

ПРОБЛЕМА ВЫБОРА БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА В ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ ПСИХОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК

И.В. Фекличева¹, Н.А. Чипеева¹, Ю.В. Ковас^{2,3}, Е.Л. Солдатова¹

¹ Южно-Уральский государственный университет, г. Челябинск, Россия

² Томский государственный университет, г. Томск, Россия

³ Голдсмитс университет Лондона, Лондон, Великобритания

Поскольку мозговая ткань при жизни непосредственно недоступна для эпигенетических исследований психологических признаков и психопатологий необходимо оценить, какие периферийные ткани наиболее адекватны для достижения целей таких исследований. Представлен анализ публикаций, в которых проводилось сравнение профиля ДНК-метилирования в различных периферических тканях (цельная и пуповинная кровь, плацента, сперма, буккальный эпителий) и посмертных образцах мозговой ткани. Результаты анализа позволяют предположить, что для исследования роли эпигенетических факторов в психологических фенотипах слюна является более предпочтительным материалом для выделения ДНК и последующего анализа ДНК-метилирования по сравнению с клетками крови. Вместе с тем установлено, что для разных фенотипов оптимальными могут являться разные ткани.

Ключевые слова: эпигенетические модификации, ДНК-метилирование, эпигенетика, периферические ткани, психологические фенотипы.

Современные исследования свидетельствуют о том, что под влиянием различных факторов в человеческом геноме могут происходить эпигенетические модификации в течение жизни (Petronis, 2010; Rakan, Down, Balding, Beck, 2011). Эти факторы оказывают влияние на экспрессию и инактивацию генов, модифицируя их активность, но при этом не изменяют последовательность генетического кода. Исследования эпигенетических изменений играют все более важную роль, поскольку они могут привести к выявлению новых механизмов возникновения серьезных заболеваний и расстройств (диабета, рака, зависимостей, депрессии, шизофрении и др.), а также пониманию механизмов происхождения индивидуальных различий. В силу этого анализ метилирования дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) представляется перспективным методом в исследованиях функционирования психики и особенностей поведения человека.

Для извлечения ДНК в эпигенетических исследованиях используются различные ткани: клетки периферической крови, слюна

(буккальный эпителий), сперма, лимфобластоидные клеточные линии, посмертные срезы мозговой ткани, пуповинная кровь, плацентарная ткань и другие клеточные структуры организма. Поскольку ткани мозга живых людей по очевидным основаниям недоступны для такого рода исследований, возникает необходимость выбора периферической ткани, в которой наиболее полно отражаются происходящие в головном мозге эпигенетические процессы, определяющие психологические феномены.

Эпигенетические профили являются тканеспецифичными, поэтому выбор типа ткани особенно важен для изучения эпигенетических процессов. Исследования показали, что эпигенетические различия в разных тканях одного человека значительно больше межличностных различий в одном типе ткани (Jiang, Jones, Chen, et al., 2015).

Сравнение глобального уровня ДНК-метилирования в клетках периферической крови и слюны здоровых людей и в лимфобластоидных клетках, полученных путем со-

культивирования лимфоцитов тех же людей с вирусом Эпштейна-Барр, показало сходство между образцами слюны, цельной крови и лимфобластоидными клетками. При этом значения коэффициентов корреляции для слюны и цельной крови ($r^2 = 0,967$) были несколько выше, чем для лимфобластоидных клеток (по сравнению с аналогичными данными для корреляции показателей с цельной кровью и лимфобластоидных клеток и слюны между собой ($r^2 = 0,880$ и $0,844$ соответственно)). Уровень метилирования в лимфобластоидных клетках оказался достоверно выше ($p = 0,01$) по сравнению с уровнем метилирования в слюне и в крови. Сходные уровни метилирования наблюдались для клеток цельной крови и слюны по генам, общим для всех клеток.

Различия в характеристиках ДНК-метилировании могут быть объяснены тканевой специфичностью: большая часть различий приходилась на гены, кодирующие мембранные комплексы иммунного ответа, а также на гены, экспрессирующиеся непосредственно в белых кровяных клетках и слюнных железах. Более высокий уровень метилирования в клетках лимфобластоидной линии (по сравнению с клетками крови и буккального эпителия) может быть следствием процесса культивирования клеток.

