

Ю.Э. ГЕРБЕК *, И.Н. ОСЬКИНА *,
Р.Г. ГУЛЕВИЧ, И.З. ПЛЮСНИНА

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия
E-mail: herbek@bionet.nsc.ru

ВЛИЯНИЕ МАТЕРИНСКОЙ МЕТИЛОБОГАЩЕННОЙ ДИЕТЫ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА РЕЦЕПТОРА ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ В ГИППОКАМПЕ У КРЫС, СЕЛЕКТИРУЕМЫХ ПО ПОВЕДЕНИЮ



Исследована экспрессия гена рецептора глюкокортикоидов (ГР) у серых крыс, селектируемых на агрессивное и доместикационное поведение по отношению к человеку, а также у потомков самок разного поведения, содержащихся во время беременности на метилобогатой диете. Показано значительно большее количество мРНК ГР в гиппокампе у доместичированных крыс, чем у агрессивных. Одним из основных механизмов регуляции экспрессии гена рецептора ГР является метилирование ДНК промотора его гена. Установлено достоверное снижение уровня мРНК ГР у ручных крыс под влиянием метилобогатой диеты.

© Ю.Э. ГЕРБЕК, И.Н. ОСЬКИНА, Р.Г. ГУЛЕВИЧ,
И.З. ПЛЮСНИНА, 2010

Введение. Важную роль в эволюции высших позвоночных, по-видимому, играют изменения нейрогормональных регуляторных систем, связанных с поведением [1, 2]. Особое внимание своим широким регуляторным воздействием на всех уровнях организма привлекает гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система (ГГНС), являющаяся ключевой в развитии реакции на стресс. Ее значение в эволюционном процессе может повышаться при резком изменении среды обитания, климата или при переходе в новую экологическую нишу. При этом усиливается давление стресса, а устойчивость к стрессу становится одним из основных критериев приспособленности животных, которые способны выдерживать изменения состояния гормональной системы, связанные с усилением стресса, без депрессии размножения [2].

Экспериментальная доместикация животных является прекрасной моделью эволюционного процесса в описанных условиях, при этом сильнейшим стрессирующим агентом выступает контакт диких животных с человеком, а экстремальный отбор на доместикационное поведение является также отбором на стресс-реактивность [2]. Одним из объектов такого отбора, проводимого в Институте цитологии и генетики СО РАН, являются дикие серые крысы. В результате эксперимента у этих животных произошли значительные изменения во всех звеньях ГГНС, свидетельствующие об общем ослаблении функциональной активности системы под влиянием отбора на доместикацию [3, 4]. Существенно более низкая реакция на стресс у крыс из доместичированной популяции по сравнению с агрессивными, по-видимому, связана с повышенной чувствительностью отрицательной обратной связи ГГНС, основным звеном которой являются рецепторы глюкокортикоидов (ГР) в гиппокампе [5, 6]. Показано, что у доместичированных крыс количество ГР в гиппокампе выше, чем у агрессивных [7]. Однако чем же могут быть обусловлены эти различия? Одним из основных механизмов регуляции количества ГР является изменение профиля метилирования промотора его гена [8].

В настоящей работе нами была исследована экспрессия гена ГР в гиппокампе и влия-

* Эти авторы внесли равный вклад в настоящую работу.

ние на нее материнской метилобогащенной диеты у серых крыс, селективируемых по поведению.

Материалы и методы. Животные. В работе использовались серые дикие крысы 68–69 поколений отбора на элиминацию и усиление агрессивно-оборонительной реакции по отношению к человеку [9] (ручные и агрессивные крысы соответственно).

Матери опытных ручных и агрессивных крыс содержались во время беременности и 5 дней после родов на метилобогащенной диете [10], а матери контрольных – на стандартном питании. Эксперимент проводили на трехмесячных самцах. Для оценки активности ГГНС в ответ на стрессорное воздействие исследовали содержание кортикостерона в периферической крови. За 4 сут до эксперимента животные были рассажены в индивидуальные клетки.

В качестве стрессорного воздействия использовали ограничение подвижности в течение 30 мин. Пробы крови брали из хвостовой вены до начала эксперимента (базальный уровень) и через разные отрезки времени после окончания стресса.

