

Отсроченное влияние витального стресса на уровень полногеномного метилирования ДНК на разных стадиях эстрального цикла самок крыс

Апраксина Н.К., Немцева П.С., Авалиани Т.В., Сучкова И.О., Паткин Е.Л., Цикунов С.Г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины»
197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12

Delayed effect of vital stress on the level of genome-wide DNA methylation at different stages of the estrous cycle in female rats

Apraksina N.K., Nemtseva P.S., Avaliani T.V., Suchkova I.O., Patkin E.L., Tsikunov S.G.

Institute of Experimental Medicine,
Academika Pavlova Str. 12, St. Petersburg 197376, Russian Federation

Проблема снижения репродуктивного здоровья населения в современном мире особенно актуальна, в связи с нарастающим давлением факторов антропогенной среды, особое место среди которых занимает витальный стресс. Нейроэндокринные и поведенческие нарушения, наблюдаемые при остром и хроническом стрессе, соотносятся с эпигенетическими модификациями в мозге и крови [1].

Цель данной работы заключалась в оценке отдаленных эффектов витального стресса на эпигенетические модификации генома (метилирование ДНК) стрессированных самок крыс с учетом фаз эстрального цикла.

Материалы и методы. Эксперименты были проведены на 21 самке крыс линии Wistar массой 280–360 г. Использовали половозрелых животных в возрасте 5–7 месяцев. Животные содержались в виварии группами до 10 особей в пластмассовых клетках для грызунов в условиях интервального светового режима: 8:00–20:00 – день, 20:00–8:00 – ночь, температурного режима $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Самки отбирались с регулярным эстральным циклом продолжительностью 4–5 дней. Животные были разделены на две группы: контроль (С, $n=10$) и стресс (VS, $n=11$). Исследования проведены с одобрения Локального этического комитета ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН (№ 2/16 от 12.05.2016) с соблюдением правил гуманного обращения с экспериментальными животными, требований биомедицинской этики и директива Европейской Конвенции по защите позвоночных животных. Моделирование витального стресса, применяемое в настоящем исследовании, производилось за счет переживания крысами ситуации угрозы собственной жизни – наблюдения гибели сородича от действий хищника (тигрового питона) [2]. Оценка полногеномного метилирования ДНК в клетках костного мозга, так и в лейкоцитах периферической крови по CCGG сайтам проводилась посредством ферментативного гидролиза геномной ДНК эндонукле-

азами рестрикции MspI и HpaII [3]. Статистический анализ проводился в программе STATISTICA 10 с использованием нескольких параметрических критериев: дисперсионного анализа ANOVA с апостериорной поправкой Бонферрони, t-критерия Стьюдента и Манна–Уитни.

Результаты. Проведенный анализ полногеномного метилирования ДНК по CCGG сайтам показал наличие эпигеномных изменений в контроле в зависимости от стадии эстрального цикла как в клетках костного мозга, так и в лейкоцитах периферической крови. Общий уровень полногеномного метилирования в лейкоцитах был выше, чем в костном мозге в 1,1 раз ($p < 0,001$). При этом изменения имеют волнообразный характер относительно стадий полового цикла: наибольший уровень метилирования наблюдался в эструсе, а наименьший – в диэструсе, на других двух стадиях был примерно одинаков. У животных, подверженных стрессу, степень выраженности метилирования ДНК также зависела от стадии эстрального цикла и имела волнообразный характер. По сравнению с контролем у самок через месяц после витального стресса наблюдалось статистически значимое снижение уровня полногеномного метилирования CCGG сайтов в клетках костного мозга (в 1,1 раз, $p < 0,001$) и в лейкоцитах периферической крови (в 1,3 раза, $p < 0,001$). При этом витальный стресс приводил к изменениям уровня метилирования как в клетках костного мозга, так и лейкоцитах периферической крови на всех стадиях эстрального цикла, кроме диэструса. У этих самок обнаружено статистически значимое снижение ($p < 0,001$) метилирования ДНК на стадиях проэструса, эструса и метаэструса в костном мозге (в 1,06, в 1,19 и в 1,27 раза, соответственно) и лейкоцитах периферической крови (в 1,34, в 1,24 и в 1,47 раза, соответственно).

Заключение. Таким образом, степень влияния витального стресса на эпигеном клеток кроветворной

системы отличается в зависимости от стадии эстрального цикла, что может объясняться различным гормональным статусом особей на этих стадиях. В условиях возрастания количества вооружённых конфликтов, промышленных катастроф, которые, в свою очередь, вызывают острые стрессовые реакции и оказывают травмирующее действие на психику людей, явившихся свидетелями или участниками данных событий, требуются дальнейшие исследования, направленные на понимание патогенеза возникающих нейропсихических расстройств, а также разработка способов их коррекции.

Список литературы

1. Murgatroyd C., Patchev A.V., Wu Y., Micale V., Bockmühl Y., Fischer D., Holsboer F., Wotjak C.T., Almeida O.F., Spengler D. Dynamic DNA methylation programs persistent adverse effects of early-life stress. *Nat. Neurosci.* 2009; 12(12): 1559–156. DOI: 10.1038/nn.2436
2. Цикунов С.Г. Нейробиология витального стресса. Новые модели психической травмы и посттравматического стрессового расстройства. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.* 2015;13: 187–188.
3. Сучкова И.О., Дергачева Н.И., Павлинова Л.И., Сасина Л.К., Баранова Т.В., Паткин Е.Л. Количественное определение полногеномного метилирования ДНК с помощью метил-чувствительной рестрикции и IMAGEJ анализа (MSR-IA). *Международный научно-исследовательский журнал.* 2016; 4(46) Часть 5: 41–46. DOI: 10.18454/IRJ.2016.46.096