

РОЛЬ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК В МОДЕЛЯХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЦНС НА ПРИМЕРЕ РЫБ ЗЕБРАДАНИО

© 2024 г. Л. В. Юшко^{1, 2, 3}, А. Д. Шевляков^{1, 4}, М. А. Ромазева⁴, К. В. Апухтин⁴,
А. Д. Волгин⁴, Д. А. Абрамов⁴, М. М. Котова⁴, А. В. Калуев^{1, 2, 3, 4, 5, *}

¹ Научный центр мирового уровня «Центр персонализированной медицины»,
Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова МЗ РФ, Санкт-
Петербург, Россия

² Институт экспериментальной медицины, Национальный медицинский исследовательский
центр им. В. А. Алмазова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

³ Институт трансляционной биомедицины, Санкт-Петербургский государственный
университет, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Направление «Нейробиология», Научный центр генетики и наук о жизни, Научно-
технологический университет «Сирiuс», Федеральная территория Сирiuс, Россия

⁵ НИИ нейронаук и медицины, Новосибирск, Россия

* E-mail: avkalueff@gmail.com

Поступила в редакцию 21.01.2024 г.

После доработки 07.04.2024 г.

Принята к публикации 12.04.2024 г.

Метилирование ДНК играет важную роль в регуляции экспрессии генов. Нарушения этого процесса в мозге вызывают различные заболевания, включая аутизм, шизофрению и депрессию. Являясь перспективным модельным организмом в биомедицине, рыбы зебраданио (*Danio rerio*, zebrafish) обладают генетической и отчасти физиологической гомологией с человеком, и поэтому изучение нарушений метилирования ДНК в их геноме может прояснить патогенез ряда неврологических заболеваний человека и, возможно, разработать новые подходы к их терапии. В статье обсуждаются механизмы метилирования ДНК в мозге, заболевания, связанные с его нарушениями, а также генетические и фармакологические модели на примере зебраданио. В работе рассмотрены ограничения применения этого вида рыб и новые направления дальнейших исследований в данной области. Приведенные сведения указывают на ценность зебраданио как эффективной модели для изучения молекулярных процессов, лежащих в основе патогенеза заболеваний мозга, связанных с нарушениями метилирования ДНК.

Ключевые слова: эпигенетическая регуляция, метилирование ДНК, мозг, зебраданио

DOI: 10.31857/S0869813924050022, EDN: BLRINU

ВВЕДЕНИЕ

Эпигенетическая регуляция, в том числе метилирование ДНК, является важнейшим процессом для нормальной жизнедеятельности организма [1]. Метилирование ДНК непосредственно влияет на экспрессию генов, функцию регуляторных элементов и стабильность хроматина и играет важную роль в дифференцировке клеток и специ-

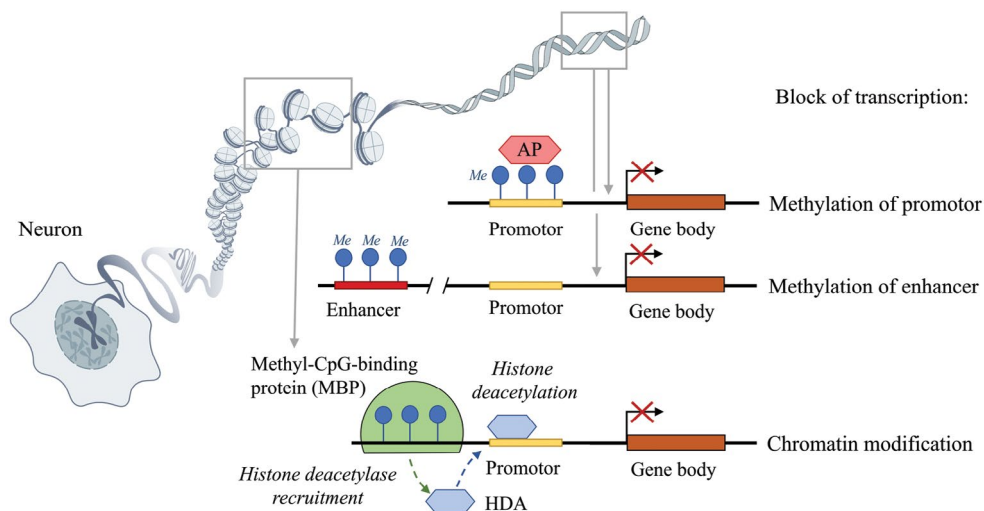


Рис. 1. Основные механизмы контроля транскрипции генов путем метилирования ДНК.

На двух верхних примерах показано ингибирование транскрипции за счет препятствия взаимодействию факторов транскрипции с промотерной и энхансерной областями гена соответственно. При метилировании промотера происходит привлечение активирующего белка (AP), который не позволяет факторам транскрипции связываться с последовательностью промотера. Пример снизу отражает взаимодействие метил-CpG-связывающего белка (MBP) с областью, обогащенной метилированными CpG сайтами. После связывания MBP с последовательностью ДНК происходит привлечение деацетилаз гистонов (HDA), которые осуществляют деацетилирование гистонов, приводя к конденсации хроматина на данном участке и закрытию промотеров для связывания транскрипционных факторов, что, в свою очередь, выключает экспрессию гена.

ализации тканей в эмбриогенезе, в том числе в центральной нервной системе (ЦНС), (рис. 1). Метилирование ДНК эукариот осуществляется путем присоединения метильной группы к цитозину (C) в 5-й позиции в тех участках ДНК, где за ним следует гуанин (G) – так называемых CpG-сайтах, которые с высокой частотой встречаются в геномных областях (CpG-островках), локализованных в районе промотеров генов [1]. Нарушения метилирования ДНК – как его гипер-, так и гипометилирование, связаны с различными заболеваниями ЦНС, включая аутизм, шизофрению, биполярное расстройство и депрессию [1] (табл. 1). Однако молекулярные механизмы метилирования ДНК и его роль в их патогенезе по-прежнему остаются малоизученными. Экспериментальные животные модели являются важным инструментом для изучения патологических процессов на разных системных уровнях, в частности, с использованием высокотрансляционных модельных организмов, прежде всего грызунов и приматов.

Наряду с лабораторными млекопитающими в последние годы большую популярность в качестве эффективной трансляционной модельной системы приобрела пресноводная костистая рыба зебраданио (*Danio rerio*, zebrafish) [2]. Широкое применение зебраданио в нейробиологических исследованиях продиктовано рядом их биологических особенностей, включая достаточно сходную с человеком физиологию ЦНС [2], быстрое развитие, высокую плодовитость, развитие вне материнского организма, прозрачность эмбриона, сходные с млекопитающими ответы на лекарственные препараты

и легкость их введения рыбам путем иммерсии [3, 4]. Зебраданию легко подвергаются генетическим манипуляциям, и на их основе созданы мутации, вызывающие дефекты различных систем органов, сходные с патологиями человека [5]. К настоящему моменту геном зебраданию полностью картирован и секвенирован [6], обнаруживая довольно высокую генетическую гомологию с человеком (порядка 70%) [7]. Более 80% генов человека, связанных с заболеваниями, имеют по крайней мере один ортолог у рыб зебраданию, 69% из которых составляют линейно гомологичные гены [8], а среди ортологичных генов 47% имеют однозначную связь с ортологом зебраданию [5]. Наличие ортологов, связанных с заболеваниями человека, обеспечивает возможность исследования ключевых путей экспрессии этих генов и их нижестоящих мишеней [9]. Совокупность этих и других полезных характеристик позволяет использовать зебраданию как эффективную модель для изучения роли метилирования ДНК в функционировании ЦНС.

Таблица 1. Примеры заболеваний мозга человека, ассоциированных с нарушениями метилирования ДНК

Болезнь	Нарушение МГ	Основные клинические симптомы
Аутизм	Гиперметилирование генов метил-СрG-связывающего белка 3 (<i>MECP2</i>) и убиквитин-протеин-лигазы E3A (<i>UBE3A</i>)	Социальный дефицит, стереотипии, когнитивные дисфункции
Шизофрения	Гипометилирование промотора гена глутамат-декарбоксилазы (<i>GAD1</i>), гиперметилирование промоторов генов катехол-О-метилтрансферазы (<i>COMT</i>) и нейротрофического фактора мозга (<i>BDNF</i>), гиперметилирование гена Sry-Box транскрипционного фактора 10 (<i>SOX10</i>)	Гипо- и гиперактивность, притупление эмоций, замкнутость, агрессивность
Депрессия	Гипометилирование гена синапсина II (<i>SYN2</i>), гиперметилирование промотора BDNF	Апатия, подавленность настроения, ангедония, пессимизм, усталость, нарушение сна
Биполярное расстройство	Гиперметилирование генов рецептора аутокринного фактора подвижности (<i>AMFR</i>), рецептора BDNF TrkB (<i>NTRK2</i>) и субъединицы 1 глутаматного ионотропного рецептора NMDA (<i>GRIN1</i>), гипометилирование генов члена семейства кинезинов 18A (<i>KIF18A</i>), StAR-связанного белка-переносчика липидов 9 (<i>STARD9</i>), легкой цепи кинезина 3 (<i>KLC3</i>) и тяжелой цепи 17 аксонемного динеина (<i>DNAH17</i>)	Циклические изменения настроения, гипо- и гиперактивность, возбужденность

Проведение генетических исследований на рыбах несколько осложняется тем, что предки современных зебрэдацио подверглись дополнительному циклу дупликации всего генома, характерного для костных рыб [5]. В результате этого зебрэдацио обладают 26206 кодирующими генами, что больше, чем у любого другого ранее секвенированного позвоночного. В геноме зебрэдацио больше видоспецифичных генов, чем у человека и мыши, что также является следствием дупликации [10], а дублированные гены кодируют потенциально более разнообразные и специфические для зебрэдацио белки [11]. С другой стороны, проведение генетических модификаций у данных рыб является гораздо более простым и доступным по сравнению с грызунами [12].