Таким образом, описанные выше результаты свидетельствуют о том, что лимфобластоидные клетки не могут быть надежным источником информации об эпигенетическом статусе в других тканях в отличие от клеток периферической крови и слюны (Thompson, Sharfi, Lee et al., 2013).

В исследовании глобального и ген-специфичного ДНК-метилирования у детей раннего грудного возраста анализировался эпигенетический статус в трех образцах тканей (средний возраст младенцев при сборе образца слюны составлял 18 недель). Выделение ДНК производилось из образцов тканей плаценты, пуповинной крови и слюны младенцев. Выбранные гены для анализа ДНК-метилирования были разделены на 2 группы. Первая группа генов – HSD11B2 (3 CpGs), NR3C1 (13 CpGs), и LEP (23 CpGs). Вторую группу составили находившиеся во взаимодействии с первой группой гены и гены с высоким уровнем экспрессии в плацентарной ткани – DDIT4 (4 CpGs), KLF15 (3 CpGs), SEBPD (7 CpGs), и DEPTOR (4 CpGs). Также оценивалось метилирование CpG для DEPTOR и DDIT4, и двух повторяющихся

регионов LINE-1 и AluYb8. В описываемом исследовании D.A. Armstrong, C. Lesseur, E. Conradt et al. (2014) не было найдено значительных корреляций ДНК-метилирования по перечисленным выше локусам между образцами пуповинной крови, слюны и плаценты. Исключение составляют регионы AluYb8, ДНК-метилирование которых в образцах пуповинной крови и плацентарной ткани демонстрировали положительную корреляцию ($r = 0,57$; $p = 0,03$). Кроме того, ДНК-метилирование NR3C1 в образцах слюны и пуповинной крови показало отрицательную корреляцию ($r = -0,58$; $p = 0,02$) (Hannona, Lunnona, Schalkwykb, Millac, 2015).

В эпигенетических исследованиях различных заболеваний (хронический лимфолейкоз, изменение уровня кальция и иммуноглобулина А, ревматоидный артрит и др.), выявлено, что в клетках буккального эпителия наблюдается достоверно большее ($p < 0,001$) число гипометилированных регионов по сравнению с клетками крови (Lowe, Gemma, Beyan et al., 2013). Исследование, проведенное на посмертных образцах тканей мозга пожилых людей (не страдавших какими-либо нейропатологическими и нервно-психическими заболеваниями), и образцах крови, полученных у них при жизни, показало, что наблюдаемые в крови межиндивидуальные различия в ДНК-метилировании сильно и значимо коррелируют с различиями, наблюдаемыми в мозжечке ($r = 0,76$, $p < 0,001$) и коре головного мозга ($r = 0,66$, $p < 0,001$) у одних и тех же людей. В исследовании M.N. Davies, M. Volta, R. Pidsley et al. (2012) показано, что интраиндивидуальные межтканевые различия в метилировании намного ($p < 0,001$) превышают межиндивидуальные различия в метилировании генов, отвечающих за развитие нервной системы и нейрональную дифференциацию (BDNF, BMP4, CACNA1A, CACA1AF, EOMES, NGFR, NUMBL, PCDH9, SLIT1, SLITRK1 и SHANK3).

Подобные межтканевые различия в уровне метилирования были показаны в ряде других исследований. Например, при сравнении профилей ДНК-метилирования образцов цельной крови и посмертных срезов четырех областей мозга: префронтальной коры, энторинальной коры, верхней височной извилины и мозжечка пациентов с неврологическими и нейропсихиатрическими расстройствами, выявлено, что кора, мозжечок и кровь характеризуются очень разными профилями метили-

