

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВОГО ОТВЕТА В ГИПОТАЛАМУСЕ ЖИВОТНЫХ ПОД ВЛИЯНИЕМ ХРОНИЧЕСКОГО СОЦИАЛЬНОГО СТРЕССА: ДАННЫЕ RNA-seq

Галямина А.Г.¹, Коваленко И.Л.¹, Смагин Д.А.¹, Попова Н.А.^{1,2}

¹ ФИЦ «Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия

² ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», г. Новосибирск, Россия

Резюме. Известно, что хронический социальный стресс приводит к нарушению иммунитета у человека и экспериментальных животных, например, он приводит к усилению роста и метастазирования опухолей у экспериментальных животных и снижает выживаемость. Кроме того, нами было показано, что действие стресса проявляется также в изменении уровня экспрессии генов, вовлеченных в функционирование различных физиологических систем и, как нами показано, в головном мозге мышей, в частности в гипоталамусе. В частности было отмечено, что у стрессированных животных изменяют свою экспрессию гены, вовлеченные в процессы канцерогенеза и апоптоза, причем у животных без признаков развития злокачественного процесса, но в условиях, способствующих росту опухоли. В связи с этим методом RNA-seq была исследована экспрессия генов цитокинового ответа в гипоталамусе животных, под влиянием хронического социального стресса, вызванного повторным опытом поражений в межсамцовых конфронтациях, по сравнению с контрольными особями. Было обнаружено разнонаправленное изменение экспрессии генов цитокинов, их рецепторов и генов, выполняющих регуляторную функцию, при этом экспрессия генов *IL17D*, *IL18*, *IL33*, *IL11ra1*, *IL2ra*, *IL5ra*, *Lifr*, *Jak2*, *TLR3* была снижена, в то время как экспрессия *Csf1R*, *Csf2ra*, *IL13ra1*, *IL3ra*, *Cish*, *IL4i1*, *Irf1*, *Irf5*, *Irf9*, *Socs3*, *Stat3*, *Tgfb1* была повышена. В результате работы было показано, что нарушение цитокинового ответа в мозге под влиянием стресса происходит на уровне изменения экспрессии генов. При этом следует говорить не об активации системы или снижении ее активности, а о нарушении ее функционирования. Был проведен анализ корреляций между уровнем экспрессии генов цитокиновой системы и основных генов канцерогенеза и апоптоза, исследованных нами ранее (*Akt1*, *Bag6*, *FoxP4*, *Mapk3*, *Mapk8*, *Nol3*, *Pdcd10*, *Xiap*). В результате были выделены гены *Akt1*, *Jak2*, *Stat3*, для которых было обнаружено максимальное количество корреляций, притом для *Jak2* наиболее характерны отрицательные корреляции, а для *Stat3* и *Akt1* – положительные. Были проанализированы бе-

Адрес для переписки:

Галямина Анна Георгиевна
ФИЦ «Институт цитологии и генетики Сибирского
отделения Российской академии наук
630090, Россия, г. Новосибирск, пр. Академика
Лаврентьева, 10.
Тел.: 8 (383) 363-49-65 (доб. 5240).
E-mail: galyamina@bionet.nsc.ru

Address for correspondence:

Anna G. Galyamina
Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch,
Russian Academy of Sciences
10 Acad. Lavrentiev St
Novosibirsk
630090 Russian Federation
Phone: +7 (383) 363-49-65 (acc. 5240).
E-mail: galyamina@bionet.nsc.ru

Образец цитирования:

А.Г. Галямина, И.Л. Коваленко, Д.А. Смагин, Н.А. Попова «Изменение экспрессии генов цитокинового ответа в гипоталамусе животных под влиянием хронического социального стресса: данные RNA-seq» // Медицинская иммунология, 2024. Т. 26, № 4. С. 677-684. doi: 10.15789/1563-0625-CIT-16769

© Галямина А.Г. и соавт., 2024

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

A.G. Galyamina, I.L. Kovalenko, D.A. Smagin, N.A. Popova
“Changes in the cytokine response in the hypothalamus of
animals under the influence of chronic social stress: RNA-
seq data”, Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya
Immunologiya, 2024, Vol. 26, no. 4, pp. 677-684.
doi: 10.15789/1563-0625-CIT-16769

© Galyamina A.G. et al., 2024

The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.15789/1563-0625-CIT-16769

лок-белковые взаимодействия при помощи базы данных String, что тоже подтвердило ключевую роль указанных генов в развитии нарушения функционирования цитокинов в мозге, вызванных влиянием хронического социального стресса и обеспечивающих взаимодействие между генами канцерогенеза и апоптоза и генами цитокиновой системы.

