

Геномные механизмы патогенеза тревоги и депрессии на экспериментальных моделях

Калуев А.В.¹⁻⁶, Демин К.А.²⁻³, Волгин А.Д.²⁻³

¹Факультет фармацевтики Юго-Западного Университета, Чунцин, Китай

²Институт Трансляционной Биомедицины, Санкт-Петербургский Университет, Санкт-Петербург, Россия

³Институт экспериментальной медицины, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

⁴Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

⁵Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

⁶ФГБНУ «Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины», Новосибирск, Россия

Резюме. Аффективные расстройства — в том числе тревога и депрессия — являются наиболее распространенными заболеваниями мозга человека. Стресс является наиболее частой причиной развития данных патологий человека, и часто также используется для создания их экспериментальных моделей на животных. Наряду с генетическими и средовыми факторами, важную роль в аффективном патогенезе играют геномные и эпигенетические процессы. Цель данного исследования — изучить экспрессию генов мозга мышей при хроническом 20-дневном социальном стрессе по методике проф. Н.Н. Кудрявцевой (ИЦГ) и экспериментально подтвердить гипотезу о генах-интеграторах в мозге, активность которых может специфически сопрягать тревожно-депрессивные механизмы патогенеза ЦНС. В докладе будут впервые представлены данные о существовании ряда генов, экспрессия которых в гиппокампе и коре динамически меняется при переходе стресса от «тревожной» (10 дней) в «депрессивную» фазу (20 дней), в том числе ряд цитокиновых и клеточных структурных генов, экспрессия которых специфически изменена только в «переходной» стадии (15 дней). Полученные сведения позволяют по-новому взглянуть на геномику тревожно-депрессивного патогенеза ЦНС, и могут быть трансляционно значимыми, в том числе — с точки зрения поиска новых мишеней для терапии тревоги и депрессии на основе генов-интеграторов патогенеза.

Ключевые слова: геномные ответы, стресс, экспериментальные модели, мыши, тревога и депрессия

Genomic mechanisms of anxiety and depression pathogenesis in experimental models

Kalueff A.V.¹⁻⁶, Demin K.A.²⁻³, Volgin A.D.

¹School of Pharmacy, Southwest University, Chongqing, China

²Institute of Translational Biomedicine, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

³Institute of Experimental Medicine, Scientific Research Center named after V.A. Almazov, Ministry of Healthcare of Russia, St. Petersburg, Russia

⁴Ural Federal University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin, Yekaterinburg, Russia

⁵Acad. A.M. Granov Russian Scientific Center of Radiology and Surgical Technologies, Ministry of Healthcare of Russia, St. Petersburg, Russia

⁶Scientific Research Institute of Physiology and Fundamental Medicine, Novosibirsk, Russia

Summary. Affective disorders — including anxiety and depression — are the most prevalent human brain diseases. Stress is the most common cause of these human psychopathologies, and is also often used to develop their experimental models in animals. In addition to genetic and environmental factors, genomic and epigenetic processes play an important role in affective pathogenesis. The aim of the present study is to examine the expression of brain genes in mice in the chronic 20-day social stress model developed by Prof. N.N. Kudryavtseva (Institute of Cytology and Genetics) and to experimentally test the hypothesis on 'genes-integrators' whose brain activity can specifically *integrate* anxiety-depressive mechanisms. The report will for the first time provide data on the existence of several such putative brain genes whose expression in the hippocampus and cortex changes dynamically as stress transitions from the «anxiety» (10 days) to the «depressive» phase (20 days), including a number of cytokine and cellular structural genes whose expression is specifically altered only in the «transitional» stage (15 days). The findings provide a new perspective on the complex genomics of the anxiety-depressive pathogenesis of the CNS, and can be translationally significant, including in terms of finding new potential targets for the therapy of anxiety and depression based on such 'gene-integrators'.

Keywords: genomic responses, stress, experimental models, mice, anxiety and depression

Актуальность и цель исследования: Психические расстройства и понимание их нейрогенетических механизмов являются актуальными проблемами биомедицины. Ранее нами была сформулирована концепция (Kalueff et al., 2014) о возможности принципиально нового клас-

са генов (генов-интеграторов, *interlinking genes*) мозга, функция которых заключается в интеграции, но не непосредственно индукции, патогенеза. Цель данного исследования — экспериментально подтвердить гипотезу о генах-интеграторах, которые специфически регулируют сопряжение механизмов патогенеза ЦНС, и патогенетическая роль которых исключительно сводится к молекулярной интеграции (синхронизации, 'cross-talk') традиционных симптомообразующих патогенетических механизмов мозга.