Уровень кортикостерона в плазме крови определяли методом конкурентного белкового связывания [11].

Выделение РНК и ДНК. Крыс быстро декапитировали, извлекали головной мозг и отделяли гиппокамп. Ткани замораживали и хранили в азоте. Суммарную РНК выделяли с помощью «TRI Reagent» («Sigma», США) в соответствии с протоколом фирмы-изготовителя.

ДНКазная обработка и реакция обратной транскрипции. РНК (2 мкг) обрабатывали ДНКазой I («Fermentas», Литва) с добавлением ингибитора РНКаз RNasin («Promega», США). Затем синтезировали кДНК с помощью M-MLV рекомбинантной обратной транскриптазы («Sigma», США), доведя объем реакционной смеси до 25 мкл.

Полуколичественная ОТ-ПЦР. Амплифицировали фрагменты кДНК ГР (номер доступа Y12264) и глицеральдегит-3-фосфат дегидрогеназы (GAPDH; номер доступа NC_005103), используемого в качестве внутреннего контроля экспрессии. Праймеры подбирали с помощью программы Primer3:

Нуклеотидные последовательности использованных праймеров

GRcom-F TCTCAGCAGCAGGATCAGAA
 GRcom-R GCTGGATGGAGGAGAGCTTA
 GAPDH-F GTCGGTGTCAACGGATTTG
 GAPDH-R ACAACATGGGGGCATCAG
 GR17-F [8] CCTCCCAGGCCAGTTAATATTTGC
 GR17-R [8] AAGGAGAATCCTCTGCTGCT
 b-tub-F [8] TGCCTGTGTACAGGTGAATGC
 b-tub-R [8] AGGCTGCATAGTCATTTCCAAG

Амплификацию ГР и GAPDH проводили параллельно в 25 мкл реакционной смеси, содержащей 0,01 мкл продукта реакции обратной транскрипции, 2,5 10×ПЦР-буфера, 2,5 мМ MgCl₂, по 0,25 мМ каждого из четырех дНТФ, 1 ед. акт. Taq ДНК-полимеразы (все реактивы – производства лаборатории «Медиген», Россия) и 1 мкМ каждого праймера («Биоссет», Россия). Количество циклов ПЦР (45 с при 94 °С, 45 с при 61 °С, 45 с при 72 °С) находились в пределах от 26 до 35. Электрофоретическое разделение продукта реакции осуществляли в агарозном геле (2 %) с бромистым этидием для визуализации ДНК-фрагментов ГР (201 п.н.) и GAPDH (397 п.н.). Анализ оптической плотности производили с использованием системы BioDocII («Biometra», Германия). Количество мРНК ГР в каждом образце оценивали как отношение оптической плотности ПЦР-продукта GR_{com} к оптической плотности ПЦР-продукта GAPDH.

Количественная ОТ-ПЦР в реальном времени. Для амплификации фрагментов экзона 17 ГР и в-III тубулина (внутренний контроль экспрессии) использовали ту же кДНК, что и для оценки общей экспрессии гена ГР. Реакцию осуществляли согласно методике, описанной Вивером с соавт. [8], со следующей существенной модификацией: перед добавлением в реакционную смесь синтезированный кДНК-продукт разбавляли в 20 раз, что необходимо для успешного прохождения реакции [12] и анализа концентрации мРНК в исследуемых образцах [13]. Амплификацию экзона 17 ГР и в-III тубулина проводили параллельно в реакционной смеси объемом 25 мкл с использованием комплекта реагентов для проведения ПЦР-РВ в присутствии SYBR Green I («Синтол», Россия) в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя. В смесь добавляли

0,05 мкл продукта реакции обратной транскрипции и по 5 мкмоль каждого из двух праймеров. ПЦР в реальном времени осуществляли в ЦКП функциональной геномики (ИЦиГ СО РАН) на приборе ABI PRISM-7000 Sequence Detection System («Applied Biosystems», США). Параметры ПЦР в реальном времени: 15 с при 95 °С, 15 с при 60 °С, 30 с при 72 °С. Данные, полученные в каждом цикле, анализировали с помощью программы LinRegPCR 7.2, позволяющей учитывать эффективность каждой индивидуальной реакции. Количество мРНК ГР с экзоном 1₇ в каждом образце оценивали как отношение начальных концентраций мРНК ГР и мРНК в-III тубулина. Специфичность ПЦР-продукта оценивали с помощью анализа кривой плавления и результатов электрофоретического разделения продукта в агарозном геле (2 %) на наличие праймер-димеров.