Ключевые слова: хронический социальный стресс, гипоталамус, цитокины, RNA-seq, экспрессия генов, канцерогенез, апоптоз, гены, мыши, *Jak2*, *Stat3*, *Akt1*

CHANGES IN THE CYTOKINE RESPONSE IN THE HYPOTHALAMUS OF ANIMALS UNDER THE INFLUENCE OF CHRONIC SOCIAL STRESS: RNA-seq DATA

Galyamina A.G.^a, Kovalenko I.L.^a, Smagin D.A.^a, Popova N.A.^{a, b}

^a Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

^b Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. It is known that chronic social stress leads to immunity disorders in humans and experimental animals. It has been shown that the effect of stress is also manifested in changes in the level of expression of genes involved in the functioning of various physiological systems in the brain of mice, in particular, in the hypothalamus. It was noted that in stressed animals, genes involved in the processes of carcinogenesis and apoptosis change their expression, and in animals without signs of developing a malignant process, but under conditions conducive to tumor growth. In this regard, we used the RNA-seq method to study the expression of cytokine response genes in the hypothalamus of male mice under the influence of chronic social stress caused by repeated experience of defeats in intermale confrontations, compared with control individuals. Multidirectional changes in the expression of cytokine genes, their receptors and genes performing a regulatory function were detected (*IL17d*, *IL18*, *IL33*, *Csf1r*, *Csf2ra*, *IL11ra1*, *IL13ra1*, *IL2ra*, *IL3ra*, *IL5ra*, *Lifr*, *Cish*, *IL4i1*, *Irf1*, *Irf5*, *Irf9*, *Jak2*, *Socs3*, *Stat3*, *Tgfb1*, *Tlr3*). Thus, it has been shown that changes in the cytokine response in the brain under the influence of stress occur at the level of changes in gene expression. In this case, we should not talk about the activation of the system or a decrease in its activity, but about the disruption of its functioning. Next, we analyzed the correlations between the level of expression of genes of the cytokine system and the main genes of carcinogenesis and apoptosis that we studied earlier (*Akt1*, *Bag6*, *Foxp4*, *Mapk3*, *Mapk8*, *Nol3*, *Pdcd10*, *Xiap*). The *Akt1*, *Jak2*, *Stat3* genes were identified, for which the maximum number of correlations was found, moreover, negative correlations were most characteristic of *Jak2*, and positive correlations were most characteristic of *Stat3* and *Akt1*. In addition, protein-protein interactions between genes of carcinogenesis and apoptosis and genes of the cytokine system were analyzed using the String database in mice under chronic social stress. It was confirmed the key role of these genes in the development of dysfunction of cytokines in the brain.

Keywords: chronic social stress, hypothalamus, cytokines, RNA-seq, gene expression, carcinogenesis, apoptosis, genes, mice, *Jak2*, *Stat3*, *Akt1*

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 22-75-10095).

Введение

Хорошо известно, что хронический социальный стресс вызывает многочисленные нарушения в организме на уровне поведения и соматических изменений у человека и лабораторных животных. Например, он приводит к усилению роста и метастазирования опухолей у эксперименталь-

ных животных и снижает их выживаемость [11]. Под действием социального стресса происходит изменение иммунного ответа, при этом исследователи обнаруживают, как правило, активацию иммунитета и увеличение уровня провоспалительных цитокинов [3]. Причем в сходных экспериментальных условиях под воздействием хронического социального стресса наблюдались как иммунные изменения, так и усиленный рост опухолей. Кроме того, показано, что нарушения иммунитета на фоне хронического социального

стресса могут сопровождаться не только изменением общего тонуса иммунной системы, но и развитием воспалительных процессов в конкретных органах. Так, хронический стресс может вызывать развитие нейровоспаления в мозге [13], что может в дальнейшем привести к серьезным поведенческим последствиям. Известно, что существенную роль в развитии нейровоспаления и депрессии может играть повышение уровня провоспалительных цитокинов [7], являющихся сигнальными белками, отвечающими за иммунный ответ в организме.

Так как в основном процессы нейровоспаления, развиваются в гипоталамусе, отделе мозга, участвующем в гуморальной и нервной регуляции физиологических процессов, а также вовлеченном в иммунные процессы, что делает актуальным изучение изменения цитокинового ответа именно в этом отделе. В наших предыдущих работах было показано, что под влиянием стресса в гипоталамусе изменяется экспрессия многих генов [4]. В частности, было отмечено, что у стрессированных животных изменяют свою экспрессию гены, вовлеченные в процессы канцерогенеза и апоптоза [1], причем у животных без признаков развития злокачественного процесса, но в условиях, способствующих росту опухоли. Это может свидетельствовать о том, что вызванные стрессом нарушения физиологических процессов могут проявляться первоначально на уровне экспрессии генов в мозге, а не в периферических органах. Таким образом, возникал вопрос, может ли данный феномен наблюдаться для генов цитокинового ответа.

В связи с этим **целью нашего исследования** было изучить изменение экспрессии генов цитокинов в гипоталамусе самцов мышей под влиянием хронического социального стресса и установить взаимосвязь с генами белков, вовлеченных в процессы канцерогенеза и апоптоза, которые были изучены ранее [1].

Материалы и методы

Животные

Эксперименты проводили на самцах мышей линии C57BL/6 в возрасте 2,5 мес. и массой тела 26–28 г, полученных из Питомника лабораторных животных Института биоорганической химии РАН (Пушино, Московская область). Эксперимент проводили в конвенциональном виварии Института цитологии и генетики СО РАН. Все процедуры осуществляли в соответствии с международными правилами проведения экспериментов с животными (Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes). Применяемые методики для

изучения поведения у мышей были одобрены Научной комиссией № 9 Института цитологии и генетики СО РАН (Март, 24, 2010, № 613).