На данном этапе развития генетики уже существуют ключевые инструменты для редактирования генома зебрэдацио, среди которых особый интерес представляют нуклеазы цинкового пальца (ZFNs), TAL-эфektorные нуклеазы (TALENs) и кластеризованные регуляторные короткие палиндромные повторы (CRISP/Cas9), позволяющие индуцировать таргетные мутации генома [13]. В настоящее время применение таких технологий позволило создать генетические модели зебрэдацио с мутациями, характерными для различных заболеваний ЦНС. К их числу относятся модели болезни Паркинсона, созданные путем нокаута гена *PINK1*, периферической невропатии и доминантной атрофии зрительного нерва, эти модели создавались путем нокаута генов *MFN2* и *KIF5A*, синдрома Ли с мутацией в гене *COA6*, синдрома Драве с мутацией *SCN1A*, синдрома Костеффа с мутацией в гене *OPA3*, а также врожденного миостенического синдрома или тяжелой комбинированной D-2- и L-2-гидроксиглутаровой ацидурии с мутацией в гене *SLC25A1* [14]. Таким образом, на основе рыб зебрэдацио созданы генетические модели, которые успешно используются для исследования молекулярных механизмов патогенеза различных заболеваний мозга человека, разработки новых терапевтических подходов и проведения доклинических испытаний.

МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК КАК МЕХАНИЗМ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ ГЕНОМА

Роль эпигенетических механизмов в многоклеточных организмах сводится к модуляции профилей экспрессии генов в клетках и тканях [15]. К основным эпигенетическим процессам относятся метилирование и деметилирование ДНК, ацетилирование и деацетилирование гистонов, а также фосфорилирование и дефосфорилирование транскрипционных факторов [16]. В отличие от ацетилирования (облегчающего процесс транскрипции), метилирование ДНК может как индуцировать, так и ингибировать транскрипцию генов в зависимости от количества присоединяемых метильных групп (рис. 1, 2). Так, присоединение одной группы приводит к ослаблению притяжения между генетической последовательностью ДНК и гистонами и увеличению транскрипции, тогда как присоединение 2–3 метильных групп влечет за собой блокировку участка ДНК и репрессию генов [17].

Специфические ферменты, которые катализируют, распознают и удаляют метилирование ДНК, подразделяются на несколько групп (табл. 2). Записывающие ферменты катализируют добавление метильных групп к остаткам цитозина, стирающие – модифицируют или удаляют метильную группу, а считывающие – распознают метильные группы и связываются с ними, оказывая влияние на экспрессию генов [18]. Метилирование ДНК эукариот катализируется семейством ДНК-метилтрансфераз (Dnmts), которые представляют собой записывающие ферменты. Три таких фермента (Dnmt1, Dnmt3a и Dnmt3b) активны в процессе эмбриогенеза [17]. Dnmt3a и Dnmt3b, известные как *de novo* Dnmt, могут устанавливать новый паттерн метилирования немодифицированной ДНК. В экспериментах *in vivo* показана решающая роль Dnmt3b на ранних стадиях развития, а Dnmt3a – для нормальной клеточной дифференциации [17] (рис. 1 и 2).

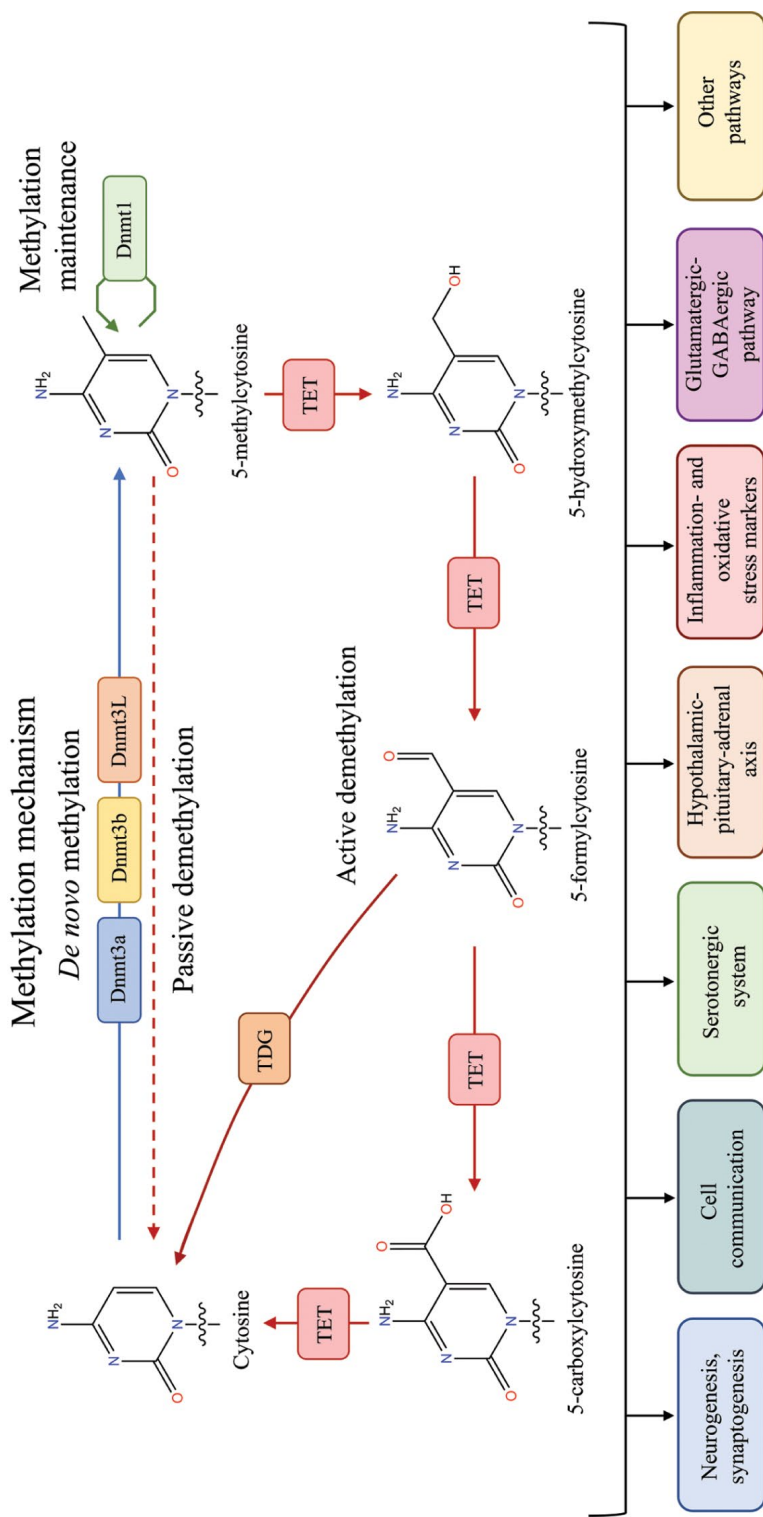


Рис. 2. Роль метилирования и деметилирования ДНК в процессах регуляции функций нервной ткани. Нативный цитозин подвергается метилированию за счет действия трех основных метилтрансфераз: Dnmt3a, Dnmt3b, Dnmt3L. При этом непрерывный процесс метилирования поддерживается Dnmt1. Пассивный процесс деметилирования осуществляется путем воздействия внешних факторов. Процесс активного деметилирования производят ТЕТ-метилцитозин-диоксигеназы (ТЕТ) и тимин-ДНК-глицозилаза (ТДГ), (см. также табл. 2).