Результаты исследований и их обсуждение. Регуляция экспрессии генов многих нейропептидов и нейромедиаторов, связанных с поведением, происходит при участии ГР головного мозга и, в частности, гиппокампа [6], поэтому изучение экспрессии гена ГР при отборе по поведению представляет особенный интерес. В настоящем исследовании показано, что количество мРНК ГР в гиппокампе ручных крыс почти в два раза выше, чем у агрессивных (рис. 1), что хорошо соответствует полученным ранее данным об уровне цитозольного ГР в указанной структуре мозга [7]. Исходя из этого можно предположить, что различия в количестве ГР, по всей вероятности, обусловлены соответствующими различиями в количестве его мРНК.

Каковы же причины наблюдаемых изменений? Многолетний отбор на ручное поведение, с одной стороны, и агрессивное, с другой, без сомнения должен был привести к существенным изменениям генотипа. Исследования, проведенные на наших крысах, выявили локусы количественных признаков, вносящих значительный вклад в ручное поведение и некоторые другие фенотипические признаки [14].

Но является ли изменение генотипа не только необходимой, но и достаточной причиной наблюдаемых фенотипических различий? Последнее время широко обсуждаются эпигенетические модификации генов под влиянием

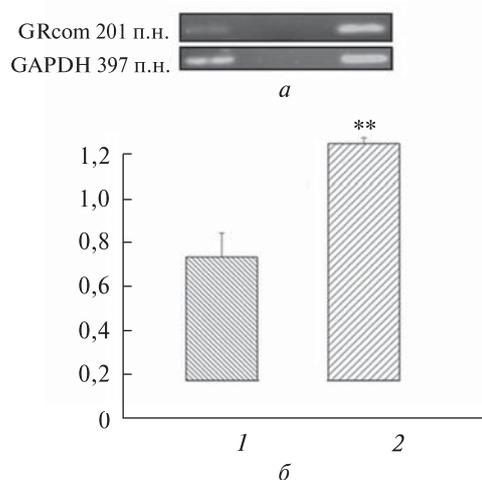


Рис. 1. Количество мРНК ГР в гиппокампе агрессивных (1) и ручных (2) серых крыс (8 животных в каждой группе): а – электрофореграмма амплифицированного с помощью ОТ-ПЦР участка мРНК ГР, выделенной из тканей гиппокампа (201 п.н.); б – относительная оптическая плотность амплифицированного участка мРНК ГР, выделенной из тканей гиппокампа. ** $P < 0,01$ по сравнению с агрессивными крысами

как внутренних онтогенетических процессов, так и факторов внешней среды [15, 16]. Группой канадских исследователей под руководством Мини [17] был вскрыт эпигенетический механизм изменений экспрессии гена ГР в гиппокампе, происходящих под влиянием материнской заботы или неонатального хэндлинга. У крыс, воспитанных матерями, которые имели повышенное число контактов с детенышами (ПЧКД), во взрослом состоянии наблюдается пониженная тревожность, сниженный уровень глюкокортикоидов в крови и повышенное количество ГР и их мРНК в гиппокампе по сравнению с крысами, воспитанными матерями, которые имели сниженное число контактов с детенышами (СЧКД) [17]. Описанные различия во многом схожи с изменениями, наблюдаемыми в нашем эксперименте.

Вивер с соавт. [18] показали, что различия между крысами, связанные с материнским поведением, обусловлены изменением профиля метилирования промотора гена ГР в тканях гиппокампа. У крыс, воспитанных матерями с ПЧКД, уровень метилирования ДНК промотора гена ГР ниже, а экспрессия гена ГР выше, чем у крыс, воспитанных матерями с СЧКД. Введение метионина в гиппокамп взрослым

