

ВЛИЯНИЕ ЭМОЦИОНАЛЬНЫЙ НАГРУЗКИ НА ОБЪЕМ ЛИКВОРА И СОДЕРЖАНИЕ В НЕМ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК У КРЫС

Умрюхин П.Е.^{1,2}, Григорчук О.С.^{1,2}

¹ *Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, e-mail: pavelum@mail.ru*

² *НИИ нормальной физиологии им. П.К.Анохина РАМН, Москва, Россия. e-mail: prosto_tak05@mail.ru*

Предрасположенные, амбивалентные и устойчивые к эмоциональному стрессу (ЭС) крысы различаются по концентрации и общему количеству внеклеточной ДНК (вкДНК) в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) желудочков мозга. Среди устойчивых крыс преобладают особи с высоким уровнем вкДНК в ликворе, среди предрасположенных и амбивалентных – с низким. При ЭС у устойчивых и предрасположенных к стрессу крыс происходят изменения объема отбираемых аликвот ликвора и уровня вкДНК в них, а также активируются механизмы, препятствующие изменению общего количества ДНК в ликворе. Данные, полученные в настоящей работе, свидетельствуют о перспективности исследования вкДНК в ЦСЖ животных с различной эмоциональной резистентностью и позволяют надеяться, что вкДНК, циркулирующая в биологических жидкостях, может быть использована в качестве показателя предрасположенности животных к стрессорным воздействиям.

Ключевые слова: эмоциональный стресс, открытое поле, внеклеточная ДНК, ликвор.

INFLUENCE OF EMOTIONAL STRESS ON LIQUOR VOLUME AND EXTRACELLULAR DNA CONCENTRATION IN RATS

Umriukhin P.E.^{1,2}, Grigorchuk O.S.^{1,2}

¹ *Sechenov First Moscow State Medical University, e-mail: pavelum@mail.ru*

² *P.K.Anokhin institute of normal physiology of the Russian Academy of Medical Sciences, e-mail: prosto_tak05@mail.ru*

Rats characterized with high, low and average resistance to emotional stress (ES) were found to have different concentrations and total amounts of cell-free DNA (cfDNA) in cerebrospinal fluid (CSF) of brain ventricles. Among resistant animals prevailed rats with high cfDNA level in CSF, predisposed and ambivalent - were characterized with low cfDNA concentration. During ES in resistant and predisposed to ES rats different changes of liquor aliquots volumes and cfDNA level were observed. Some of these effects may be interpreted as mechanisms preventing liquor cfDNA concentration fluctuations. Results of the present study open the perspectives of liquor cfDNA investigation in correlation with emotionality and ES resistance. Also, we hope that cfDNA circulating in different biological fluids may serve as indicator of animals resistance to emotional stress.

Keywords: emotional stress, open field, extracellular DNA, liquor

В последние годы появляется все больше данных об участии вкДНК в развитии патологических процессов и о связи биологической активности вкДНК с ее молекулярными свойствами и концентрацией [6; 18]. Преимущественно, эти работы посвящены изучению свойств и функций внеклеточной ДНК (вкДНК), циркулирующей в крови, в качестве маркера различного рода заболеваний [9]. При этом вкДНК в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) изучена недостаточно. Показано, что при наличии опухолей в нервной системе, в ликворе детектируется вкДНК с опухолеспецифичными геномными изменениями, источником которой являются раковые клетки. В ЦСЖ пациентов с болезнью Паркинсона обнаруживается вкДНК, и ее состав и концентрация существенно отличаются от таковых вкДНК, циркулирующей в крови. ВкДНК плода была обнаружена в ЦСЖ беременных женщин [4], что является индикатором проникновения вкДНК через гистогематические барьеры. При стрессорной нагрузке концентрация вкДНК в крови возрастает [7]. Однако не известно, каким образом происходит изменение концентрации вкДНК в ЦСЖ в стрессовых условиях.

Материалы и методы

В работе были использованы 22 самца крыс линии Вистар массой 200-220 г. Исследования проводили в соответствии с международными правилами «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals». Индивидуальную эмоциональную реактивность крыс определяли в тесте «открытое поле» с расчетом индекса двигательной активности (ИА) как отношения суммы пересеченных периферических и центральных секторов к сумме латентных периодов первого движения и выхода в центр. К прогностически устойчивым к стрессу (активным) особям были отнесены 9 животных со значением ИА более 1.5, к предрасположенным (пассивным) - 10 крыс с ИА менее 0.8 [1]. Была также определена группа из 3 амбивалентных крыс со средними значениями коэффициента - от 0.8 до 1.5.

Забор ЦСЖ осуществляли под анестезией хлоралгидратом из большой цистерны головного мозга двукратно с интервалом в 10 дней по известной методике [2]. При этом вторую пункцию проводили после иммобилизационного ЭС (фиксация за четыре конечности в течение 2.5 часов). ЦСЖ доводили физиологическим раствором до объема 400 мкл, а затем проводили выделение вкДНК фенольным методом. Концентрацию вкДНК определяли на флуориметре Enspire™ 2300 (Perkin Elmer) по флуоресценции Picogreen (Invitrogen, США) при длинах волн возбуждения 480 нм и эмиссии 520 нм. Статистический анализ полученных данных осуществляли с помощью программного пакета Statistica 6.0. Для проверки гипотезы о различии независимых выборок использовали *U*-тест Манна-Уитни. Результаты представляли в виде медианы значений и межквартильного интервала Ме [25%; 75%]. Для исследования связи признаков использовали непараметрический анализ по Спирмену.

Результаты исследования

В таблице 1 представлены медианы концентраций вкДНК в ликворе предрасположенных, устойчивых к стрессу и амбивалентных животных. Они составили 27, 68 и 20 нг/мл соответственно (табл. 1). В группе устойчивых к стрессу животных наблюдалась тенденция к большему уровню вкДНК по сравнению с остальными двумя. Объем ликвора, который в норме удавалось отобрать, был примерно одинаков для всех групп животных.

Таблица 1

Уровень вкДНК и объем ликвора в большой цистерне мозга у крыс с различной эмоциональной резистентностью в норме и ЭС