

**МИНОБРНАУКИ РОССИИ  
МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИМ. М. АКМУЛЛЫ»  
ЕСТЕСТВЕННО-ГЕОГРАФИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ  
КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ**



## **«Вавиловские чтения - 2018»**

**Труды  
Межвузовской научной конференции  
молодых ученых**

**Уфа  
28 ноября 2018 года**

**УДК 575**  
**ББК 28.04**  
**Т79**

*Печатается по решению редакционно-издательского совета  
Башкирского государственного педагогического университета им.М.Акмуллы*

Труды научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых посвященный 131-летию со дня рождения академика Николая Ивановича Вавилова «Вавиловские чтения-2018», 28 ноября 2018. – Уфа: Изд-во БГПУ, 2018. – 82 с.

В сборнике представлены результаты исследований по широкому кругу актуальных вопросов общей генетики, генетики растений, микроорганизмов.

Рассчитан на научных работников биологического профиля, аспирантов и студентов соответствующих специальностей.

Ответственный редактор: профессор В.Ю.Горбунова

© Издательство БГПУ, 2018

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>Багдасарова К.С. Воробьева Е.В., Горбунова В.Ю.</b> ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТУЮ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ У СПОРТСМЕНОВ	5
<b>Бакун И.И., Галикеева Г.Ф.</b> ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ИНГИБИТОРОВ NF- $\kappa$ B В РАЗВИТИИ ОНКОПАТОЛОГИИ	9
<b>Володина Д.В., Лебединцева В.А., Зарипова А.А., Мухаметвафина А.А., Уразбахтина К.А., Шигапова А.И., Шигапов З.Х.</b> НАЧАЛЬНЫЕ ЭТАПЫ РАЗМНОЖЕНИЯ <i>DENDROBIUM NOBILE</i> 'WHITE' В КУЛЬТУРЕ <i>IN VITRO</i>	14
<b>Володина Д.В., Лебединцева В.А., Зарипова А.А., Мухаметвафина А.А., Уразбахтина К.А., Шигапова А.И., Шигапов З.Х.</b> МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТАБИЛЬНОСТИ РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ	23
<b>Габдрахманова В.Ф., Воробьева Е.В.</b> АНАЛИЗ АССОЦИАЦИИ ГЕНА СЕМЕЙСТВА ЯДЕРНЫХ РЕЦЕПТОРОВ, АКТИВИРУЕМЫХ ПРОЛИФЕРАТОРАМИ ПЕРОКСИСОМ, С РАЗЛИЧНЫМИ ТИПАМИ ПИЩЕВОГО ПОВЕДЕНИЯ	27
<b>Давыдова Ю.Д., Казанцева А.В., Еникеева Р.Ф., Хуснутдинова Э.К., Тахирова З.Р., Малых С.Б.</b> РОЛЬ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА ОКСИТОЦИНОВОГО РЕЦЕПТОРА ( <i>OXTR</i> ) В РАЗВИТИИ АГРЕССИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ	33
<b>Карачурина Р.Р., Кузьмина У.Ш., Вахитова Ю.В.</b> ИНТЕРЛЕЙКИН - 10 И ЕГО УЧАСТИЕ В ИММУНОПАТОГЕНЕЗЕ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА	38
<b>Мухамадиева Г.М., Гумерова О.В.</b> РОЛЬ ГЕНОВ РЕЦЕПТОРОВ СЕРОТОНИНА ТИПА 1A И 2A В ФОРМИРОВАНИИ АГРЕССИИ	45
<b>Нуриева Л.Г., Актуганов Г.Э.</b> СВОЙСТВА И ПРИМЕНЕНИЕ ХИТИНОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ	50
<b>Попова А.К., Воробьева Е.В., Горбунова В.Ю.</b> СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВКЛАДА ЧАСТОТ АЛЛЕЛЕЙ И ГЕНОТИПОВ ЦИКЛИНЗАВИСИМОЙ КИНАЗЫ 4 (CDK4) В РАЗВИТИИ ОНКОПАТОЛОГИИ	55
<b>Салахова Н.Ф., Воробьева Е.В.</b> ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ МЫШЕЧНОЙ СИСТЕМЫ (AMPD1 И СКММ) ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ	59

<b>Сухарева А.С., Михайлова Е.В., Кулуев Б.Р.</b> РОЛЬ АНТОЦИАНОВЫХ ПИГМЕНТОВ В РАСТИТЕЛЬНЫХ И ЖИВОТНЫХ ОРГАНИЗМАХ	67
<b>Туркменова Д.И., Воробьева Е.В.</b> ВКЛАД ГЕНА NOS3 В ПАТОГЕНЕЗ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ	77

# ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТУЮ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ У СПОРТСМЕНОВ

**Багдасарова К.С. Воробьева Е.В., Горбунова В.Ю.**

*ФГБОУ ВО «БГПУ им. М. Акмуллы»*

**Ключевые слова.** Гены, генетика спорта, спортивная гениальность, сердечно-сосудистые заболевания, мутации, гипертрофическая кардиомиопатия, профилактика внезапной смерти.

**Аннотация.** Авторы статьи рассматривают профессиональную патологию сердечно-сосудистой системы у спортсменов высших достижений, описывает спортивную успешность и спортивную одаренность, приводят обзор по изучению роли гена ACE (ангиотензинконвертирующего фермента) в спортивной успешности. Обозначает проблему внезапной смерти в спорте, проводит обзор исследований по выявлению генетических маркеров, ассоциированных с развитием заболевания, в следствии чего появится возможность выявления группы лиц с более высоким генетическим риском развития заболевания с помощью молекулярно-генетических методов.

Известно, что успех в любой деятельности человека, в том числе и спортивной, на 75– 80% зависит от его генотипа, и лишь 15–20 % успеха дают воспитание, обучение, тренировки и все другие средовые факторы. Реакция организма на физическую нагрузку имеет особое значение для организации тренировочного процесса и соревновательной практики спортсменов высокой квалификации. Установлены наследственные факторы, обеспечивающие быстрые и адекватные ответы на физическую нагрузку. Спорт высших достижений направлен, в первую очередь, на получение высоких результатов, рост спортивного мастерства в конкретном виде спорта.

Однако, результаты, которых достигают спортсмены, уже не увеличиваются из года в год по экспоненте, поскольку достигнуты пределы тренируемости и, вероятно, физических и функциональных возможностей. Эти пределы заложены в генетических структурах человека. Теперь для достижения спортивных результатов мирового значения требуется еще и спортивная одаренность, а для достижения мировых рекордов – спортивная гениальность. Но гении рождаются не часто. Как же улучшить спортивные способности человека? [1].

Официальное становление спортивной генетики произошло на олимпийском научном конгрессе «Спорт в современном обществе» в Тбилиси в 1980 г. Впервые термин «генетика деятельности» был предложен Клодом Бушаром в 1983 году. В 1995 г., начал осуществляться международный проект «HERITAGE». В 1998 г. в журнале «Nature» была опубликована первая научная статья по генетике спорта – это были результаты британского учёного Хью Монтгомери с большим коллективом авторов (19 человек) по изучению роли гена ACE (ангиотензинконвертирующего фермента) в спортивной успешности [2].

Размер статьи – одна страница, на которой был сделан вывод о том, что один из полиморфных аллелей гена ACE – аллель I – обеспечивает выносливость, а аллель D – скоростно-силовые качества спортсмена. Вывод был основан на том, что у спортсменов, успешных в видах спорта, требующих выносливости, частота аллеля I выше, чем в контрольной группе, а у скоростно-силовых атлетов преобладает аллель D. Действительно, для разных видов спорта необходимы различные качества, например, выносливость или способность к кратковременным «взрывным» усилиям. Согласно обнаруженным эффектам полиморфизмов генов, выделяют аллели, ассоциирующиеся с развитием и проявлением выносливости или быстроты и силы.

Количество новых изученных генетических маркеров, ассоциированных со спортивной деятельностью, росло в геометрической прогрессии: в 1997 г. – 5 генов; в 2000 г. – 24 гена; в 2004 г. – 101 ген. Начиная с 2003 г. в мире отмечается рост исследований, направленных на развитие молекулярно-генетического подхода к профилизации спортсменов.

При выборе вида спорта необходимо учитывать предрасположенность к различного рода профессиональным заболеваниям спортсменов, многие гены – маркеры такой предрасположенности – известны.

Проблема внезапной смерти в спорте и сегодня волнует мировую общественность. Ежегодно на 1 млн. спортсменов приходится от 1 до 5 случаев внезапной кардиальной смерти. «В спорте причиной более 90% внезапных смертей нетравматического характера являются сердечно-сосудистые заболевания», – отмечается в документе, принятом МОК.

Чрезмерная физическая нагрузка, которая нередко встречается в профессиональном спорте, отрицательно влияет на организм и может быть причиной развития различных патологических изменений, приводящих к летальным или инвалидизирующим событиям.

По данным Всемирной организации здравоохранения сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются ведущей причиной смертности в мире. Вклад генетического компонента в риск артериальных тромбозов составляет более 50%. Одним из наиболее плодотворных подходов к изучению генетических механизмов развития ССЗ является выявление генетических маркеров, ассоциированных с развитием заболевания, с помощью молекулярно-генетических методов.

Данного рода исследования дают возможность выделить группы генов, нарушение структуры и функционирования которых вносит наибольший вклад в развитие кардиоваскулярной патологии и на этой основе выявить группы лиц с более высоким генетическим риском развития заболевания. Особую опасность представляют мутации факторов свёртываемости крови – мутация протромбина и Лейденовская мутация, которые увеличивают риск венозных тромбозов, которые нередки у хоккеистов и футболистов, в 7–8 раз. Своевременное выявление этих мутаций позволяет проводить профилактику тромбофилий с помощью противосвёртывающих средств (антиагрегантов). Изучение причин внезапной сердечной смерти имеет особое значение, так

как позволяет выделить группы риска, характерные для них клинико-инструментальные критерии, определить обязательный план обследования (например, в отношении детей, решивших заниматься спортом), разработать превентивные мероприятия. [1]

По мнению большинства ученых, более 90% случаев внезапной сердечной смерти в спорте возникает в результате декомпенсации имеющегося (врожденного или приобретенного), но не обнаруженного ранее ССЗ. Отсутствие видимых сердечнососудистых структурных аномалий на аутопсиях отмечено только в 2% случаев внезапной сердечной смерти у молодых спортсменов.

Гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП) является одной из основных и, вероятно, наиболее распространенных форм кардиомиопатий – заболеваний миокарда, сопровождающихся его дисфункцией.

По современным представлениям, ГКМП является преимущественно генетически обусловленным заболеванием мышцы сердца, характеризующимся комплексом специфических морфофункциональных изменений и неуклонно прогрессирующим течением с высокой угрозой развития тяжелых, жизнеугрожающих аритмий и внезапной смерти. Первым и единственным проявлением заболевания может стать внезапная смерть. Провоцирующими факторами при этом обычно является удар в грудь спортивным снарядом типа бейсбольной биты, хоккейной шайбой или кулаком, контакт с другим человеком или со стационарным объектом. Люди, у которых коллапс развивается немедленно, составляют 50%. В этой связи необходимо правильно дозировать уровень нагрузки в спорте и рационально использовать степень физической активности, чтобы она соответствовала потенциальным возможностям человека [1].

Совершенно очевидно, что достичь прогресса в профилактике сердечно-сосудистых патологий в спорте можно, только опираясь на медицинскую генетику, поскольку сердечнососудистые заболевания у квалифицированных спортсменов, приводящие к ранней инвалидности и преждевременной смерти, представляют собой наиболее серьезную и значительную проблему не только для спортивной медицины, но и для общества в целом. При этом не следует забывать о необходимости выявления предрасположенности к травмам и ряду заболеваний, являющихся профессиональными для атлетов разных видов спорта.

Поэтому в настоящее время обсуждаются перспективы и целесообразность использования анализа генетической предрасположенности в качестве одного из базисных способов формирования олимпийской сборной и сборных команд с целью повышения надежности и эффективности системы индивидуального отбора и подготовки высококвалифицированных спортсменов.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1.Труды БГУ 2012, том 7, часть 1 Генетика спорта: вчера, сегодня, завтра Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика

Беларусь

2.Human gene for physical performance / H.E. Montgomery [et al.] // Nature. – 1998. – Vol. 393. – P. 221–222.



## ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ИНГИБИТОРОВ NF-κB В РАЗВИТИИ ОНКОПАТОЛОГИИ

**Бакун И.И., Галикеева Г.Ф.**

*ФГБОУ ВО «БГПУ им.М.Акмиллы» г. Уфа*

### **Аннотация**

Данная работа представляет собой обзор молекулярно-генетических исследований в области исследования причин и механизмов развития онкопатологии. Одним из активно изучаемых белков является NF-κB, который принимает участие в процессах канцерогенеза, супрессия которого может привести к подавлению развития опухоли [2].

**Ключевые слова:** NF-κB, экспрессия гена, онкопатология, липосомальные противоопухолевые препараты.

### **Роль NF-κB в онкогенезе**

Онкологические заболевания представляют собой важную медико-социальную проблему в связи с высокой заболеваемостью и смертностью [1]. В настоящее время основными методами лечения рака являются хирургический, лучевой и химиотерапевтический. Различные виды противоопухолевой терапии с включением различных режимов химиотерапии получают более 70 % всех больных злокачественными новообразованиями. При основных локализациях злокачественных опухолей (рак толстой кишки, легкого, молочной железы) показатель операбельности по отношению к числу заболевших не превышает 20 %, а около 50 % оперированных пациентов умирают в первые два-три года после операции. При этом по данным ВОЗ 40 % смертей от онкологических заболеваний можно предотвратить использованием новейших программ химиотерапии. Однако даже к эффективным химиопрепаратам через несколько курсов лечения возникает лекарственная резистентность.

По экспериментальным данным, одним из перспективных молекулярных маркеров рака считают полифункциональный ядерный транскрипционный фактор NF-κB (рис. 1), который играет важную роль в клеточной пролиферации, апоптозе, воспалительной и аутоиммунной реакциях, регулируя экспрессию генов, вовлеченные в эти процессы[5].

Белок NFκB был открыт в 1986 г. группой исследователей под руководством Дэвида Балтимора(David Baltimore) и был выделен из зрелых В-лимфоцитов как ядерный белок, связанный с энхансерной областью легкой цепи иммуноглобулина каппа, что легло в основу его названия[2].

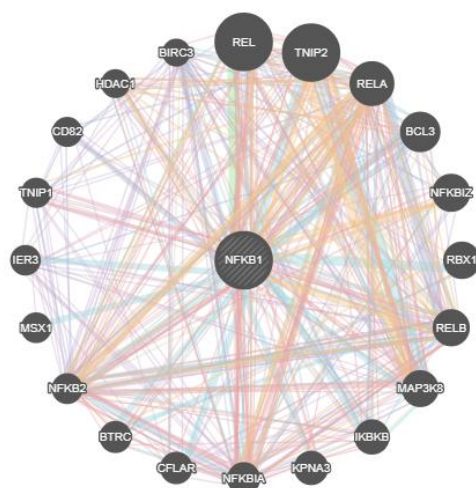


Рис.1 Генная сеть взаимодействий NF-кВ

Свободные легкие цепи иммуноглобулинов (антител) обнаруживают при множественной миеломе и других злокачественных гаммапатиях. Большое количество свободных легких цепей иммуноглобулинов в крови и нарушение их соотношения указывает на опухолевый рост клеток в костном мозге.

Легкие цепи иммуноглобулинов представлены двумя типами:

- лямбда ( $\lambda$ ) цепи (1, 2, 3, и 4)
- каппа ( $\kappa$ ) цепи (только один тип)

Легкие цепи антител образуются В-лимфоцитами, которые экспрессируют только один класс лёгких цепей в течение жизни. Отношение каппа цепей к лямбда цепям у здоровых людей составляет приблизительно 65 к 35, причём соотношение часто изменяется при новообразованиях. Так новообразования плазматических клеток, например, в случае множественной миеломы, могут секретировать лёгкие цепи иммуноглобулинов, которые называются белками Бенс-Джонса.

### **Изменение экспрессии генов *NFkB1* и *NFkB2* при воздействии двух лекарственных форм аранозы**

В работе А. В. Пономарев, В. А. Мисюрин, А. А. Рудакова, О. С. Бурова, А. В. Мисюрин, М. А. Барышникова (2017г.) [7] показано, что липосомальные формы противоопухолевых препаратов способны преодолевать множественную лекарственную устойчивость, но механизм, с помощью которого это происходит, до сих пор не известен. Одним из химиопрепаратов, применяемых для лечения меланомы, является араноза из класса нитрозомочевины, являющийся метилирующим ДНК агентом.

Цель работы Пономарева А.В. и др.— анализ научных источников исследования воздействия лекарственных форм препарата (липосомальной и аранозы-лио) из класса нитрозомочевины аранозы на изменение экспрессии генов *NFkB1* и *NFkB2*.

Исследования проводили на 10 клеточных линиях метастатической меланомы кожи человека. Клеточные линии культивировали в среде RPMI

1640. После чего клетки поддерживали в логарифмической фазе роста постоянным пересевом культуры через 3–4 дня. Далее клетки инкубировали с различными лекарственными формами аранозы в концентрации полумаксимального ингибирования (ИК50) и пустыми липосомами в течение 24 ч.

В каждом образце был исследован уровень экспрессии генов *NFKB1* и *NFKB2*. Уровень экспрессии рассчитывали количественно относительно уровня экспрессии гена *ABL*.

Показано, что после воздействия лекарственных форм аранозы уровень экспрессии гена *NFKB2* не сильно изменялся: снижался на 20 % после инкубации с липосомальной аранозой и повышался при воздействии пустых липосом[7].

Интересные данные получены при изучении изменения экспрессии гена *NFKB1*. Липосомальная араноза вызывала многократное повышение уровня экспрессии *NFKB1*. Возможно, этот аспект следует оценить в динамике. Предполагают, что липосомальная форма позволяет доставить большее количество аранозы непосредственно в ядро клетки, где реализуется наблюдаемый эффект, тогда как араноза в свободной форме частично взаимодействует с белками цитоплазмы и в меньшем количестве доходит до ядра[7].

В исследовании Schmitt et al. [6] было показано, что NFκB1 является эффекторным белком цитотоксического ответа на повреждения ДНК через метилирование. Известно, что действие аранозы как производного нитрозомочевины реализуется через метилирование ДНК. В ответ на метилирование ДНК NFκB1 вызывает ингибирование экспрессии антиапоптотических генов, находящихся под контролем транскрипционного фактора NFκB. Также в ряде исследований показано, что опухолевые клетки отличаются от нормальных пониженной экспрессией *NFKB1*, что помогает им в выживании [4].

Таким образом, результаты различных исследований свидетельствуют о том, что 2 лекарственные формы аранозы – липосомальная и араноза-лио оказывают различное воздействие на внутриклеточные сигнальные пути в клетках метастатической меланомы. Липосомальная араноза, запускает механизмы, способствующие чувствительности клеток к терапии, через повышение экспрессии гена *NFKB1*, являющегося фактором гибели клеток в ответ на повреждение ДНК[7].

На основе вышеизложенных данных можно сделать вывод о том, что сигнальный путь NF-κB играет важную роль в регуляции клеток, экспрессии генов, влияющих на широкий спектр биологических процессов, которые включают апоптоз, воспаление, стрессовые реакции и т. д. Дисрегуляция этих механизмов приводит к злокачественной трансформации клетки и развитию опухоли [8].

Несомненно, что требуется дальнейшее исследование и поиск высокоселективных ингибиторов генов семейства *NF-κB*, обладающих

высокой специфичностью противоопухолевого действия и низкой токсичностью, которые будут широко востребованы при лечении онкологических заболеваний [2].

Несмотря на огромные успехи последних лет, нерешенных вопросов в области диагностики и лечения онкопатологий все еще намного больше, чем ответов. Все это и определяет важность углубленного изучения механизмов передачи сигналов факторов роста и роли отдельных компонентов различных сигнальных каскадов для эффективного использования уже существующих и разработки новых молекулярно-направленных противоопухолевых препаратов [5].

Исследование молекулярно-генетических аспектов регуляции экспрессии генов рецепторов факторов роста и их лигандов становится, в настоящее время, особо актуально для разработки подходов превентивной диагностики населения, комплексного обследования онкологического больного, необходимого для разработки стратегии лечения и выбора наиболее эффективных схем лекарственной терапии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Онкогенетика *brca* / Набор реагентов для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с риском развития рака молочной железы, методом ПЦР в режиме реального времени. 2018. с. 1-12.
2. Е.В. Степанова, М.Е. Абрамов, М.Р. Личиницер. Перспективы использования ингибиторов NFκB в клинической практике // Российский биотерапевтический журнал. 2010. № 4. том 9. с. 27-30.
3. Gautam Sethi, Kwang Seok Ahn and Bharat B. Aggarwal. Targeting Nuclear Factor-κB Activation Pathway by Thymoquinone: Role in Suppression of Antiapoptotic Gene Products and Enhancement of Apoptosis // *Molecular Cancer Research*. June 2008. Volume 6. Issue 6. p.1059-1070.
4. Voce D. J., Schmitt A. M., Uppal A. et al. Nfkb1 is a haploinsufficient DNA damage-specific tumor suppressor // *Medical sciences// Advances in current natural sciences*. 2015. №1. p.918-921.
5. С. Герштейн, А.М. Платова, В.П. Лetyгин, Н.Е. Кушлинский. Клинические перспективы исследования ядерного транскрипционного фактора NF-κB при раке молочной железы // *Опухоли женской репродуктивной системы* 2009. №3-4. с.39-42.
6. Schmitt A.M., Crawley C.D., Kang S., Raleigh D.R., Yu X., Wahlstrom J.S., Voce D.J., Darga T.E., Weichselbaum R.R., Yamini B. P50 (NF-κB1) is an effector protein in the cytotoxic response to DNA methylation damage // *Molecular cell*. 2011. №44(5). p. 785-796.
7. А. В. Пономарев, В. А . Мисюрин, А. А . Рудакова, О. С. Бурова, А. В . Мисюрин, М. А . Барышникова. Изменение экспрессии мРНК MDM2 и NFκB1 в клеточных линиях меланомы человека при воздействии двух

лекарственных форм аранозы // Российский биотерапевтический журнал. 2017. том. 16. с.52-58.