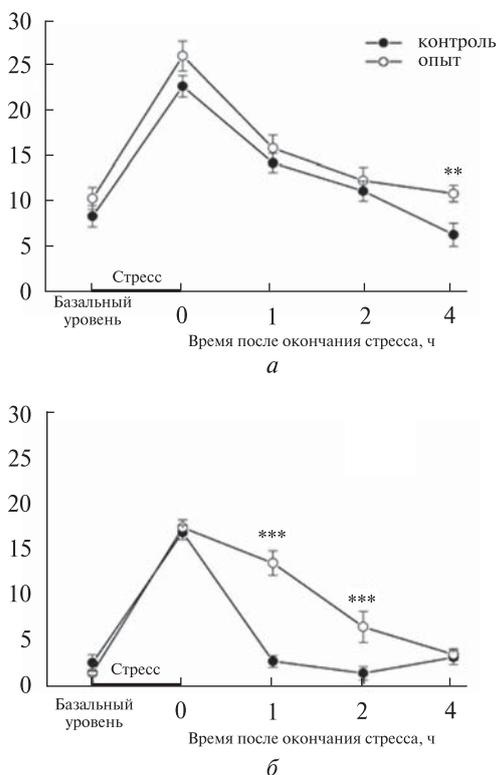


Рис. 2. Уровень кортикостерона (по вертикали, мкг %) в крови у потомков самок, содержащихся на метилобогатенной диете, после 30-минутного рестрикционного стресса (12 животных в каждой группе): *а* – агрессивные крысы; *б* – ручные крысы. ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ по сравнению с контролем

животным, воспитанным матерями с ПЧКД, изменяет профиль метилирования промотора гена ГР и количество ГР в гиппокампе, а также динамику ответа на стресс до уровня крыс, воспитанных матерями с СЧКД.

Сходство широкой модификационной изменчивости поведения и ГГНС при хэндлинге крыс с различиями, возникающими при отборе на ручное и агрессивное поведение, позволяет предположить, что микроэволюционные изменения в нашем эксперименте шли согласно теории стабилизирующего отбора Шмальгаузена.

При экстремальном давлении отбора модификационная изменчивость могла канализировать течение эволюционного процесса [1, 19]. Последние годы большое внимание исследователей, в этом ключе, привлекают быстро возникающие эпимутации, подобные опи-

санным выше, часть которых могут быть вполне стабильными [15, 16].

Из литературы известно, что содержание беременных мышей на метилобогатенной диете также влияет на фенотип потомков и профиль метилирования некоторых генов, что в дальнейшем может передаваться по наследству на протяжении, по крайней мере, нескольких поколений [20]. Для того чтобы установить, повлияет ли подобная диета на фенотип ручных и агрессивных крыс, нами также был поставлен эксперимент с кормлением крыс метилобогатенными добавками во время беременности.

Метилобогатенная диета матерей существенно не изменила временную динамику содержания кортикостерона в крови в ответ на стресс у потомков агрессивных крыс (рис. 2, *а*). У потомков же ручных матерей с метилобогатенной диетой во время беременности снижение уровня кортикостерона в крови после окончания стресса происходило значительно медленнее, чем у контрольных ручных самцов (рис. 2, *б*), что, вероятно, свидетельствует об изменении отрицательной обратной связи ГГНС у опытных ручных потомков.

Исследования уровня мРНК ГР, проведенные методом полуколичественной ОТ-ПЦР, в свою очередь показали снижение количества мРНК ГР у ручных крыс, пренатально содержащихся на метилобогатенной диете, по сравнению с контролем почти до уровня агрессивных животных. В то же время кормление агрессивных крыс аналогичными добавками не привело к достоверным изменениям в уровне мРНК ГР (рис. 3). Это хорошо согласуется с данными о временной динамике уровня кортикостерона в ответ на стресс (рис. 2) и является дополнительным подтверждением предположения о влиянии материнской метилобогатенной диеты на отрицательную обратную связь у ручных крыс. Кроме того, полученные данные позволяют предположить, что изменение профиля метилирования ДНК промотора гена ГР, по-видимому, вносит определенный вклад в различия по количеству мРНК ГР в гиппокампе ручных и агрессивных крыс. Исходя из данных литературы [18], можно предположить, что степень метилирования ДНК промотора гена ГР у агрессивных крыс выше, чем у ручных, поэтому метилобогатен-

ная диета не оказывает заметного влияния на количество мРНК ГР в гиппокампе агрессивных крыс, однако вносит изменения в профиль метилирования ДНК ручных животных.