рования ДНК. Межиндивидуальные различия и пол исследуемых вносят гораздо меньший вклад в различия ДНК-метилирования, чем тканевая специфичность. Уровни ДНК-метилирования в крови и всех областях коры и мозжечке значимо различались ($p < 0,0001$). Однако только в ограниченном числе сайтов¹ были найдены положительные корреляции между уровнями ДНК-метилирования в префронтальной коре и крови ($r = 0,799$, $p < 0,001$), энторинальной коре и крови ($r = 0,755$, $p < 0,001$), верхней височной извилине и крови ($r = 0,788$, $p < 0,001$), мозжечке и крови ($r = 0,845$, $p < 0,001$). Можно предположить, что использование образцов цельной крови для исследования психических расстройств дает ограниченную информацию о протекающих патологических процессах (Hannona, Lunnona, Schalkwykb, Millac, 2015). Однако для отдельных фенотипов кровь может быть более информативной периферической тканью, поскольку в ней отражаются воспалительные процессы. Так, в ряде исследований показано, что воспалительные процессы, возможно, являются одним из факторов развития большого депрессивного расстройства (БДР). Повышение продукции цитокинов в клетках крови при воспалении приводит к усилению выделения цитокинов в мозговой ткани, что может оказывать влияние на нейромедиаторные системы и целостность нейронов и, как следствие, на изменение поведенческих реакций. Усиление продукции цитокинов может находить отражение в эпигенетических процессах, протекающих как в клетках крови, так и в мозговой ткани (Felger, Lotrich, 2013).

Возможно, что разные ткани отражают эпигенетические процессы, связанные с различными опосредующими механизмами, поэтому каждый тип ткани может быть по-своему информативным. Так, в исследовании эпигенетических модификаций при БДР проводился анализ метилирования ДНК в белых кровяных и в половых клетках, в срезах префронтальной коры головного мозга. Образцы тканей мозга были получены посмертно от людей с верифицированным депрессивным расстройством (биобанк Медицинского исследовательского института Стэнли и Банк мозга жертв суицида Квебека). Периферическая кровь была получена от дискордантных по БДР монозиготных близнецов из Австра-

лии, Нидерландов и Британии, половые клетки – от пациентов с биполярным расстройством, которое может быть этиологически связано с БДР. Контрольную группу составили образцы крови и спермы, полученные у здоровых людей, и образцы тканей мозга, взятые из биобанков. Люди с психическими заболеваниями в анамнезе, наркоманией, токсикоманией и семейной историей шизофрении были исключены из выборки. В клетках крови у близнецов с БДР доминировали гиперметилированные локусы по сравнению с контрольной группой ($p = 2,2 \times 10^{-16}$). В мозге и сперме пациентов с БДР преобладали гипометилированные регионы по сравнению с контрольной группой ($p = 4,5 \times 10^{-3}$ и $p = 6,8 \times 10^{-2}$, соответственно) (Oha, Wangb Sun-Chong, Palb et al., 2015). В некоторых исследованиях показано, что метилирование в клетках мозга более схоже с метилированием в клетках буккального эпителия, чем с метилированием в клетках крови. Так, в исследовании людей с эмоциональными и поведенческими проблемами выявлено частичное совпадение гиперметилирования сайтов в клетках буккального эпителия и посмертных тканях мозжечка. Особенно интересно, что совпадение было получено при сравнении разных выборок. Первую выборку составляли близнецы 12–19 лет из Великобритании (у которых была собрана слюна). В этой группе выявлены множественные различия в ДНК метилировании CpG сайтов по всему геному у близнецов, дискордантных по уровню эмоциональных и поведенческих трудностей. Во второй выборке исследовались посмертные материалы (срезы мозжечка) пациентов с диагнозом БДР и людей без психических расстройств (в качестве контрольной группы). Часть гиперметилированных сайтов, выявленных в буккальном эпителии близнецов, совпала с гиперметилированными сайтами в посмертных тканях мозжечка людей с БДР (Dempster, Wong Chloe, Lester et al., 2014). Эти результаты могут объясняться общим эктодермальным происхождением эпителиальных клеток и клеток мозговой ткани в эмбриогенезе. В то же время клетки крови имеют мезодермальное происхождение и более гетерогенны по сравнению с клетками мозговых тканей.

В другом исследовании эпигенетических модификаций генов, связанных с психическими расстройствами, было показано большее сходство между метилированием ДНК в клетках буккального эпителия и срезах тканей

¹ Участков молекул ДНК, к которым присоединяется метильная группа – прим. ред.