8. F.M. Millimouno, J. Dong, L. Yang, J. Li and X. Li. Targeting Apoptosis Pathways in Cancer and Perspectives with Natural Compounds from Mother Nature // Cancer Prevention Research. November 2014. Volume 7. Issue 11. p.1081-1107.

**НАЧАЛЬНЫЕ ЭТАПЫ РАЗМНОЖЕНИЯ *DENDROBIUM NOBILE*  
'WHITE' В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO***

**Володина Д.В.<sup>1</sup>, Лебединцева В.А.<sup>1</sup>, Зарипова А.А.<sup>2</sup>, Мухаметвафина А.А.<sup>2</sup>,  
Уразбахтина К.А.<sup>2</sup>, Шигапова А.И.<sup>2</sup>, Шигапов З.Х.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «БГПУ им.М.Акмуллы» г. Уфа

<sup>2</sup> Южно-уральский ботанический сад-институт УФИЦ РАН

Дендробиум (*Dendrobium*) – род многолетних травянистых растений семейства Орхидные. Многие представители рода и гибриды с их участием являются популярными комнатными и оранжерейными растениями, а также широко представлены в ботанических садах. Листья дендробиумов разнообразны по форме и величине. Дендробиумы относятся к симподиальным орхидеям. Это означает, что взрослые растения имеют сразу по несколько стеблей с листьями и цветочками. Стебли этих орхидей являются псевдобульбами, т.е. запасают и хранят на всякий случай влагу и питательные вещества. У основания псевдобульбы пробуждается почка, из которой начинает расти вверх новый побег, который потом покрывается листьями и цветами, а вниз начинают расти корни. Побеги орхидеи бывают гладкие, иногда ребристые, иногда цилиндрические. Почти все они утолщенные и опоясаны пленчатой тканью. Срок жизни одного побега не превышает трех – четырех лет. Дендробиумы цветут в конце зимы или весной. Соцветия могут быть одноцветковыми или многоцветковыми. Дендробиумы являются светлюбивыми орхидеями, но они не любят прямых солнечных лучей (Шосер, 1997; <https://flowersadvice.ru/komnatnye-rasteniya/orxidei/vidy-i-sorta-orxidei-dendrobium.html>).

В зависимости от условий окружающей среды почки формируют дочерние побеги или цветоносы. Расположение дочерних побегов (деток) по всему стеблю орхидеи дендробиум Нобиля способствует ее разрастанию в пышный кустик. Для того чтобы на стеблях орхидеи во множестве появились дочерние побеги (детки), необходимо постоянное оптимальное освещение.

Даже незначительное временное отступление от оптимальной освещенности может приостановить развитие почек.

Повсеместно в домашних условиях выращивают искусственные гибриды (грексы) на основе дендробиум Нобиля. Усилия селекционеров направлены на получение крупноцветковых форм (до 9-10 см в диаметре) с ярко окрашенными лепестками венчиков и большим количеством цветков в соцветии. Наибольшим успехом пользуются гибриды голландских селекционеров: *Ainsworthii*; *Wiganiae*; *Cassiope*; *Snowflake*. В настоящее время широко распространены в домашнем цветоводстве группа гибридов (*Yamamoto hybrids*), основателем которой являлся японский селекционер Yamamoto. Размножение вегетативное: псевдобульбами, черенками, детками, делением куста (Маккалистер, 2006; <https://lifeo.ru/dendrobium-nobile-uhod-doma-foto-opisanie/>).

В последние годы у цветоводов-любителей можно встретить большое разнообразие дендробиума Нобиля, поскольку уход в домашних условиях несложен, а фото, размещенные в статьях и на специализированных ресурсах, подтверждают цветное многообразие экзота. В связи повышенным спросом на орхидные растения, в частности на дендробиумы, актуально использование методов биотехнологии, позволяющих в короткие сроки получить массовый посадочный материал.

Целью работы являлось определение перспективности использования стеблевых узлов для массового размножения дендробиума *in vitro*.

В задачи исследования входило определение оптимальных условий для введения стеблевых узлов дендробиума и подбор питательных сред, способствующих получению максимального коэффициента мультипликации.

Как экспланты использовали стеблевые узлы, взятые с молодых зеленых побегов. Стерилизацию проводили согласно общепринятым методикам (Бутенко, 1964; Калинин и др. 1980; Катаева и др., 1983). В качестве стерилизующих веществ использовали 70% раствор спирта, 3% раствор перекиси водорода, 0,1% раствор диацета. Экспозиции, схемы и

результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1

**Влияние стерилизующих растворов на explanty *Dendrobium nobile* 'White'**

№ п/п	стерилизующие вещества и экспозиция, мин			число стерильных explantov, %	число зараженных explantov, %	число жизнеспособных explantov, %
	70% раствор спирта	3% раствор перекиси	0,1% раствор диоксида			
1.	1	0	3	73	17	100
2.	1	0	6	100	0	95
3.	1	3	3	95	5	100

Оптимальной оказалась схема с использованием раствора перекиси водорода, которая позволила получить 95% стерильность с максимальным процентом жизнеспособных explantov.

Explanty высаживали на два варианта питательных сред: 1) Кнудсона, 2) 1/3 MS; содержали при температуре 24 °C и 16-часовом фотопериоде. Через две недели культивирования наблюдали медленный рост почек путем активации пазушных меристем. Спустя месяц начали формироваться корни. К концу третьего месяца культивирования были получены следующие результаты (таб. 2).

Таблица 2

**Влияние на морфологические параметры *Dendrobium nobile* 'White'**

№ п/п	Питательная среда	Длина побега с листьями, см	Длина корней, см	Коэффициент мультипликации	Примечание
1.	Кнудсона	4,33±0,52	1,00±0,40	2,40±0,70	листья широкие
2.	1/3 MS	3,87±0,46	1,50±0,26	3,80±1,32	листья узкие

На указанных средах коэффициент мультипликации оказался низким, 2,4 и 3,8 шт. на explant, поэтому решили испытать другие варианты



питательных сред и изучить их влияние на коэффициент размножения *Dendrobium nobile* 'White'. Нами использованы 4 варианта питательных сред и комплексное минеральное удобрение Fertika Люкс, содержащее микроэлементы (производства Yara Suomi OY, Финляндия, расфасовано ЗАО «Фертика») разных по минеральному составу и содержанию регуляторов роста. Состав питательных сред представлен в таблице 3.

Таблица 3

**Состав питательных сред**

Компонент	Состав питательных сред, мг/л				
	Кнудсон а	Мурасиг е и Скуга	Fertika Люкс*	для симподиальных орхидей	для моноподиальных орхидей
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$	1000	-	-	-	-
$\text{NH}_4 \text{NO}_3$	-	1650	-	-	-
$\text{KNO}_3$	-	1900	-	-	-
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	-	-	-	1000	1000
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$	-	-	-	-	1400
$\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$	-	440	-	-	-
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	500	-	-	250	700
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	250	170	-	250	400
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	250	370	-	250	300
$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)$	-	-	-	250	-
$\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	25	27,8	-	20	-
$\text{Na}_2\text{ЭДТА} \times 2\text{H}_2\text{O}$	-	37,3	-	-	-
$\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7$	-	-	-	-	200
$\text{K}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$	-	-	-	-	350
$\text{ZnSO}_4$	-	-	-	1000	1000
$\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	-	8,6	-	-	-
$\text{H}_3\text{BO}_3$	-	6,2	-	1000	1000
$\text{MnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$	7,5	22,3	-	100	100
$\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	-	0,025	-	-	-
$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	-	0,025	-	30	30
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	-	0,25	-	-	-
$\text{AlCl}_3$	-	-	-	30	30
$\text{NiCl}_2 \times \text{H}_2\text{O}$	-	-	-	30	30
KJ	-	0,83	-	10	10

Глицин	2	2	-	2	2
PP	-	0,5	0,5	0,5	0,5
B <sub>6</sub>	-	0,5	0,5	0,5	0,5
B <sub>1</sub>	-	0,1	0,1	0,1	0,1
Мезоинозит	-	100	-	100	100
Сахароза	20	20	20	10	20
Глюкоза	-	-	-	10	-
БАП	0,25	3,0	-	1,5	0,5
ИМК	-	2,0	-	1,0	-
Аскорбиновая кислота	-	-	-	-	5,0
Агар-агар	6	6	6	6	6
Ph среды	4,8-5,2	5,6-5,8	5,7	5,3	5,3

\*- Fertika Люкс комплексное минеральное удобрение, содержащее микроэлементы производства Yara Suomi OY, Финляндия, расфасовано ЗАО «Фертика», брали 1,5 г на литр среды

Через 2,5 месяца были определены коэффициент мультипликации (таб. 4) и типы морфогенетических процессов (рис. 1-5) на эксплантах *Dendrobium nobile* 'White'.

На эксплантах было отмечено четыре типа морфогенеза: каллусогенез, прямой органогенез (адвентивные почки образуются непосредственно на экспланте), активация пазушных меристем и ризогенез.

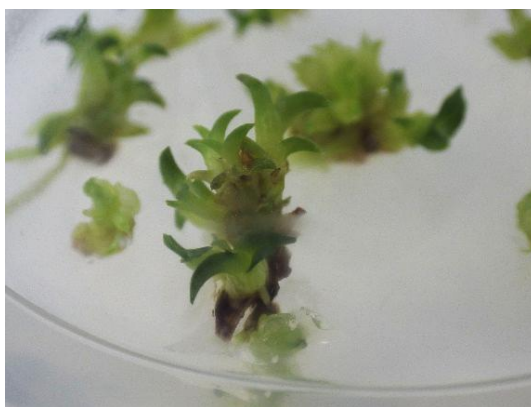
Таблица 4

**Влияние состава питательной среды на мультипликацию *Dendrobium nobile* 'White'**

№ п/п	Питательная среда	Регуляторы роста, мг/л		Мультипликация, шт.
		БАП	ИМК	
1.	Кнудсона	0,25	-	4,77 ± 2,68
2.	Мурасиге и Скуга	3,0	2,0	<b>10,04 ± 7,34</b>
3.	Fertika Люкс	-	-	4,13 ± 2,23
4.	для симподиальных орхидей	1,5	1,0	5,55 ± 3,27
5.	для моноподиальных орхидей	0,25	-	<b>13,45 ± 6,55</b>

Анализируя полученные данные, можно предположить, что наличие в питательной среде регуляторов роста не гарантирует получение максимального коэффициента мультипликации. Важную роль играет минеральный состав питательной среды.

Несмотря на то, что среда Кнудсона самая бедная по минеральному составу среди испытанных сред, наблюдались морфогенетические процессы на эксплантах *Dendrobium nobile* 'White'. На этой среде наблюдался рост побегов активаций пазушных меристем, отмечалось небольшое корнеобразование, в единичных случаях формировался каллус (рис. 1). Каллус образовывался морфогенный глобулярный зеленого цвета, на нем намечалось образование почек *de novo*.



**Рис. 1. Морфогенез у эксплантов *Dendrobium nobile* 'White' на питательной среде по прописи Кнудсона.**

Экспланты на питательной среде по прописи Мурасиге и Скуга отмечались формированием адвентивных почек непосредственно из тканей узлов с коэффициентом мультипликации равным 10 (рис. 2), минуя стадию каллусообразования. Подросшие побеги можно отделять и пересаживать на укоренение. На данной питательной среде экспланты выделяли в среду фенольные соединения, которые окрашивали ее розовато-коричневым цветом, что требовало частой пересадки на свежую среду.



**Рис. 2. Морфогенез у эксплантов *Dendrobium nobile* 'White' на питательной среде по прописи Мурасиге и Скуга**

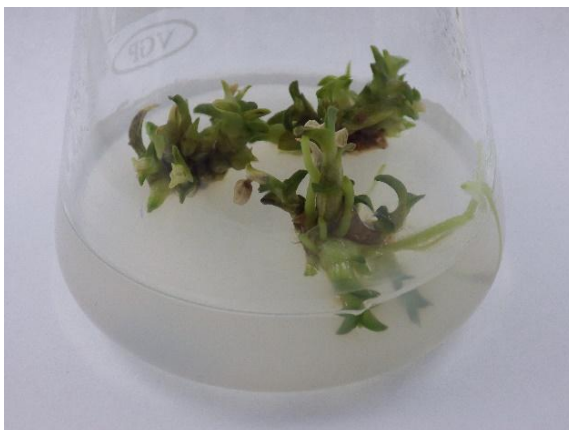
Питательная среда на основе комплексного минерального раствора Fertika Люкс способствовала активации пазушных меристем с последующим корнеобразованием (рис. 3). Только в этом варианте через 2,5 месяца образовались корнесобственные растения-регенеранты, которые были готовы к переводу в условия *ex vitro*. Хотя для увеличения числа побегов (мультипликации) эта среда не благоприятная, т.к. на ней отмечался самый низкий коэффициент размножения из всех испытанных питательных сред, благодаря тому, что пропускаются этапы элонгации и укоренения побегов, можно сократить цикл размножения и получать растения-регенеранты за более короткие сроки.



**Рис. 3. Морфогенез у эксплантов *Dendrobium nobile* 'White' на питательной среде на основе комплексного минерального раствора Fertika Люкс.**

Морфогенез на питательной среде для симподиальных орхидей проявлялся в активации пазушных меристем с образованием небольшого

числа адвентивных почек. Наблюдалось единичное образование корней (рис.4).



**Рис. 4. Морфогенез у эксплантов *Dendrobium nobile* 'White' на питательной среде для симподиальных орхидей**

На питательной среде для моноподиальных орхидей морфогенез шел по пути формирования адвентивных почек в большом количестве. Максимальный коэффициент мультипликации отмечен именно на этой питательной среде. Адвентивные почки длительно не развивались, к концу 3-го месяца начиналось пассивное образование листьев (рис. 5).



**Рис. 5. Морфогенез у эксплантов *Dendrobium nobile* 'White' на питательной среде для моноподиальных орхидей.**

Таким образом, подобрана схема стерилизации оптимальная для получения стерильной культуры с максимальной жизнеспособностью эксплантов до 95%. Показана эффективность использования стеблевых узлов *Dendrobium nobile* 'White' в качестве эксплантов для массового размножения с коэффициентом мультипликации равным  $13,45 \pm 6,55$  на питательной среде

для моноподиальных орхидей. Питательную среду на основе комплексного минерального раствора Fertika Люкс можно рекомендовать для элонгации и укоренения размноженных побегов.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. М.: Наука, 1964. 272. С.
2. Калинин В.Ф., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. Киев: Наукова думка, 1980. 488 с.
3. Катаева Н.В., Бутенко Р.Г. Клональное микроразмножение растений. М.: Наука, 1983. 96 с.
4. Маккалистер Р. Самые неприхотливые орхидеи. / СПб: ООО «СЗКЭО Кристалл», 2006. 144 с.
5. Шосер Г. Орхидеи. Выращивание в домашних условиях, разведение и уход. / Крань, Словения: «Гореньски Тиск», 1997. 128 с.
6. <https://flowersadvice.ru/komnatnye-rasteniya/orxidei/vidy-i-sorta-orxidei-dendrobium.html>
7. <https://lifeo.ru/dendrobium-nobile-uhod-doma-foto-opisanie/>

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТАБИЛЬНОСТИ РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ

Володина Д.В.<sup>1</sup>, Лебединцева В.А.<sup>1</sup>, Зарипова А.А.<sup>2</sup>, Мухаметвафина А.А.<sup>2</sup>,  
Уразбахтина К.А.<sup>2</sup>, Шигапова А.И.<sup>2</sup>, Шигапов З.Х.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «БГПУ им.М.Акумлы» г. Уфа

<sup>2</sup> Южно-Уральский ботанический сад-институт УФИЦ РАН.

### Введение

Молекулярное маркирование находит широкое применение как в фундаментальной генетике, так и в прикладных отраслях биологической науки. Одним из его приложений является паспортизация ценных генотипов. Молекулярные маркеры (ММ), основанные на применении ПЦР являются наиболее активно используемыми в силу простоты и дешевизны метода [1]. Одним из наиболее распространенных из них является RAPD (random amplified polymorphic DNA — случайная амплифицированная полиморфная ДНК). Метод не требует знаний последовательности ДНК-мишени. RAPD-маркеры генерируются амплификацией случайных сегментов ДНК при использовании одиночных праймеров любой последовательности [2]. Образующиеся ПЦР-продукты являются генотип-специфичными и могут быть легко разделены в агарозном геле. Этот метод нерадиоактивный, требует нанограммы ДНК и применим к широкому спектру видов. Как правило, в работе используют десятинуклеотидные праймеры, содержащие более 50 % GC. Однако, можно использовать и более протяженные праймеры, но при этом температура их отжига должна быть значительно ниже оптимальной. Для увеличения количества комбинаций ПЦР можно использовать не отдельные праймеры, а комбинировать их в пары. «Двупраймерный» RAPD дает больше мелких фрагментов, чем стандартная методика; при этом больше половины синтезированных продуктов отличаются от «однопраймерного» RAPD [3,4].

### Результаты и обсуждения

На сегодняшний день исследованы такие виды растений, как: Лимон комнатный (*Citrus limon*) [5], Каланхое Дагремона (*Bryophyllum daigremontianum*) [6], Береза карельская (*Betula pendula var. carelica*) [4], Ель обыкновенная (*Picea abies L.*) [7], Ель ситхинская (*Picea sitchensis*) [8], Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris*) [9], Ясень обыкновенный (*Fraxinus excelsior*) [10], Яровая мягкая пшеница (*Triticum aestivum*) [11].

С развитием молекулярно-генетических методов в биотехнологии растений находит широкое применение паспортизация генных генотипом, а также генетическая идентификация при микроклональном размножении.

В настоящее время наиболее перспективными являются методы идентификации, основанные на использовании ДНК маркеров. Признанное лидерство принадлежит SSR маркерам (Simple Sequence Repeats)[10,12]. Несомненными достоинствами микросателлитного анализа являются: высокий индивидуальный полиморфизм, кодоминантный тип наследования, высокая воспроизводимость метода. Сдерживающим фактором применения данного вида молекулярного маркера является более высокая стоимость. Наиболее доступными в техническом плане являются ДНК маркеры направленные на изучение анонимного полиморфизма длин амплифицированных фрагментов ДНК (Random Amplified Polimorphic DNA (RADP) и Inter Simple Sequence Repeats (ISSR))[13]. Доступность RADP обусловлена тем, что существует огромное количество RADP прамеров и, как правило, трудностей по подбору высокополиморфных маркеров не возникает. Данный вид маркера успешно был использован для идентификации древесных видов [7].

Анализируя работы по генетической идентификации клонов рода Береза на практике используется метод «Двупраймерного» RAPD, который используется для увеличения количества комбинаций мелких фрагментов и больше половины синтезированных продуктов отличаются от стандартных методик. Также широко используется метод «полуслучайных маркеров» (semi-RAPD), который отличается полуслучайной последовательностью праймеров.

При изучении клонов карельской березы [4], при помощи ПЦР с полуслучайными праймерами» получены данные, которые свидетельствуют о возможности паспортизации клонов карельской березы методом ПЦР с полуслучайными 12- и 15-членными праймерами – semi-RAPD, выявлены праймеры, дающие наиболее высокий процент полиморфных маркеров. Это комбинации праймеров такие как:

- SR13-SR14,
- SR17-SR19.

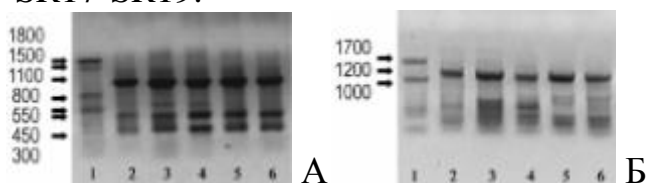


Рис.1. Результаты ПЦР с комбинациями праймеров SR13-SR14 (А), SR17-SR19 (Б). Расположение продуктов ПЦР по дорожкам: 1.Нормальное растение В. Pendula, 2.Растение В. Pubescens, 3-6.Клоны карельской березы, находящиеся в пробирочной культуре [4].

Также метод маркирования генетического материала путем амплификации ДНК с произвольными праймерами широко используется для



идентификации молекулярно-генетических основ межсортовых отличий рода *Citrus*.

В работе над изучением межсортовых отличий рода *Citrus* было установлено, что каждый из сортов имеет свой определенный спектр амплифицируемых RAPD-продуктов, отличающийся от других количеством фрагментов, их размером и степенью выраженности [5], что доказывает уникальность сортов лимона уфимской селекции, выведенных под руководством Садыковой Ф.В.

Другим важным аспектом является возможность использования ДНК-технологий в качестве доказательства немутагенности факторов культивирования растений *in vitro*, впервые показанная при андрогенезе у яровой мягкой пшеницы *in vitro* [11].

### **Заключение**

Таким образом, RAPD-анализ можно и нужно использовать для выявления и генетической стабильности, и генетической вариабельности при микроклональном размножении растений любых видов.