Известно, что мРНК ГР транскрибируется в виде нескольких вариантов, отличных по 5'-нетранслируемой области, однако идентичных по белок-кодирующим экзонам. Механизм альтернативной транскрипции гена ГР связан с возможностью инициации транскрипции с нескольких различных промоторов и последующим альтернативным сплайсингом [21]. По мнению Вивера с соавт. [18], различия между крысами, связанные с материнским поведением, обусловлены изменением транскрипции под контролем промотора нетранслируемого альтернативного экзона 1₇. Содержащая этот экзон мРНК является специфичной для гиппокампа. Именно для промотора экзона 1₇ были показаны упомянутые выше изменения профиля метилирования ДНК, вызывающие различия в уровне транскрипции мРНК ГР. У крыс, воспитанных матерями с СЧКД, частота метилирования сайта связывания фактора транскрипции NGFI-A, находящегося в промоторной области, достигает 100%. Это затрудняет его посадку, вследствие чего уровень транскрипции мРНК ГР с экзонам 1₇ у таких животных снижен.

Чтобы проверить, вносит ли транскрипция под контролем промотора экзона 1₇ вклад в наблюдаемые нами изменения в уровне мРНК ГР при содержании животных на метилобогатой материнской диете, с помощью более чувствительного метода (ОТ-ПЦР в реальном времени) были исследованы те же образцы, что и для определения общего количества мРНК ГР. Однако мы не получили достоверных различий между группами. Уровень мРНК ГР с экзонам 1₇ не различался у ручных и агрессивных крыс ($0,54 \pm 0,03$ и $0,44 \pm 0,20$ соответственно; $n = 3$ животных в каждой группе) и не изменялся под влиянием метилобогатой диеты ни у ручных, ни у агрессивных крыс ($0,63 \pm 0,25$ и $0,44 \pm 0,19$ соответственно; $n = 3$ животных в каждой группе). При этом уровень метилирования ДНК промотор экзона 1₇ гена ГР в тканях гиппокампа также не изменялся и оставался крайне низким.

По-видимому механизм изменений, наблю-

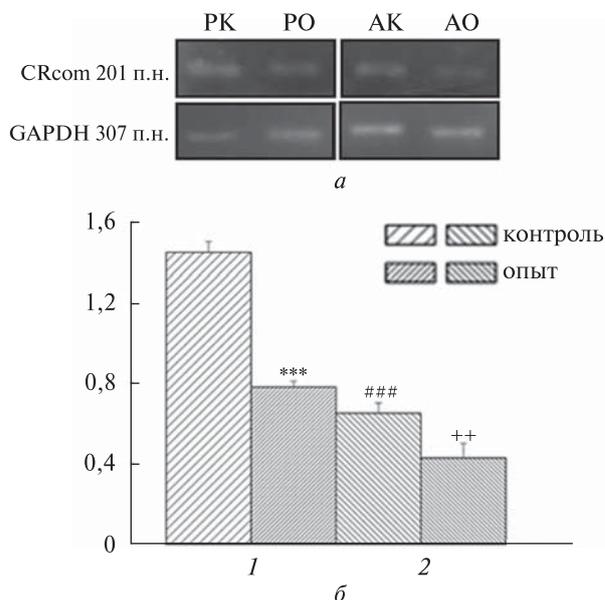


Рис. 3. Влияние материнской метилобогатой диеты на количество мРНК ГР в гиппокампе серых крыс (8 животных в каждой группе): *a* – электрофореграмма амплифицированного с помощью ОТ-ПЦР участка мРНК ГР (201 п.н.), выделенной из тканей гиппокампа; *б* – относительная оптическая плотность амплифицированного участка мРНК ГР, выделенной из тканей гиппокампа; 1 – ручные крысы; 2 – агрессивные крысы; *** $P < 0,001$ ручные опытные по сравнению со своим контролем; ### $P < 0,001$ агрессивные контрольные по сравнению с ручными контрольными; ++ $P < 0,01$ ручные опытные по сравнению с агрессивными опытными

даемых как при отборе по поведению, так и при содержании матерей на метилобогатой диете, отличается от механизма, описанного при различном материнском поведении. По всей вероятности в нашем эксперименте транскрипция гена ГР под контролем промотора экзона 1₇ не вносит заметного вклада в изменения количества мРНК ГР.