Таблица 2. Ферменты метилирования и деметилирования ДНК у грызунов и зебраданио (см. также рис. 1, 2)

Фермент	Основная биологическая роль
DNMTs (ДНК-метилтрансферазы)	Катализ передачи метильной группы на цитозиновые основания ДНК, образуя 5-метилцитозин. У грызунов и зебраданио имеются несколько видов ДНК-метилтрансфераз, включая DNMT1, DNMT3A и DNMT3B
TET (Тет-метилцитозин-диоксигеназы)	Деметилирование ДНК путем окисления 5-метилцитозина, преобразуя его последовательно в гидроксиметилцитозин, формильцитозин и карбоксилцитозин
Другие ферменты – деметилазы	Активное (независимое от репликации) деметилирование ДНК при действии тимин-ДНК-гликозилазы (TDG), которая запускает репарацию и по ее результатам деметилирование ДНК
Methyl-binding proteins, MBP (methyl-CpG-binding domain proteins, MBD, метил-связывающие белки)	Связывание с метилированными CpG-островами на ДНК и подавление транскрипции генов (белки MBD1, MBD2 и MBD4)
Gadd45 (growth arrest and DNA damage-inducible 45, индуцируемый ДНК-повреждением белок задержки роста 45)	Белки, активируемые стресс-сигналами и участвующие в деметилировании ДНК. Могут взаимодействовать с TET-ферментами и способствовать деметилированию 5-метилцитозина

Dnmt1 является одним из наиболее изученных ферментов данного семейства. Он копирует паттерн метилирования ДНК из родительской нити ДНК на вновь синтезируемую дочернюю нить, таким образом участвуя в репликации ДНК, а при эмбриональном развитии контролирует дифференцировку и деление клеток [19]. Dnmt3L экспрессируется на ранних этапах развития и не выполняет каталитическую функцию самостоятельно, а связывается с Dnmt3a и Dnmt3b, стимулируя их метилтрансферазную активность и изменяя глобальную экспрессию РНК генов, участвующих в дифференцировке нейронов [20, 21]. Синтез Dnmt3L подавляется во время последней и в постнатальном мозге человека не наблюдается [22]. Экспрессия Dnmt снижается к моменту терминальной дифференцировки большинства клеток в эмбриогенезе, однако нейроны в мозге взрослых млекопитающих продолжают экспрессировать Dnmts, указывая на важность метилирования ДНК для работы мозга в течение всего онтогенеза [23].

К классу считывающих ферментов относятся MBD (табл. 1), убиквитин-подобные белки UHRF (см. далее) и белки, содержащие мотив цинковых пальцев Cys²His² (C₂H₂). Все они обладают высоким сродством к 5-метилцитозину и ингибируют связывание факторов транскрипции [24]. Белки семейства MBD содержат консервативный метил-СрG-связывающий домен, который обеспечивает высокое сродство с единичными метилированными СрG-сайтами. Белки этого семейства экспрессируются в головном мозге млекопитающих больше, чем в любой другой ткани, и важны для нормального развития и функционирования нейронов. В данное семейство входят MeCP2, MBD1, MBD2, MBD3, MBD4. Кроме основной роли в репрессии транскрипции, они также участвуют в поддержании метилирования ДНК [24]. Убиквитин-подобные белки представлены UHRF1 и UHRF2 – мультидоменными белками, которые связываются с полуметилированной ДНК во время S-фазы и рекрутируют ДНК-метилтрансферазу DNMT1 для регуляции структуры хроматина и экспрессии генов [25]. В процессе эмбрионального развития структура метилирования ДНК в геноме динамически изменяется в результате как ее метилирования *de novo*, так и деметилирования.

Дифференцированные клетки вырабатывают стабильный и уникальный паттерн метилирования ДНК, который регулирует тканеспецифичную транскрипцию генов. При этом активность нейронов может модулировать паттерн метилирования ДНК в ответ на физиологические стимулы и воздействие окружающей среды и передаваться по наследству [26]. Так, описаны различия в паттернах метилирования ДНК у народов, исконно ведущих кочевой образ жизни, для которых характерно гипометилирование промоторных частей гена *PM20D1*, кодирующего белок деления митохондрий и участвующего в клеточной защите от активных форм кислорода и терморегуляции [27].

Накапливаются данные и о важной роли метилирования ДНК в реализации функций мозга. Например, у пациентов с болезнью Паркинсона отмечается изменение метилирования ДНК нейронов черной субстанции в ходе развития депрессивных симптомов [28]. С другой стороны, показана корреляция улучшения ряда когнитивных навыков человека при медитации и метилировании ДНК. В частности, отмечено изменение метилирования генов *SLC1A2* (переносчика возбуждающих аминокислот EAAT2, основного транспортера глутамата), *FBXO38* (регулятора убиквитинирования и противоопухолевой активности), *HMP19* (супрессора рака поджелудочной железы), *PPP1R9A* (белка NRВ1, который играет ключевую роль в формировании синапсов) и ряда других генов, кодирующих различные по функциям белки в мозге [29].

МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК В ГЕНОМЕ ЗЕБРАДАНИО ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ БОЛЕЗНЕЙ МОЗГА

Зебраданио являются логичной моделью для изучения метилирования ДНК, поскольку основные эпигенетические механизмы эволюционно консервативны у всех позвоночных [30] (рис. 3). На данный момент существуют данные о влиянии метилирования ДНК на развитие нервной системы зебраданио, миелинизацию олигодендроцитов и дифференцировку нервных клеток при развитии нервной трубки (снижение метилирования ДНК и гиперацетилирование *H3K27* под воздействием морфина) [31]. Также показана зависимость метилирования ДНК и нейропротекции, нейропластичности (снижение выработки нейротрофина BDNF под воздействием морфина), пролиферации нейронных предшественников (в результате дисфункции лизин(К)-метилтрансферазы 2A, KMT2A, поддерживающей экспрессию различных генов), а также опухолеобразования в ЦНС зебраданио (в связи с нарушением экспрессии генов *MUSN* и *ALK*, кодирующих протоонкогенный белок N-мус и рецепторную тирозинкиназу соответственно) [31].

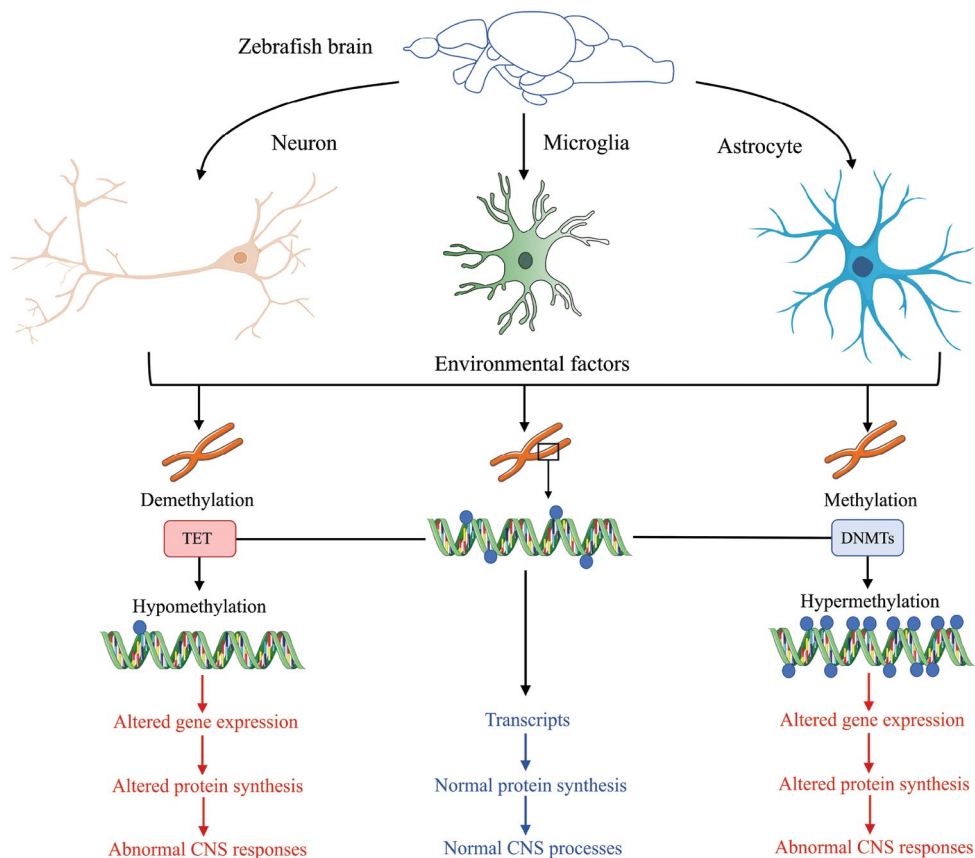


Рис. 3. Воздействие факторов среды на изменение экспрессии генов при метилировании ДНК в основных клеточных типах мозга зебранию.

TET – Tet-метилцитозин-диоксигеназы, ферменты деметилирования генома; DNMTs – ДНК-метилтрансферазы, ферменты метилирования генома (см. также рис. 1 и 2).

С использованием зебранию также изучаются нарушения эпигенетических механизмов у потомства, подвергнувшегося, например, воздействию этанола в эмбриогенезе [32], и моделируется тревожно-подобное поведение у рыб с применением полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) [33]. Также на зебранию был успешно смоделирован фетальный вальпроатный синдром – нарушение развития нервной системы плода под действием ингибитора деацетилаз гистонов вальпроата натрия, симптомы которого напоминают аутизм, а патофизиологические механизмы мало изучены. В частности, был исследован серотонергический дефицит, характерный для данного синдрома и установлена его связь с нарушением пронейрального гена *Ascl1* [34].