Хронический социальный стресс

Хронический социальный стресс вызывался повторным опытом социальных поражений в ежедневных межсамцовых конфронтациях, как это подробно описано в наших предыдущих публикациях [10]. Животных попарно помещали в экспериментальные клетки, разделенные по полам прозрачной перегородкой с отверстиями. Ежедневно убирали перегородку на 10 минут, что приводило к агонистическим взаимодействиям. Во время первых 2–3 дней тестов выявляли победителей и особей, терпящих поражения при взаимодействии с одним и тем же партнером. В дальнейшем ежедневно после теста побежденного самца пересаживали в новую клетку к незнакомому агрессивному партнеру, сидящему за перегородкой. Подобные манипуляции продолжали в течение трех недель.

Экспериментальные животные были декапированы на следующий день после последней конфронтации одновременно с контрольными особями. Гипоталамус извлекался одним исследователем в соответствии с анатомическим атласом мозга (Allen Mouse Brain Atlas; <http://mouse.brainmap.org/static/atlas>). Все образцы помещались в раствор RNeasy Lysis Buffer (Life Technologies, США) и хранились при температуре -70°C до секвенирования. В эксперименте были исследованы две группы животных: 1) самцы, находившиеся под влиянием хронического социального стресса; 2) контрольные животные — особи без последовательного опыта агонистических взаимодействий.

Выбор генов для анализа

Мы выбрали для анализа гены, вовлеченные в работу цитокиновой системы и кодирующие цитокины, цитокиновые рецепторы и регуляторные белки по результатам анализа базы данных Gene Card <https://www.genecards.org>. Кроме того, мы исследовали корреляционные взаимодействия между впервые исследованным уровнем экспрессии генов цитокиновой системы и генов, которые были выделены в качестве ключевых для развития процессов канцерогенеза и апоптоза под влиянием хронического стресса согласно [1] (табл. 1).

RNA-seq анализ

Анализ RNA-seq был выполнен в ООО «Гено-аналитика» (<http://genoanalytica.ru>, Москва). Пакет программ Cufflinks/Cuffdiff был использован для оценки уровня экспрессии транскриптов в единицах FPKM (fragments per kilobase of transcript per million mapped reads) и выявления дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ), уро-

ТАБЛИЦА 1. КОРРЕЛЯЦИИ МЕЖДУ ЭКСПРЕССИЕЙ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВОГО ОТВЕТА И КЛЮЧЕВЫХ ГЕНОВ КАНЦЕРОГЕНЕЗА И АПОПТОЗА ПОД ВЛИЯНИЕМ ХРОНИЧЕСКОГО СОЦИАЛЬНОГО СТРЕССА

TABLE 1. CORRELATIONS BETWEEN THE EXPRESSION OF CYTOKINE RESPONSE GENES AND KEY GENES OF CARCINOGENESIS AND APOPTOSIS UNDER THE INFLUENCE OF CHRONIC SOCIAL STRESS

