muscle protein of rats during swimming exercise. *Biol Sport.* 2008;25(1):23–34.

19. Ammar A, Trabelsi K, Boukhris O, Glenn JM, Bott N, Masmoudi L, Hakim A, Chtourou H, Driss T, Hoekelmann A, El Abed K. Effects of aerobic-, anaerobic- and combined-based exercises on plasma oxidative stress biomarkers in healthy untrained young adults. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17(7):2601. DOI: 10.3390/ijerph17072601.

20. Fernandez JL. Analysis of the cold-water restraint procedure in gastric ulceration and body temperature. *Physiol Behav.* 2004;82:827–833. DOI: 10.1016/j.physbeh.2004.06.016.

21. Валеева Е.В., Валеева И.Х., Семина И.И., Никитин Д.О., Мухамеджанова А.Г., Мухаметшина А.Д., Кравцова О.А. Влияние хронического стресса на биохимические показатели у крыс разного возраста. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова.* 2020;16(3):18–24. [Valeeva EV, Valeeva IKh, Semina II, Nikitin DO, Mukhamedzhanova AG, Mukhametshina AD, Kravtsova OA. The effect of chronic stress on biochemical parameters in rats of different ages. *Vestnik biotekhnologii i fiziko-khimicheskoy biologii im YuA Ovchinnikova.* 2020;16(3):18–24. (In Russ.)]

22. Zhang Y, Zhu X, Bai M, Zhang L, Xue L, Yi J. Maternal deprivation enhances behavioral vulnerability to stress associated with miR-504 expression in nucleus accumbens of rats. *PLoS One.* 2013;8(7):e69934. DOI: 10.1371/journal.pone.0069934.

23. Calipari ES, Juarez B, Morel C, Walker DM, Cahill ME, Ribeiro E, Roman-Ortiz C, Ramakrishnan C, Deisseroth K, Han MH, Nestler EJ. Dopaminergic dynamics underlying sex-specific cocaine reward. *Nat Commun.* 2017;8:13877. DOI: 10.1038/ncomms13877.

24. Andersen SL, Rutstein M, Benzo JM, Hostetter JC, Teicher MH. Sex differences in dopamine receptor overproduction and elimination. *Neuroreport.* 1997;8(6):1495–1497. DOI: 10.1097/00001756-199704140-00034.

25. Orendain-Jaime EN, Ortega-Ibarra JM, López-Pérez SJ. Evidence of sexual dimorphism in D1 and D2 dopaminergic receptors expression in frontal cortex and striatum of young rats. *Neurochem Int.* 2016;100:62–66. DOI: 10.1016/j.neuint.2016.09.001.

26. Kovalenko IL, Smagin DA, Galyamina AG, Orlov YL, Kudryavtseva NN. Changes in the expression of dopaminergic genes in brain structures of male mice exposed to chronic social defeat stress: an RNA-Seq study. *Mol Biol (Mosk).* 2016;50(1):161–163. DOI: 10.1134/S0026893316010088.

27. Kirillova GP, Hrutkay RJ, Shurin MR, Shurin GV, Tourkova IL, Vanyukov MM. Dopamine receptors in human lymphocytes: radioligand binding and quantitative RT-PCR assays. *J Neurosci Methods.* 2008;174(2):272–280. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2008.07.018.

28. Li Y, Kuzhikandathil EV. Molecular characterization of individual D3 dopamine receptor-expressing cells isolated from multiple brain regions of a novel mouse model. *Brain Struct Funct.* 2012;217(4):809–833. DOI: 10.1007/s00429-012-0383-8.

29. Xiang L, Szebeni K, Szebeni A, Klimek V, Stockmeier CA, Karolewicz B, Kalbfleisch J, Ordway GA. Dopamine receptor gene expression in human amygdaloid nuclei: elevated D4 receptor mRNA in major depression. *Brain Res.* 2008;1207:214–224. DOI: 10.1016/j.brainres.2008.02.009.

30. Valenti O, Cifelli P, Gill KM, Grace AA. Antipsychotic drugs rapidly induce dopamine neuron depolarization block in a developmental rat model of schizophrenia. *J Neurosci.* 2011;31(34):12330–12338. DOI: 10.1523/jneurosci.2808-11.2011.

Сведения об авторах

Валеева Елена Валерьевна, мл. науч. сотр., центральная научно-исследовательская лаборатория, ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России; асс., каф. биохимии, биотехнологии и фармакологии, ИФМиБ, Казанский (Приволжский) федеральный университет; vevaleeva@ya.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7080-3878>

Семина Ирина Ивановна, докт. мед. наук, проф., каф. фармакологии, зав. лаб., центральная научно-исследовательская лаборатория, ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России; seminai@mail.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3515-0845>

Галеева Антонина Глебовна, канд. вет. наук, мл. науч. сотр., научно-исследовательская лаборатория «Маркёры патогенеза», ИФМиБ, Казанский (Приволжский) федеральный университет; мл. науч. сотр., ФГБНУ Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, ВНИВИ; antonina-95@yandex.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2650-6459>

Мухаметшина Альбина Дилюсовна, бакалавр, каф. биохимии, биотехнологии и фармакологии, ИФМиБ, Казанский (Приволжский) федеральный университет; albinam1709@gmail.com; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5296-1861>

Мухаметшина Регина Дилюсовна, бакалавр, каф. биохимии, биотехнологии и фармакологии, ИФМиБ, Казанский (Приволжский) федеральный университет; 1709mrd@gmail.com; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5797-993X>

Кравцова Ольга Александровна, канд. биол. наук, доц., каф. биохимии, биотехнологии и фармакологии, ИФМиБ, Казанский (Приволжский) федеральный университет; okravz@yandex.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4227-008X>

Author details

Elena V. Valeeva, Junior Researcher, Central research laboratory, Kazan State Medical University; Assistant, Depart. of Biochemistry, Biotechnology and Pharmacology, KFU; vevaleeva@ya.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7080-3878>

Irina I. Semina, M.D., Prof., Depart. of Pharmacology, Head, Central research laboratory, Kazan State Medical University; seminai@mail.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3515-0845>

Antonina G. Galeeva, Cand. Sci. (Vet.), Junior Researcher, Open Lab “Markers of Pathogenesis”; Junior Researcher, FSBSI “Federal Center for toxicological, radiation, and biological safety”; antonina-95@yandex.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2650-6459>

Albina D. Mukhametshina, Bachelor, Depart. of Biochemistry, Biotechnology and Pharmacology, KFU; albinam1709@gmail.com; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5296-1861>

Regina D. Mukhametshina, Bachelor, Depart. of Biochemistry, Biotechnology and Pharmacology, KFU; 1709mrd@gmail.com; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5797-993X>

Olga A. Kravtsova, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Depart. of Biochemistry, Biotechnology and Pharmacology, KFU; okravz@yandex.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4227-008X>