Методы

Для обнаружения таких генов в экспериментальной модели на грызунах была использована методика проф. Н.Н. Кудрявцевой (ИЦГ СО РАН) по вызову хронического социального стресса у мышей линии C57BL/6. В работе был проведен сравнительный анализ поведенческих и геномных параметров при экспериментальной тревоге (10-й день моделирования), экспериментальной депрессии (день 20-й) и на переходной стадии от тревоги к депрессии (день 15-й). Модель хронического социального стресса была успешно применена к мышам C57BL/6 и проведенное поведенческое тестирование подтвердило наличие характерные для этой модели поведенческих отклонений в экспериментальных группах. Впоследствии был произведен забор образцов (частей мозга) префронтальной коры и гиппокампа в данных группах и произведено их мРНК секвенирование. По результатам мРНК секвенирования был произведен анализ дифференциальной экспрессии генов (для определения генов, экспрессия которых отличается у экспериментальных групп и контроля) с последующим созданием сетей молекулярных взаимодействий, для генов, экспрессия которых изменена уникально для каждой группы или их сочетания (например дифференциально экспрессируется на тревожной и переходной стадии одновременно), для изучения наличия функциональной насыщенности в созданных сетях. Также, на базе дифференциально экспрессируемых генов были созданы сети ко-экспрессии генов. Над обеими данными сетями в дальнейшем был проведен топологический анализ для выявления биологически критических генов и белков. Также был проведен анализ представленности функциональных групп генов, для определения функциональных групп, экспрессия которых отличается у данных образцов. Секвенирование образцов производилось на базе ЗАО «Геноаналитика» (Москва, Россия).

Результаты

В результате исследования экспрессии генов были получены следующие результаты. Для префронтальной коры, в тревожной группе было обнаружено 189 уникальных генов, увеличивших свою экспрессию, и 80 снизивших. Топологический анализ показал, что генами, влияние которых на сеть белок-белковых взаимодей-

ствий особенно велико среди статистически значимо изменивших свою экспрессию генов являются Map2k1, Itgav, Shc3, Col5a1, Robo2, Itga7, Ksr2, Phip, Ralgps2, Camk2d, Cdh1, Itih3, Ccl9, Chrm4, Grm2, Igf2, Oprk1, Sst, Tor4a. Для сети коэкспрессии данные гены: S100b, Mag, Atp6v1g2, Mog, Nefl, Cplx1, Atp2b2, Plp1, Sst, Hрca, Mobp, Olig1, Vamp1, Kcnj10, Gfap, Plppr4, Tmem88b, Kcnab2, Ugt8a, Frrs1l. Белками переходной группы, наиболее тесно связанными с депрессивными белками являются Flnb, Itgav, Prkca, Prickle2, Aqp4, Ptpz1, Stag1, Hipk1, Hipk2, Il6st, Ppm1l, Shc3, Ralgps2 и Nalcn. Для гиппокампа, в тревожной группе было обнаружено 420 уникальных для данной группы генов увеличивших свою экспрессию и 563 снизивших. В переходной группе было обнаружено 269 уникальных для данной группы генов увеличивших свою экспрессию и 200 снизивших. Также, было обнаружено 259 генов увеличивших свою экспрессию и 200 снизивших своего экспрессию одновременно в тревожной и переходной группах. Топологический анализ показал, что генами, влияние которых на сеть белок-белковых взаимодействий особенно велико среди статистически значимо изменивших свою экспрессию генов являются: Map2k2, Pak3, Pak2, Shc3, Braf, Rasal2, Jmjd1c, Wac, Ralgps2, Map2k6, Brsk1, Vav3, Plxn4, Igf1, Ttc14, Ngef, Erc6l2, Rsf1, Rps11, Pip4k2b, Rrp137a, Dok3, Rps13, Etv1, Frs2, Rps12, Dok6, Yeats2, Rpl38, Mllt3, Rpl37, Gucy1a2, Nufip2, Tgoln1, Mbn1l, Akt1s1, Adora1, Npy1r, Npy2r, Cnr1, а влияние которых велико на построенную сеть коэкспрессии: Syn1, Fbxl16, Grin1, Snph, March7, Tnks2, Adgrb2, Frrs1l, Plppr4, Prpf4b, Lingo1, Zfx, Jph4, Lrrtm2, Kcnab2, Zfp644, Sf3b1, Rbfox3, Sept2, Slc6a17, Ttc9b, Slitrk4, Grm5, Agap3, Lamp5, Kcnc2, Rgs7bp, Vgf, Myt1l, Rusc1, Scn8a, Plcb1, Tub, Tmem191c, Mapk8ip2, Ddn, Nat8l, Stx1b, Tmed7.

Заключение

Таким образом, у мышей линии C57BL/6 про помощи хронического социального стресса были смоделированы три различные патогенетические состояния — тревожное, депрессивное и уникальное «переходное» состояния. Они были охарактеризованы путем анализа геномных биомаркеров в мозге, выявив как уникальные, так и общие паттерны генной экспрессии между экспериментальными группами. Нами была выявлена уникальная группа генов-интеграторов, специфически активируемых только на переходной стадии (15-й день), и был произведен анализ трансляционной значимости этих уникальных генов-интеграторов (путем сравнения с имеющимися клиническими генетическими и молекулярными данными) с целью разработки новых трансляционных стратегий терапии стрессорных заболеваний ЦНС. В целом, полученные сведения позволяют по-новому взглянуть на сложную геномику тревожно-депрессивного патогенеза ЦНС, и могут быть трансляционно значимыми, в том числе — с точки зрения поиска новых мишеней для

терапии тревоги и депрессии на основе генов-интеграторов патогенеза.

Исследование было проведено при поддержке гранта РФФИ “Выявление принципиально нового класса генов, регулирующих функции мозга при стрессе” № 16-04-00851, а также стипендий Президента РФ и Ректора СПбГУ.

Сведения об авторах

Калуев Алан Валерьевич — профессор, PhD, E-mail: avkalueff@gmail.com

Демин Константин Андреевич — н.с., аспирант

Волгин Андрей Дмитриевич — н.с.