Лаборатория генетики и биотехнологии растений Южно-Уральского ботанического сада-института УФИЦ РАН планирует исследовать генетические характеристики клонов березы Далекарлийской (*Betula dalecarlica*), березы карельской (*Betula pendula* var. *carelica*) и клонов дендробиум нобиле (*Dendrobium nobile*) сорта 'White'.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Гостимский С. А., Кокаева З. Г., Коновалов Ф. А. Изучение организации и изменчивости генома растений с помощью молекулярных маркеров // Генетика. 2005 г., Т. 41. С. 480–492.
2. Whilliams J. G. K., Kubelik A. R., Livak K. J. et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. // NAR. 1990, Vol. 18, P. 6531–6535.
3. Welsh J., McClelland. Genomic fingerprinting genomes using arbitrary primed PCR and matrix of pairwise combinations of primers // NAR. 1991, Vol. 19, P. 5275–5279.
4. Матвеева Т.В., Машкина О.С., Исаков Ю.Н., Лутова Л.А. Молекулярная паспортизация клонов карельской березы при помощи ПЦР с полуслучайными праймерами // Экологическая генетика – Санкт Петербургский государственный университет, 2008 г. – Том VI. - №3. – С.18-23.
5. Гильмаева А.В., Филиппова Д.С., Абрамов С.Н., Горбунова В.Ю., Садыкова Ф.В. Молекулярно-генетические основы межсортовых отличий рода *Citrus* // Труды научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых посвященный открытию молекулярной структуры ДНК «День ДНК-2016», 25

апреля. – Уфа: Изд-во БГПУ, 2016. – С.45-48.

6. Геращенко Г.А., Горбунова В.А., Абрамов С.Н., Рожнова Н.А., Гильмаева А.В. Молекулярно-генетический анализ начальных этапов каллусогенеза *in vitro* у *Vryophyllum daigremontianum* // Известия Самарского научного центра Российской академии наук, 2015 – Том 15. - №3. – С.1583-1586.

7. Шейкина О.В., Прохорова А.А., Новиков П.С., Криворотова Т.Н. Разработка методики идентификации клонов плюсовых деревьев ели обыкновенной (*Picea abies* L.) с использованием ISSR маркеров // Научный журнал КубГАУ, №83(09), 2012г.

8. J. E. Cottrell, I. M. S. White The use of isozyme genetic markers to estimate the rate of outcrossing in a sitka spruce (*Picea sitchensis* (Bong.) Carr.) seed orchard in Scotland // *New Forest*. – 1995. – № 10. – P. 111-122.

9. Ивановская С.И., Химченко Е.Н., Новикова О.М. Молекулярно-генетический анализ *Pinus sylvestris* на лесосеменных плантациях // Проблемы лесоведения и лесоводства: Сб. науч. Трудов ИЛ НАН Беларуси. Вып. 67. – Гомель: ИЛ НАН Белоруссии, 2007. – С. 155-162. 17. Cottrell, J. E. The use of isozyme genetic markers

10. L.R. Nielsen, L.V. McKinney, D.C. Jensen et al. Identity verification of trees in the 61 years old common ash (*Fraxinus excelsior*) clonal seed orchard FP202 (Birkemarken, Humlebaek) by DNA genotyping with microsatellite markers // *Forest & Landscape Working Papers*. – 2009. - № 34. – P. 37.

11. Геращенко Г.А., Горбунова В.Ю., Зарянова Л.Д., Рожнова Н.А., Вахитов В.А. Молекулярно-генетические особенности организации генома при эмбиогенезе *in vitro* у яровой мягкой пшеницы // *Генетика* 2000. Т.36..№3.

12. Vendramin G.G., Hansen O.K. Molecular markers for characterizing diversity in forest trees // *Conservation and management of forest genetic resources in Europe*. Zvolen, 2005.-P.337-368.

13. Куцев, М.Г. Фрагментный анализ ДНК растений: RAPD, DAF ISSR // Барнаул: АРТИКА, 2009. – 164с.

## АНАЛИЗ АССОЦИАЦИИ ГЕНА СЕМЕЙСТВА ЯДЕРНЫХ РЕЦЕПТОРОВ, АКТИВИРУЕМЫХ ПРОЛИФЕРАТОРАМИ ПЕРОКСИСОМ, С РАЗЛИЧНЫМИ ТИПАМИ ПИЩЕВОГО ПОВЕДЕНИЯ

Габдрахманова В.Ф., Воробьева Е.В.

ФГБОУ ВО «БГПУ им. М. Акмуллы»

**Ключевые слова:** пищевое поведение, нутригенетика, PPARG, Голландский опросник пищевого поведения.

**Краткая аннотация.** Выполнен анализ вклада гена *PPARG* в формирование пищевого поведения у студентов БГПУ им. Акмуллы.

**Введение.** Под пищевым поведением (ПП) понимается ценностное отношение к пище и ее приему, образ питания в различных условиях. То есть, пищевое поведение включает в себя установки, формы поведения, включающие режим, темп приема пищи, предпочтительность потребления отдельных видов продуктов, побудительные причины и поводы к приему пищи, субъективное отношение к процессу питания, привычки и эмоции, касающиеся еды, являющиеся для каждого человека индивидуальными [1, 2].

Пищевые предпочтения играют важную роль в определении качества жизни человека. В настоящее время всё чаще рассматриваются вопросы связи пищевого поведения с предрасположенностью к формированию большинства соматических болезней среднего возраста, в том числе, хронических, включая онкозаболевания.

Исследование взаимосвязи генетических особенностей индивида и подходящего для него рациона питания явилось основой нового направления генетики – нутригенетики. Она изучает влияние генотипа на развитие связанных с метаболизмом заболеваний.

Многочисленные исследования показали, что пищевые предпочтения человека генетически обусловлены. Но также не стоит забывать о том, что выбор пищи определен и средовым фактором. Это говорит о необходимости дальнейшей работы в этой области [3, 4].

Нарушение пищевого поведения в современном мире приобретает все большее распространение среди населения в связи с появлением большого количества новых видов продуктов с привлекающей внимание упаковкой, часто рекламируемых в СМИ.

Актуальность проблемы нарушений пищевого поведения в наше время определяется распространением и ростом числа людей с избыточной массой тела, ожирением, и, вследствие, ухудшением их здоровья, появлением хронических неинфекционных заболеваний [5].

Ключевым звеном сложной системы, контролирующей процессы

питания и пищевого поведения организма, является гуморальная регуляция. Главная роль в этом принадлежит гастроинтестинальные гормоны, в числе которых присутствуют адипокины, секретируемые адипоцитами [6, 7, 8, 9].

Открытия в области молекулярной биологии и физиологии привели к пересмотру функций и роли адипоцитов в человеческом организме. Основной их функцией, кроме запасания энергии, является секреция гормонов (адипокинов) в кровь. Известно, что их функции разнообразны и включают регуляцию пищевого поведения, углеводного обмена, атеросклероза, тромбообразования и пр. На уровне ЦНС происходит взаимодействие между адипокинами и гормонами, регулирующими пищевое поведение [10].

Важную роль в адипогенезе играет ген *PPARG*, кодирующий рецептор ядерных гормонов, внутриклеточный транскрипционный фактор [11]. Ген *PPARG* локализован на коротком плече 3 хромосомы в положении 25.2 [12]. Ген кодирует рецептор, активирующий пролиферацию пероксисом, гамма (*PPAR $\gamma$* ), играющий важную роль не только в адипогенезе, но и в глюкозном и жировом гомеостазе. Наибольшая экспрессия наблюдается в жировой ткани [11].

Наиболее распространенным полиморфным вариантом гена *PPARG* человека является замена Pro12Ala (*P12A*, rs1801282). Он представляет собой замену С на G в 34 положении, в результате которой возникает миссенс мутация: двенадцатая аминокислота изоформы *PPAR $\gamma$ 2* пролин меняется на аланин [11]. Мутация приводит к снижению способности фактора *PPARG2* связываться с промоторами активируемых им генов. Понижение активности *PPARG2*, ведет к усилению чувствительности к инсулину [13].

В связи с этим целью настоящего исследования был анализ взаимосвязи полиморфного варианта в гене *PPARG* с различными типами пищевого поведения у студентов БГПУ им. Акмуллы.

**Материалы и методы.** В исследовании приняли участие 97 человек, для которых был определён их тип пищевого поведения. Для качественной и количественной оценки расстройств ПП был использован созданный в 1986 году голландскими психологами Голландский опросник пищевого поведения (англ. Dutch Eating Behavior Questionnaire, сокр. DEBQ), который определяет по трем шкалам такие типы ПП, как ограничительный, эмоциогенный и экстернальный. Нормальными значениями ограничительного, эмоциогенного и экстернального ПП для людей с нормальным весом являются 2,4, 1,8 и 2,7 балла соответственно [14].

Образцы ДНК были выделены из цельной венозной крови методом фенольно-хлороформной экстракции. Амплификация изучаемого локуса проводилась при помощи полимеразной цепной реакции. Для генотипирования индивидов продукты амплификации подвергались рестрикции с последующим электрофоретическим разделением в полиакриламидном геле.

Анализ распределения частот генотипов и аллелей в двух группах был

произведен с помощью статистической обработки данных. Для показателей проводились расчеты с распределением по Харди-Вайнбергу. Для оценки возможности случайного отклонения применили метод  $\chi^2$ , рассчитанный при помощи таблицы сопряженности  $2 \times 2$ .

**Результаты и обсуждение.** По результатам Голландского опросника пищевого поведения [14] вся выборка разделилась на 8 групп: индивиды с нормальным ПП, с ограничительным типом ПП, с эмоциогенным типом ПП, с экстернальным типом ПП, с комбинацией ограничительного и эмоциогенного типов ПП, с комбинацией ограничительного и экстернального типов ПП, с комбинацией эмоциогенного и экстернального типов ПП и с сочетанием всех 3 типов ПП. Нарушения пищевого поведения выявлены в различных комбинациях у 78 человек (80,4%).

Существуют 3 основных типа нарушений пищевого поведения [14,15,16]. Экстернальное, в основе которого лежит медленно формирующееся чувство насыщения, стимулом к приему пищи у таких людей являются внешние раздражители, а не внутренние физиологические факторы, например, внешний вид пищи или человека, принимающего пищу, реклама продуктов питания. Повышенная реакция на внешние стимулы присутствует и у здоровых людей, но отличие заключается в количестве времени, прошедшем от последнего приема пищи.

Эмоциогенный тип пищевого поведения характеризуется тем, что позывом к приему пищи является эмоциональный дискомфорт, человек ест, потому что неспокоен, тревожен, раздражен, обижен и т. д. Человек «заедает» свои проблемы, еда становится лекарством, от которого он успокаивается.

Ограничительный тип пищевого поведения характеризуется избыточными, бессистемными, строгими диетами, сменяющимися периодами переедания, вследствие чего появляется сильный психологический дискомфорт, приводящий в конечном итоге к тяжелой диетической депрессии. Первый тип наиболее характерен для детей более раннего возраста, второй и третий чаще формируются в школьном возрасте или у взрослых [17, 18].

Для дальнейшего исследования выборка была разделена на 2 группы: индивиды с нормальным пищевым поведением и с его нарушениями.

По полиморфному локусу *C34G* в гене *PPARG* в группе студентов было обнаружено 2 аллеля и 3 генотипа: *C/C* - гомозиготы по нормальному аллелю, *C/G* - гетерозиготы, *G/G* - гомозиготы по мутантному аллелю.

Таблица 1

**Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного варианта *C34G* гена *PPARG* в группе с нормальным ПП**

Генотипы/аллели	n		p <sub>i</sub> , %		$\chi^2$
	экспериментальное	теоретическое	экспериментальная	теоретическая	
<i>C/C</i>	35	35	89,74±0,0486	89,74±0,0486	0

<i>C/G</i>	4	4	10,26±0,0486	10,26±0,0486	
<i>G/G</i>	0	0	0	0	
* <i>C</i>	74	74	94,87±0,0249 7	86,89±0,0306	0
* <i>G</i>	4	4	5,13±0,02497	13,11±0,0306	

Анализ распределения частот генотипов полиморфного варианта *C34G* гена *PPARG* выявил, что выборка соответствует закону Харди-Вайнберга, то есть является равновесной, так как достоверные различия по частотам генотипов не были выявлены ( $\chi^2=0<5,99$ ) (табл. 1). Частота наблюдаемых генотипов в выборке составила: *C/C* — 89,74%, *C/G* — 10,26%, *G/G* — 0%.

При сравнении наблюдаемых частот аллелей по данному полиморфизму с ожидаемыми, было установлено, что выборка соответствует распределению по Харди-Вайнбергу, то есть является равновесной, так как достоверные различия по частоте встречаемости аллелей не были выявлены ( $\chi^2=0<3,84$ ). Частота аллеля \**C* в группе составила 94,87%, аллеля \**G* — 5,13%.

Таблица 2

**Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного варианта *C34G* гена *PPARG* в группе с нарушениями ПП**

Генотипы/аллели	n		p <sub>i</sub> , %		$\chi^2$
	экспериментальное	теоретическое	экспериментальная	теоретическая	
<i>C/C</i>	27	28	69,23±0,0739	71,79±0,0721	0,13
<i>C/G</i>	11	10	28,21±0,0721	25,64±0,0699	
<i>G/G</i>	1	1	2,56±0,0253	2,56±0,02531	
* <i>C</i>	65	66	83,33±0,0422	84,62±0,0409	0,098
* <i>G</i>	13	12	16,67±0,0422	15,38±0,0409	

Анализ распределения частот генотипов полиморфного варианта *C34G* гена *PPARG* выявил, что выборка соответствует закону Харди-Вайнберга, то есть является равновесной, так как достоверные различия по частотам генотипов не были выявлены ( $\chi^2=0,13<5,99$ ) (табл. 2). Частота наблюдаемых генотипов в выборке составила: *C/C* — 69,23%, *C/G* — 28,21%, *G/G* — 2,56%.

При сравнении наблюдаемых частот аллелей по данному полиморфизму с ожидаемыми, было установлено, что выборка соответствует распределению по Харди-Вайнбергу, то есть является равновесной, так как достоверные различия по частоте встречаемости аллелей не были выявлены

( $\chi^2=0,098<3,84$ ). Частота аллеля \*C в группе составила 83,33%, аллеля \*G — 16,67%.

В результате попарного сравнения анализируемых выборок по гену *PPARG* было выявлено статистически значимое повышение частоты гомозиготного генотипа C/C и аллеля \*C в группе индивидов с нормальным ПП ( $p=0,0497$ ,  $\chi^2=3,8533$ ;  $p=0,04$ ,  $\chi^2=4,2256$  соответственно) (табл. 3).

Таблица 3

**Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного варианта C34G гена *PPARG* в группах с нормальным ПП и с нарушениями ПП**

Ген	Полиморфный вариант	Генотип / аллель	Группа с нормальным ПП		Группа с нарушениями ПП		p ( $\chi^2$ )
			n	$p_i \pm s_p$ %	n	$p_i \pm s_p$ %	
<i>PPARG</i>	C34G	C/C	35	89,74±0,04	27	69,23±0,07	<b>0,0497</b> <b>(3,8533)</b> 0,0848 (2,9719) 1,0005 (0,0005) <b>0,04 (4,2256)</b>
		C/G	4	8	11	4	
		G/G	0	10,26±0,04	1	28,2±0,072	
		*C	74	8	65	2,56±0,025	
		*G	4	0	13	83,33±0,04	
					94,87±0,02		
			5		16,67±0,04		
				5,13±0,025		2	

Результаты исследования показали, что у опрошенных студентов наблюдались все комбинации различных типов пищевого поведения, а также выявили возможную роль полиморфизма C34G гена *PPARG* в формировании пищевого поведения, и предрасположенность носителей генотипа C/C и аллеля \*C к нормальному пищевому поведению.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Малкина-Пых И. Г. *Терапия пищевого поведения*. М.: Эксмо, 2007. С. 5.
2. Матусевич М.С. Особенности формирования пищевых нарушений у подростков // Молодой ученый. — 2013. — №12. — С. 814-817.
3. Тимошина И. А., Филипцова О. В. Ассоциации пищевых предпочтений у сибсов в украинских популяциях // молодые ученые в решении актуальных проблем науки. — 2014. — С. 182-184.
4. Новиков П.В. Нутригенетика и нутригеномика – новые направления в нутрициологии в постгеномный период // Вопросы детской диетологии. 2012. Т. 1. С. 45.
5. Проскуракова Л.А. Особенности пищевого поведения и виды его нарушений у студентов разных сроков обучения // рациональное питание, пищевые добавки и биостимуляторы. — 2016. — № 2 — С. 118-124.

6. Манцорос Х. С. Современные представления о роли лептина в развитии ожирения и связанных с ним заболеваний человека //Международ. журн. мед. практики. – 2000. – Т. 9. – С. 57-67.
7. Cummings D. E., Overduin J. Gastrointestinal regulation of food intake //The Journal of clinical investigation. – 2007. – Т. 117. – №. 1. – С. 13-23.
8. Ritter R. C. Gastrointestinal mechanisms of satiation for food //Physiology & Behavior. – 2004. – Т. 81. – №. 2. – С. 249-273.
9. Takaya K. et al. Ghrelin strongly stimulates growth hormone release in humans //The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 2000. – Т. 85. – №. 12. – С. 4908-4911.
10. Матосян К.А., Пустовалов Д.А., Оранская А.Н., Мкртумян А.М., Гуревич К.Г. Молекулярные основы регуляции пищевого поведения//Молекулярная медицина. — 2015. — №1 — С. 3-11.
11. Tanja Dujic et al. Effects of the PPAR $\gamma$  gene polymorphisms on markers of obesity and the metabolic syndrome in bosnian subjects //J Med Biochem. – 2014. – Т. 33. – №. 4. – С. 323-332.
12. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
13. Дроздовская С. Б. и др. Полиморфизм гена  $\gamma$  рецептора, активирующего пролиферацию пероксисом (PPARG) как маркер предрасположенности к занятиям спортом //Педагогика, психология и медико-биологические проблемы физического воспитания и спорта. – 2012. – №. 4.
14. Van Strien T. The Dutch eating behavior questionnaire (DEBQ) for assessment of restrained, emotional and external eating behavior / T. Van Strien, J.E.R. Frijters, G.P.A. Bergers, P.B. Defares // Int. J. Eating Disord. – 1986. – Vol. 2. – P.188-204.
15. The Eating Disorders // Ed. A. James Giannini, Andrew E. Slaby. - 1993. - SpringerVerlag New York Inc. - 283 p.
16. Wurtman J.J. Carbohydrate craving a disorder of food intake and mood.// The psychobiology of bulimic // Ed. by J.I.Hudson, H.G.Pope. Washington. D.C.A.P.P /1977: 229-239.
17. Вознесенская Т.Г. Расстройства пищевого поведения при ожирении и их коррекция // Ожирение и метаболизм. – 2004. – №. 2 — С. 2-3.
18. Никитина И. Л., Ходулева Ю. Н. Роль регуляции пищевого поведения в предупреждении и коррекции ожирения у детей //Трансляционная медицина. – 2013. – №. 3. – С. 47-54.



## РОЛЬ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА ОКСИТОЦИНОВОГО РЕЦЕПТОРА (*OXTR*) В РАЗВИТИИ АГРЕССИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ

Давыдова Ю.Д.<sup>1</sup>., Казанцева А.В.<sup>1</sup>., Еникеева Р.Ф.<sup>1</sup>., Хуснутдинова Э.К.<sup>1</sup>., Тахирова З.Р.<sup>2</sup>., Малых С.Б.<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>ИБГ УФИЦ РАН, Уфа

<sup>2</sup>Институт социально-гуманитарных наук ЮУрГУ, Челябинск

<sup>3</sup>Психологический институт РАО, Москва

**Ключевые слова:** агрессия, агрессивное поведение, окситоцин, *OXTR*

**Краткая аннотация.** Проведена оценка основного эффекта полиморфных локусов гена рецептора окситоцина (*OXTR*) (*rs53576*, *rs2254298* и *rs2228485*) у 257 здоровых индивидов (мужчин и женщин) разной этнической принадлежности на формирование индивидуальных различий по показателям агрессивности. В результате исследования была выявлена ассоциация аллеля \*С полиморфного локуса *rs2228485* с пониженным уровнем агрессивности. Полученные данные свидетельствуют о том, что гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система (в частности, ген *OXTR*) вовлечена в формирование агрессивных черт личности.

**Введение.** В настоящее время понимание механизмов нормального и патологического поведения человека представляет собой актуальную проблему современной нейробиологии и медицины. Агрессивное поведение (АП) является неотъемлемой частью человеческой психики, однако стрессовые воздействия окружающей среды и предрасполагающие психические расстройства могут служить причиной развития повышенной агрессивности, которая, в свою очередь, рассматривается как биологическая основа антисоциального поведения в человеческом обществе [1]. Немаловажное значение в развитии АП также принадлежит наследственным факторам, вклад которых в развитие признака может достигать 81% для отдельных фенотипов агрессивности [2, 3].

Согласно литературным данным, важным звеном, участвующим в регуляции психических функций, является гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система, ключевая роль в которой принадлежит нейрогипофизу. Одним из основных гормонов нейрогипофиза является окситоцин, который помимо влияния на гладкую мускулатуру матки, молочных желез и семявыводящих протоков, оказывает воздействие и на психологические функции индивида. Например, в психиатрической практике отмечено влияние окситоцина на появление галлюцинаций, развитие расстройств аутистического спектра (РАС) и ухудшение когнитивных процессов [4].

Активность окситоцина в мозге опосредуется активацией окситоциновых рецепторов (OXTR), поэтому предполагается, что генетические вариации в гене *OXTR* (3p25.3) в определенной степени могут отвечать за формирование личностных черт, в том числе черт агрессивности.

Ген *OXTR* охватывает регион размером 17 Кб и имеет в своей структуре 4 экзона, из которых 1 и 2 экзоны соответствуют 5'-нетранслируемой области, а 3 интрон является самым протяжённым в гене и охватывает область в 12 Кб [5]. Исследования, проведённые на модельных объектах (мыши линии C57BL/6J), продемонстрировали, что нокаут гена *OXTR* у самцов приводил к значительному нарушению социального поведения, а также развитию повышенной агрессии [6]. Исходя из этого, можно предположить, что ген *OXTR* является важным геном-кандидатом при изучении молекулярно-генетических механизмов формирования АП как у животных, так и у человека.