Зебранию активно применяются для изучения роли метилирования ДНК в патогенезе сложных полигенных психических расстройств (см. примеры на рис. 4). Поскольку шизофрения у человека связана с однонуклеотидными полиморфизмами в гене $\beta 2$ субъединицы рецептора гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) типа А (*GABRB2*), проявление шизофренических симптомов (социальная изоляция и нарушение когни-

тивной функции) у зебраданио моделируется введением L-метионина (MET). При этом значительно повышается уровень метилирования ДНК в целом и промотора *gabbr2* в частности, что повторяет патологическую картину, наблюдаемую *post mortem* в ткани головного мозга пациентов с шизофренией [35]. Также созданы модели нейродегенеративных заболеваний зебраданио, например, фармакологические модели паркинсонизма с применением L-метил-4-фенилпиридиния (MPP+) [36], которые показали нарушение эпигенетических механизмов и терапевтическую эффективность транс-2-фенилциклопропиламина, ингибитора ферментов деметилирования гистонов [37].

Группа цитидиндезаминаз AID/APOBEC представляет собой семейство белков, которые способны вносить мутации в ДНК и РНК [38]. AID/APOBEC обеспечивают дезаминирование амина до карбонильной группы и превращение 5-метилцитозина в тимин, что является одним из механизмов активного деметилирования. Моделирование механизма действия комплекса AID/APOBEC на зебраданио продемонстрировало, что избыточная экспрессия AID/APOBEC способствует деметилированию ДНК у рыб, тогда как нокдаун или нокаут ингибирует деметилирование ДНК различных генов, необходимых для клеточного перепрограммирования и развития [39, 40].

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ

Следует подчеркнуть, что клетки нервной системы, в отличие от других тканей организма, способны изменять паттерн метилирования в ходе развития, что важно для обеспечения процессов обучения и памяти. Поэтому нарушения механизмов метилирования ДНК приводят к нарушениям когнитивной деятельности мозга. Среди заболеваний ЦНС, ассоциированных с нарушением метилирования ДНК (табл. 1), также отмечают синдром Ретта (вызывается мутацией в метил-связывающем белке MeCP2 [41]) и наследственную сенсорную и автономную нейропатию типа 1, которая во взрослом возрасте развивается в деменцию и потерю слуха (результат аутосомно-доминантной мутации в N-концевом регуляторном домене Dnmt1 [42]). Также с нарушениями метилирования ДНК связаны синдром Мартина – Белл или синдром ломкой X-хромосомы (результат аномального метилирования тринуклеотидного повтора в гене *FMR1* на хромосоме X, который является распространенной формой умственной отсталости [43]), а также синдромы Прадера – Вилли и Ангельмана, которые возникают в результате неправильного метилирования импринтированного аллеля и проявляются в виде значительных психических нарушений [44]. Поскольку неправильная экспрессия или дисфункция даже одного гена влекут за собой значительные нарушения в деятельности мозга, важность понимания механизмов влияния метилирования ДНК на экспрессию генов ЦНС сложно переоценить.

Как уже отмечалось, факторы окружающей среды существенно влияют на эпигенетические механизмы, в том числе метилирования ДНК. Например, модулирующим метилирование ДНК эффектом обладает воздействие наркотических веществ [45, 46], этанола [47], а также ряда лекарственных препаратов [48]. Другим таким средовым фактором является стресс. Например, повышение метилирования промотора глюкокортикоидного рецептора при неонатальном стрессе у мышей, приводящее к снижению его экспрессии, напоминает сходные изменения и у детей, подвергшихся жестокому обращению [49], а также у пациентов с шизофренией, депрессией и биполярным расстройством [50]. В связи с этим изучение фармакогенной и стресс-индуцированной модуляции метилирования ДНК в мозге зебраданио представляется крайне интересной и перспективной темой.

В целом зебраданио являются ценным трансляционным объектом для моделирования генетических нарушений человека и при этом практически не уступают грызунам в потенциале воспроизведения психических расстройств [51, 52]. Хотя эпигенетические процессы у зебраданио пока еще слабо изучены, применение этих модельных

объектов для исследований эпигенома и его влияния на долгосрочную жизнедеятельность организма имеет значительный потенциал. В первую очередь необходимы исследования эпигенетических механизмов развития нормального мозга зебрэданио, а именно процессов формирования эпигенома и его влияния на развитие различных типов нейронов, формирование нейронных сетей и функцию мозга в целом в различные периоды жизни организма. Одним из дальнейших направлений является развитие технологий, чувствительных ко всем формам цитозина – как к 5-метилцитозину, так и к 5-гидроксиметилцитозину [53], и анализ изменений в клеточных процессах, вызванных их накоплением.

Отдельным направлением исследований роли метилирования ДНК в ЦНС зебрэданио является уточнение влияния эпигенетических факторов на формирование организма. Известно, что перинатальный период является критическим для нормального развития мозга [54], поэтому исследования метилирования ДНК и других эпигенетических изменений во время этого периода и их связи с последующим развитием заболеваний мозга особенно важны. Хотя канонические функции метилирования ДНК в значительной степени консервативны, наблюдается широкий спектр уровней и паттернов метилирования ДНК у различных видов. В связи с этим перспективным является сравнительный анализ паттернов метилирования ДНК у позвоночных, в частности у грызунов и зебрэданио, поскольку понимание этих межтаксонных различий может привести к выявлению новых эволюционных аспектов регуляции генов ЦНС.

Важнейшим аспектом изучения регуляции экспрессии генов является размер генома. Зебрэданио и грызуны имеют существенные различия в объеме генетической информации, которые могут влиять на разнообразие генов, их расположение и функциональные характеристики. Большой размер генома может предоставить дополнительные возможности для эволюции и разнообразия, в то время как меньший размер генома может подразумевать более эффективную организацию генетической информации. Организация геномных участков также играет решающую роль в функционировании клеток.

У зебрэданио и грызунов имеются различия в структуре хромосом, расположении генов и других функциональных элементов. Зебрэданио и грызуны также проявляют различия в паттернах метилирования ДНК, что может сказываться на фенотипе и специфических биологических процессах. Так, сравнительный анализ профилей метилирования ДНК клеток мозга мышей и зебрэданио показал, что в среднем в мозге мыши метилированы 24% CpG, в то время как у зебрэданио 70% [55]. Эти данные подтверждают, что метилирование ДНК является видоспецифичным. Кроме того, до недавнего времени многие исследования метилирования ДНК фокусировались на таких областях, как острова CpG (CGI) и сайты начала транскрипции (TSS), и лишь немногие недавние исследования занимались изучением метилирования ДНК в других геномных элементах, таких как интергенные регионы и энхансеры (рис. 4). Тем не менее на зебрэданио показана положительная корреляция между деметилированием ДНК в энхансерах и уровнем экспрессии близлежащих генов [56].

Именно за счет высокого распространения интергенных регионов у зебрэданио также значительно выше общий уровень метилирования ДНК, чем у мышей [55], что соответствует наличию большего количества транспозонов в интергенных регионах генома зебрэданио по сравнению с геномом мыши. Так, учитывая размер генома и долю повторяющихся последовательностей, транспозоны могут составлять до 52% генома зебрэданио и 45% генома мыши [57]. Понимание различий в регуляции генов между зебрэданио и грызунами, в том числе на уровне метилирования ДНК, может пролить свет на молекулярные основы их биологических отличий, включая ЦНС, а дальнейшие исследования в этой области могут открыть новые перспективы для разработки методов лечения и профилактики заболеваний, связанных с нарушением экспрессии генов ЦНС.

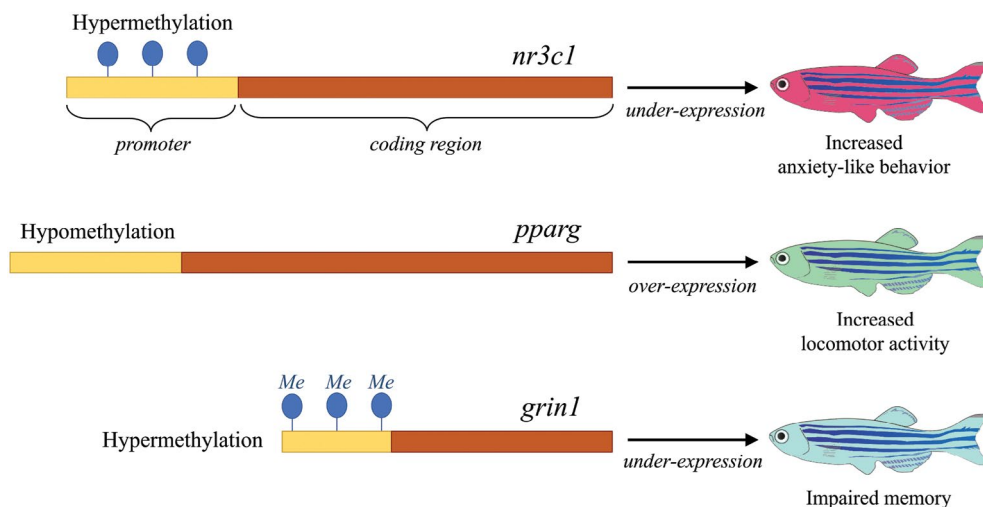


Рис. 4. Влияние метилирования промоторов маркерных генов на развитие фенотипов ЦНС зебранию.