Группой немецких ученых были проведены исследования, *post mortem*, пациентов с заболеваниями, вызывающими изменения в ГГНС. Экзон 1-F гена ГР человека гомологичен экзону 1₇ крысы, а последовательность ДНК промотора этого экзона является высококонсервативной у крысы, мыши, человека и некоторых других млекопитающих. Однако полученные данные не показали каких-либо различий в профиле метилирования промотора

экзона 1-F между больными и контрольной группой исследуемых. Уровень же метилирования консенсусной последовательности фактора транскрипции NGFI-A оказался ничтожно мал [22]. Известно, что мРНК GR, содержащая экзон 17, составляет лишь 8 % общего количества мРНК этого рецептора [21], и, по-видимому, механизм изменения количества GR может быть связан с транскрипцией мРНК GR под контролем более сильных промоторов.

В недавних работах Лилликроп и др. [23] показано, что транскрипция с промотора экзона 1₁₀ в тканях печени крыс при белково-дефицитной материнской диете повышается, вероятно, также вследствие изменения профиля метилирования этого промотора. Вместе с тем следует отметить, что в рассматриваемом альтернативном промоторе тоже есть консенсусная последовательность транскрипционного фактора NGFI-A, а количество мРНК GR с экзонам 1₁₀ составляет более 60 % общего уровня мРНК этого рецептора как в печени, так и в гиппокампе. Вместе с тем показано, что изменения количества мРНК GR в гиппокампе под воздействием хэндлинга, по всей видимости, не связаны с экзонам 1₁₀, несмотря на установленную зависимость с количеством транскриптов, содержащих этот экзон, в печени [21].

Экспрессия гена GR имеет сложную регуляцию [21, 24], поэтому не исключено также, что метилобогатенная диета влияет не на сам ген GR, а на один из его факторов транскрипции или другое звено генной сети. Кроме того, насколько нам известно, до сих пор не проводились исследования механизма изменений экспрессии гена GR в гиппокампе, возникающих вследствие пренатального стрессирования [25]. Возможно, они также не связаны с изменениями транскрипции под контролем промотора экзона 17. Между тем весьма вероятно, что в нашем эксперименте различия в экспрессии гена GR устанавливаются именно в пренатальный, а не в ранний постнатальный период. На это указывает и сам характер диеты, из которой после рождения крысят исключался метионин, а также значительно сокращалось содержание других активных компонентов. Возможно, изменения экспрессии гена GR происходят в один из особенно чувствитель-

ных периодов эмбрионального развития. Одним из таких периодов является установление пола эмбриона во время заселения зачатков гонад первичными половыми клетками (8–14-й день беременности). В это время происходит реметилирование многих генов, на что могут влиять различные факторы [26]. Более того, предполагается, что именно пренатальные изменения играют важнейшую роль в эволюции организмов [27].

Выводы. Таким образом, нами показано, что различия в количестве GR в гиппокампе сопровождаются соответствующей разницей в уровне их мРНК. Однако количество мРНК GR, содержащей экзон 17, не отличается у ручных и агрессивных крыс и не изменяется вследствие кормления матерей метилобогатенными добавками. Тем не менее установлено, что метилобогатенная материнская диета вызывает достоверное снижение общего количества мРНК GR в гиппокампе ручных крыс по сравнению с контролем.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 08–04–01412) и Программы президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

Yu. E. Herbeck, I. N. Oskina, R. G. Gulevich, I. Z. Plyushina

EFFECTS OF MATERNAL METHYL-SUPPLEMENTED DIET ON HIPPOCAMPAL GLUCOCORTICOID RECEPTOR mRNA EXPRESSION IN RATS SELECTED FOR BEHAVIOR

Here we report that selection for behavior and maternal methyl-supplemented diet alters rat hippocampus glucocorticoid receptor (GR) mRNA expression. Tame selection is associated with increased GR mRNA expression as compared with aggressive rats, whereas maternal methyl-supplemented diet inhibits tame rat GR gene activity. The gene promoter methylation is a way to alter GR expression.