	<i>Jak2</i>	<i>Stat3</i>	<i>Akt1</i>	<i>Bag6</i>	<i>Foxp4</i>	<i>Mapk3</i>	<i>Mapk8</i>	<i>Nol3</i>	<i>Pdcd10</i>	<i>Xiap</i>
<i>IL17d</i>	0,65	-0,58	-0,41	-0,36	-0,37	-0,46	0,50	-0,41	0,38	0,61
<i>IL18</i>	0,65	-0,61	-0,48	-0,56	-0,54	-0,54	0,51	-0,60	0,57	0,51
<i>IL33</i>	-0,13	0,19	0,25	0,25	0,49	0,31	-0,47	0,50	-0,33	-0,47
<i>Csf1r</i>	-0,74	0,76	0,81	0,72	0,66	0,73	-0,63	0,65	-0,65	-0,72
<i>Csf2ra</i>	-0,82	0,88	0,89	0,93	0,90	0,93	-0,92	0,88	-0,96	-0,86
<i>IL11ra1</i>	-0,92	0,93	0,94	0,88	0,82	0,89	-0,78	0,82	-0,83	-0,86
<i>IL13ra1</i>	0,97	-0,98	-0,97	-0,97	-0,92	-0,97	0,88	-0,94	0,95	0,90
<i>IL2ra</i>	0,73	-0,67	-0,58	-0,57	-0,35	-0,53	0,33	-0,38	0,48	0,39
<i>IL3ra</i>	-0,86	0,87	0,90	0,84	0,77	0,83	-0,70	0,78	-0,77	-0,78
<i>IL5ra</i>	0,92	-0,90	-0,85	-0,79	-0,65	-0,81	0,67	-0,65	0,73	0,75
<i>Lifr</i>	0,81	-0,85	-0,91	-0,86	-0,77	-0,87	0,78	-0,73	0,83	0,80
<i>Cish</i>	-0,86	0,81	0,75	0,69	0,54	0,68	-0,49	0,57	-0,59	-0,61
<i>IL4i1</i>	-0,88	0,93	0,97	0,99	0,92	0,96	-0,87	0,91	-0,97	-0,84
<i>lif1</i>	-0,81	0,80	0,79	0,79	0,77	0,76	-0,65	0,83	-0,73	-0,71
<i>Irf5</i>	-0,89	0,94	0,96	0,95	0,95	0,98	-0,97	0,92	-0,97	-0,96
<i>Irf9</i>	-0,87	0,92	0,98	0,95	0,90	0,94	-0,85	0,87	-0,92	-0,86
<i>Jak2</i>	1,00	-0,99	-0,94	-0,92	-0,85	-0,93	0,85	-0,87	0,88	0,90
<i>Socs3</i>	-0,84	0,86	0,82	0,82	0,75	0,86	-0,84	0,72	-0,84	-0,82
<i>Stat3</i>	-0,99	1,00	0,97	0,96	0,91	0,97	-0,90	0,91	-0,94	-0,94
<i>Tgfb1</i>	-0,74	0,82	0,85	0,87	0,90	0,91	-0,95	0,85	-0,93	-0,89
<i>TLR3</i>	0,92	-0,94	-0,95	-0,96	-0,93	-0,94	0,85	-0,95	0,92	0,87
<i>Akt1</i>	-0,94	0,97	1,00	0,99	0,94	0,99	-0,92	0,93	-0,97	-0,93
<i>Bag6</i>	-0,92	0,96	0,99	1,00	0,96	0,99	-0,93	0,96	-0,99	-0,91
<i>Foxp4</i>	-0,85	0,91	0,94	0,96	1,00	0,97	-0,97	0,99	-0,98	-0,95
<i>Mapk3</i>	-0,93	0,97	0,99	0,99	0,97	1,00	-0,96	0,96	-0,99	-0,96
<i>Mapk8</i>	0,85	-0,90	-0,92	-0,93	-0,97	-0,96	1,00	-0,96	0,97	0,98
<i>Nol3</i>	-0,87	0,91	0,93	0,96	0,99	0,96	-0,96	1,00	-0,97	-0,95
<i>Pdcd10</i>	0,88	-0,94	-0,97	-0,99	-0,98	-0,99	0,97	-0,97	1,00	0,94
<i>Xiap</i>	0,90	-0,94	-0,93	-0,91	-0,95	-0,96	0,98	-0,95	0,94	1,00

Примечание. Полу жирным шрифтом выделены статистически значимые корреляции. Темно-серым выделены гены канцерогенеза и апоптоза. Светло-серым выделены гены с максимальным числом статистически значимых корреляций (более 20).

Note. Statistically significant correlations are highlighted in bold. Carcinogenesis and apoptosis genes are highlighted in dark gray. Genes with the maximum number of statistically significant correlations (more than 20) are highlighted in light gray.

вень экспрессии которых статистически значимо различался у контрольных и депрессивных мышей ($p < 0,05$). Достоверность корреляционных взаимодействий оценивали в программе XLStat с использованием критерия Пирсона. Для исследования взаимодействия продуктов генов использовали базу данных STRING (Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins.)

Результаты и обсуждение

Было показано, что под влиянием хронического социального стресса в гипоталамусе изменилась экспрессия 21 гена (рис. 1). Была повышена экспрессия 12 генов: генов рецепторов цитокинов: *Csf1r* ($p < 0,038$), *Csf2ra* ($p < 0,001$), *IL11ra1* ($p < 0,020$), *IL3ra* ($p < 0,016$), кодирующих рецептор колониостимулирующего факто-

ра-1, α -субъединицу колониестимулирующего фактора-2, α -субъединицу рецептора IL-11, α -субъединицу рецептора IL-3 соответственно; генов регуляторов цитокинового ответа: *Cish* ($p < 0,014$), *Irf1* ($p < 0,026$), *Irf5* ($p < 0,017$), *Irf9* ($p < 0,004$), *Socs3* ($p < 0,001$), кодирующих цитокин индуцируемый SH2-пептид, интерферон регулирующие факторы 1, 5 и 9 и супрессор цитокинового сигналинга 3, соответственно; генов белков, регулируемых цитокинами: *IL4i1* ($p < 0,032$), *Stat3* ($p < 0,001$), *Tgfb1* ($p < 0,028$), кодирующих интерлейкин индуцируемый белок-1, трансдуктор и активатор сигнала транскрипции 3, TGF- β 1 соответственно. Снижена

была экспрессия 9 генов: генов цитокинов *IL17d* ($p < 0,021$), *IL18* ($p < 0,000$), *IL33* ($p < 0,017$), кодирующих IL-17D, IL-18 и IL-33 соответственно; генов рецепторов цитокинов *IL13ra1* ($p < 0,002$), *IL2ra* ($p < 0,003$), *IL5ra* ($p < 0,001$), *Lifr* ($p < 0,049$), кодирующих α 1 субъединицу рецептора IL-13, α -субъединицу рецептора IL-2, α -субъединицу рецептора фактора ингибитора лейкемии соответственно; генов регуляторов цитокинового ответа *Jak2* ($p < 0,009$) и *TLR3* ($p < 0,004$), кодирующих JAK-киназу и toll-like рецептор 3 соответственно.