Гиперметилирование промотора гена глюкокортикоидного рецептора *nr3c1* изменяет его экспрессию и, как следствие, нормальное функционирование гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси, усиливая тревожно-подобное поведение рыб [58]. Недостаток метилирования промотора гена гамма-рецептора, активируемого пролифератором пероксисом (*pparg*), ключевого транскрипционного фактора, который контролирует экспрессию многих нижестоящих генов, участвующих в процессах липидного транспорта, биогенеза и липолиза, приводит к увеличению экспрессии *pparg*. В свою очередь, это вызывает быстрое накопление АТФ и аномальное повышение локомоторной активности мальков зебранию [59]. В механизме патогенеза нарушения памяти важную роль играет глутаматный ионотропный рецептор и его субъединица 1 (*grin1*), промотор гена которой под воздействием никотина гиперметируется у рыб (и у крыс), что приводит к подавлению экспрессии контролируемого им гена и ухудшению памяти зебранию [60].

Анализ половых различий ЦНС зебранию [61] является еще одним важным направлением исследований с точки зрения растущего признания роли половых различий как в функционировании нормального мозга человека, так и при его патологии [62], а также данных о половых различиях в метилировании ДНК в мозге человека [63] и зебранию [64]. Еще одним важным направлением исследований метилирования ДНК в ЦНС зебранию является изучение эффектов различных нейротропных препаратов и токсинов на экспрессию генов ДНК-метилтрансфераз и деметилаз в мозге рыб, синтез самих белков данных ферментов, а также оценка их энзиматической активности. Например, ареколин – природный психоактивный алкалоид с частичным агонизмом к никотиновым и мускариновым ацетилхолиновым рецепторам – при хроническом введении вызывает анксиолитическое действие на поведение рыб на фоне повышения экспрессии генов в мозге. Это указывает на вовлечение эпигенетической регуляции посредством метилирования ДНК в долговременные эффекты ареколина [65]. Таким образом, можно выделить как минимум несколько различных механизмов, связанных с метилированием ДНК, благодаря которым тот или иной нейротропный препарат может оказать влияние на ЦНС (табл. 3). С учетом высокой пропускной способности зебранию в качестве скрининговой модели, тестирование данных препаратов на зебранию может привести к выявлению новых классов фармакологических препаратов, подавляющих или, наоборот, усиливающих метилирование ДНК в ЦНС.

Таблица 3. Некоторые возможные механизмы действия нейротропных препаратов на процессы метилирования ДНК в ЦНС

Возможный механизм действия
Прямое ингибирование или активация ДНК-метилтрансфераз
Активация или подавление экспрессии генов ДНК-метилтрансфераз
Активация или подавление синтеза ДНК-метилтрансфераз
Прямое ингибирование или активация деметилаз
Активация или подавление экспрессии генов деметилаз
Активация или подавление синтеза деметилаз
Прямое ингибирование или активация CpG-связывающих белков
Активация или подавление экспрессии генов CpG-связывающих белков
Активация или подавление синтеза CpG-связывающих белков
Прямое ингибирование или активация ацетил- и деацетилтрансфераз*
Активация или подавление экспрессии ацетил- и деацетилтрансфераз*
Активация или подавление синтеза ацетил- и деацетилтрансфераз*
Модуляция других эпигенетических процессов, косвенно влияющих на метилирование ДНК

Примечание. *Данные механизмы влияют на ацетилирование и деацетилирование гистонов, но связаны с метилированием ДНК косвенно, поскольку обусловленная им модификация гистонов влияет на уровень экспрессии генов (см. рис. 1).

Традиционно считается, что увеличение метилирования CpG-островков в промоторных участках генов приводит к подавлению их экспрессии, а уменьшение метилирования, напротив, к ее усилению. Например, увеличение метилирования CpG в промоторной области гена мозгового нейротрофина (*BDNF*) коррелирует с пониженным синтезом *BDNF* в нейронах мышей [66]. При этом для других геномных областей нет определенной связи с уровнем метилирования ДНК и направлением изменения экспрессии генов [67]. Так, различные ассоциации метилирования ДНК и тяжелых депрессивных расстройств человека встречаются в регионах вне промотора (например, общее гипометилирование гена синапсина (*SYN2*) при депрессии [68, 69]). Исследования расстройств аутистического спектра (РАС) с помощью полногеномного секвенирования с бисульфидной конверсией плаценты матерей, у чьих детей впоследствии развилось РАС, выявили изменение метилирования ранее неохарактеризованной некодирующей области *NHIP* (РНК-гена, «индуцируемого нейрональной гипоксией, ассоциированного с плацентой») [70]. Эти данные показывают, что связь между метилированием ДНК и нарушениями развития ЦНС разнообразна и затрагивает регионы по всему геному, а не только кодирующие участки. Помимо блокировки факторов транскрипции при метилировании ДНК (рис. 1), еще один механизм эпигенетической регуляции основан на гидроксिलировании 5-метилцитозина под действием ферментов – деметилаз ТЕТ (рис. 2) [70, 71]. В настоящее время обычно не делают акцент на различиях между метилированием и гидроксиметилированием ДНК, измеряя обе модификации без разбора. Поэтому в дальнейших исследованиях метилирования ДНК [72] в мозге зебраданию важно раздельно изучать эти два процесса и их индивидуальный вклад в модуляцию ЦНС.

Наконец, метилирование ДНК вне CpG областей наиболее часто встречается в нейронах и глиальных клетках млекопитающих (в частности, у мышей и человека), представляя собой редкое явление в лобной коре у плода человека, но значительно усиливающееся на более поздних стадиях жизни на фоне развития синапсов и увеличения синаптической плотности [73]. Метилирование ДНК не-CpG островков может играть

важную роль в регулировании генной активности и продолжаться во взрослом мозге, действуя подобно метилированию CpG в подавлении транскрипции [74]. Например, связывание классического MBP MeCP2 с неметилированными последовательностями ДНК имеет решающее значение для экспрессии BDNF, как показано в модели синдрома Ретта у мышей [75]. В связи с этим исследование данного вопроса с использованием моделей на зевраданио может быть актуальным и важным.

Анализ метилирования ДНК в ЦНС зевраданио также имеет значение при исследовании роли гормональной (например, стероидной) регуляции, а также действия различных эндокринных дизрапторов (ЭД). В частности, метилирование фланкирующего фрагмента гена вителлогенина 1 в мозге зевраданио оказывается чувствительным к хроническому действию эстрогена [76]. Промотор гена гонадолиберина 3 (*GnRH3*) в теленцефалоне и обонятельной луковице зевраданио обнаруживает паттерн гиперметилирования при действии дексаметазона [77]. Действие органофосфата TDCIPP на личинок зевраданио приводит к повышенному тревожно-подобному поведению у рыб во взрослом возрасте на фоне усиления экспрессии генов трех ДНК-метилтрансфераз, а также гиперметилированию промоторов генов BDNF и дофаминового рецептора D4b в мозге самок (но не самцов) рыб [78], тем самым демонстрируя зависимость от пола токсичные эффекты на ЦНС. Эпигенетическая регуляция у зевраданио при действии ряда таких веществ может также носить трансгенерационный характер. Например, ЭД микроцистин-лейцин-аргинин усиливает метилирование промоторов (и соответственно, снижает экспрессию) генов *нейротрофического фактора мозга* BDNF и глутамат-карбоксилазы 1 в мозге у F1 поколения при введении препарата особям F0 поколения [79].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Метилирование ДНК в мозге может изменять экспрессию генов ключевых сигнальных молекул, рецепторов и факторов роста, влияя на структурные изменения в нейронах и формирование новых синапсов, что напрямую связано с пластическими свойствами мозга (рис. 2). Кроме того, метилирование ДНК играет ведущую роль в развитии мозга с самых ранних его этапов. Создан ряд генетических и фармакологических моделей различных заболеваний, вызванных нарушениями метилирования ДНК у зевраданио (рис. 3), в том числе при действии этанола, наркотических веществ и стресса. Зевраданио также широко применяются для моделирования психических (шизофрения, аутизм) и нейродегенеративных (паркинсонизм, деменция) заболеваний, связанных с нарушениями метилирования ДНК у человека. В целом моделирование нарушений метилирования ДНК на зевраданио является перспективным инструментом для изучения и понимания молекулярных механизмов эпигенетических нарушений в патогенезе ряда заболеваний, также предоставляя возможность разработки новых подходов к их диагностике и лечению. Накопленные знания о роли метилирования ДНК в ЦНС зевраданио создают основу для дальнейших трансляционных исследований в этой области с целью поиска эффективных терапевтических стратегий.