Ю.Е. Гербек, И.Н. Оськина, Р.Г. Гулевич, И.З. Плюснина

ВПЛИВ МАТЕРИНСЬКОЇ МЕТИЛЗБАГАЧЕНОЇ ДІЄТИ НА ЕКСПРЕСІЮ ГЕНА РЕЦЕПТОРА ГЛЮКОКОРТИКОЇДІВ В ГІППОКАМПІ У ЩУРІВ, ЩО СЕЛЕКТУЮТЬСЯ ЗА ПОВЕДІНКОЮ

Досліджено експресію гена рецептора глюкокортикоїдів (GR) у сірих щурів, що селектуються на

агресивну та доместикаційну поведінку по відношенню до людини, а також у нащадків самоць різної поведінки, яких утримували під час вагітності на метилзбагаченій дієті. Показано значно більшу кількість мРНК ГР в гіпокампі у доместикаційних щурів, ніж у агресивних. Одним з основних механізмів регуляції експресії гена рецептора глюкокортикоїдів є метилювання ДНК промотора його гена. Встановлено достовірне зниження рівня мРНК ГР у ручних щурів під впливом метилзбагаченої дієти.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шмальгаузен И.И. Факторы эволюции. — М.: Наука, 1968. — 452 с.
2. Беляев Д.К., Бородин П.М. Влияние стресса на наследственную изменчивость и его роль в эволюции // Эволюционная генетика. — Л.: Изд-во ЛГУ, 1982. — С. 35–59.
3. Naumenko E.V., Popova N. K., Nikulina E.M., Dygalo N.N., Shishkina G.T., Borodin, P.M., Markel A.L. Behavior, adrenocortical activity, and brain monoamines in norway rats selected for reduced aggressiveness toward man // Pharmacol. Biochem. Behav. — 1989. — 33. — P. 85–91.
4. Оськина И.Н., Плюснина И.З. Гипофизарно-надпочечниковая система при отборе животных на доместикационное поведение // Современные концепции эволюционной генетики: Сб. науч. тр. Ин-та цитологии и генетики СО РАН. — Новосибирск, 2000. — С. 327–333.
5. De Kloet E.R. Brain corticosteroid receptor balance and homeostatic control // Front Neuroendocrinol. — 1991. — 12, № 2. — P. 95–164.
6. Korte S.M. Corticosteroids in relation to fear, anxiety and psychopathology // Neurosci. and Biobehavior. Rew. — 2001. — 25, № 2. — P. 117–142.
7. Оськина И.Н., Гербек Ю.Э., Шихевич Ю.Э., Плюснина И.З., Гулевич Р.Г. Изменение гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и иммунной систем при отборе животных на доместикационное поведение // Информ. вестник ВОГиС. — 2008. — 12, № 1/2. — С. 39–49.
8. Weaver I.C., DrAlessio A.C., Brown S.E., Hellstrom I.C., Dymov S., Sharma S., Szyf M., Meaney M.J. The transcription factor nerve growth factor-inducible protein a mediates epigenetic programming: altering epigenetic marks by immediate-early genes // J. Neurosci. — 2007. — 27. — P. 1756–1768.
9. Plyusnina I., Oskina I. Behavioral and adrenocortical responses to open-field test in rats selected for reduced aggressiveness toward humans // Physiol. Behav. — 1997. — 61, № 3. — P. 381–385.
10. Прасолова Л.А., Трут Л.Н., Оськина И.Н., Гулевич Р.Г., Плюснина И.З., Всеволодов Э.Б., Латыпов И.Ф. Влияние метилсодержащей диеты в период беременности крыс (*Rattus norvegicus*) на фенотипическую модификацию агути окраса у их потомков // Генетика. — 2006. — 42, № 1. — С. 78–83.
11. Тинников А.А., Бажан Л.А. Определение глюкокортикоидов в плазме крови и инкубатах надпочечников методом конкурентного связывания гормонов белками без предварительной экстракции // Лаб. дело. — 1984. — 12. — С. 709–713.
12. Pfaffl M. Development and validation of an externally standardised quantitative insulin-like growth factor-1 RT-PCR using LightCycler SYBR Green I Technology // Rapid cycle Real-Time PCR / Eds S. Meuer, C. Wittwer and K. Nakagawara. — Berlin : Springer, 2001. — P. 281–291.
13. Lekanne Deprez R.H., Fijnvandraat A.C., Ruijter J.M., Moorman A.F.M. Sensitivity and accuracy of quantitative real-time polymerase chain reaction using SYBR green I depends on cDNA synthesis conditions // Anal. Biochem. — 2002. — 307. — P. 63–69.
14. Albert F.W., Carlborg O., Kozhemyakina R., Hedwig D., Besnier F., Neumann C., Henning R., McIntosh J., Lautenschlager S., Gulevitch R., Lorenz D., Zeisig C., Shepina O., Peter S., Trut L., Schöneberg T., Andersson L., Plyusnina I., Paabo S. Mapping tameness genes in a rat model for animal domestication // XX International congress of genetics : Abstract book. — Berlin, 2008. — P. 353.
15. Jablonka E., Lamb M. Evolution in Four Dimensions: Genetic, epigenetic, behavioral, and symbolic variation in the history of life. — Cambridge, MA: MIT Press, 2005. — 462 p.
16. Youngson N.A., Whitelaw E. Transgenerational epigenetic effects // Annu. Rev. Genom. Hum. Genet. — 2008. — 9. — P. 233–257.
17. Meaney J.M., Szyf M. Maternal care as a model for experience-dependent chromatin plasticity? // Trends Neurosci. — 2005. — 28, № 9. — P. 456–463.
18. Weaver I.C., Champagne F.A., Brown S.E., Dymov S., Sharma S., Meaney M.J., Szyf M. Reversal of maternal programming of stress responses in adult offspring through methyl supplementation: altering epigenetic marking later in life // J. Neurosci. — 2005. — 25, № 47. — P. 11045–11054.
19. Науменко Е.В., Попова Н.К., Иванова А.А. Нейроэндокринные и нейрохимические механизмы доместикации животных // Генетика. — 1987. — 23, № 6. — С. 1011–1025.
20. Cooney C.A., Dave A.A., Wolff G.L. Maternal methyl supplements in mice affect epigenetic variation and DNA methylation of offspring // J. Nutr. — 2002. — 132, № 8 Suppl. — P. 2393S–2400S.
21. McCormick J.A., Lyons V., Jacobson M.D., Noble J., Diorio J., Nyirenda M., Weaver S., Ester W., Yau J.L., Meaney M.J., Seckl J.R., Chapman K.E. 5'-heterogene-