Далее мы исследовали корреляции между уровнем экспрессии генов цитокинов и генов

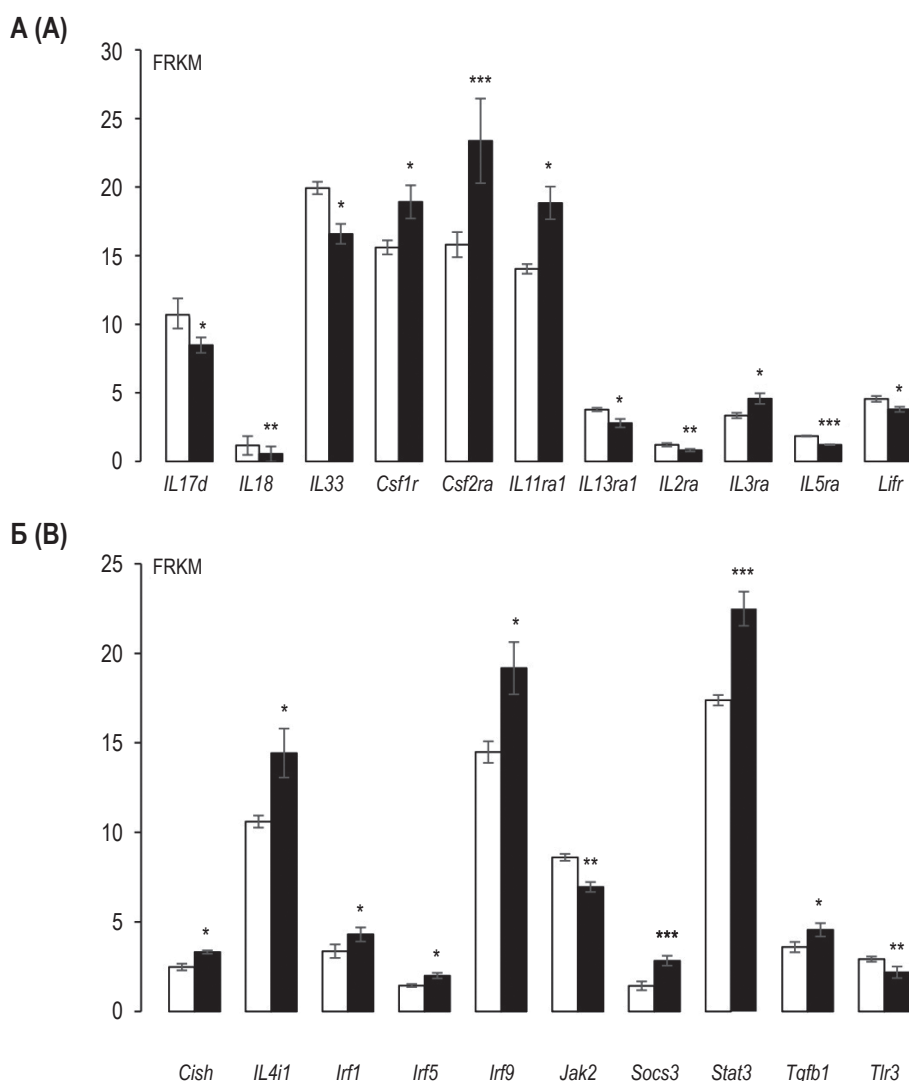


Рисунок 1. Дифференциальная экспрессия генов цитокинового ответа у животных с депрессивноподобным состоянием

Примечание. Белые столбы – контроль, черные столбы – животные под влиянием хронического социального стресса.

Достоверное отличие от контроля: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ по сравнению с контролем. А – гены цитокинов; Б – гены цитокиновых рецепторов и гены регуляторных белков.

Figure 1. Differential expression of cytokine response genes in animals with a depressive-like state

Note. White columns, control; black columns, animals under the influence of chronic social stress. Significant difference from control: *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$ compared to control. A, cytokine genes; B, cytokine receptor genes and regulatory protein genes.

ТАБЛИЦА 2. КОЛИЧЕСТВО ОТРИЦАТЕЛЬНЫХ И ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ КОРРЕЛЯЦИЙ ДЛЯ ГЕНОВ *Jak2*, *Stat3*, *Akt1*

TABLE 2. NUMBER OF NEGATIVE AND POSITIVE CORRELATIONS FOR THE GENES *JAK2*, *STAT3*, *AKT1*

	Всего All	«+»	«-»
<i>Jak2</i>	21	6	15
<i>Stat3</i>	21	13	8
<i>Akt1</i>	22	14	8

канцерогенеза и апоптоза. Для анализа мы выбрали гены *Akt1*, *Bag6*, *Mapk3*, *Mapk8*, *Foxp4*, *Nol3*, *Pdcd10*, *Xiap*, которые были выделены в нашей предыдущей работе [1] (табл. 1, 2) как возможные ключевые гены, обеспечивающие скоординированность патологических изменений в гипоталамусе под влиянием хронического социального стресса. Для их экспрессии был показан наиболее высокий уровень корреляции с экспрессией других исследованных нами генов, вовлеченных в механизмы канцерогенеза и апоптоза, а также наибольшее количество белок-белковых взаимодействий согласно базе данных STRING [1]. В настоящем исследовании было показано, что

наибольшее количество корреляций с экспрессией других генов цитокинового ответа и канцерогенеза и апоптоза (более 20) обнаружено для генов *Jak2*, *Stat3*, а также для гена *Akt1*, вовлеченного в процессы канцерогенеза и апоптоза. При этом для генов *Stat3* и *Akt1* преобладают положительные корреляции, в то время как для гена *Jak2* – отрицательные (табл. 2).