мозга, по сравнению с ДНК-метилированием в клетках крови (Smith, Kilaru, Klengel et al., 2015). Образцы слюны и крови были получены от 64 взрослых афроамериканцев, ткани мозга (мозжечок, лобная кора, энторинальная кора, верхняя височная извилина) взяты из общедоступных баз данных. Корреляция в уровне ДНК-метилирования между данными по образцам слюны и крови составила $r = 0,51$ ($p < 0,05$), а корреляция между данными по буккальному эпителию и образцами мозга была выше ($r = 0,73$, $p < 0,05$) (Thompson, Sharfi, Lee et al., 2013).

Резюмируя вышеизложенное, можно предположить, что для исследования роли эпигенетических факторов в формировании психологических фенотипов слюна является более предпочтительным материалом для анализа ДНК-метилирования, чем клетки крови. Возможно, что метилирование ДНК в клетках буккального эпителия сходно с метилированием ДНК в клетках мозговой ткани благодаря единому эктодермальному происхождению. Кровь может являться дополнительным источником информации в эпигенетических исследованиях, так как ДНК-метилирование в клетках крови и клетках мозговой ткани имеет совпадения по некоторым сайтам. Кроме того, возможно, что для изучения разных психологических фенотипов, наиболее информативными являются разные ткани, в которых реализуются различные биологические процессы, опосредующие связь между фенотипом и метилированием.

Данная работа была и выполнена в рамках базовой части Государственного задания Министерства образования и науки РФ (грант № 17.7255.2017/8.9).

Литература/References

1. Armstrong D.A., Lesseur C., Conradt E. et al. DNA methylation across multiple tissues in early infancy: implications for children's health research. *The FASEB Journal*, 2014, vol. 28, no. 5, pp. 2088–2097. DOI:10.1096/fj.13-238402
2. Davies M. N., Volta M., Pidsley R. et al. Functional annotation of the human brain methylome identifies tissue-specific epigenetic variation across brain and blood. *Genome Biology*, 2012, 13(6):R43, pp. 2–14. DOI: 10.1186/gb-2012-13-6-r43
3. Dempster E.L., Wong Chloe C.Y., Lester K.J. et al. Genome-wide Methylomic Analysis of Monozygotic Twins Discordant for Adolescent Depression. *Biological Psychiatry*, 2014, vol. 76, iss. 12, pp. 977–983. DOI: 10.1016/j.biopsych.2014.04.013
4. Felger J.C., Lotrich F.E. Inflammatory cytokines in depression: Neurobiological mechanisms and therapeutic implications. *Neuroscience*, 2013, vol. 246, pp. 199–229. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2013.04.060
5. Hannona E., Lunnona K., Schalkwyk L., Millac J. Interindividual methylomic variation across blood, cortex, and cerebellum: implications for epigenetic studies of neurological and neuropsychiatric phenotypes. *Epigenetics*, 2015, vol. 10, iss. 11, pp. 1024–1032. DOI: 10.1080/15592294.2015.1100786
6. Jiang R, Jones MJ, Chen E, et al. Discordance of DNA methylation variance between two accessible human tissues. *Scientific Reports*, Feb 2015. Article number: 8257. DOI: 10.1038/srep08257
7. Lowe R, Gemma C., Beyan H. et al. Buccals are likely to be a more informative surrogate tissue than blood for epigenome-wide association studies. *Epigenetics*, 2013, vol. 8, iss. 4, pp. 445–454. DOI:10.4161/epi.24362
8. Oha G., Wangb Sun-Chong, Palb M. et al. DNA Modification Study of Major Depressive Disorder: Beyond Locus-by-Locus Comparisons. *Biological Psychiatry*, 2015. vol. 77, iss. 3, pp. 246–255. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2014.06.016>
9. Petronis A. Epigenetics as a unifying principle in the aetiology of complex traits and diseases. *Nature*, 2010, vol. 465, pp. 721–727. DOI: 10.1038/nature09230
10. Rakyen V.K., Down T.A., Balding D.J., Beck S. Epigenome-wide association studies for common human diseases. *Nature Reviews Genetics*, 2011. 12(8). pp. 529–541. DOI: 10.1038/nrg3000
11. Smith A.K., Kilaru V., Klengel T. et al. DNA extracted from saliva for methylation studies of psychiatric traits: Evidence tissue specificity and relatedness to brain. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 2015. vol. 168, iss. 1, pp. 36–44. DOI: 10.1002/ajmg.b.32278
12. Thompson T.M., Sharfi D., Lee M. et al. Comparison of Whole-Genome DNA Methylation Patterns in Whole Blood, Saliva, and Lymphoblastoid Cell Lines. *Behavior Genetics*, 2013, vol. 43, pp. 168–176. DOI:10.1007/s10519-012-9579-1