Ген *OXTR* характеризуется большим количеством полиморфных локусов. В нашем анализе были рассмотрены три из них: *rs53576*, *rs2254298* и *rs2228485*. В ряде исследований показано, что локусы *rs53576* (*5503C>T*) и *rs2254298* (*7646C>T*), локализованные в 3 интроне, ассоциированы с РАС [7], эмоциональной устойчивостью [8], расстройствами пищевого поведения и нервной анорексией [9, 10]. Значительно меньше исследований посвящено изучению локуса *rs2228485* (*171C>T*), расположенного во 2 экзоне гена *OXTR*. Известно, что данный локус ассоциирован с особенностями социального познания у индивидов с РАС [11], что делает этот локус интересным для дальнейших исследований.

**Целью данного исследования** является оценка основного эффекта полиморфных локусов *rs53576*, *rs2254298* и *rs2228485* гена *OXTR* в развитии АП у студентов.

**Материалы и методы исследования.** В исследовании приняли участие 257 индивидов без наследственной отягощенности психическими заболеваниями из Республики Башкортостан и Удмуртской Республики в возрасте 18-22 лет (79% женщин). От всех участников было получено добровольное согласие на участие в данном исследовании. Для определения уровня агрессивности была использована шкала агрессии Басса-Перри (Buss-Perry Aggression Questionnaire – ВРАQ-24). В соответствии с нормативными значениями агрессивности по тесту (68.85 баллов,  $\sigma = 13.15$  для мужчин; 66.97 баллов,  $\sigma = 13.44$  для женщин) испытуемые были разделены на подгруппы с низким, средним и высоким уровнем агрессивности.

ДНК выделена из лимфоцитов периферической крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование полиморфных локусов *rs53576*, *rs2254298* и *rs2228485* гена *OXTR* осуществляли с помощью амплификации и флуоресцентной детекции на амплификаторе «CFX-96» (BioRad, США) и наборов ООО «ТестГен» (г. Ульяновск, Россия).

Для оценки основного эффекта полиморфных локусов в вариации уровня агрессивности был проведен статистический анализ в программах PLINK v.1.07, SNPStats [12] и HaploView.

**Результаты и обсуждение.** По результатам проведенного генотипирования распределение частот аллелей и генотипов полиморфных локусов *rs53576*, *rs2254298* и *rs2228485* гена *OXTR* соответствовало распределению Харди-Вайнберга ( $p = 0.43$  для *rs53576*;  $p = 0.71$  для *rs2254298*;  $p = 1.00$  для *rs2228485*). Значения шкал психологического опросника (BPAQ-24) в изученной выборке подчинялись закону нормального распределения.

В результате логистического регрессионного анализа выявлена ассоциация полиморфного локуса *rs2228485* гена *OXTR* с индивидуальными различиями в уровне агрессивности. Установлено, что у индивидов с аллелем *rs2228485*\*C в гене *OXTR* статистически значимо чаще наблюдается пониженный уровень агрессивности ( $p = 0.01$ ; OR = 1.77; 95%CI 1.10-2.84). Статистически значимых различий в распределении частот генотипов и аллелей других полиморфных локусов между группами индивидов с разным уровнем агрессивности, в том числе с учётом половой принадлежности индивидов, не было выявлено ( $p > 0.05$ ).

Результаты логистической регрессии для четырёх генетических моделей полиморфного локуса *rs2228485* представлены в таблице.

**Таблица**

**Анализ ассоциации генетических моделей полиморфного локуса *rs2228485* гена *OXTR* с низким уровнем агрессивности**

Модель	OR (95%CI)	p	AIC	
Аддитивная	*T/*T	1.00	0.05	302.5
	*T/*C	1.67 (1.23-2.99)		
	*C/*C	4.02 (1.92-17.53)		
Доминантная	*T/*T	1.00	<b>0.03</b>	<b>301.9</b>
	*T/*C + *C/*C	<b>1.82 (1.04-3.20)</b>		
Рецессивная	*T/*T + *T/*C	1.00	0.09	303.4
	*C/*C	3.40 (1.79-14.61)		
Сверхдоминантная	*T/*T + *C/*C	1.00	0.14	304.1
	*T/*C	1.54 (1.07-2.75)		

Дальнейший стратификационный анализ продемонстрировал, что аллель *rs2228485*\*C ( $p = 0.03$ ; OR = 1,82; 95%CI 1.04-3.20 для \*C-доминантной модели) ассоциирован с пониженным уровнем агрессивности. Аддитивная модель для локуса *rs2228485*, оценивающая вклад аллеля *rs2228485*\*C, также достигала статистической значимости на уровне тенденции ( $p = 0.05$ ; OR = 4.02), однако доминантная модель более правдоподобно описывала результаты генотипирования, поскольку имела наименьшее значение информационного критерия Акаике (AIC = 301.9 по

сравнению с 302.5 для аддитивной модели). Статистически значимых различий при анализе генетических моделей для локусов *rs53576* и *rs2254298* не было выявлено ( $p > 0.05$ ).

Гаплотипический анализ показал наличие неравновесия по сцеплению между локусами *rs53576* и *rs2228485* гена *OXTR* (значения  $D' = 0,91$ ;  $LOD = 10.56$ ;  $r^2 = 0.16$ , рис.). Однако при анализе распределения частот гаплотипов между группами лиц с низким и средним уровнем агрессивности статистически значимых различий не было обнаружено ( $p > 0.05$ ).

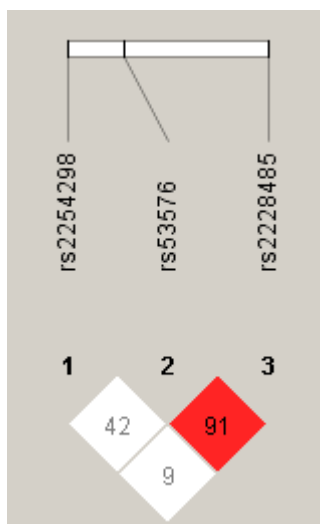


Рис. Неравновесие по сцеплению ( $D'$ , %) между полиморфными локусами *rs53576* и *rs2228485* гена *OXTR* в общей выборке

Таким образом, в настоящей работе полиморфный локус *rs2228485* гена *OXTR* был ассоциирован с пониженным уровнем агрессивности, что может иметь прогностическую значимость при определении риска развития АП и его фенотипов. Однако несмотря на гомогенность выборки по возрасту и уровню образования, в данном исследовании не были учтены социодемографические факторы, которые могут модулировать генетическую ассоциацию, а также этническая принадлежность индивидов. В связи с этим, представляется необходимым проведение дальнейших исследований с использованием большего объёма выборки с учётом вышеперечисленных факторов и других генов-кандидатов для более комплексного анализа предрасположенности к АП.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ-офи-м «Геномика агрессивного и депрессивного поведения человека» №17-29-02195.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бэрн Р., Ричардсон Д. Агрессия // СПб.: Питер, 2001. 352 с.

2. Viding E., Blair R.J., Moffitt T.E. et al. Evidence for substantial genetic risk for psychopathy in 7-year-olds // *J. Chil Psychol. Psychiatry*. 2005. V. 46. № 6. P. 592-597. DOI 10.1111/j.1469-7610.2004.00393.x.
3. Tuvblad C., Narusyte J., Grann M. et al. The genetic and environmental etiology of antisocial behavior from childhood to emerging adulthood // *Behav. Genet*. 2011. V. 41. № 5. P. 629-640. DOI 10.1007/s10519-011-9463-4.
4. Чернышева М.П., Ноздрачев А.П. Нонапептид окситоцин: соматические и висцеральные функции при некоторых психопатологиях // *Психофармакология и биологическая наркология*. 2009. Т. 9. Вып. 3-4. С. 2574-2590.
5. OMIM: Online Mendelian Inheritance in Man. 2018. Режим доступа: <https://www.omim.org/>
6. Takayanagi Y., Yoshida M., Bielsky I.F. et al. Pervasive social deficits, but normal parturition, in oxytocin receptor-deficient mice // *PNAS*. 2005. V. 102. № 44. P. 16096-16101. DOI 10.1073/pnas.0505312102
7. Montag C., Sindermann C., Melchers M. et al. A functional polymorphism of the OXTR gene is associated with autistic traits in Caucasian and Asian populations // *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet*. 2017. V. 174. № 8. P. 808-816. DOI 10.1002/ajmg.b.32596.
8. Kim H.W., Kang J.I., An S.K., Kim S.J. Oxytocin receptor gene variants are associated with emotion recognition and resilience, but not with false-belief reasoning performance in healthy young Korean volunteers // *CNS Neurosci. Ther*. 2018. DOI 10.1111/cns.13075
9. Acevedo S.F., Valencia C., Lutter M., McAdams C.J. Severity of eating disorder symptoms related to oxytocin receptor polymorphisms in anorexia nervosa // *Psychiatry Res*. 2015. V. 228. № 3. P. 641-648. DOI 10.1016/j.psychres.2015.05.040
10. Kim Y.R., Kim J.H., Kim C.H. et al. Association between the oxytocin receptor gene polymorphism (rs53576) and bulimia nervosa // *Eur. Eat. Disord. Rev*. 2015. V. 23. № 3. P. 171-178. DOI 10.1002/erv.2354
11. Lucht M.J., Barnow S., Sonnenfeld C. et al. Associations between the oxytocin receptor gene (OXTR) and "mind-reading" in humans--an exploratory study // *Nord. J. Psychiatry*. 2013. V. 67. № 1. P. 15-21. DOI 10.3109/08039488.2012.700731
12. SNPStats: Your web tool for SNP analysis. 2018. Режим доступа: <https://www.snpstats.net/start.htm>

## ИНТЕРЛЕЙКИН - 10 И ЕГО УЧАСТИЕ В ИММУНОПАТОГЕНЕЗЕ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

Карачурина Р.Р.<sup>1</sup>, Кузьмина У.Ш.<sup>2</sup>, Вахитова Ю.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «БГПУ им. М. Акмуллы» г. Уфа

<sup>2</sup> ИБГ УФИЦ РАН

### Аннотация

Рассеянный склероз (РС) является воспалительным, демиелинизирующим заболеванием с множественным очаговым и диффузным поражением центральной нервной системы, в основе которого лежат аутоиммунно-воспалительные и нейродегенеративные процессы. Важную роль в инициации и прогрессировании аутоиммунной реакции в центральной нервной системе (ЦНС) при РС отводят дисбалансу в системе цитокинов, обеспечивающей взаимодействие между клетками при развитии иммунного ответа. Отмечается увеличение уровня провоспалительных и снижение противовоспалительных цитокинов, что приводит к срыву аутоотолерантности и развитию патологических процессов. Среди противовоспалительных цитокинов большое внимание исследователей РС уделяется интерлейкину-10 (ИЛ-10), что связано, прежде всего, со спектром выполняемых им биологических функций. В настоящем обзоре рассматриваются основные характеристики ИЛ-10, его функции в иммунной системе и участие в иммунопатогенезе РС.

**Ключевые слова:** рассеянный склероз, аутоиммунный процесс, иммунокомпетентные клетки, Т-лимфоциты, противовоспалительный цитокин, интерлейкин-10 (ИЛ-10)

В настоящее время является общепризнанным тот факт, что пролиферация, миграция и процессы дифференцировки клеток иммунной системы регулируются цитокинами. Направленность и интенсивность иммунного ответа определяется, главным образом, тонким балансом между про- и противовоспалительными цитокинами [1-3]. Известно, что при аутореактивных иммунопатологических состояниях, в частности РС, наблюдается нарушение цитокиновой системы [4]. Отмечается увеличение уровня провоспалительных и снижение регуляторных цитокинов, что приводит к срыву аутоотолерантности и развитию патологии [4, 5]. О важной роли цитокинов в патогенезе рассеянного склероза также свидетельствуют изменения цитокинового профиля в ЦНС, в сыворотке и периферических мононуклеарных клетках пациентов с РС [6-9]. Кроме того, в ряде исследований убедительно показано участие цитокинов в воспалительном процессе в ЦНС, в гибели олигодендроцитов, дегенерации аксонов [10], а

также дисфункции нейронов, что в комплексе является характерным для РС [11].

Интерлейкин-10, также известный как ингибитор синтеза цитокинов человека (cytokine synthesis inhibitory factor), был открыт в 1989 году и представляет собой гомодимер с молекулярной массой 35-40 кДа, состоящий из 160 аминокислотных остатков. В организме человека ИЛ-10 кодируется геном *CSIF*, расположенным на 1 хромосоме (1q32.1) [12]. Данный интерлейкин входит в семейство 4-спиральных противовоспалительных цитокинов и образует семейство ИЛ-10, в которое помимо него входят ИЛ-19, -20, -22, -24, -26 [12, 13]. Экспрессия ИЛ-10 чувствительна к уровням фактора некроза опухоли (ФНО $\alpha$ ), эндотоксинов, катехоламинов, витамина D3, глюкокортикоидов [14-16]. Рецепторами ИЛ-10 являются цитокиновые рецепторы II типа, относящиеся к группе интерфероновых рецепторов, поскольку их лигандами являются интерфероны (например, ИФН $\alpha$ , ИФН $\beta$  и ИФН $\gamma$ ). Рецептор для ИЛ-10 представлен двумя цепями ИЛ-10R $\alpha$  (ИЛ-10R1) - CDw210a и ИЛ-10R $\beta$  (ИЛ-10R2) - CDw210b. ИЛ-10R $\alpha$  экспрессируется на большинстве гемопоэтических клеток и на отдельных негемопоэтических клетках (кератиноциты, фибробласты) в виде индуцибельной молекулы, связывает ИЛ-10 с высоким аффинитетом, опосредует иммуносупрессивный сигнал ИЛ-10. ИЛ-10R $\beta$  характеризуется как субъединица рецептора, мало значимая для связывания ИЛ-10, но необходимая для передачи внутриклеточного сигнала, конститутивно представлена на большинстве клеток и тканей [13, 14].

Первоначально ИЛ-10 был описан как цитокин Т-хелперов 2 типа (Тх2), однако позже было установлено, что он секретируется моноцитами, Тх2 и Трег клетками, мастоцитами (тучными клетками/лаброцитами) и эозинофилами, а также дендритными, макрофагами, натуральными киллерами, эозинофилами и нейтрофилами [17-19]. Особый интерес к интерлейкину продиктован наличием у него выраженной противовоспалительной и иммуномодулирующей активностей [20, 21]. Противовоспалительные свойства ИЛ-10 проявляются в подавлении функции Т-хелперов 1 типа (Тх1), ингибировании выработки ИФН $\gamma$  дендритными клетками, ИЛ-2 и ИФН $\gamma$  — Т-клетками, индуцируемый ИФН $\gamma$  и продуктами микробного происхождения синтеза провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, -3, -6, -8, -17, ФНО $\alpha$ , Г-КСФ, ГМ-КСФ) моноцитами и макрофагами, продукции оксидантов макрофагами, экспрессии антигена В7 на антигенпрезентирующих клетках [22, 23]. Под влиянием ИЛ-10 угнетается экспрессия молекул главного комплекса гистосовместимости II типа, дифференцировка моноцитов в макрофаги и в дендритные клетки, подавляются эндоцитарная и антигенпредставляющая функции макрофагов, экспрессия молекул адгезии на клетках эндотелия. Данный цитокин выполняет важные иммунорегуляторные функции, в частности, опосредует поддержание баланса между провоспалительными Тх1 и противовоспалительными Тх2 клетками, что обуславливает

прогрессирование аутоиммунного процесса [22]. Под действием ИЛ-10 происходит усиление гуморального ответа, регулируемого Тх2 клетками, при этом наблюдается ингибирование активации наивных CD4<sup>+</sup> Т-клеток и их дифференцировки по Тх1-типу. Также известно, что цитокина играет ключевую роль в синтезе рецепторного антагониста ИЛ-1, созревании и функционировании регуляторных Т-клеток, ответственных за контроль иммунных реакций и поддержание иммунологической толерантности [17, 22, 23]. Немаловажную роль играет ИЛ-10 и в регуляции функций В-клеток. Интерлейкин костимулирует размножение и созревание В-лимфоцитов, предотвращает их апоптоз и усиливает дифференцировку В-клеток в продуценты IgM, в комбинации с трансформирующим фактором роста β (ТФРβ) индуцирует продукцию IgA1 и IgA2, в комбинации с ИЛ-4 индуцирует образование IgG4 и подавляет синтез IgE. ИЛ-10 обеспечивает также активацию натуральных киллеров [20].

В ходе изучения РС была установлена вовлеченность ИЛ-10 в иммунопатогенетические процессы при данном заболевании [24-27]. У больных рассеянным склерозом обнаружен пониженный уровень цитокина и снижено число секретирующих его мононуклеарных клеток в крови по сравнению с таковыми у больных другими неврологическими заболеваниями и здоровых лиц [28]. Кроме того, было выявлено, что нокаут гена цитокина или использование анти-ИЛ-10 антител значительно усугубляет течение и тяжесть экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита – животной модели РС (ЭАЭ) [29-31]. В настоящее время ИЛ-10 рассматривается в качестве маркера стабилизации течения ремитирующего РС (РРС) и ЭАЭ [27]. Так, было обнаружено увеличение доли ИЛ-10-продуцирующих клеток в ЦНС в неактивной фазе заболевания [32]. У пациентов с РС в период ремиссии фиксируется повышение уровня противовоспалительного цитокина в спинномозговой жидкости, а также увеличение экспрессии его гена в мононуклеарах периферической крови [33]. Продукция Т-лимфоцитами ИЛ-10, индуцированная протеолипидным белком миелина, была выше у пациентов в стадии ремиссии, по сравнению с таковой во время фазы обострения [34]. Кроме того, у больных РС на фоне лечения препаратами ИФНβ наблюдается повышение уровня ИЛ-10, что, как полагают, является дополнительным свидетельством протективного действия ИЛ-10 при аутоиммунной патологии и эффективности применения данных препаратов [35-37]. Некоторые авторы отмечают снижение уровня цитокина перед началом острой фазы заболевания при хроническом ЭАЭ и РРС [38, 39]. Однако, как показывают экспериментальные исследования Balashov K. и соавторов (2000), прогрессирование может сопровождаться увеличением экспрессии ИЛ-10, но он оказывается не способным регулировать провоспалительные эффекты цитокинов (ИЛ-12 и ИФНγ), вследствие их повышенной продукции и нарушения механизмов поддержания Тх1/Тх2 баланса [40].



Таким образом, ИЛ-10 представляет собой цитокин, который чрезвычайно важен для нормального функционирования иммунной системы, более того, для которого клиническая значимость при РС подтверждена многочисленными исследованиями. Повышение синтеза интерлейкина рассматривается как механизм эндогенной адаптации, способствующий выходу из фазы обострения и стабилизации течения заболевания. Дальнейшие исследования ИЛ-10-опосредованных процессов будут способствовать более глубокому пониманию патогенеза РС и, следовательно, совершенствованию методов диагностики типов и прогнозированию течения данной аутоиммунной патологии, а также ее фармакотерапии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Симбирцев А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма // Цитокины и воспаление. 2002. Т. 1(1). с. 9-16.
2. Goldsby R.A. Immunology. New York.: W.H. Freeman and Company, 2003. 5th Edition. с. 553.
3. Останин А.А. Сравнительная оценка уровня 17 цитокинов в сыворотке и цельной крови здоровых доноров методом проточной флюориметрии // Цитокины и воспаление. 2005. Т. 4(2). с. 25-32.
4. Mikulkova Z., Praksova P., Stourac P., Bednarik J., Michalek J. Imbalance in T-cell and cytokine profiles in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis // Journal of the Neurological Sciences. 2010. V. 300. p. 135-141.
5. Кетлинский, С.А. Цитокины. СПб.: ФОЛИАН, 2008. с. 550.
6. Kallaur A.P., Oliveira S.R., Colado Simão A.N., Delicato de Almeida E.R., Morimoto H. et al. Cytokine profile in relapsing-remitting multiple sclerosis patients and the association between progression and activity of the disease // Mol. Med. Rep. 2013. V. 7(3). p. 1010-1020.
7. Comabella M., Balashov K., Issazadeh S., Smith D., Weiner H.L. and Khoury S.J. Elevated interleukin-12 in progressive multiple sclerosis correlates with disease activity and is normalized by pulse cyclophosphamide therapy // J. Clin. Invest. 1998. V. 102. p. 671-678.
8. Balashov K.E., Comabella M., Ohashi T., Khoury S.J., Weiner H.L. Defective regulation of IFN-gamma and IL-12 by endogenous IL-10 in progressive MS // Neurology. 2000. V. 55(2). p. 192-198.
9. Hollifield R.D., Harbige L.S., Pham-Dinh D., Sharief M.K. Evidence for cytokine dysregulation in multiple sclerosis: peripheral blood mononuclear cell production of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines during relapse and remission // Autoimmunity. 2003. V. 36(3). p. 133-141.
10. Peterson L.K., Fujinami R.S. Inflammation, Demyelination, Neurodegeneration and Neuroprotection in the Pathogenesis of Multiple Sclerosis // J Neuroimmunol. 2007. V. 184(1-2). p. 37-44.