Далее при помощи инструмента STRING (<https://string-db.org/>) была построена генная сеть, отражающая взаимодействия ключевых генов канцерогенеза и апоптоза и отобранных нами цитокинов (рис. 2). Были выбраны гены, для продуктов которых показано максимальное число связей с белковыми продуктами других генов в базе STRING. Этот анализ также подтвердил ключевую роль генов *Stat3*, *Jak2*, *Akt1*.

Мы обнаружили существенное изменение экспрессии многих генов, вовлеченных в иммунные процессы в гипоталамусе животных под влиянием хронического социального стресса. Нами показано, что изменение цитокинового ответа в мозге обнаруживается на уровне изменения генной экспрессии. Однако нельзя однозначно говорить, что обнаруженные нами изменения свидетельствуют о развитии нейровоспаления. В частности, в нашем исследовании снижена

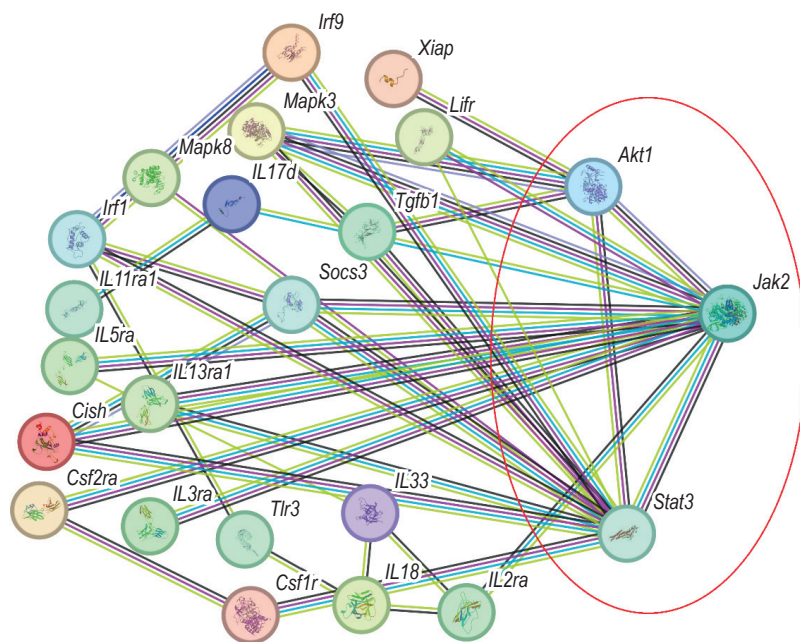


Рисунок 2. Функциональные взаимосвязи ДЭГ цитокиновой системы и ключевых ДЭГ, связанных с процессами канцерогенеза и апоптоза, установленные согласно базе данных STRING (<http://string-db.org/>) у мышей, находившихся под влиянием хронического социального стресса (high confidence, score = 0,700)

Примечание. Каждый узел представляет все белки, продуцируемые одним геном, кодирующим белок. Линии представляют собой белок-белковые ассоциации.

Figure 2. Functional relationships between DEGs of the cytokine system and key DEGs associated with the processes of carcinogenesis and apoptosis, established according to the STRING database (<http://string-db.org/>) in mice under the influence of chronic social stress (high confidence, score = 0.700)

Note. Each node represents all proteins produced by a single protein-coding gene. The lines represent protein-protein associations.

экспрессия генов *IL17d*, *IL18*, *IL33*, для продуктов которых — белков-интерлейкинов — показана активация при воспалительных процессах в мозге [2]. Аналогичным образом снижена экспрессия не только цитокинов, но и цитокиновых рецепторов. Тем не менее экспрессия генов *IL3ra*, *Csf1r*, *Csf2ra*, *IL11ra* у экспериментальных животных повышена. Это гены рецепторов цитокинов — колониестимулирующего фактора-1, колониестимулирующего фактора-2 и гены субъединиц рецепторов IL-3 и IL-11. Существуют данные, свидетельствующие о том, что главные агонисты этих рецепторов — соответствующие интерлейкины и колониестимулирующие факторы — участвуют в процессе затухания воспаления, препятствуют его переходу в хроническую форму [8]. Таким образом, можно сделать вывод, что у наших животных под действием хронического стресса не происходит развития нейровоспаления, но в то же время нельзя говорить и о снижении цитокинового ответа. Скорее следует говорить о нарушении его работы, проявляющемся в разнонаправленном изменении активности разных его элементов.