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея статьи (А.В.К.), подготовка черновика статьи (Л.В.Ю., А.Д.Ш., М.А.Р., К.В.А., М.М.К., А.Д.В., А.Д.А., А.В.К.), обсуждение и подготовка итоговой версии рукописи (А.В.К., Л.В.Ю., М.А.Р., А.Д.В., Д.А.А., К.В.А., М.М.К.).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Научно-технологического университета «Сириус». Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Mattei AL, Bailly N, Meissner A* (2022) DNA methylation: a historical perspective. *Trends Genet* 38: 676–707.
<https://doi.org/10.1016/j.tig.2022.03.010>
2. *Bashirzade AA, Zabegalov KN, Volgin AD, Belova AS, Demin KA, de Abreu MS, Babchenko VY, Bashirzade KA, Yenkovyan KB, Tikhonova MA, Amstislavskaya TG, Kalueff AV* (2022) Modeling neurodegenerative disorders in zebrafish. *Neurosci Biobehav Rev* 138: 104679.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2022.104679>
3. *Dang M, Henderson RE, Garraway LA, Zou LI* (2016) Long-term drug administration in the adult zebrafish using oral gavage for cancer preclinical studies. *Dis Mod Mech* 9: 811–820.
<https://doi.org/10.1242/dmm.024166>
4. *Wang J, Cao H* (2021) Zebrafish and Medaka: important animal models for human neurodegenerative diseases. *Intl J Mol Sci* 22: 10766.
<https://doi.org/10.3390/ijms221910766>
5. *Howe K, Clark MD, Torroja CF, Torrance J, Berthelot C, Muffato M, Collins JE, Humphray S, McLaren K, Matthews L, McLaren S, Sealy I, Caccamo M, Churcher C, Scott C, Barrett JC, Koch R, Rauch GJ, White S, Chow W, Kilian B, Quintais LT, Guerra-Assunção JA, Zhou Y, Gu Y, Yen J, Vogel JH, Eyre T, Redmond S, Banerjee R, Chi J, Fu B, Langley E, Maguire SF, Laird GK, Lloyd D, Kenyon E, Donaldson S, Sehra H, Almeida-King J, Loveland J, Trevanion S, Jones M, Quail M, Willey D, Hunt A, Burton J, Sims S, McLay K, Plumb B, Davis J, Clee C, Oliver K, Clark R, Riddle C, Elliot D, Threadgold G, Harden G, Ware D, Begum S, Mortimore B, Kerry G, Heath P, Phillimore B, Tracey A, Corby N, Dunn M, Johnson C, Wood J, Clark S, Pelan S, Griffiths G, Smith M, Glithero R, Howden P, Barker N, Lloyd C, Stevens C, Harley J, Holt K, Panagiotidis G, Lovell J, Beasley H, Henderson C, Gordon D, Auger K, Wright D, Collins J, Raisen C, Oyer L, Leung K, Robertson L, Ambridge K, Leongamornlert D, McGuire S, Gilderthorp R, Griffiths C, Manthavadi D, Nichol S, Barker G, Whitehead S, Kay M, Brown J, Murnane C, Gray E, Humphries M, Sycamore N, Barker D, Saunders D, Wallis J, Babbage A, Hammond S, Mashreghi-Mohammadi M, Barr L, Martin S, Wray P, Ellington A, Matthews N, Ellwood M, Woodmancey R, Clark G, Cooper J, Tromans A, Grafham D, Skuce C, Pandian R, Andrews R, Harrison E, Kimberley A, Garnett J, Fosker N, Hall R, Garner P, Kelly D, Bird C, Palmer S, Gehring I, Berger A, Dooley CM, Ersan-Ürün Z, Eser C, Geiger H, Geisler M, Karotki L, Kirn A, Konantz J, Konantz M, Oberländer M, Rudolph-Geiger S, Teucke M, Lanz C, Raddatz G, Osoegawa K, Zhu B, Rapp A, Widaa S, Langford C, Yang F, Schuster SC, Carter NP, Harrow J, Ning Z, Herrero J, Searle SM, Enright A, Geisler R, Plasterk RH, Lee C, Westerfield M, de Jong PJ, Zou LI, Postlethwait JH, Nüsslein-Volhard C, Hubbard TJ, Roest Crollius H, Rogers J, Stemple DL* (2013) The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nature* 496: 498–503.
<https://doi.org/10.1038/nature12111>
6. *Shin JT, Priest JR, Ovcharenko I* (2005) Human-zebrafish non-coding conserved elements act in vivo to regulate transcription. *Nucl Acid Res* 33: 5437–5445.
<https://doi.org/10.1093/nar/gki853>
7. *Vilella AJ, Severin J, Ureta-Vidal A, Heng L, Durbin R, Birney E* (2009) EnsemblCompara GeneTrees: Complete, duplication-aware phylogenetic trees in vertebrates. *Genome Res* 19: 327–335.
<https://doi.org/10.1101/gr.073585.107>
8. *Kim DS, Huh JW, Kim YH, Park SJ, Kim HS, Chang KT* (2010) Bioinformatic analysis of TE-spliced new exons within human, mouse and zebrafish genomes. *Genomics* 96: 266–271.
<https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2010.08.004>
9. *Berna J, Payne E, Hall C* (2012) The zebrafish as a tool to study hematopoiesis, human blood diseases, and immune function. *Adv Hematol* 2012: 425345.
<https://doi.org/10.1155/2012/425345>
10. *Taylor JS, Braasch I, Frickey T, Meyer A, Van de Peer Y* (2003) Genome duplication, a trait shared by 22000 species of ray-finned fish. *Genome Res* 13: 382–390.

- <https://doi.org/10.1101/gr.640303>
11. *Mihaljevic I, Popovic M, Zaja R, Smital T* (2016) Phylogenetic, syntenic, and tissue expression analysis of *slc22* genes in zebrafish (*Danio rerio*). *BMC Genom* 17: 626.
<https://doi.org/10.1186/s12864-016-2981-y>
 12. *McCammon JM, Sive H* (2015) Challenges in understanding psychiatric disorders and developing therapeutics: a role for zebrafish. *Dis Mod Mech* 8: 647–656.
<https://doi.org/10.1242/dmm.019620>
 13. *Varshney GK, Sood R, Burgess SM* (2015) Understanding and editing the zebrafish genome. *Adv Gen* 92: 1–52.
<https://doi.org/10.1016/bs.adgen.2015.09.002>
 14. *Yushko LV, Kalueff AV, Kotova MM* (2023) Experimental models of mitochondrial dysfunction disorders in the pathogenesis of CNS diseases on zebrafish. *J Evol Biochem Physiol* 59: 2114–2128.
 15. *Zhang L, Lu Q, Chang C* (2020) Epigenetics in health and disease. *Adv Exper Med Biol* 1253: 3–55.
https://doi.org/10.1007/978-981-15-3449-2_1
 16. *Gayon J* (2016) From Mendel to epigenetics: history of genetics. *Comptes Rendus Biol* 339: 225–230.
<https://doi.org/10.1016/j.crvi.2016.05.009>
 17. *Edwards JR, Yarychivska O, Boulard M, Bestor TH* (2017) DNA methylation and DNA methyltransferases. *Epigenet Chromatin* 10: 23.
<https://doi.org/10.1186/s13072-017-0130-8>
 18. *Hamidi T, Singh AK, Chen T* (2015) Genetic alterations of DNA methylation machinery in human diseases. *Epigenomics* 7: 247–265.
<https://doi.org/10.2217/epi.14.80>
 19. *Ren Y* (2022) Regulatory mechanism and biological function of UHRF1-DNMT1-mediated DNA methylation. *Funct Integr Genom* 22: 1113–1126.
<https://doi.org/10.1007/s10142-022-00918-9>
 20. *Qin L, Qiao C, Sheen V, Wang Y, Lu J* (2021) DNMT3L promotes neural differentiation by enhancing STAT1 and STAT3 phosphorylation independent of DNA methylation. *Prog Neurobiol* 201: 102028.
<https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2021.102028>
 21. *Gujar H, Weisenberger DJ, Liang G* (2019) The roles of human DNA methyltransferases and their isoforms in shaping the epigenome. *Genes* 10: 172.
<https://doi.org/10.3390/genes10020172>
 22. *Younesian S, Yousefi AM, Momeny M, Ghaffari SH, Bashash D* (2022) The DNA methylation in neurological diseases. *Cells* 11: 3439.
<https://doi.org/10.3390/cells11213439>
 23. *Pensold D, Reichard J, Van Loo KMJ, Ciganok N, Hahn A, Bayer C, Liebmann L, Groß J, Tittelmeier J, Lingner T, Salinas-Riester G, Symmank J, Halfmann C, González-Bermúdez L, Urbach A, Gehrman J, Costa I, Pieler T, Hübner CA, Vatter H, Kampa B, Becker AG, Zimmer-Bensch G* (2020) DNA methylation-mediated modulation of endocytosis as potential mechanism for synaptic function regulation in murine inhibitory cortical interneurons. *Cereb Cortex* 30: 3921–3937.
<https://doi.org/10.1093/cercor/bhaa009>
 24. *Sergeeva A, Davydova K, Perenkov A, Vedunova M* (2023) Mechanisms of human DNA methylation, alteration of methylation patterns in physiological processes and oncology. *Gene* 875: 147487.
<https://doi.org/10.1016/j.gene.2023.147487>
 25. *Hanaki S, Habara M, Shimada M* (2021) UV-induced activation of ATR is mediated by UHRF2. *Gen Cells* 26: 447–454.
<https://doi.org/10.1111/gtc.12851>
 26. *Xavier MJ, Roman SD, Aitken RJ, Nixon B* (2019) Transgenerational inheritance: how impacts to the epigenetic and genetic information of parents affect offspring health. *Hum Repr Update* 25: 518–540.
<https://doi.org/10.1093/humupd/dmz017>
 27. *Inaba Y, Iwamoto S, Nakayama K* (2022) Genome-wide DNA methylation status of Mongolians exhibits signs of cellular stress response related to their nomadic lifestyle. *J Phys Anthropol* 41: 30.
<https://doi.org/10.1186/s40101-022-00305-0>
 28. *Lunnon K, Harvey J, Smith A, Weymouth L, Smith R, Castanho I, Hubbard L, Creese B, Bresner K, Williams N, Pishva E* (2023) Epigenetic insights into neuropsychiatric and cognitive symptoms in Parkinson's disease: A DNA co-methylation network analysis. *Res Square* rs.3.rs-3185734.
<https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3185734/v1>