11. Lucchinetti C., Bruck W., Parisi J., Scheithauer B., Rodriguez M., Lassmann H. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination // *Ann. Neurol.* 2000. V. 47. p. 707-717.
12. Eskadale J., Kube D., Tesch H., Gallagher G. Mapping of the human IL 10 gene and further characterization of the 5' flanking sequence // *Immunogenetics.* 1997. V. 46(2). p. 120-128.
13. Pestka S., Krause C.D., Sarkar D., Walter Moore K. W., de Waal Malefyt R., Coffman R. L. & O'Garra A. Interleukin10 and the interleukin10 receptor // *Annu. Rev. Immunol.* 2001. V.19. p. 683-765
14. MR Shi Y., Fisher P.B. Interleukin-10 and related cytokines and receptors // *Annual Review of Immunology.* 2004. V. 22 (1). p. 929-979.
15. Saraiva M., & O'Garra A. The regulation of IL-10 production by immune cells // *Nature Reviews Immunology.* 2010. V. 10(3). p. 170-181.
16. Li X., Mai J., Virtue A., Yin Y., Gong R., Sha X., Gutchigian S., Frisch A., Hodge I., Jiang X., Wang H., Yang X.F. IL-35 is a novel responsive anti-inflammatory cytokine-a new system of categorizing anti-inflammatory cytokines // *PLOS One.* 2012. V. 7(3). e33628.
17. Moore K.W., de Waal Malefyt R., Coffman R.L., O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor // *Annu. Rev. Immunol.* 2001. V.19. p. 683-765.
18. O'Garra A. & Vieira P. Regulatory T cells and mechanisms of immune system control // *Nature Med.* 2004. V.10. p. 801-805.
19. Roncarolo M. G. et al. Interleukin-10-secreting type 1 regulatory T cells in rodents and humans // *Immunol. Rev.* 2006. V.212. p.28-50.
20. Saraiva M., O'Garra A. The regulation of IL-10 production by immune cells // *Nature Reviews Immunology.* 2010. V.10. p. 170-181.
21. GeneCards – Human Genes Database [Электронный ресурс] - Режим доступа: <https://www.genecards.org>
22. Sky Ng T.H., Britton G.J., Hill E.V., Verhagen J., Burton B.R. and Wraith D.C. Regulation of adaptive immunity; the role of interleukin-10 // *Frontiers in Immunology.* 2013. V.4. p. 129.
23. Zhang L., Yuan S., Cheng G., et al. Type I IFN promotes IL10 production from T cells to suppress Th17 cells and Th17-associated autoimmune inflammation // *PLOS ONE.* 2011. V. 6(12). e28432.
24. Almeras L., Meresse B., de Seze J., et al. Interleukin-10 promoter polymorphism in multiple sclerosis: association with disease progression // *Eur Cytokine Network.* 2002. V.13. p. 200-206.
25. Asadullah K., Sterry W., Volk H.D. Interleukin-10 therapy review of a new approach // *Pharmacol. Rev.* 2003. V. 55. P. 241-269.
26. Azarpira N., Haghghi A.B., Pourjafar M., et al. Interleukin 10 gene polymorphism in Iranian Patients with multiple sclerosis // *Acta Neurol. Taiwan.* 2010. V.19. p. 107-111.

27. Imitola J., Chitnis T., Khoury S.J. Cytokines in multiple sclerosis: from bench to bedside // *Pharmacology & Therapeutics*. 2005. V. 106. p. 163-177.
28. Хусаинова А.Н. Молекулярно - генетическое исследование рассеянного склероза: полиморфизм генов цитокиновой сети: автореф. дис. канд. биол. наук. Уфа.: ИБГ УНЦ РАН, 2012. 12 с.
29. Rott O., Fleischer B., Cash E. Interleukin-10 prevents experimental allergic encephalomyelitis in rats // *Eur. J. Immunol*. 1994. V. 24(6). p. 1434-1440.
30. Samoilova E.B., Horton J.L., Chen Y. Acceleration of experimental autoimmune encephalomyelitis in interleukin-10-deficient mice: roles of interleukin-10 in disease progression and recovery // *Cell. Immunol*. 1998. V. 188(2). p. 118-124.
31. Cua D.J., Hutchins B., LaFace D.M., Stohlman S.A., Coffman R.L. Central nervous system expression of IL-10 inhibits autoimmune encephalomyelitis // *J. Immunol*. 2001. V. 166. p. 602-608.
32. Beebe A.M., Cua D.J., Malefyt R. The role of interleukin-10 in autoimmune disease: systemic lupus erythematosus (SLE) and multiple sclerosis (MS) // *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 2002. V.13. p. 403-412.
33. Phelps C. and Korneva E. Cytokines and the Brain// *Neuroimmune Biol*. 2008. V. 6. p. 608.
34. Correale J., Gilmore W., McMillan M., Li S., McCarthy K., Le T., Weiner L.P. Patterns of cytokine secretion by autoreactive proteolipid protein-specific T cell clones during the course of multiple sclerosis // *J. Immunol*. 1995. V. 154(6). p. 2959-2968.
35. Waubant E., Gee L., Bacchetti P. et al. Relationship between serum levels of IL-10, MRI activity and interferon- $\beta$ -1a therapy in patients with relapsing remitting MS // *J. Neuroimmunol*. 2001. V. 112. p. 139-145.
36. Byrnes A.A., McArthur J.C., Karp C.L. Interferon-beta therapy for multiple sclerosis induces reciprocal changes in interleukin-12 and interleukin-10 production // *Ann. Neurol*. 2002. V. 51(2). p. 165-174.
37. Graber J.J., Ford D., Zhan M., Francis G., Panitch H. and Dhib-Jalbut S. Cytokine changes during interferon-beta therapy in multiple sclerosis: correlation with interferon dose and MRI response // *J. Neuroimmunol*. 2007. V. 185. p. 168-174.
38. Salmaggi A., Dufour A., Eoli M. et al. Low serum interleukin-10 levels in multiple sclerosis: further evidence for decreased systemic immunosuppression? // *J. Neurol*. 1996. V. 243. p. 13-17.
39. van Boxel-Dezaire A.H., Hoff S.C., van Oosten B.W. et al. Decreased interleukin-10 and increased interleukin-12-p40 mRNA are associated with disease activity and characterize different disease stages in multiple sclerosis // *Ann. Neurol*. 1999. V.45. p. 695-703.

Balashov K.E., Comabella M., Ohashi T., Khoury S.J., Weiner H.L. Defective regulation of IFN-gamma and IL-12 by endogenous IL-10 in progressive MS // Neurology. 2000. V. 55(2). p. 192-198.

## РОЛЬ ГЕНОВ РЕЦЕПТОРОВ СЕРОТОНИНА ТИПА 1А И 2А В ФОРМИРОВАНИИ АГРЕССИИ

Мухамадиева Г.М., Гумерова О.В.

*ФГБОУ ВО «БГПУ им. М. Акмуллы» г.Уфа*

**Аннотация.** Обзор посвящен актуальным отечественным и зарубежным исследованиям психогенетических факторов агрессивного поведения. В основе обзора лежит анализ вклада полиморфизмов генов серотонинергической системы – рецепторов серотонина типа 1А и 2А в формировании агрессии.

**Ключевые слова:** агрессия, серотонин, рецептор, ген, полиморфизм.

Проблема агрессии является одной из актуальнейших проблем на современном этапе развития общества. Этот факт подтверждается многочисленностью исследований посвященных изучению агрессивности [1]. В последние годы проблема агрессии человека привлекает все большее внимание ученых, потому что в повседневной жизни человек, так или иначе, сталкивается с различными формами агрессивного поведения (в общественном транспорте, в процессе профессиональной деятельности, в учебном заведении, в СМИ и т.д.) [2].

Анализ литературных данных показал, что не существует единого определения агрессии и агрессивного поведения в зарубежной и отечественной психологии. Под агрессией (от лат. aggression- нападение) понимают форму действия или поведения, нацеленную на причинение морального, физического или иного ущерба (вплоть до полного уничтожения) другому существу (не желающего такого обращения) или объекту (Бэрон и Ричардсон, 2001). В толковом словаре русского языка Д.Н.Ушакова агрессия (от латинского «agressio» – нападение, приступ) означает наступление, нападение, агрессивное отношение к чему-нибудь. Также агрессия рассматривается не только как форма поведения, но и как состояние (Л. Берковиц, Н. Д. Левитов, Л. Б. Шнейдер), как инстинкт (Ю. Л. Орлов), а агрессивные действия могут быть направлены на достижение значимой цели или психической разрядки, на удовлетворение или замещение блокированной потребности, на переключение деятельности (А. А. Реан). Агрессивность же может выступать как мотив (Х. Хекхаузен), черта личности или характера (К. К. Платонов) и свойство темперамента (В. С. Мерлин), определяющее при этом как ситуативные, так и устойчивые формы поведения [3].

В настоящее время существует большое количество подходов к изучению агрессивного поведения, такие как: фрустрационная теория (Л. Берковиц, Дж. Доллард), теория социального научения (А. Бандура), теория инстинктивных влечений (К. Лоренц; З. Фрейд). Согласно эволюционно-генетическому подходу, агрессия человека рассматривается как условие выживания и адаптации индивида. Внутривидовая агрессия признается целесообразным инстинктом, выработанным и закрепленным в процессе эволюции. Агрессия является инстинктом не смерти, а сохранения жизни и вида, и поэтому таким же инстинктом, как и все остальные [4]. Таким образом, агрессия – сложный механизм, многоаспектность которого проявляется в зависимости от мотива человека.

Для измерения уровня агрессии разработаны различные программы и тесты. К ним относятся личностные шкалы измерения агрессии, с помощью которых можно выявить степень выраженности тех или иных форм агрессии. Также разработано множество опросников, которые применяются для выявления общей агрессивности или для изучения агрессивного поведения в конкретных ситуациях.

Опросник Басса-Дарки — одна из наиболее популярных в зарубежной психологии методик для исследования агрессии. Данный тест-опросник, разработанный А. Бассом и А. Дарки в 1957 году, предназначен для диагностики агрессивных и враждебных, психических, эмоциональных реакций людей. Методика предназначена для обследования испытуемых в возрасте от 14 лет и старше. Тест состоит из 75-ти утверждений, на которые обследуемый должен ответить «да» или «нет». Тест-опросник А. Басса и А. Дарки широко распространен в зарубежных исследованиях, в которых подтверждаются его высокая валидность и надежность. Этот тест-опросник повсеместно используется также и в отечественных исследованиях [5].

Опросник, разработанный Людмилой Георгиевной Почебут, на основе опросника Басса-Дарки, позволяет дифференцировать такие виды агрессивного поведения, как: физическая агрессия, вербальная агрессия, косвенная агрессия, эмоциональная агрессия и самоагрессия. Агрессивность рассматривается автором как проявление дезадаптации и интолерантности. Опросник Л. Г. Почебут наглядно показывает обычный стиль поведения личности в стрессовых ситуациях и особенности адаптации человека в новой социальной среде [6].

Согласно современным научным исследованиям, молекулярно-генетические маркеры генов нейромедиаторных систем играют значительную роль в регуляции и контроле агрессивного поведения человека. Среди них - серотонинергическая система мозга (5ТТ-система), которая регулирует поведение различного типа и физиологические процессы (Н. К. Попова и др., 1978; С. А. Fornal, В. L). Роль серотонина в регуляции агрессивного поведения сложно переоценить. Предполагается, что низкий уровень серотонина в организме человека и животных оказывает значительное

влияние на нейронные механизмы, которые участвуют в выражении агрессивного поведения и импульсивности, в то время как повышение уровня серотонина в организме уменьшает такие проявления.[7] Неадекватно высокий уровень агрессивности, как правило, связывают с хронически низкой активностью серотониновой системы в целом. Однако в основе ее дефектности лежит взаимодействие биологических и социальных факторов на уровне молекулярных механизмов.

В исследованиях, проведенных В. С. Науменко и его коллегами на зимоспящих сусликах, была доказана роль серотонинергической системы в регуляции поведения. Они показали, что ген *HTR1A* участвует в подавлении агрессии, вызванной страхом, и агрессии нападения. Также было выявлено, что активность гена *HTR2A* подавляется в пассивно-оборонительном защитном поведении (Kulikov., Osipova., Naumenko, 2012).

Показано, что активность СТ-системы контролируется у человека определенными генами. СТ-система является сложной и представлена семейством серотониновых пресинаптических и постсинаптических рецепторов, ферментами, вовлеченными в синтез (триптофангидроксилаза) и деградацию серотонина (моноаминоксидаза А), а также транспортером серотонина (Murphy et al., 2004). Одними из ключевых генов серотонинергической системы, имеющих причастие к возникновению агрессии, являются гены рецептора серотонина. Ряд работ был посвящен поиску ассоциаций агрессивности с генами, кодирующими рецепторы серотонина. Рецепторы серотонина сопряжены с G-белком, за исключением семейства рецепторов серотонина третьего типа (5HT<sub>3</sub>), относящихся к белкам ионного канала [9]. В настоящее время в ЦНС обнаружено 16 типов серотониновых рецепторов, различающихся строением и свойствами. Среди них особый интерес при изучении агрессивного представляют рецепторы первого и второго типа – *HTR1A* и *HTR2A*.

**Ген рецептора серотонина 1А (*HTR1A*).** Серотониновый рецептор 1А активации других типов рецепторов на постсинаптической мембране (Albert et al., 1996). Рецептор серотонина типа 1А является продуктом гена *HTR1A*.

Данный ген расположен на длинном плече 5й хромосомы (q11.2–13), размер его составляет 21 т.п.н. и не имеет интронов. Кодированная область гена расположена в зоне связывания с фактором транскрипции и эта кодируемая область влияет на степень экспрессии гена посредством замены цитозина на гуанин в промоторной области гена в положении -1019 (rs6295). *C(-1019)G* является самой распространенной однонуклеотидной заменой в гене *HTR1A*. Данная мутация приводит к усилению экспрессии гена, в результате чего увеличивается количество рецепторов типа 1А на пресинаптической мембране, что в свою очередь ведет к уменьшению синтеза серотонина [2], то есть подавляется транскрипция гена *5HT1A*. Показано, что подавление транскрипции G-аллеля значительно меньше, чем аллеля С, то есть у носителей гомозиготы по аллелю G плотность данного полиморфизма должна быть выше, чем у носителей С-аллеля.[8]

**Ген рецептора серотонина 2А (HTR2A).** Этот ген кодирует рецепторы, широко представленные в гиппокампе и передней коре головного мозга. Рецептор серотонина 2А (HTR2A) экспрессируется в различных отделах ЦНС, которые считают ответственными за когнитивные функции, кратковременную память и внимание, но этот ген также предположительно связан с агрессивным поведением.

Ген с размером свыше 20 т.п.н. (Chek et al., 1992), кодирующий рецептор 5-HT<sub>2A</sub> (HTR2A), расположен на длинном плече 13 хромосомы в положении q14-q21 (Sparkes et al., 1991), состоит из трех экзонов, двух интронов и 471 аминокислотного остатка. Хотя в данном гене было найдено почти 300 различных полиморфизмов (Fanousetal., 2009; Serretti et al., 2007), но наиболее подробно изучены лишь два однонуклеотидных полиморфизма - T102C в интроне 2 и A1438G в промоторной области. (Serretti et al. 2007).

Полиморфизм A1438G (rs6311) рассматривается в качестве генетического маркера, сцепленного с нервно - психическими заболеваниями (Pandey et al., 1995). Он расположен вблизи промотора и может иметь функциональное значение. Доказано, что присутствие А - аллеля при некоторых условиях значительно увеличивает активность промотора гена HTR2A (Parsons et al., 2004). Было показано, что данный полиморфизм может быть ассоциирован с суицидальным поведением, но не с внешне направленным агрессивным поведением. Наличие хотя бы одного А-аллеля в генотипе является для его носителя маркером повышенного риска суицида (Гайсина, 2004; Giegling et al., 2006). Также показано, что наличие А-аллеля в генотипе может оказывать влияние на импульсивность человека (Nomura et al., 2006).

**Заключение.** Подводя итог обзору научных исследований данных, можно сделать вывод, что агрессивное поведение человека находится в зависимости с деятельностью генов серотонинергической системы мозга. В частности, рецепторы серотонина 1А и 2А типа, которые играют важную роль в нейрорегуляции уровня агрессивности.

Таким образом, нормальное функционирование серотонинергической системы способствует контролю уровня агрессивности человека. Эти данные подтверждены результатами молекулярно-генетических исследований по анализу ассоциаций генов серотонинергической системы с уровнем агрессивности.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Вань Е.Н. Особенности агрессивного поведения в подростковом возрасте // Гуманитарные научные исследования. 2017. № 10 [Электронный ресурс].



2. Суходольская Е.М. Изучение аллельного полиморфизма генов нейромедиаторных систем, ассоциированных с поведенческими реакциями: дис. 03.01.07– Москва: [Институт биохимии и генетики УНЦ РАН], 2016. - 146 с.
3. Ковш Е.М., Воробьева Е.В., Ермаков П.Н. Обзор современных исследований психогенетических факторов агрессивного поведения // Российский психологический журнал. 2014.- Том 11, № 4. С.91-103.
4. Тарасенко А.В. Агрессия и пути ее предупреждения // Молодой ученый. -2017. - №12. –с. 196-199.
5. Хван А.А., Зайцев Ю.А., Кузнецова Ю.А. Стандартизация опросника А. Басса и А. Дарки./Психологическая диагностика, 2008, № 1, — с. 35-58.
6. Платонов Ю.П. Основы этнической психологии. Учебное пособие. – СПб: Речь, 2003. – с. 383-385
7. Гайсина Д. А. Анализ ассоциаций генов нейромедиаторных систем с агрессивным поведением человека: дис. 03.00.15 – Уфа: [Институт биохимии и генетики УНЦ РАН], 2004. – 180 с.
8. Кудрявцев А.Ю., Гумерова О.В. Анализ полиморфизма rs6295 гена рецептора серотонина HTR1A со степенью агрессивности // Научное сообщество студентов: междисциплинарные исследования: сб. ст. по мат. XII междунар. студ. науч.-практ. конф. № 6(41).
9. Hoyer D., Clarke D.E. International union pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (Serotonin) // Pharmacol. Rev. – 1994. – Vol. 46. – P. 157.

## СВОЙСТВА И ПРИМЕНЕНИЕ ХИТИНОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ

Нуриева Л.Г., Актуганов Г.Э.

ФГБОУ ВО «БГПУ им.М.Акмиллы », г.Уфа

### Аннотация

Хитин является одним из широко распространенных биополимеров в природе. Его модификация и деградация в природе происходят благодаря различным хитинолитическим ферментам, широко представленным в живых организмах и выполняющим различные функции. Хитин и хитозан обладают антибактериальными свойствами в отношении многих микроорганизмов, микроскопических грибов, вирусов, а так же в отношении некоторых штаммов дрожжей. В настоящее время выделено и охарактеризовано большое число хитинолитических ферментов. Они находят широкое применение в биотехнологии, сельском хозяйстве и медицине.

**Ключевые слова:** хитин, хитозан, хитиназа, N-ацетил-D-глюкозамин.

В 1821 г в ходе химических опытов был открыт фунгин, не поддающееся растворению в серной кислоте, впоследствии названный хитином. Он является одним из широко распространенных биополимеров в природе. Его биосинтез, получение, модификация связаны с ферментативными превращениями. В 1859 г. путем воздействия щелочей впервые была получена деацетилированная форма хитина, названная «хитозан», состоящий из  $\beta$ -D-глюкозаминовых звеньев. Их изучение имеет важную научную значимость.

Биосинтез хитина происходит в специальных клеточных органеллах – хитосомах благодаря ферменту хитинсинтетаза, и осуществляется путем последовательного переноса остатков N-ацетил-D-глюкозамина из уридиндифосфат-Nацетил-D-глюкозамина в удлиняющуюся полимерную цепь. Хитин является высококристаллическим полимером, в нем существуют внутри- и межмолекулярные связи между гидроксильными группами, а также между аминоацетильными и гидроксильными группами. Этот полисахарид имеет три полиморфных модификации с различной ориентацией микрофибрилл:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ . Наиболее распространена  $\alpha$ -форма, присутствующая в панцире ракообразных и некоторых моллюсков, кутикуле насекомых, клеточной стенке грибов. Она представляет собой плотно упакованные антипараллельные цепи полимера. В случае  $\beta$ -формы цепочки полимера параллельны и за счет более слабых межмолекулярных водородных связей обладают большей растворимостью и способностью к набуханию [1]. Данная форма встречается у каракатиц, в гладиусе кальмаров, внеклеточной сердцевине диатомей, трубках погонофор.  $\gamma$ -форма отличается смешанной системой параллельных и антипараллельных цепочек, она характерна для

коконов насекомых [2].  $\beta$ - и  $\gamma$ -формы хитина переходят в  $\alpha$ -форму под действием концентрированных кислот (муравьиной, азотной или соляной), которая является наиболее стабильной. Все три формы хитина могут присутствовать у одного организма, например, кальмаров *Loligo* [3]. Это говорит о том, что разные формы хитина выполняют в организме разные функции.

Хитин нерастворим в воде, щелочах, разбавленных кислотах, спиртах, других органических растворителях, и растворим в концентрированных соляной, серной и муравьиной кислотах, а также в некоторых солевых растворах при нагревании, причем при растворении он заметно деполимеризуется [4]. Он способен образовывать комплексы с органическими веществами: холестерином, белками, пептидами, а также обладает высокой сорбционной способностью к тяжелым металлам, радионуклидам. Хитин не разлагается под действием ферментов млекопитающих, но гидролизуется некоторыми ферментами насекомых, грибов и бактерий, отвечающими за распад хитина в природе [5].

Одним из доступных производных этого полимера является хитозан - линейный аминополисахарид, состоящий преимущественно из остатков D-глюкозамина, соединенных  $\beta$ -1,4-гликозидными связями, и звеньев N-ацетил-D-глюкозамина. Он, в отличие от хитина, имеет еще дополнительную реакционноспособную функциональную группу (аминогруппа  $\text{NH}_2$ ), поэтому кроме простых и сложных эфиров из хитозана возможно получить N-производные различного типа, что существенно расширяет возможности его применения.

**Применение хитинолитических ферментов.** За последние 20 лет интерес к исследованию и разработке технологий применения хитозана сильно возрос. Объясняется это тем, что хитозан и его производные проявляют антибактериальные, иммуностимулирующие, противоопухолевые, ранозаживляющие и другие свойства. По токсичности хитозан относится к 4-му классу и считается безопасным [6], поэтому данный полимер находит все более широкое применение практически во всех областях, как медицина, пищевая промышленность, сельское хозяйство, атомная энергетика, текстильная промышленность и т.д. [7]. В экологических целях хитозан и хитин могут использоваться для очистки сточных вод от тяжелых металлов, радионуклидов, белков, углеводов, пестицидов, красителей и бактериальных клеток [8].