Также мы обнаружили изменение экспрессии некоторых генов, продукты которых являются регуляторами функции цитокинов. Была увеличена экспрессия генов регуляторов интерферона 1, 5 и 9, для белков которых показан провоспалительный эффект [15]. В то же время экспрессия гена супрессора передачи цитокинового сигнала 3 *Socs3*, снижающего воспалительный ответ [6], возрастала. Разнонаправленное изменение экспрессии генов, продукты которых обладают как провоспалительным, так и противовоспалительным эффектом подтверждает высказанное нами предположение о нарушении функционирования цитокиновой системы.

Далее мы выделили гены *Jak2*, *Stat3* и *Akt1* в качестве генов, которые потенциально могут играть ключевую роль в развитии нарушения функционирования цитокинов в мозге под влиянием хронического социального стресса. При этом было обнаружено, что для *Jak2* наиболее характерны отрицательные корреляции с экспрессией цитокиновых генов и генов канцерогенеза и апоптоза. В то же время для *Stat3* и *Akt1* характерны наоборот положительные корреляции. Кроме того, для этих последних генов выявлена положительная корреляция друг с другом и отрицательная с *Jak2*.

Известно, что продукты генов *Jak2* и *Stat3* являются ключевыми элементами JAK/STAT — сигнального пути, который участвует в развитии злокачественного процесса и может также взаимодействовать с PI3K/PTEN/AKT1/mTOR-сигнальным путем [14]. В данном случае PTEN действует на фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфат (PIP3), который является продуктом действия фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K).

Ингибирование функции PTEN вызывает увеличение концентрации фосфатидилинозитола, который активирует многие мишени, в частности AKT1, фосфорилирующие в дальнейшем белки и липиды, что в свою очередь усиливает клеточные деления и миграцию, участвуя таким образом в развитии злокачественного процесса [5]. Хотя неизвестны точные механизмы пересечения и взаимодействия этих сигнальных путей, можно предположить, что именно через продукты этих генов осуществляется взаимодействие между сигнальными системами, вовлеченными в иммунные и канцерогенные процессы.

Ген *Jak2* кодирует нереперторную тирозин киназу, которая является активатором продукта гена *Stat3*, который в фосфорилированном состоянии является транскрипционным фактором, инициирующим транскрипцию многих генов, вовлеченных в иммунные и канцерогенные процессы. Кроме того, показано вовлечение этого сигнального пути в развитие опухолей головного мозга — глиобластомы, в то время как ингибирование STAT3 может представлять из себя интерес для лечения этого заболевания [9]. Характерно, что в нашем исследовании изменение экспрессии этих генов разнонаправлено. Можно предположить, что это связано с истощением JAK2, активированного ранее, в то время как включающийся в работу позднее STAT3 не успевает достигнуть максимальных значений. Косвенным подтверждением этого может служить снижение экспрессии гена *IL17d*, кодирующего одну из субъединиц IL-17, для которого показано усиление иммунного ответа и канцерогенеза через активацию JAK/STAT-пути [12]. Снижение его экспрессии может свидетельствовать об ослаблении реакции на вызывающий воспаление фактор, что приведет в дальнейшем и к снижению экспрессии *Stat3*, но в исследованный нами момент патологический процесс еще не достиг этой стадии.

Заключение

Таким образом, было показано, что под влиянием хронического социального стресса происходит разнонаправленное изменение экспрессии генов цитокинового ответа в гипоталамусе. Гены *Jak2*, *Stat3*, *Akt1* выделены в качестве ключевых, обеспечивающих взаимодействие между генами цитокинов и генами, вовлеченными в процессы канцерогенеза и апоптоза. Полученные данные могут быть полезны для более глубокого понимания механизмов развития иммунных нарушений и злокачественных заболеваний на фоне хронического стресса и могут в дальнейшем помочь при поиске потенциальных мишеней для фармакологической коррекции рака и иммунных нарушений.