29. *Abomoelak B, Prather R, Pragya SU, Pragya SC, Mehta ND, Uddin P, Veeramachaneni P, Mehta N, Young A, Kapoor S, Mehta D* (2023) Cognitive skills and DNA methylation are correlating in healthy and novice college students practicing Preksha Dhyāna meditation. *Brain Sci* 13: 1214. <https://doi.org/10.3390/brainsci13081214>
30. *Cavalieri V, Spinelli G* (2017) Environmental epigenetics in zebrafish. *Epigen. Chromat* 10: 46. <https://doi.org/10.1186/s13072-017-0154-0>
31. *Lakstygai AM, de Abreu MS, Kalueff AV* (2018) Zebrafish models of epigenetic regulation of CNS functions. *Brain Res Bull* 142: 344–351. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2018.08.022>
32. *Swartz ME, Wells MB, Griffin M, McCarthy N, Lovely CB, McGurk P, Rozacky J, Eberhart JK* (2014) A screen of zebrafish mutants identifies ethanol-sensitive genetic loci. *Alcohol Clin Exp Res* 38: 694–703. <https://doi.org/10.1111/acer.12286>
33. *Knecht AL, Truong L, Marvel SW, Reif DM, Garcia A, Lu C, Simonich MT, Teeguarden JG, Tanguy RL* (2017) Transgenerational inheritance of neurobehavioral and physiological deficits from developmental exposure to benzo[a]pyrene in zebrafish. *Toxicol Appl Pharmacol* 329: 148–157. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2017.05.033>
34. *Jacob J, Ribes V, Moore S, Constable SC, Sasai N, Gerety SS, Martin DJ, Sergeant CP, Wilkinson DG, Briscoe J* (2014) Valproic acid silencing of *ascl1b/Ascl1* results in the failure of serotonergic differentiation in a zebrafish model of fetal valproate syndrome. *Dis Mod Mech* 7: 107–117. <https://doi.org/10.1242/dmm.013219>
35. *Wang L, Jiang W, Lin Q, Zhang Y, Zhao C* (2016) DNA methylation regulates *gabrb2* mRNA expression: developmental variations and disruptions in l-methionine-induced zebrafish with schizophrenia-like symptoms. *Genes Brain Behav* 15: 702–710. <https://doi.org/10.1111/gbb.12315>
36. *Razali K, Othman N, Mohd Nasir MH, Doolaanea AA, Kumar J, Ibrahim WN, Mohamed Ibrahim N, Mohamed WMY* (2021) The promise of the zebrafish model for Parkinson's disease: today's science and tomorrow's treatment. *Front Genet* 12: 655550. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.655550>
37. *Zheng YC, Ma J, Wang Z, Li J, Jiang B, Zhou W, Shi X, Wang X, Zhao W, Liu HM* (2015) A Systematic Review of Histone Lysine-Specific Demethylase 1 and Its Inhibitors. *Medicin Res Rev* 35: 1032–1071. <https://doi.org/10.1002/med.21350>
38. *Meshcheryakova A, Pietschmann P, Zimmermann P, Rogozin IB, Mechtcheriakova D* (2021) AID and APOBECs as multifaceted intrinsic virus-restricting factors: emerging concepts in the light of COVID-19. *Front Immunol* 12: 690416. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.690416>
39. *Rai K, Huggins JJ, James SR, Karpf AR, Jones DA, Cairns BR* (2008) DNA demethylation in zebrafish involves the coupling of a deaminase, a glycosylase, and *gadd45*. *Cell* 135: 1201–1212. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.11.042>
40. *Popp C, Dean W, Feng S, Cokus SJ, Andrews S, Pellegrini M, Jacobsen SE, Reik W* (2010) Genome-wide erasure of DNA methylation in mouse primordial germ cells is affected by AID deficiency. *Nature* 463: 1101–1105. <https://doi.org/10.1038/nature08829>
41. *Sandweiss AJ, Brandt VL, Zoghbi HY* (2020) Advances in understanding of Rett syndrome and MECP2 duplication syndrome: prospects for future therapies. *Lancet Neurol* 19: 689–698. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(20\)30217-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(20)30217-9)
42. *Klein CJ, Botuyan MV, Wu Y, Ward CJ, Nicholson GA, Hammans S, Hojo K, Yamanishi H, Karpf AR, Wallace DC, Simon M, Lander C, Boardman LA, Cunningham JM, Smith GE, Litchy WJ, Boes B, Atkinson EJ, Middha S, B Dyck PJ, Parisi JE, Mer G, Smith DI, Dyck PJ* (2011) Mutations in DNMT1 cause hereditary sensory neuropathy with dementia and hearing loss. *Nat Genet* 43: 595–600. <https://doi.org/10.1038/ng.830>
43. *Protic DD, Aishworiya R, Salcedo-Arellano MJ, Tang SJ, Milisavljevic J, Mitrovic F, Hagerman RJ, Budimirovic DB* (2022) Fragile X Syndrome: from molecular aspect to clinical treatment. *Intl J Mol Sci* 23: 1935. <https://doi.org/10.3390/ijms23041935>
44. *Yamada M, Okuno H, Okamoto N, Suzuki H, Miya F, Takenouchi T, Kosaki K* (2023) Diagnosis of Prader-Willi syndrome and Angelman syndrome by targeted nanopore long-read sequencing. *Eur J Med Genet* 66: 104690. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2022.104690>
45. *Sheikhpour M, Maleki M, Ebrahimi Vargoorani M, Amiri V* (2021) A review of epigenetic changes in asthma: methylation and acetylation. *Clin Epigenet* 13: 65. <https://doi.org/10.1186/s13148-021-01049-x>

46. *Browne CJ, Godino A, Salery M, Nestler EJ* (2020) Epigenetic mechanisms of opioid addiction. *Biol Psychiatry* 87: 22–33.
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2019.06.027>
47. *Vrettou M, Yan L, Nilsson KW, Wallén-Mackenzie Å, Nylander I, Comasco E* (2021) DNA methylation of Vesicular Glutamate Transporters in the mesocorticolimbic brain following early-life stress and adult ethanol exposure-an explorative study. *Sci Reports* 11: 15322.
<https://doi.org/10.1038/s41598-021-94739-8>
48. *Demidenko O, Barardo D, Budovskii V, Finnemore R, Palmer FR, Kennedy BK, Budovskaya YV* (2021) Rejuvant®, a potential life-extending compound formulation with alpha-ketoglutarate and vitamins, conferred an average 8-year reduction in biological aging, after an average of 7 months of use, in the TruAge DNA methylation test. *Aging* 13: 24485–24499.
<https://doi.org/10.18632/aging.203736>
49. *McGowan PO, Sasaki A, D'Alessio AC, Dymov S, Labonté B, Szyf M, Turecki G, Meaney MJ* (2009) Epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor in human brain associates with childhood abuse. *Nat Neurosci* 12: 342–348.
<https://doi.org/10.1038/nn.2270>
50. *Xiu J, Li J, Liu Z, Wei H, Zhu C, Han R, Liu Z, Zhu W, Shen Y, Xu Q* (2022) Elevated BICD2 DNA methylation in blood of major depressive disorder patients and reduction of depressive-like behaviors in hippocampal Bcd2-knockdown mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 119: e2201967119.
<https://doi.org/10.1073/pnas.2201967119>
51. *Nguyen M, Stewart AM, Kaluff AV* (2014) Aquatic blues: modeling depression and antidepressant action in zebrafish. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 55: 26–39.
<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2014.03.003>
52. *Babin PJ, Goizet C, Raldúa D* (2014) Zebrafish models of human motor neuron diseases: advantages and limitations. *Prog Neurobiol* 118: 36–58.
<https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2014.03.001>
53. *Liu Y, Stejka-Zielińska P, Velikova G, Bi Y, Yuan F, Tomkova M, Bai C, Chen L, Schuster-Böckler B, Song CX* (2019) Bisulfite-free direct detection of 5-methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine at base resolution. *Nat Biotechnol* 37: 424–429.
<https://doi.org/10.1038/s41587-019-0041-2>
54. *Wu Y, Yasung L, Calixto C, Gholipour A, Karimi D* (2023) Characterizing normal perinatal development of the human brain structural connectivity. *ArXiv*, arXiv: 2308.11836v1.
55. *Zhang C, Hoshida Y, Sadler KC* (2016) Comparative epigenomic profiling of the DNA methylome in mouse and zebrafish uncovers high interspecies divergence. *Front Genet* 7: 110.
<https://doi.org/10.3389/fgene.2016.00110>
56. *Lee HJ, Lowdon RF, Maricque B, Zhang B, Stevens M, Li D, Johnson SL, Wang T* (2015) Developmental enhancers revealed by extensive DNA methylome maps of zebrafish early embryos. *Nat Commun* 6: 6315.
<https://doi.org/10.1038/ncomms7315>
57. *Kapusta A, Kronenberg Z, Lynch VJ, Zhuo X, Ramsay L, Bourque G, Yandell M, Feschotte C* (2013) Transposable elements are major contributors to the origin, diversification, and regulation of vertebrate long noncoding RNAs. *PLoS Genet* 9: e1003470.
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003470>
58. *Xin N, Wang DT, Zhang L, Zhou Y, Cheng Y* (2022) Early developmental stage glucocorticoid exposure causes DNA methylation and behavioral defects in adult zebrafish. *Comp Biochem Physiol Pt C: Toxicol Pharmacol* 256: 109301.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2022.109301>
59. *Guo W, Han J, Wu S, Shi X, Wang Q, Zhou B* (2019) Bis (2-ethylhexyl)-2, 3, 4, 5-tetrabromophthalate affects lipid metabolism in zebrafish larvae via DNA methylation modification. *Env Sci Technol* 54: 355–363.
<https://doi.org/10.1021/acs.est.9b05796>
60. *Benvenuti R, Gallas-Lopes M, Marcon M, Reschke CR, Herrmann AP, Piato A* (2022) Glutamate NMDA receptor antagonists with relevance to schizophrenia: a review of zebrafish behavioral studies. *Curr Neuropharmacol* 20: 494.
<https://doi.org/10.2174/1570159X19666210215121428>
61. *Zhai G, Jia J, Bereketoglu C, Yin Z, Pradhan A* (2022) Sex-specific differences in zebrafish brains. *Biol Sex Differ* 13: 31.
<https://doi.org/10.1186/s13293-022-00442-2>
62. *McEwen BS, Milner TA* (2017) Understanding the broad influence of sex hormones and sex differences in the brain. *J Neurosci Res* 95: 24–39.
<https://doi.org/10.1002/jnr.23809>
63. *Young LJ, Pfaff DW* (2014) Sex differences in neurological and psychiatric disorders. *Front Neuroendocrinol* 35: 253–254.
<https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2014.05.005>