Хитинолитические ферменты являются удобными инструментами для получения олигосахаридов различной степени полимеризации. Морские микроорганизмы служат источником ферментов с необычными свойствами, позволяющими использовать их в биотехнологии для получения новых биологически активных неогликоконъюгатов.

Известна способность многих бактерий образовывать хитинолитические ферменты. Среди таких часто встречающиеся представители родов *Serratia*, *Streptomyces*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*

и другие [9]. Также хитиноподобные ферменты представлены в живых организмах. Например, в высших растениях они выполняют защитную функцию от различных вредителей и патогенов.

Источником получения хитина и хитозана на сегодняшний день являются членистоногие. Наиболее доступными промышленными сырьевыми объектами для получения хитозана являются отходы переработки панцирьсодержащих морских гидробионтов: крабов, креветок, лобстеров и др. Главной особенностью такого сырья является отсутствие затрат на разведение и выращивание.[10]

**Методы получения хитозана.** В настоящее время существуют различные способы получения хитина и преобразования его в хитозан. Наиболее часто применяемыми являются биотехнологический, электрохимический и химический методы.

Биотехнологический способ включает в себя использование ферментов для депротеинирования сырья, продуктов молочнокислого или уксуснокислого брожения для деминерализации и химических реагентов для депигментации. Для достижения высокой степени депротеинирования наиболее эффективными являются способы, предусматривающие применение ферментов и ферментных препаратов микробиологического и животного происхождения таких, как панкреатин, кислые протеиназы, щелочные протеиназы. Этот способ реализуется при совмещении в одном процессе нескольких операций депротеинирования и деминерализации, что упрощает процесс и приводит к повышению качества готового продукта, максимально сохраняя функциональные свойства готового хитозана [11]. Но ограничивающим фактором этого метода является использование дорогостоящих ферментов или штаммов бактерий, невысокая степень депротеинирования хитина даже при применении нескольких последовательных обработок в свежееинокулированных ферментерах, а также необходимость обеспечения стерильности производства. Поэтому в настоящее время метод развит недостаточно и пока не нашел широкого применения в промышленности.

Химический метод основан на последовательной обработке сырья щелочами и кислотами. Процесс удаления белков (депротеинирование) осуществляется при помощи обработки размельченного хитинсодержащего сырья раствором щелочи. Обычно применяется гидроксид натрия. Далее следует процесс деминерализации, который проводится в растворе соляной кислоты, до полного удаления минеральных солей из сырья. Процесс обесцвечивания (депигментации) проводят с использованием окислителей, например, перекиси водорода. Процесс деацетилирования производят путем нагревания сырья с концентрированным раствором щелочи. Полученный хитозан последовательно промывают водой и метанолом.

Электрохимический метод позволяет получать всего лишь в одном технологическом процессе хитин достаточно высокой степени очистки и ценные в пищевом отношении белки и липиды. Принцип технологии

получения хитина заключается в проведении стадий депротеинирования, деминерализации и обесцвечивания хитинсодержащего сырья в водно-солевой суспензии в электролизерах под действием электромагнитного поля, направленного потока ионов, образующихся в результате электролиза воды  $H^+$  и  $OH^-$  ионов и ряда низкомолекулярных продуктов, обуславливающих кислую и щелочную реакцию среды. Преимуществом данного метода является отсутствие необходимости в применении токсичных химических реагентов. Хитозан, полученный таким способом, обладает высоким уровнем сорбционных свойств и биологической активности. Однако недостатком данного метода является большая энергозатратность.

Таким образом, полисахариды хитин и хитозан – перспективные биоматериалы будущего. Хитин, благодаря своему строению и наличию реакционных групп, способен образовывать комплексы с органическими веществами: холестерином, белками, пептидами, а также обладает высокой сорбционной способностью в отношении тяжелых металлов, радионуклидов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Tolaimate, A. On the influence of deacetylation process on the physicochemical characteristics of chitosan from squid chitin / A. Tolaimate, J. Desbrie`res, M. Rhazi, A. Alagui, M. Vincendon, P. Vottero // *Polymer*. – 2001. – Vol.41, N.7. – P. 2463–2469.
2. Zhang, M. Structure of insect chitin isolated from beetle larva cuticle and silkworm (*Bombyx mori*) pupa exuvia / M. Zhang, A. Haga., H. Sekiguchi., S. Hirano // *Int. J. Biological Macromolecules*. – 2000. – Vol.27, N.1. – P. 99–105.
3. Феофилова, Е.П. Клеточная стенка грибов./Е.П.Феофилова.– М.: Наука, 1983. – 248 с.
4. Majeti, N.V. A review of chitin and chitosan applications. / N.V Majeti., R.Kumar // *Reactive & Functional Polymers*.-2000. – Vol.46, N.1. – P.1–27.
5. Muzzarelli, R.A.A. The discovery of chitin // In:Chitosan in pharmacy and chemistry / Ed. R.A.A Muzzarelli, C. Muzzarelli. // *Atec*. –Italy: 2002. – P. 1–8.
6. Хитин и хитозан: получение, свойства и применение / под ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихоревой, В.П. Варламова. – М.: Наука, 2002.– 368 с.
7. Хитозан / под.ред. К.Г. Скрябина, С.Н. Михайлова, В.П. Варламова. – М.: Центр "Биоинженерия" РАН, 2013. – 593 с.
8. Rhazi, M. Influence of the nature of the metal ions on the complexation with chitosan. Application to the treatment of liquid waste / M. Rhazi, J. Desbrieres, A. Tolaimate, M. Rinaudo, P. Vottero, A. Alagui, M. Meray // *European Polymer Journal*. – 2002. – Vol.38, N.8. – P.1523–1530.
9. Тиунова Н.А. Хитинолитические ферменты микроорганизмов // *Успехи биологической химии*. - 1989. - Т. 30. - С. 199-219.
10. Красавцев, В.Е. Техничко-экономические перспективы производства хитина и хитозана из антарктического криля / Красавцев В.Е. // *Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана: материалы VII Международной конференции*, Москва: ВНИРО, 2003. – С. 7–9.

11. Younes, I. Chitin and chitosan preparation from shrimp shells using optimized enzymatic deproteinization // I. Younes, O. Ghorbel-Bellaaj, R. Nasri // Process Biochemistry. – Vol.7, N.12. – P. 2032. – 2039.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВКЛАДА ЧАСТОТ АЛЛЕЛЕЙ И ГЕНОТИПОВ ЦИКЛИНЗАВИСИМОЙ КИНАЗЫ 4 (CDK4) В РАЗВИТИЕ ОНКОПАТОЛОГИИ

Попова А.К., Воробьева Е.В., Горбунова В.Ю.

ФГБОУ ВО «БГПУ им.М.Акмиллы», г.Уфа

**Краткая аннотация.** Проведено исследование распределения частот генотипов и аллелей по полиморфизму *rs2072052* (A/C) гена *CDK4* у 163 человек.

**Ключевые слова:** *CDK4*, онкология, клеточный цикл, циклин-зависимые киназы.

**Введение.** Онкология – системное заболевание, которое захватывает все органы человека и характеризуется неуправляемым, безграничным размножением клеток. Опухолевые клетки образуются из нормальных клеток любых органов и тканей организма в результате мутаций генов, регулирующих клеточный цикл и рост клеток (Carrassa L., 2013).

Ключевую роль в регуляции клеточного цикла играют циклин-зависимые киназы (CDK – cyclin-dependent kinases) – ферменты, которые связываясь с белками-циклинами фосфорилируют белки, контролирующие прохождение данной фазы (Копнин Б.П., 2000).

Среди семейства генов, кодирующих циклин-зависимые киназы, ген *CDK4* наиболее подвержен мутациям, приводящим к различным формам рака (Nagasundaram N., et al., 2015). Его повышенная экспрессия наблюдается в злокачественной меланоме, глиоме, саркоме и карциноме молочной железы, толстой кишки, легких, яичников и полости рта (Чумаков П.Н., 2007).

**Целью** данной работы является анализ полиморфизма *rs2072052* гена *CDK4* и использование полученных данных в диагностике для предиктивного формирования групп риска и персонафицированного лечения онкологических заболеваний.

Комплекс *CDK4* и циклина D1 фосфорилирует белок ретинобластомы (pRB) и, таким образом, осуществляет переход из фазы G1 в S фазу. Мутации, возникающие в гене *CDK4*, приводят к потере контроля регуляции клеточного цикла, что может стать одной из причин развития опухоли. Таким образом, любое нарушение в гене *CDK4* может играть важную роль в онкогенезе (Maimoona Sabir et al., 2012). Следовательно, изучение гена *CDK4* может дать плодотворные результаты в области диагностики и прогнозирования течения онкозаболевания.

Группа ученых из департамента медицины, медицинского центра университета МакГилла (Канада) в исследовании рака молочной железы обнаружили, что повышенная экспрессия *CDK4* достоверно коррелировала с

более агрессивным типом опухоли и усилением метастазирования. Также было показано, что высокая экспрессия *CDK4* является прогностическим показателем рецидива заболевания (Meiou Dai et al., 2016).

Было выявлено, что пациенты с повышенной экспрессией *CDK4* имели более низкие показатели выживаемости, чем пациенты с более низким уровнем экспрессии *CDK4* (Aibing Wu et al., 2011). Таким образом, повышенный уровень экспрессии *CDK4* может быть диагностическим маркером при составлении прогноза течения заболевания.

**Материалы и методы.** В работе использованы образцы ДНК 163 человек проживающих в Республике Башкортостан. Из них - 60 здоровых индивидов и 103 больных, с клинически подтвержденным диагнозом рак. Образцы геномной ДНК были выделены методом фенольно-хлороформной экстракции (Mathew S., 1984) Идентификацию аллелей гена проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием олигонуклеотидных праймеров. Размеры продуктов амплификации и последующей рестрикции детектировали в 7 % полиакриламидном геле, окрашенном раствором бромистого этидия (1%). Статистическую обработку результатов проводили с использованием таблицы сопряженности 2x2 с поправкой Йэйтса, критерия и программного обеспечения MS Excel .

#### **Результаты исследования.**

Аллель *A* – протективный аллель, обуславливающий нормальную экспрессию гена *CDK4*. Аллель *C* – мутантный аллель, обуславливающий нарушение экспрессии гена, что приводит к стимулированию злокачественной пролиферации клеток путем облегчения фосфорилирования и инактивации белка ретинобластомы (pRB, Coles A.H., 2007; Dick F.A, 2013).

В группе здоровых индивидов выявлено статистически значимое ( $p < 0,05$ ) повышение частоты гомозиготного генотипа *A/A* ( $p = 0,03$ ;  $\chi^2 = 9,2$ ) и протективного аллеля *\*A* ( $p = 0,011$ ;  $\chi^2 = 6,58$ , табл.).

В группе онкобольных выявлено статистически значимое повышение частоты гетерозиготного генотипа *A/C* ( $p = 0,019$ ;  $\chi^2 = 5,49$ ) и мутантного аллеля *\*C* ( $p = 0,011$ ;  $\chi^2 = 6,58$ ), что может свидетельствовать о влиянии гена *CDK4* на развитие рака.

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного варианта гена *CDK4 (rs2072052)* у здоровых индивидов и в группе с онкопатологией.

Генотип / аллель	Здоровые (n=60)		Онкобольные (n=103)		p ( )
	n	% m	n	% m	
<i>A/A</i>	32	0,54 0,06	29	0,28 0,04	<b>0,03(9,2)</b>
<i>A/C</i>	21	0,35 0,06	57	0,55 0,05	<b>0,019(5,49)</b>
<i>C/C</i>	7	0,12 0,04	17	0,16 0,04	0,54(0,37)



*A	85	0,7 0,04	115	0,56 0,03	<b>0,011(6,58)</b>
*C	35	0,29 0,04	91	0,44 0,03	<b>0,011(6,58)</b>

Таким образом, исходя из проанализированных научных публикаций и результатов, полученных в эксперименте по анализу полиморфизма *rs2072052*, можно сделать вывод, что ген *CDK4* действительно играет значимую роль в развитии онкопатологии. Следовательно, анализ наследования индивидуумом определенных полиморфных вариантов аллелей данного гена позволит составить предварительный персональный прогноз о предрасположенности к проявлению онкопатологии при учете сочетаний аллелей и других генов.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Aibing Wu, Bin Wu, Jinsong Guo, Weiren Luo, Dong Wu, Huiling Yang, Yan Zhen, Xiaoli Yu, Hao Wang, Ying Zhou, Zhen Liu, Weiyi Fang and Zhixiong Yang / Elevated expression of CDK4 in lung cancer / Journal of Translational Medicine, 2011.
2. Carrassa, L / Cell cycle, checkpoints, cancer / Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology, 2013. – P. 67-75.
3. Coles A.H, Liang H., Zhu Z., Marfella C.G., Kang J., Imbalzano A.N, Jones S.N. Deletion of p37<sup>Ing1</sup> in mice reveals a p53-independent role for Ing1 in the suppression of cell proliferation, apoptosis, and tumorigenesis. Cancer Res. 2007; 67:2054–2061. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-3558.
4. Dick F.A, Rubin SM. Molecular mechanisms underlying RB protein function. Nat Rev Mol Cell Biol. 2013;14(5):297–306.
5. Maimoona Sabir, Ruqia Mehmood Baig, Ishrat Mahjabeen and Mahmood Akhtar Kayani / Novel germlineCDK4mutations in patients with head and neck cancer / Hereditary Cancer in Clinical Practice, 2012.
6. Mathew C. The isolation of high molecular weight eucariotic DNA. Methods in Molecular Biology // Ed. Walker J.M.N. Y. Human Press. 1984. V. 2. P. 31-34.
7. Meiou Dai, Chenjing Zhang, Ayad Ali, Xinyuan Hong, Jun Tian, Chieh Lo, Nadège FilsAimé, Sergio A. Burgos, Suhad Ali & Jean-Jacques Lebrun /CDK4 regulates cancer stemness and is a novel therapeutic target for triple-negative breast cancer / Scientific RepoRts, October 2016.
8. Nagasundaram N, Hailong Zhu, Jiming Liu, Karthick V, George Priya Doss C, Chiranjib Chakraborty, Luonan Chen / Analysing the Effect of Mutation on Protein Function and Discovering Potential Inhibitors of CDK4: Molecular Modelling and Dynamics Studies / PLOS ONE, August 7, 2015.
9. Копнин Б.П. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза / Биохимия. 2000. – Т.65. - №1. – С. 5-13.

10. Чумаков П.М. Белок р53 и его универсальные функции в многоклеточном организме. М: Успехи биологической химии, 2007, т. 47, 2007, с. 3–52

## ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ МЫШЕЧНОЙ СИСТЕМЫ (AMPD1 И СКММ) ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ

Салахова Н.Ф., Воробьева Е.В.

ФГБОУ ВО «БГПУ им. М.Акмиллы», г. Уфа

**Ключевые слова:** креатинфосфокиназа, мышечная деятельность, АТФ, А/Г полиморфизм, С34Т полиморфизм.

**Краткая аннотация.** Проведен генетический анализ распределения частот генотипов и аллелей по полиморфным локусам генов мышечной системы *AMPD1 rs17602729* (С/Т) и *СКММ rs8111989* (А/Г).

**Введение.** Физическая работоспособность - потенциальная способность человека показать максимум физического усилия в статической, динамической или смешанной работе [3].

Физическая работоспособность проявляется в различных формах мышечной деятельности. Она зависит от физической формы или готовности человека, его пригодности к физической работе [1].

Одним из определяющих факторов физической работоспособности человека, является энергетическое обеспечение мышечной деятельности.

В зависимости от интенсивности и длительности выполняемых физических упражнений существуют различные механизмы энергообеспечения мышечной деятельности [5].

Непосредственным источником энергии для мышечного сокращения является гидролиз молекулы аденозинтрифосфата (АТФ) [2].

При выполнении мышечной работы АТФ ресинтезируется за счет анаэробных реакций креатинфосфокиназного (алактатного) механизма, который обеспечивает ресинтез АТФ за счет реакций перефосфорилирования между креатинфосфатом (КФ) и аденозиндифосфатом (АДФ). Ресинтез АТФ в процессе ферментативного анаэробного расщепления гликогена мышц или

глюкозы крови, заканчивающегося образованием молочной кислоты, обеспечивает гликолитический (лактатный) механизм. Ресинтез АТФ за счет фосфотрансферной реакции между двумя молекулами АДФ с участием миокиназы или за счет аэробных реакций окислительного фосфорилирования в митохондриях обеспечивает миокиназный механизм [5].

Аденозинмонофосфатдезаминаза (АМФД), АМФ-аминогидролаза – фермент, который относится к классу гидролаз, подклассу циклических амидаз.

АМФ-дезаминаза (АМФД) – это важный регулятор метаболизма мышечной энергии при физической нагрузке. Во время интенсивных упражнений пул АТФ истощается до 40% и аккумулируется АДФ. При этом в скелетных мышцах начинает работать миокиназный механизм анаэробного ресинтеза АТФ и активируется АМФД-М, катализирующая процесс деаминации АМФ, вследствие чего образуется инозинмонофосфат (ИМФ,4)..

Фермент аденозинмонофосфатдезаминазы, который экспрессируется в быстросокращающихся мышечных волокнах скелетных мышц и активно участвует в регуляции энергетических процессов в скелетных мышцах, кодируется геном *AMPD1* [7]. Данный ген локализован на коротком плече первой хромосомы (1p13.1), и контролирует синтез специфической скелетно-мышечной аденозинмонофосфатдезаминазы (АМФ-дезаминаза М-изоформа), которая, повышает эффективность синтеза АТФ и играет ключевую роль в регуляции энергетических процессов в скелетной мускулатуре. Установлено, что у некоторых индивидов может встречаться недостаток АМФ-дезаминазы [6].

Причиной дефицита АМФД у человека является однонуклеотидная замена цитозина на тимин в 34 нуклеотиде, которая кодирует последовательность, находящуюся во втором экзоне. В результате чего глутаминовый кодон САА превращается в стоп-кодон ТАА (С/Т полиморфизм гена) и прекращается синтез полипептидной цепи. В случае

присутствия в последовательности гена данной точечной мутации происходит терминация цепи белка, в результате чего продукт становится каталитически неактивным [4].

Креатинфосфокиназа (КК) – фермент, который относится к классу трансфераз, подклассу фосфотрансфераз.

Во время физических упражнений в сокращающихся мышцах аккумулируется АДФ и начинает работать креатинфосфокиназный механизм анаэробного ресинтеза АТФ (рис. 1), обеспечивающий перефосфорилирование между АТФ и КФ, которые локализованы на миофибриллах [4].



**Рис. 1.** Креатинфосфокиназный механизм анаэробного ресинтеза АТФ

Реакция катализируется одним из ключевых ферментов энергообеспечения мышечной деятельности – мышечной изоформой креатинфосфокиназы (КК-М), данная реакция активируется, когда продукция АТФ посредством окислительного фосфорилирования и гликолиза не компенсирует потребность сокращающейся мышцы в энергии. При физиологических условиях положение равновесия креатинфосфокиназной реакции смещено в сторону синтеза АТФ. Скорость расщепления КФ в работающих мышцах находится в прямой зависимости от активности фермента КК-М [4]. КК-М кодируется геном *СКММ* локализованным на длинном плече 19-й хромосомы (19q13.2–13.3) [9].

В 3'-нетранслируемом регионе гена *СКММ* обнаружен А/Г полиморфизм (замена аденина на гуанин; *rs8111989*). Полиморфизмы, расположенные в регуляторных областях гена (в промоторе 3'- и 5'UTR) не изменяют структуру белка, но могут влиять на стабильность мРНК и изменять экспрессию гена [8].

**Цель:** молекулярно-генетическое исследование полиморфных вариантов генов *AMPD1* и *СКММ*, регулирующих работу мышечной системы при формировании физической работоспособности.

**Материалы и методы.** Материалом исследования служили образцы ДНК 106 студентов, обучающихся в ФГБОУ ВО «БГПУ им. М. Акмуллы». Сбор венозной крови для генетических исследований проводилась с согласия исследуемых людей.

Оценку физической работоспособности проводили с помощью Гарвардского степ-теста. Выборка была разделена на 3 группы: с высоким, средним и низким показателем.

ДНК выделяли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции.

Аmplификацию проводили с помощью метода полимеразной цепной реакции синтеза ДНК. Продукты амплификации и последующей рестрикции регистрировали с помощью электрофореза в полиакриламидном геле.

Для статистической обработки данных применяли критерий  $\chi^2$ , таблицу сопряженности 2x2.

**Результаты и обсуждения.** Молекулярно-генетический анализ полиморфизма *rs17602729* в гене *AMPD1* показал наличие в выборке двух аллелей (С и Т) и трех генотипов (СС, СТ, ТТ). Анализы выявили 2 группы студентов с низким и средним показателем физической работоспособности, а группы с высоким показателем выявлено не было.

При анализе результатов генотипирования С34Т полиморфизма *AMPD1* в группах лиц, различающихся по результатам степ-теста, получены следующие результаты. Распределение частот генотипов и аллелей в выборках со средним и низким показателем соответствуют распределению Харди-Вайнберга, наблюдаемые результаты соответствуют теоретически ожидаемым согласно критерию  $\chi^2$ -квадрат.

При попарном сравнении частот аллелей и генотипов по полиморфному локусу *rs17602729* в гене *AMPD1* в группах с низким и средним показателями достоверных различий не выявлено.