Список литературы / References

1. Галямина А.Г., Смагин Д.А., Коваленко И.Л., Редина О.Е., Бабенко В.Н., Кудрявцева Н.Н. Дисфункция генов, ассоциируемых с канцерогенезом и апоптозом, развивающаяся в гипоталамусе самцов мышей под влиянием хронического социального стресса // Биохимия, 2022. Т. 87, № 9. С. 1318-1333. [Galyamina A.G., Smagin D.A., Kovalenko I.L., Redina O.E., Babenko V.N., Kudryavtseva N.N. The dysfunction of carcinogenesis- and apoptosis-associated genes that develops in the hypothalamus under chronic social defeat stress in male mice. *Biokhimiya = Biochemistry (Moscow)*, 2022, Vol. 87, no. 9, pp. 1318-1333. (In Russ.)]
2. Alboni S., Cervia D., Sugama S., Conti B. Interleukin 18 in the CNS. *J. Neuroinflammation*, 2010, no. 7, 9. doi: 10.1186/1742-2094-7-9.
3. Audet M.C., McQuaid R.J., Merali Z., Anisman H. Cytokine variations and mood disorders: influence of social stressors and social support. *Front. Neurosci.*, 2014, no. 8, 416. doi: 10.3389/fnins.2014.00416.
4. Babenko V.N., Smagin D.A., Galyamina A.G., Kovalenko I.L., Kudryavtseva N.N. Altered Slc25 family gene expression as markers of mitochondrial dysfunction in brain regions under experimental mixed anxiety/depression-like disorder. *BMC Neurosci.*, 2018, Vol. 19, no. 1, 79. doi: 10.1186/s12868-018-0480-6.
5. Carnero A., Blanco-Aparicio C., Renner O., Link W., Leal J.F. The PTEN/PI3K/AKT signalling pathway in cancer, therapeutic implications. *Curr. Cancer Drug Targets*, 2008, Vol. 8, no. 3, pp. 187-198.
6. Carow B., Rottenberg M.E. SOCS3, a major regulator of infection and inflammation. *Front Immunol.*, 2014, Vol. 5, 58. doi: 10.3389/fimmu.2014.00058.
7. Dey A., Hankey Giblin P.A. Insights into macrophage heterogeneity and cytokine-induced neuroinflammation in major depressive disorder. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2018, Vol. 11, no. 3, 64. doi: 10.3390/ph11030064.
8. Dougan M., Dranoff G., Dougan S.K. GM-CSF, IL-3, and IL-5 family of cytokines: regulators of inflammation. *Immunity*, 2019, Vol. 50, no. 4, pp. 796-811.
9. Iwamaru A., Szymanski S., Iwado E., Aoki H., Yokoyama T., Fokt I., Hess K., Conrad C., Madden T., Sawaya R., Kondo S., Priebe W., Kondo Y. A novel inhibitor of the STAT3 pathway induces apoptosis in malignant glioma cells both in vitro and in vivo. *Oncogene*, 2007, Vol. 26, no. 17, pp. 2435-2444.
10. Kudryavtseva N.N., Smagin D.A., Kovalenko I.L., Vishnivetskaya G.B. Repeated positive fighting experience in male inbred mice. *Nat. Protoc.*, 2014, Vol. 9, no. 11, pp. 2705-2717.
11. Kudryavtseva N.N., Tenditnik M.V., Nikolin V.P., Popova N.A., Kaledin V.I. The influence of psychoemotional status on metastasis of Lewis lung carcinoma and hepatocarcinoma-29 in mice of C57Bl/6J and CBA/LAC strains. *Exp. Oncol.*, 2007, Vol. 29, no. 1, pp. 35-38.
12. Liu T., Zong S., Jiang Y., Zhao R., Wang J., Hua Q. Neutrophils promote larynx squamous cell carcinoma progression via activating the IL-17/JAK/STAT3 pathway. *J. Immunol. Res.*, 2021, Vol. 2021, 8078646. doi: 10.1155/2021/8078646.
13. Munhoz C.D., García-Bueno B., Madrigal J.L., Lepsch L.B., Scavone C., Leza J.C. Stress-induced neuroinflammation: mechanisms and new pharmacological targets. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 2008, Vol. 41, no. 12, pp. 1037-1046.
14. Steelman L.S., Abrams S.L., Whelan J., Bertrand F.E., Ludwig D.E., Bäsecke J., Libra M., Stivala F., Milella M., Tafuri A., Lunghi P., Bonati A., Martelli A.M., McCubrey J.A. Contributions of the Raf/MEK/ERK, PI3K/PTEN/Akt/mTOR and Jak/STAT pathways to leukemia. *Leukemia*, 2008, Vol. 22, no. 4, pp. 686-707.
15. van der Vorst E.P.C., Theodorou K., Wu Y., Hoeksema M.A., Goossens P., Bursill C.A., Aliyev T., Huitema L.F.A., Tas S.W., Wolfs I.M.J., Kuijpers M.J.E., Gijbels M.J., Schalkwijk C.G., Koonen D.P.Y., Abdollahi-Roodsaz S., McDaniels K., Wang C.-C., Leitges M., Lawrence T., Plat J., van Eck M., Rye K.-A., Touqui L., de Winther M.P.J., Biessen E.A.L., Donners M.M.P.C. High-density lipoproteins exert pro-inflammatory effects on macrophages via passive cholesterol depletion and PKC-NF-κB/STAT1-IRF1 signaling. *Cell Metab.*, 2017, Vol. 25, no. 1, pp. 197-207.

Авторы:

Галямина А.Г. — к.б.н., научный сотрудник ФИЦ «Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия

Коваленко И.Л. — к.б.н., старший научный сотрудник ФИЦ «Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия

Смагин Д.А. — к.б.н., старший научный сотрудник ФИЦ «Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия

Попова Н.А. — д.б.н., старший научный сотрудник ФИЦ «Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук; старший научный сотрудник ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», г. Новосибирск, Россия

Authors:

Galyamina A.G., PhD (Biology), Research Associate, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

Kovalenko I.L., PhD (Biology), Senior Research Associate, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

Smagin D.A., PhD (Biology), Senior Research Associate, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

Popova N.A., PhD, MD (Biology), Senior Research Associate, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences; Senior Research Associate, Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russian Federation

Поступила 30.03.2024

Отправлена на доработку 12.04.2024

Принята к печати 15.04.2024

Received 30.03.2024

Revision received 12.04.2024

Accepted 15.04.2024