- ity of glucocorticoid receptor messenger RNA is tissue specific: differential regulation of variant transcripts by early-life events // *Mol. Endocrinol.* – 2000. – **14**, № 4. – С. 506–517.
22. Moser D., Molitor A., Kumsta R., Tatschner T., Riederer P., Meyer J. The glucocorticoid receptor gene exon 1-F promoter is not methylated at the NGFI-A binding site in human hippocampus // *World J. Biol. Psych.* – 2007. – **8**, № 4. – P. 262–268.
23. Lillycrop K.A., Slater-Jefferies J.L., Hanson M.A., Godfrey K.M., Jackson A.A., Burdge G.C. Induction of altered epigenetic regulation of the hepatic glucocorticoid receptor in the offspring of rats fed a protein-restricted diet during pregnancy suggests that reduced DNA methyltransferase-1 expression is involved in impaired DNA methylation and changes in histone modifications // *Brit. J. Nutr.* – 2007. – **97**, № 6. – P. 1064–1073.
24. Heitzer M.D., Wolf I.M., Sanchez E.R., Witchel S.F., DeFranco D.B. Glucocorticoid receptor physiology // *Rev. Endocr. Metab. Disord.* – 2007. – **8**, № 4. – P. 321–330.
25. Seckl J.R. Glucocorticoid programming of the fetus; adult phenotypes and molecular mechanisms // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2001. – **185**, № 1/2. – P. 61–71.
26. Skinner M.K., Anway M.D., Savenkova M.I., Gore A.C., Crews D. Transgenerational epigenetic programming of the brain transcriptome and anxiety behavior // *PLoS ONE.* – 2008. – **3**, № 11. – e3745.
27. Рэфф Р., Кофмен Е. Эмбрионы, гены, эволюция. – М.: Мир, 1986. – 404 с.

Поступила 30.12.08