Изучение распределения частот генотипов в обследованных группах показало преобладание частоты генотипа СС в группе со средним

показателем (24,24%) по сравнению с группой с низким показателем (13,69%). Частота генотипа ТТ также преобладает в группе со средним показателем (18,18%) по сравнению с группой с низким показателем (15,07%), а частота гетерозиготного генотипа СТ - в группе с низким показателем (71,23%) по сравнению с группой со средним показателем (57,57%).

В группе со средним показателем частота аллеля С (53,03%) преобладает по сравнению с частотой в группе с низким показателем (49,32%). Тогда, как частота аллеля Т преобладает в группе с низким показателем (50,68%) по сравнению с группой со средним показателем (46,96%, таблица 1).

Таблица 1

**Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного варианта *rs17602729* гена *AMPD1* со средним и низким показателями работоспособности**

ДНК-локус	Генотипы/ Аллели	Средний показатель		Низкий показатель		p( $\chi^2$ )
		N	p, %	N	P, %	
<i>AMPD1</i> <i>rs17602729</i>	СС	8	24,24	10	13,69	0,2903 (1,1227)
	СТ	19	57,57	52	71,23	0,2464 (1,3493)
	ТТ	6	18,18	11	15,07	0,9065 (0,0145)
	С	35	53,03	72	49,32	0,7245 (0,1248)
	Т	31	46,96	74	50,68	

Таким образом, исходя из анализа полученных данных, не было выявлено взаимосвязи полиморфного локуса С34Т (*rs17602729*) гена *AMPD1* с физической работоспособностью.

Молекулярно-генетический анализ полиморфизма *rs8111989* в гене *СКММ* показал наличие в выборке двух аллелей (А и G) и трех генотипов (AA, AG, GG). В выборке было обнаружено 2 группы студентов с низким и средним показателем физической работоспособности, группы с высоким показателем выявлено не было.

При анализе результатов генотипирования А/G полиморфизма *СКММ* в группах лиц, различающихся по результатам степ-теста, получены следующие результаты. Распределения частот генотипов и аллелей в выборках со средним и низким показателем соответствуют распределению Харди-Вайнберга, наблюдаемые результаты соответствуют теоретически ожидаемым, согласно критерию  $\chi^2$ -квадрат.

При попарном сравнении частот аллелей и генотипов по полиморфному локусу *rs8111989* в гене *СКММ* в группах с низким и средним показателями достоверных различий не выявлено.

Изучение распределения частот генотипов в обследованных группах показало преобладание частоты генотипа AA в группе со средним показателем (13,79%) по сравнению с группой с низким показателем (12,99%). Частота генотипа GG также преобладает в группе со средним показателем (41,38%) по сравнению с группой с низким показателем (23,38%). Тогда как частота гетерозиготного генотипа AG преобладает в группе с низким показателем (63,63%) по сравнению с группой со средним показателем (44,83%).

В группе с низким показателем частота аллеля А (40,81%) преобладает по сравнению с частотой в группе со средним показателем (36,21%). Тогда как частота аллеля G преобладает в группе со средним показателем (63,79%) по сравнению с группой с низким показателем (55,19%, таблица 2).



**Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного  
варианта *rs8111989* гена *СКММ* со средним и низким показателями  
работоспособности**

ДНК-локус	Генотипы/ Аллели	Средний показатель		Низкий показатель		p( $\chi^2$ )
		N	p, %	N	P, %	
<i>СКММ</i> <i>rs8111989</i>	AA	4	13,79	10	12,99	1,0005 (0,0005)
	AG	13	44,83	49	63,63	0,1260 (2,3442)
	GG	12	41,38	18	23,38	0,1114 (2,5364)
	A	21	36,21	69	40,81	0,3313 (0,9478)
	G	37	63,79	85	55,19	

Таким образом, исходя из анализа полученных данных, не было выявлено взаимосвязи полиморфного локуса A/G (*rs8111989*) гена *СКММ* с физической работоспособностью, что подтверждает необходимость анализа лиц, успешно занимающихся и достигших высоких спортивных результатов.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Аулик И.В. Определение физической работоспособности в клинике и спорте /. - М.: Медицина, 1979. - 192 с.
2. Ахметов И.И., Молекулярная генетика спорта, Советский спорт. 2009. – 94-100 с.
3. Скуратова Н. А. Значение Гарвардского степ-теста в оценке адаптационных возможностей сердечно-сосудистой системы у детей-спортсменов / Н. А. Скуратова, Л. М. Беляева. – Проблемы здоровья и экологии, Минск, №1 (27) / 2011.

4. Федотовская О.Н. Влияние полиморфизма гена AMPD1 на мышечную деятельность человека / О.Н. Федотовская, А.А. Данилова, И.И. Ахметов. – Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2012. Т. 154. №10. 458 с.
5. Федотовская О.Н., Ассоциация полиморфизмов генов AMPD1, СКММ, G6PC2 и MCT1 человека с мышечной деятельностью различной метаболической направленности // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. 2012. 7 с.
6. Федотовская О.Н. Влияние С34Т полиморфизма в гене АМФ-деаминазы (AMPD1) на физическую работоспособность человека // Генетические, психофизические и педагогические технологии подготовки спортсменов. 2006. 74- 80 с.
7. Gross M. Clinical heterogeneity and molecular mechanisms in inborn muscle AMP deaminase deficiency. 1997. P. 186–192.
8. Wilson, I. A. Differential localization of the mRNA of the M and B isoforms of creatine kinase in myoblasts / I.A. Wilson, K.M. Brindle, A.M. Fulton // J. Biochem. 1995. V.308. P.599-605.
9. <http://www.genecards.org>

## РОЛЬ АНТОЦИАНОВЫХ ПИГМЕНТОВ В РАСТИТЕЛЬНЫХ И ЖИВОТНЫХ ОРГАНИЗМАХ

Сухарева А.С.<sup>1</sup>, Михайлова Е.В.<sup>2</sup>, Кулуев Б.Р.<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО БГПУ им. М. Акмуллы г. Уфа

<sup>2</sup>ФГБНУ ИБГ УНЦ РАН г. Уфа

**Ключевые слова:** антоцианы, антиоксиданты, окислительный стресс, биодоступность, флавоноиды

**Аннотация:** Темами данного обзора являются типы и роль растительных флавоноидных соединений, главным образом антоциановых пигментов. Они рассматриваются в качестве участников системы защиты растений от различных стрессов и биоактивных компонентов пищи животных и человека. Перечислены факторы, влияющие на биодоступность флавоноидов и самые большие базы данных о содержании растительных полифенолов в пищевых продуктах и напитках. Приведены примеры использования генов, контролирующую антоциановую окраску растений, в качестве генетических маркеров и пути успешного повышения аккумуляции антоцианов методами селекции, генной инженерии и под воздействием биотических и абиотических факторов. Подчеркнута важность изучения биосинтеза и метаболизма антоциановых соединений.

**Обзор:** Флавоноидные соединения растений вызывают большой интерес исследователей в связи с накоплением данных о широком спектре их биологической активности. Эти вторичные метаболиты выполняют в растениях структурные, защитные и сигнальные функции, а также участвуют в процессах дыхания и фотосинтеза [5]. Многочисленные эпидемиологические исследования выявляют ассоциации между потреблением продуктов с высоким содержанием полифенольных соединений и профилактикой хронических и онкологических заболеваний [24, 29, 33].

Флавоноиды делят на 6 подклассов [7]: антоцианидины, флавонолы, флавоны, флаван-3-олы (включая проантоцианидины), флаваноны и изофлавоны. Они также связываются друг с другом, с различными углеводами и органическими кислотами [28].

Антоцианы или антоцианины – растительные гликозиды класса флавоноидов, содержащие в качестве агликона антоцианидины [5]. Представляют собой растительные пигменты, и обуславливают красную, розовую, фиолетовую и синюю окраску как вегетативных, так и генеративных органов растения. Отсюда следует одна из функций:

привлечение насекомых опылителей и распространителей семян яркоокрашенными венчиками цветов и плодами [12].

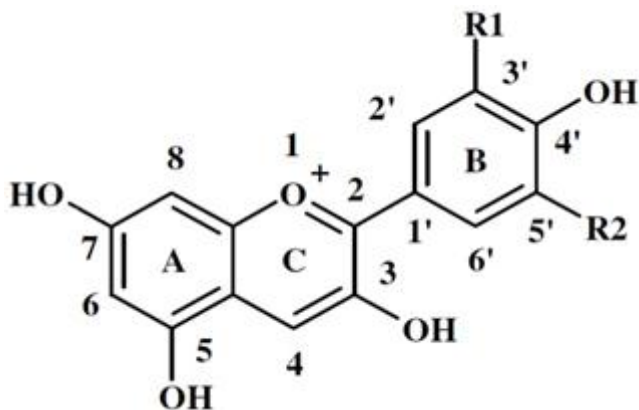


Рис. 1: Базовая структура антоцианидинов и антоцианов. Представлена нумерация атомов углерода. Антоцианы отличаются от других флавоноидов наличием положительного заряда и двойной связи в С-кольце (<https://biomolecula.ru/img/content/1137/Fig.2.png>)

Имеются данные о том, что уровень иммунитета растений к любым заболеваниям зависит от количества органических и ароматических кислот (в частности антоцианов и дубильных веществ - проантоцианидинов). Чем выше их содержание в клеточном соке, тем устойчивее растение [10].

Проантоцианидины, также известные как конденсированные танины, обладают характерным вяжущим вкусом и дубильными свойствами, основанными на их способности образовывать прочные связи с белками слюны, полисахаридами и др. биополимерами [8]. Эти вещества обеспечивают растениям защиту от травоядных и насекомых [7]. Наличие в молекулах фенольных гидроксильных групп определяет их антисептические свойства. В медицине применяются как противовоспалительные вещества [3]. Терпкость плодов изменяется в течение созревания и часто исчезает, когда плод достигает зрелости.

Сорта мягкой пшеницы, имеющие интенсивную фиолетовую окраску стебля и пыльников, обладают устойчивостью к твердой и пыльной головне [2]. Возбудителями заболеваний являются грибы *Tilletia tritici* или *T. levis* и *Ustilago tritici* *Jens.* соответственно [4]. Отмечено фунгицидное действие некоторых проантоцианидинов на примере *Sclerotinia fructigena* (*Pers.*) *Schrot* – возбудителя коричневой гнили плодов [10].

Молекулы антоцианов способны экранировать УФ, что было показано на примере суспензионной культуры клеток *Rosa damascena* *Mill.* [6] и *Centaurea cyanus* *L.* [34]. Клетки *Rosa damascena*, которые выживали после селекции на устойчивость к УФ-излучению, содержали примерно в 15 раз больше флавоноидов, в т.ч. антоцианов.

В листьях *Coleus* [19], *Zea mays* *L.* [32] и в клеточных культурах *Centaurea cyanus* *L.* [34] антоцианы были главными УФ-поглощающими компонентами, в отличие от ювенильных листьев рода *Syzygium*, где

антоцианы составляли 3,4 % (*S.luehmannii*) и 5,5 % (*S.wilsonii*) от общего УФ-поглощающего комплекса [35].

Эпидермальные антоцианы зрелых листьев красной разновидности рода *Coleus* способствовали меньшему повреждению органов растения от УФ-лучей, в отличие от зеленых аналогов *Coleus*, не содержащих антоцианов [19]. Показано, что ДНК растений-мутантов кукурузы, не способных синтезировать флавоноиды, преимущественно антоцианы, в меньшей степени была защищена от вредного воздействия УФ-излучения, чем ДНК нормальных растений [32]. На мутантных растениях из рода *Arabidopsis* были получены аналогичные результаты [26].

Изучение распространения морфологических признаков колоса мягкой пшеницы на территории бывшего СССР, позволило исследователям сделать вывод о том, что частота аллелей, определяющих антоциановую окраску колоса, значительно повышается в регионах с недостаточным количеством тепла в вегетационный период [11]. Общее содержание антоцианинов в пурпурной капусте (*Brassica Oleracea var. acephala f. tricolor*) сорта «Red Dove» выращенной в теплице было примерно в 50 раз ниже, чем в растениях того же сорта, выросших под действием более низких температур. Экспрессия генов биосинтеза антоцианов *C4H*, *F3H*, *DFR*, *ANS* и *UFGT* была усилена при низкой температуре [37]. Эти данные могут свидетельствовать о возможной связи степени пигментированности антоцианами растения или отдельных его органов и приспособленности к произрастанию в регионах с холодным климатом [12].

В ходе фотосинтетических процессов в хлоропластах образуются активные формы кислорода (АФК) – ионы кислорода, свободные радикалы и перекиси [14]. Антоцианы могут нейтрализовывать образующиеся АФК, однако их локализация ограничивает область их деятельности в пределах вакуоли и, частично, клеточной стенки [23].

Длительное воздействие оксидативного стресса вызывает повреждение клеток и нарушение в работе организма, как у растений, так и у животных. У последних, в т.ч. и у человека, наблюдается развитие хронических заболеваний (атеросклероза, сердечно-сосудистых заболеваний, диабета, воспалений), злокачественных опухолей и преждевременное старение организма [31].

Свои антиоксидантные свойства антоцианы проявляют и в организме животных. Результаты исследования лечебного действия проантоцианидинового экстракта виноградных косточек (GSPE) на изменения в кишечнике тучных крыс дают основания полагать, что GSPE оказывает множественный эффект: снижает уровень окислительного стресса (уменьшение АФК и активности миелопероксидазы), уменьшает экспрессию *IL-1 $\beta$*  (провоспалительного интерликина) в подвздошной кишке [24].

Было обнаружено, что агликоны наиболее распространенных антоцианов в пище, цианидина и дельфинидина, ингибируют рост опухолевых клеток человека *in vitro* [29]. Агликоны предпочтительно ингибировали рост клеточной линии карциномы человека (A431), сверхэкспрессируя рецептор эпидермального фактора роста (EGFR).

Следует отметить, что в значительной части исследований, доказывающих полезное действие флавоноидов, эксперименты проводились *in vitro*, и поэтому не стоит прямо экстраполировать результаты экспериментов на организм человека [7].

В обзоре Steinmetz et al., 1996 [33] о взаимосвязи между потреблением овощей и фруктов и риском развития рака представлены результаты 206 эпидемиологических исследований человека и 22 исследований на животных. Были рассмотрены онкологии ЖКТ, пищевода, легких, полости рта и глотки, эндометрия, поджелудочной железы и толстой кишки. В списке веществ, которые предположительно могут защищать от рака, имеются изофлавоны и флавоноиды. Полученные данные свидетельствуют о защитных эффектах увеличения в рационе доли продуктов богатых веществами полифенольного ряда от различных видов онкологии.

В связи с накоплением данных о благоприятном действии на организм диеты, богатой полифенольными соединениями, во многих странах проводятся работы по созданию банков данных содержания антиоксидантов в пищевых продуктах и напитках. В базах собрана информация о содержании биоактивных веществ не только в овощах, фруктах и лекарственных травах, но и в съедобных грибах, орехах, а также в молочных, мясных и рыбных продуктах и др. Самые известные из них [17]:

1. Antioxidant Food Database - более 3100 пищевых продуктов, БАДов и напитков со всего мира [21];
2. База данных, созданная ОАО «Химавтоматика» и ООО «Интерлаб» (г. Москва), более 1200 пищевых продуктов, напитков, БАДов, лекарств и лекарственных трав; впервые определены жирорастворимые антиоксиданты в молочных, рыбных и мясных продуктах, а также в растительных маслах, орехах и какао;
3. USDA Database for the flavonoid content of selected foods – содержит значения для 506 продуктов питания 5 подклассов флавоноидов, в т.ч. для антоцианинов (цианидин, дельфинидин, мальвидин, пеларгонидин, пеонидин, петунедин);
4. Phenol-Explorer - 502 полифенолов в 452 пищевых продуктах;
5. Euro FIR-Basis - 256 полифенолов в 199 пищевых продуктах.

Однако не существует прямой зависимости между содержанием антиоксидантов в потребляемом продукте и последующей антиоксидантной активностью в клетках-мишенях [21]. На биодоступность вышеупомянутых соединений влияют следующие факторы:

1. Факторы окружающей среды [28]:
  - Педоклиматические (тип почвы, количество солнечного света и влаги);
  - АгронOMICеские (обработка и удобрение почвы, способ выращивания – тепличные, гидропонные или полевые условия);
2. Микробные инвазии (концентрация полифенолов может увеличиваться после заражения, поскольку полифенолы непосредственно участвуют в реакции растений на инфицирование) [27];
3. Степень зрелости во время сбора урожая [27];
4. Кулинарная подготовка (удаление кожуры фруктов и овощей, кипячение, обжарка, микроволновое излучение, предпочтительнее – обработка паром) [22];
5. Условия хранения [28]:
  - Реакции окисления приводят к образованию более или менее полимеризованных веществ, что ведет к полезным или вредным изменениям качества продукта;
  - Температура (холодное хранение помогает сохранить изначальную концентрацию полифенолов);
6. Генетические факторы и особенности сортов растений, аккумулирующие полифенолы в тканях [18];
7. Промышленная пищевая обработка: шлифование, осветление, стабилизация, воздействие высоких и низких температур, ферментация, добавление пищевой химии и т.д. [28];
8. Популяционные различия в абсорбции, метаболизме и усвоении антиоксидантов [18], особенно эпителия тонкого кишечника [7];
9. Качественный и количественный состав микробиоты толстого кишечника [28; 7];
10. Матричный эффект пищевых продуктов, т.е. влияние структуры, состава питательных и непитательных компонентов пищи и их молекулярных отношений на изменение биоактивных свойств питательных веществ [25].

Важно учитывать, что самые распространенные в нашем рационе полифенолы не обязательно имеют лучший профиль биодоступности [28]. Поэтому первой важной задачей является выявление из сотен вышеупомянутых соединений таких, которые смогли бы обеспечить наибольшую защиту в контексте профилактического питания [7]. Вторая задача – определить, какие растения продуцируют наиболее полезные флавоноиды и какие условия выращивания будут способствовать максимальному их накоплению в различных органах растений. Следующим шагом может стать создание сортов с повышенным уровнем аккумуляции флавоноидных соединений путем селекции или при помощи методов генной инженерии.

Биосинтез флавоноидных соединений – один из наиболее хорошо изученных метаболических путей растений [13]. Гены, контролирующие биосинтез антоциановых пигментов, являются отличными генетическими маркерами, т.к. имеют четкое фенотипическое выражение и для многих точно известна хромосомная организация. Также известно, что мутации в этих генах не являются летальными для растений [1].

Изучение системы генов биосинтеза антоцианов способствовало открытию ряда генетических закономерностей [9]. Основные законы наследования были установлены Г. Менделем на горохе, а среди наблюдаемых признаков была окраска цветков. Г. Нильсон-Эле при изучении красной окраски зерновок мягкой пшеницы обнаружил явление событий в генах синтеза антоциановых пигментов у кукурузы.

На сегодняшний день существуют множество примеров манипуляций с биосинтезом антоцианов, основанных на различных подходах: селекции и методах генетической инженерии с модификацией структурных и регуляторных генов [16].

Селекционерами из Уральского НИИ сельского хозяйства был создан сорт картофеля «Чудесник» с синей и фиолетовой окраской мякоти и кожуры. Гибрид отличается низким содержанием крахмала, а также высоким содержанием витамина С и антиоксидантов [15]. Скрещивая пырей с пшеницей и, ведя отбор по признаку окраски зерна, ученым удалось создать сорт пшеницы с голубым зерном [36].

Примером успешной манипуляции с регуляторными генами биосинтеза антоцианов служит получение томатов насыщенного лилового цвета с повышенным содержанием антоцианов, обусловленное сверхэкспрессией транскрипционных факторов [20].

Впервые в истории генно-инженерными методами была изменена окраска растения за счет структурных генов биосинтеза антоцианов еще в 80-



х годах. В норме петунии не содержат пигментов производных пеларгонидина, т.к. его предшественник – дигидрокемпферол, не используется в качестве субстрата для дигидрофлавонол 4-редуктазы (DFR). У кукурузы наблюдается обратная картина. Исследователи использовали мутантную линию петунии, у которой ферменты флавоноид-3'-гидроксилаза (F3'H) и флавоноид-3',5'-гидроксилаза (F3'5'H) не экспрессируются, что приводит к накоплению в их тканях дигидрокемпферола. Они создали генетическую конструкцию с геном *Dfr* кукурузы и ввели его в мутантную линию петуний, что привело к появлению растений с кирпично-красной окраской цветков, не характерной для петунии [30].