Фекличева Инна Викторовна, кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией молекулярно-генетических исследований здоровья и развития человека, Южно-Уральский государственный университет (Челябинск), innafeklicheva@yandex.ru

Чипеева Надежда Александровна, психолог, младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований здоровья и развития человека, Южно-Уральский государственный университет (Челябинск), Nadezda.Chipeeva@ya.ru

Ковас Юлия Владимировна, PhD (Behavior Genetics), профессор, зав. лабораторией когнитивных исследований и психогенетики факультета психологии, Томский государственный университет (Томск); международная лаборатория междисциплинарных инновационных исследований индивидуальных различий в обучении (InLab) факультета психологии, Голдсмитс университет Лондона (Лондон, Великобритания), y.kovas@gold.ac.uk

Солдатова Елена Леонидовна, доктор психологических наук, профессор, декан факультета психологии, заведующая кафедрой психологии развития, Южно-Уральский государственный университет (Челябинск), elena.l.soldatova@gmail.com

Поступила в редакцию 8 июня 2017 г.

DOI: 10.14529/psy170309

THE PROBLEM OF THE SELECTION OF BIOLOGICAL MATERIAL IN THE EPIGENETIC RESEARCH OF PSYCHOLOGICAL CHARACTERISTICS

I.V. Feklicheva¹, innafeklicheva@yandex.ru

N.A. Chipeeva¹, Nadezda.Chipeeva@ya.ru

Yu.V. Kovas^{2,3}, y.kovas@gold.ac.uk

E.L. Soldatova¹, psyrazv@mail.ru

¹ South Ural State University, Chelyabinsk, Russian Federation

² Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation

³ Goldsmiths, University of London, London, United Kingdom

Brain tissue during life is directly inaccessible to epigenetic studies of psychological characteristics and psychopathologies, so it is necessary to assess which peripheral tissues are most appropriate for achieving the goals of such studies. The article presents the analysis of publications comparing methylation DNA profile in various peripheral tissues (whole and umbilical blood, placenta, sperm, buccal epithelium) and postmortal brain tissue. The results of the analysis suggest that for studying the role of epigenetic factors in psychological phenotypes, saliva is the more preferred material for DNA isolation and subsequent analysis of DNA methylation compared to blood cells. At the same time, it was established that different tissues can be optimal for different phenotypes.

Keywords: epigenetic modifications, DNA methylation, epigenetics, peripheral tissues, psychological phenotypes.

This work was carried out within the framework of the basic part of the State task of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (grant No. 17.7255.2017/8.9).

Received 8 June 2017

ОБРАЗЕЦ ЦИТИРОВАНИЯ

Проблема выбора биологического материала в эпигенетических исследованиях психологических характеристик / И.В. Фекличева, Н.А. Чипеева, Ю.В. Ковас, Е.Л. Солдатова // Вестник ЮУрГУ. Серия «Психология». – 2017. – Т. 10, № 3. – С. 91–95. DOI: 10.14529/psy170309

FOR CITATION

Feklicheva I.V., Chipeeva N.A., Kovas Yu.V., Soldatova E.L. The Problem of the Selection of Biological Material in the Epygenetic Research of Psychological Characteristics. *Bulletin of the South Ural State University. Ser. Psychology*. 2017, vol. 10, no. 3, pp. 91–95. (in Russ.). DOI: 10.14529/psy170309