64. Chatterjee A, Lagisz M, Rodger EJ, Zhen L, Stockwell PA, Duncan EJ, Horsfield JA, Jeyakani J, Mathavan S, Ozaki Y, Nakagawa S (2016) Sex differences in DNA methylation and expression in zebrafish brain: a test of an extended 'male sex drive' hypothesis. *Gene* 590: 307–316. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2016.05.042>
65. Serikuly N, Alpyshov ET, Wang D, Wang J, Yang L, Hu G, Yan D, Demin KA, Kolesnikova TO, Galstyan D, Amstislavskaya TG, Babashev AM, Mor MS, Efimova EV, Gainetdinov RR, Strekalova T, de Abreu MS, Song C, Kalueff AV (2021) Effects of acute and chronic arecoline in adult zebrafish: Anxiolytic-like activity, elevated brain monoamines and the potential role of microglia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 104: 109977. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2020.109977>
66. Martinowich K, Hattori D, Wu H, Fouse S, He F, Hu Y, Fan G, Sun (2003) DNA methylation-related chromatin remodeling in activity-dependent BDNF gene regulation. *Science* 302: 890–893. <https://doi.org/10.1126/science.1090842>
67. Xie J, Xie L, Wei H, Li XJ, Lin L (2023) Dynamic regulation of DNA methylation and brain functions. *Biology* 12: 152. <https://doi.org/10.3390/biology12020152>
68. Wu H, Coskun V, Tao J, Xie W, Ge W, Yoshikawa K, Li E, Zhang Y, Sun YE (2010) Dnmt3a-dependent nonpromoter DNA methylation facilitates transcription of neurogenic genes. *Science* 329: 444–448. <https://doi.org/10.1126/science.1190485>
69. Cruceanu C, Kutsarova E, Chen ES, Checknita DR, Nagy C, Lopez JP, Turecki G (2016) DNA hypomethylation of Synapsin II CpG islands associates with increased gene expression in bipolar disorder and major depression. *BMC Psychiatry* 16: 1–5. <https://doi.org/10.1186/s12888-016-0989-0>
70. Zhu Y, Gomez JA, Laufer BI, Mordaunt CE, Mouat JS, Soto DC, LaSalle JM (2022) Placental methylome reveals a 22q13.33 brain regulatory gene locus associated with autism. *Genome Biol* 23: 1–32. <https://doi.org/10.1186/s13059-022-02613-1>
71. Kohli RM, Zhang Y (2013) TET enzymes, TDG and the dynamics of DNA demethylation. *Nature* 502: 472–479. <https://doi.org/10.1038/nature12750>
72. Kamstra JH, Løken M, Aleström P, Legler J (2015) Dynamics of DNA hydroxymethylation in zebrafish. *Zebrafish* 12: 230–237. <https://doi.org/10.1089/zeb.2014.1033>
73. Lister R, Mukamel EA, Nery JR, Urich M, Puddifoot CA, Johnson ND, Lucero J, Huang Y, Dwork AJ, Schultz MD, Yu M, Tonti-Filippini J, Heyn H, Hu S, Wu JC, Rao A, Esteller M, He C, Haghighi FG, Sejnowski TJ, Behrens MM, Ecker JR (2013) Global epigenomic reconfiguration during mammalian brain development. *Science* 341: 1237905. <https://doi.org/10.1126/science.1237905>
74. Jang HS, Shin WJ, Lee JE, Do JT (2017) CpG and non-CpG methylation in epigenetic gene regulation and brain function. *Genes* 8: 148. <https://doi.org/10.3390/genes8060148>
75. Chen L, Chen K, Lavery LA, Baker SA, Shaw CA, Li W, Zoghbi HY (2015) MeCP2 binds to non-CG methylated DNA as neurons mature, influencing transcription and the timing of onset for Rett syndrome. *Proc Natl Acad Sciences U S A* 112: 5509–5514. <https://doi.org/10.1073/pnas.1505909112>
76. Strömqvist M, Tooke N, Brunström B (2010) DNA methylation levels in the 5' flanking region of the vitellogenin I gene in liver and brain of adult zebrafish (*Danio rerio*)—sex and tissue differences and effects of 17 α -ethinylestradiol exposure. *Aquat Toxicol* 98: 275–281. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.02.023>
77. Khor YM, Soga T, Parhar IS (2016) Early-life stress changes expression of GnRH and kisspeptin genes and DNA methylation of GnRH3 promoter in the adult zebrafish brain. *Gen Comp Endocrinol* 227: 84–93. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2015.12.004>
78. Li R, Yang L, Han J, Zou Y, Wang Y, Feng C, Zhou B (2021) Early-life exposure to tris (1,3-dichloro-2-propyl) phosphate caused multigenerational neurodevelopmental toxicity in zebrafish via altering maternal thyroid hormones transfer and epigenetic modifications. *Environ Pollut* 285: 117471. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117471>
79. Xu J, Zhang W, Zhong S, Xie X, Che H, Si W, Tuo X, Xu D, Zhao S (2023) Microcystin-leucine-arginine affects brain gene expression programs and behaviors of offspring through paternal epigenetic information. *Sci Total Environ* 857: 159032. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159032>

The Role of DNA Methylation in Zebrafish Models of CNS Diseases**L. V. Yushko^{a, b, c}, A. D. Shevlyakov^{a, d}, M. A. Romazeva^d, K. V. Apukhtin^d, A. D. Volgin^d,
D. A. Abramov^d, M. M. Kotova^a, and A. V. Kalueff^{a, b, c, d, e, *}**

^a*World-class scientific center “Center for Personalized Medicine”, Almazov National Medical Research Center, Ministry of Healthcare, St. Petersburg, Russia*

^b*Institute of Experimental Medicine, Almazov National Medical Research Center, Ministry of Healthcare, St. Petersburg, Russia*

^c*Institute of Translational Biomedicine, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia*

^d*Neurobiology Program, Scientific Center for Genetics and Life Sciences, Sirius University of Science and Technology, Federal Territory Sirius, Russia*

^e*Research Institute of Neuroscience and Medicine, Novosibirsk, Russia*

* *e-mail: avkalueff@gmail.com*

DNA methylation plays an important role in the regulation of gene expression. Disturbances in this process in the brain cause various neurological diseases, including autism, schizophrenia and mood disorders. Zebrafish (*Danio rerio*) are a promising model organism in biomedicine. Given high genetic and physiological homology with humans, studying genome methylation deficits in zebrafish can help to clarify the molecular processes underlying etiology and pathogenesis of various neurological diseases, as well as to develop novel therapies. Here, we discuss the mechanisms of DNA methylation in the brain and the diseases associated with its dysregulation in humans, as well as their genetic and pharmacological models in zebrafish. We also evaluate the limitations of zebrafish models and possible directions for further research in this field. Mounting evidence summarized here supports zebrafish as an effective model for elucidating the molecular mechanisms of brain pathologies associated with impaired DNA methylation.

Keywords: epigenetic regulation, genome methylation, brain, epigenetics, CNS, zebrafish