Антоцианы – уникальные природные вещества. Благодаря своей высокой биологической активности и огромнейшему разнообразию, они заслуживают все больше внимание научного сообщества, главным образом физиологов, биохимиков, генетиков, фармакологов и нутрициологов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Войлоков А.В., Лыхолай А.Н., Смирнов В.Г. Генетический контроль антоциановой окраски у растений // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2014, Т.18, №4/1, С. 776 – 783.
2. Богданова Е.Д., Сарбаев А.Т., Махмудова К.Х. Устойчивость пшеницы к твердой головне // Матер. науч. генет. конф. Москва, 26–27 февраля 2002. М., 2002. С. 43–44.
3. Большая Медицинская Энциклопедия (БМЭ) Т.24, под редакцией Петровского Б.В., 3-е издание. [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <http://xn--90aw5c.xn>
4. Жизнь растений. В 6-ти т. Т. 2. Грибы. / Под ред. проф. М. В. Горленко. Гл. ред. чл.-кор. АН СССР, проф. А. А. Федоров. — М.: Просвещение, 1976.— 479 с.
5. Запрометов М. Н. Основы биохимии фенольных соединений: [для биол. специальностей ун-тов] / М.Н. Запрометов. - М.: Высш. школа, 1974. - 214 с. УДК 577(075)
6. Запрометов М. Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. М.: Наука, 1993.
7. Зверев Я.Ф. Флавоноиды глазами фармаколога. Особенности и проблемы фармакокинетики // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2017. Т.15. №2. С.4-11. doi:10.17816/RCF1524-11

8. Зефи́ров Н.С., Кулов Н.Н. и др. Химическая энциклопедия. — М.: Научное издательство «Большая российская энциклопедия», 1995. — Т. 4. — С. 493—494. — ISBN 5-85270-092-4
9. Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции: Учеб. для биол. спец. ун-ов. — М.: Высш. шк., 1989. — 591 с.
10. Курсанов Т. А. Развитие представлений о природе иммунитета растений. М.: Наука, 1988.
11. Мартынов С.П., Добротворская Т.В. Особенности распространения морфологических признаков колоса мягкой пшеницы на территории бывшего СССР // Генетика. 1997. Т. 33. С. 350–357.
12. Хлесткина Е.К. Гены, детерминирующие окраску различных органов пшеницы // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2012, Т.16, №1, С. 202 – 216.
13. Хлесткина Е.К., Шоева О.Ю., Гордеева Е.И. Гены биосинтеза флаваноидов пшеницы // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2014, Том 18, №4/1, С. 784-796.
14. Чупахина Г. Н., Масленников П. В., Скрыпник Л. Н. Природные антиоксиданты (экологический аспект): монография. — Калининград: Изд-во БФУ им. И. Канта, 2011. — 111 с.
15. Шанина Е.П. Селекция сортов картофеля различного назначения на Среднем Урале: дис. д-р с.-х. наук: 06.01.05. Тюмень, 2012. 274 с.
16. Шоева О.Ю. Антоцианы: секреты цвета // Химия и жизнь, №1, 2013.
17. Яшин Я.И., Веденин А.Н., Яшин А.Я. Природные антиоксиданты – неотъемлемая часть здорового и полноценного питания и защита от опасных болезней и стресса // Компания «ИНТЕРЛАБ», Москва, 09.2015. [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <http://www.interlab.ru/wp-content/uploads/2015/09/Prirodnye-antioksidanty.pdf>
18. Astley S.B., Lindsay D.G. European Research on the Functional Effects of Dietary Antioxidants – EUROFEDA // Molecular Aspects of Medicine, 2002, 23: 1-38.
19. Burger J., Edwards G. E. Photosynthetic efficiency, and photo-damage by UV and visible radiation, in red versus green leaf *Coleus varieties* // Plant and Cell Physiology. 1996. Vol. 37. P. 395—399.
20. Butelli E, Titta L., Giorgio M., Mock H.P., Matros A., Peterek S., Schijlen E.G., Hall R.D., Bovy A.G., Luo J., Martin C. Enrichment of tomato fruit with health-promoting anthocyanins by expression of select transcription

- factors // Nat. Biotechnol. 2008 Nov; 26(11): 1301-1308. doi:10.1038/nbt.1506
21. Carlsen M. H., Halvorsen B. L., Holte K., Bøhn S. K., Dragland S., Sampson L., Willey C., Senoo H., Umezono Y., Sanada C., Barikmo I., Berhe N., Willett C.W., Phillips M.K., Jacobs D. R. Jr., Blomhoff R. The total antioxidant content of more than 3100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide // Nutrition Journal 2010, 9:3. doi.org/10.1186/1475-2891-9-3
  22. Crozier A., Lean M.E.J., McDonald M.S., Black C. Quantitative analysis of the flavonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce, and celery // J. Agric Food Chem. 1997; 45: 590–595. DOI: 10.1021/jf960339y
  23. Ehlenfeldt M. K, Prior R. L. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and phenolic and anthocyanin concentrations in fruit and leaf tissues of highbush blueberry // J. Agric Food Chem. 2001. Vol. 49, № 5. P.2222-2227.
  24. Gil-Cardoso K., Ginés I., Pinent M., Ardévol A., Arola L., Blay M., Terra X. Chronic supplementation with dietary proanthocyanidins protects from diet-induced intestinal alterations in obese rats // Molecular Nutrition & Food Research, 2017, 61(8), 1601039. doi:10.1002/mnfr.201601039
  25. Glossary of Agricultural Terms, 2015 Edition. National Agricultural Library (NAL), USA. [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <https://definedterm.com/a/document/11260>
  26. Li J., Ou-Lee T.-M., Raba R. *Arabidopsis* flavonoid mutants are hypersensitive to UV-B irradiation // Plant Cell. 1993. Vol. 5. P. 171-179.
  27. Macheix J-J., Fleuriet A., Billot J. Fruit phenolics // Boca Raton, FL: CRC Press, 1990.
  28. Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L. Polyphenols: food sources and bioavailability // *The American Journal of Clinical Nutrition*, Volume 79, Issue 5, 1 May 2004, Pages 727–747, doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727
  29. Meiers S., Kemeny M., Weyand U. et al. The anthocyanidins cyanidin and delphinidin are potent inhibitors of the epidermal growth-factor receptor // J. Agric Food Chem. 2001. Vol. 49, № 2. P. 958—962.
  30. Meyer P., Heidmann I., Forkmann G., Saedler H. A new petunia flower colour generated by transformation of a mutant with a maize gene // Nature, v. 330 (23 December 1987), p. 677–678.

31. Pandey K.B., Rizvi S.I. Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2009, 2(5), 270–278. doi:10.4161/oxim.2.5.9498
32. Stapleton A. E., Walbot V. Flavonoids can protect maize DNA from the induction of ultraviolet radiation damage // *Plant Physiology*. 1994. Vol. 105. P. 881—889.
33. Steinmetz K.A., Potter J.D. Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review // *J. Am. Diet. Assoc.* 1996 Oct; 96(10): P. 1027-39. DOI: 10.1016/S0002-8223(96)00273-8
34. Takahashi A., Takeda K., Ohnishi T. Light-induced anthocyanin reduces the extent of damage to DNA in UV-irradiated *Centaurea cyanus* cells in culture // *Plant Cell Physiology*. 1991. Vol. 32. P. 541—547.
35. Woodall G. S., Dodd I. C., Stewart G. R. Contrasting leaf development in the genus *Syzygium* // *Journal of Experimental Botany*. 1998. Vol. 49, № 318. P. 79—87.
36. Zeven A.C. Wheats with purple and blue grains: a review // *Euphytica* (1991) 56: p. 243-258. <https://doi.org/10.1007/BF00042371>
37. Zhang B., Hu Z., Zhang Y., Li Y., Zhou S. A putative functional *MYB* transcription factor induced by low temperature regulates anthocyanin biosynthesis in purple kale (*Brassica Oleracea* var. *acephala* f. *tricolor*) // Guoping Chen *Plant Cell. Rep.* (2012) 31:281–289 DOI 10.1007/s00299-011-1162-3

## ВКЛАД ГЕНА NOS3 В ПАТОГЕНЕЗ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

**Туркменова Д.И., Воробьева Е.В.**

*ФГБОУ ВО «БГПУ им. М. Акмуллы», г. Уфа*

**Ключевые слова:** оксид азота, эндотелий, eNOS, эндотелиальная синтаза, дисфункция эндотелия, синтаза оксида азота.

**Краткая аннотация.** Выполнен обзор научной литературы последних лет для выяснения роли дисфункции эндотелия в этиологии и патогенезе заболеваний.

**Введение.** Согласно современным представлениям о дисфункции эндотелия, оксид азота (NO) является универсальным звеном в патогенезе многих заболеваний, в первую очередь сердечно-сосудистой системы. NO представляет собой плейотропную сигнальную молекулу, проявляющую разнообразные эффекты в многочисленных физиологических и патофизиологических процессах, включая нейротрансмиссию, вазодилатацию, иммунный ответ и функционирование костных клеток.

**Целью** настоящего исследования является изучение вклада эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) в этиологию и патогенез различных заболеваний для использования в предективной медицине.

Оксид азота - сигнальная молекула межклеточного взаимодействия, является простым радикалом, легко образующим ковалентные связи, так как содержит неспаренный электрон. NO синтезируется в организме группой цитохром P-450-подобных гемопroteинов – синтазами оксида азота из L-аргинина. Группа NO-синтаз состоит из трёх известных изоформ: нейрональной (nNOS), макрофагальной (iNOS) и эндотелиальной (eNOS). Эти изоформы соответственно являются продуктами экспрессии генов NOS1, NOS2 и NOS3 [1]. Наибольший интерес представляет последний в силу своего вклада в различные патологические состояния, связанные с дисфункцией эндотелия [2], [3].

Ген NOS3 кодирует фермент NO-синтазу 3-го типа, отвечающий за синтез оксида азота клетками эндотелия. Известно более 11 полиморфных вариантов гена NOS3, но к наиболее изученным считаются полиморфизм Intron (4 VNTR 4a/b), полиморфизм G894T 7 экзона и полиморфизм -786T>C промотора гена NOS3 [4].

В механизмах формирования тонуса периферических сосудов важнейшую роль играет продукция вазоактивных эндотелиальных факторов. Снижение содержания оксида азота может быть связано с нарушением экспрессии или транскрипции NOS, снижением доступности L-аргинина или ускоренным разрушением NO, например, при повышенном образовании свободных радикалов [5]. Одним из патогенетических признаков сердечно-

сосудистых заболеваний (ССЗ) является вазоконстрикция, направленная, в первую очередь, на улучшение кровоснабжения жизненно важных органов. Однако выяснено, что длительная вазоконстрикция способна приводить к нарушению микроциркуляции в тканях, развитию ишемических процессов и других ССЗ, поэтому необходимо соблюдение динамического равновесия между действием эндотелиальных прессорных и депрессорных систем, что позволит поддерживать нормальный тонус периферических сосудов и обеспечит адекватную циркуляцию NO в организме [6].

Все больше доказательств того, что полиморфизмы в NOS3 влияют на прогрессирование ишемической болезни сердца (ИБС). Результаты исследований популяции Хань в Китае указывают на значимую роль полиморфизмов G894T (rs1799983) , T-786C (rs2070744) NOS3 в возникновении ИБС[7], существует необходимость анализа ассоциаций в других популяциях для выяснения вклада полиморфных вариантов гена эндотелиальной синтазы оксида азота в этиологию и патогенез ИБС.

В центральной нервной системе эндотелиальный NO является важной молекулой, ответственной за сохранение функциональной целостности нейрососудистой системы. Оксид азота и нитриргические нервы играют роль сосудорасширяющих факторов, поэтому вносят определенный вклад в этиологию и патогенез таких болезней как рассеянный склероз [8] и болезнь Альцгеймера [9].

Метаанализ, проведенный китайскими учеными, показывает, что система синтазы оксида азота играет важную роль в канцерогенезе [10], [11]. Однако результаты некоторых других исследований, например, исследования Diler S.B., Öden A. [12] и группы ученых под руководством Zhang L. [13] не выявляют достоверных ассоциаций между возникновением раковых болезней и мутациями в гене эндотелиальной синтазы, поэтому связь между геном NOS3 и раком считается противоречивой.

В исследовании, проведенном в государственном университете Коджаэли в Турции, были рассмотрены полиморфизмы гена NOS3 T786C, G894T и Intron (4 VNTR 4a/b) как факторы риска, вызывающие рак предстательной железы (РПЖ). Сделан вывод, что полиморфизмы T786C, G894T могут быть связаны с восприимчивостью к РПЖ у населения Турции, существенной ассоциации для eNOS интрона 4 VNTR (4a / b) с РПЖ найдено не было [14].

В ряде работ установлено, что ген eNOS ассоциирован с развитием заболеваний, связанных с мочеполовой системой и репродуктивной функцией [15], [16]. Недавние исследования гена NOS3 и мужского бесплодия показывают, что экспрессия NOS3 регулирует нормальный сперматогенез в яичке, а варианты гена NOS3 (T-786C, 4a4b и G894T) потенциально могут быть связаны с нарушением функции сперматогенеза и уменьшением жизнеспособности сперматозоидов у китайского населения [17]. Исследования дают генетические доказательства того, что ген NOS3 является фактором риска развития идиопатической астеноспермии и мужского

бесплодия, поэтому на данный момент существует необходимость продолжения научных работ с учетом генетических различий среди популяций и комплексного патогенеза мужского бесплодия.

В исследовании коллектива ученых под руководством Калинина Р.Е. показано, что генотип Т/Т полиморфизма С786Т имеет достоверную ассоциацию с развитием варикозной болезни и постромболебитического синдрома [18].

При оценке возможного вклада NOS3 при заболеваниях пародонта было определено, что G894Т (rs1799983) [19] и T-786С (rs2070744) [20] гена NOS3 показывают связь с периодонтальным заболеванием.

На данный момент уже выяснена значимость оксида азота для многих протекающих в организме процессов, все больше фундаментальных и клинических исследований проводится для изучения роли NO в зрительном анализаторе. Исследователями из США [21] и Испании [22] обнаружено, что NO участвует в регуляции физиологического внутриглазного давления (ВГД). Об этом свидетельствуют исследования, в которых показано, что у мышей с сверхэкспрессией гена NOS3 ВГД снижается, в то время как мыши, у которых отключена работа NOS3, имеют повышенный ВГД по сравнению с дикими или трансгенными животными [23]. Эти данные согласуются с данными человека, показывающими полиморфизмы в гене NOS3, ассоциированном с глазной гипертензией и развитием глаукомы [24]. Поскольку эндогенный NO играет ключевую роль в регуляции ВГД, экзогенные доноры NO могут иметь терапевтическое значение в качестве агентов, снижающих ВГД.

В работах ученых Пекинского медицинского университета показано, что экспрессия eNOS значительно изменяется при тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА) и может быть потенциальным биомаркером ТЭЛА в периферической крови [25]. Исходя из этого, возникает необходимость в исследованиях модуляции экспрессии eNOS для создания новых методов лечения острой легочной тромбоэмболии.

Учеными из технологического университета Дели было выяснено, что дисрегуляция эндотелиальных клеток-предшественников (ПЭК) и уменьшение их количества напрямую коррелируют с возникновением диабета [26]. По этой причине считается, что контроль ПЭК позволит улучшить состояние больных диабетом и избежать осложнений, сопровождающих это заболевание.

В работе ученых из чилийского университета [27] показана связь между статусом метилирования в промоторе eNOS и содержанием минеральных веществ в костной ткани в детском возрасте, что указывает на ассоциацию eNOS с ростом и развитием костей. Продемонстрировано, что изменение эпигенетической маркировки определенной области промотора eNOS в пуповине предсказывает размер и плотность костей у будущего потомства в детстве. В исследовании ученых под предводительством Harvey N.C. [28] говорится о возможной специфичности сайтов метилирования.

Несмотря на значительные достижения в исследованиях дисфункции

эндотелия, многие аспекты патологических процессов остаются до конца не изученными и дискуссионными. Дальнейшие исследования эндотелия и его повреждающих факторов позволят не только успешно воздействовать на патогенетические механизмы различных заболеваний, в том числе сердечно-сосудистых, но и прогнозировать и предупреждать опасные для жизни заболевания, увеличивая продолжительность жизни больных [29].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Урясьев О.М. Генетические факторы в развитии бронхиальной астмы: значение синтаз оксида азота [Текст]/ О.М. Урясьев, А.В Шаханов, А.И. Рогачиков// Земский врач. — 2015. — № 1 (25). — С. 20-23.
2. Воробьева Е.Н. Дисфункция эндотелия при сердечно-сосудистых заболеваниях: факторы риска, методы диагностики и коррекции/ Е.Н. Воробьева, Р.И. Воробьев, Е.А. Шарлаева, М.Л.Фомичева, Г.Г. Соколова, А.С. Казызаева, И.А. Батанина// Acta Biologica Sibirica. 2016. 2 (1). С.21-41.
3. Халимова З.Ю. Дисфункция эндотелия как возможный промоутер развития неактивной аденомы гипофиза/ З.Ю. Халимова, Д.Ш. Холова, Ю.М. Урманова, Д.А. Алиева, Г.А. Алимухамедова// Международный эндокринологический журнал. 2015; № 6 (70). С. 81-85.
4. Хромова А.В. Анализ влияния структурной перестройки промотора гена NOS3 на продукцию вазоактивных эндотелиальных факторов/ А.В. Хромова, О.М. Феликсова, А.А. Куба, Н.А. Бебякова// Вестн. Сев. (Арктич.) федер. ун-та. Сер.: Мед.-биол. науки. 2015. № 4. С. 107–115. DOI 10.17238/issn2308-3174.2015.4.107.
5. Duplain H. и др. Insulin resistance, hyperlipidemia, and hypertension in mice lacking endothelial nitric oxide synthase // *Circulation*. 2001. Т. 104, № 3. С. 342–345.
6. Куба А.А. Ассоциация генетического полиморфизма гена эндотелиальной синтазы оксида азота с сердечно-сосудистой патологией [Текст]/ А.А. Куба, Ю.М. Никонова, О.М. Феликсова, А.В. Хромова, Н.А. Бебякова// Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 3; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=17352> (дата обращения: 16.10.2018).
7. Zhao G.L., Li Q.J., Lu H.Y. Association between NOS3 genetic variants and coronary artery disease in the Han population // *Genet. Mol. Res*. 2016. Т. 15, № 2.
8. Heidari M.M., Khatami M., Tahamtan Y. Molecular Analysis of rs2070744 and rs1799983 Polymorphisms of NOS3 Gene in Iranian Patients With Multiple Sclerosis // *Basic Clin Neurosci*. 2017. Т. 8, № 4. С. 279–284.
9. Toda N., Okamura T. Cigarette smoking impairs nitric oxide-mediated cerebral blood flow increase: Implications for Alzheimer’s disease // *J. Pharmacol. Sci*. 2016. Т. 131, № 4. С. 223–232.



10. Wu X. и др. Association between three eNOS polymorphisms and cancer risk: a meta-analysis // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2014. Т. 15, № 13. С. 5317–5324.
11. Gao X. и др. eNOS Genetic Polymorphisms and Cancer Risk: A Meta-Analysis and a Case-Control Study of Breast Cancer // *Medicine* . 2015. Т. 94, № 26. С. e972.
12. Haque S. и др. G894T and 4a/b polymorphisms of NOS3 gene are not associated with cancer risk: a meta-analysis // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2015. Т. 16, № 7. С. 2929–2937.
13. Zhang L. и др. The G894t, T-786c and 4b/a polymorphisms in Enos gene and cancer risk: a meta-analysis // *J. Evid. Based Med. Wiley Online Library*, 2014. Т. 7, № 4. С. 263–269.
14. Diler S.B., Öden A. The T –786C, G894T, and Intron 4 VNTR (4a/b) Polymorphisms of the Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene in Prostate Cancer Cases // *Генетика*. 2016. Т. 52, № 2. С. 249–254.
15. Yao H.-X. и др. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and risk of erectile dysfunction: An updated meta-analysis of genetic association studies // *Int. J. Surg.* 2018. Т. 54, № Pt A. С. 141–148.
16. Yang B. и др. Functional Variations in the NOS3 Gene Are Associated With Erectile Dysfunction Susceptibility, Age of Onset and Severity in a Han Chinese Population // *J. Sex. Med.* 2017. Т. 14, № 4. С. 551–557.
17. Song P. и др. Endothelial nitric oxide synthase (eNOS) T-786C, 4a4b, and G894T polymorphisms and male infertility: study for idiopathic asthenozoospermia and meta-analysis // *Biol. Reprod.* 2015. Т. 92, № 2. С. 38.
18. Калинин Р.Е. Полиморфизм гена синтазы азота и эндотелина-1 при хронической венозной недостаточности нижних конечностей / Р.Е. Калинин и др. // *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова*, №4, 2015 г.
19. Белоклицкая Г. Ф. Влияние полиморфизма G308A гена TNF-А у лиц молодого возраста (18-25 лет) на возникновение заболеваний тканей пародонта [Текст]/ Г. Ф. Белоклицкая, К. О. Горголь, С. П. Кирьяченко // *Вісник стоматології*. — 2018. — № 2. — С.23-28.
20. Mazurek-Mochol M. и др. Nos3 Gene Rs1799983 and Rs2070744 Polymorphisms in Patients with Periodontal Disease // *Folia Biol.* . 2018. Т. 64, № 2. С. 59–64.
21. Andrés-Guerrero V., García-Feijoo J., Konstas A.G. Targeting Schlemm’s Canal in the Medical Therapy of Glaucoma: Current and Future Considerations // *Adv. Ther.* 2017. Т. 34, № 5. С. 1049–1069.
22. Aliancy J., Stamer W.D., Wirostko B. A Review of Nitric Oxide for the Treatment of Glaucomatous Disease // *Ophthalmol Ther.* 2017. Т. 6, № 2. С. 221–232.

23. Chang J.Y.H. и др. Role of nitric oxide in murine conventional outflow physiology // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2015. Т. 309, № 4. С. C205–C214.
24. Lei Y. и др. Aqueous Humor Outflow Physiology in NOS3 Knockout Mice // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2015. Т. 56, № 8. С. 4891–4898.
25. Miao R. и др. Alteration of endothelial nitric oxide synthase expression in acute pulmonary embolism: a study from bench to bioinformatics // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2017. Т. 21, № 4. С. 827–836.
26. Ambasta R.K., Kohli H., Kumar P. Multiple therapeutic effect of endothelial progenitor cell regulated by drugs in diabetes and diabetes related disorder // *J. Transl. Med.* 2017. Т. 15, № 1. С. 185.
27. Krause B.J. и др. Role of DNA methyltransferase 1 on the altered eNOS expression in human umbilical endothelium from intrauterine growth restricted fetuses // *Epigenetics.* 2013. Т. 8, № 9. С. 944–952.
28. Harvey N.C. и др. Evaluation of methylation status of the eNOS promoter at birth in relation to childhood bone mineral content // *Calcif. Tissue Int.* 2012. Т. 90, № 2. С. 120–127.
29. Котюжинская С. Г., Уманский Д. А., Эндотелиальная дисфункция в патогенезе сосудистых катастроф при сердечно-сосудистых заболеваниях// *Запорожский медицинский журнал.* – 2017. – Т. 19, № 4(103). – С. 525–530 .