

Таким образом, проведенное исследование показало, что существуют сложности в ранней диагностике, соответственно дифференцировке диагноза первичного гиперпаратиреоза; недостаточно выявляются пациенты с малосимптомной и асимптомной формами, что требует дополнительного анализа.

На сегодняшний день в Республике Беларусь существует необходимость изменить отношение к данной проблеме, внедрить широкомасштабный скрининг случаев гиперкальциемии, что позволит более точно оценить результаты диагностики, также выявить влияние отдельных экологических факторов на развитие данной патологии и разработать комплексные методы прогнозирования и лечения данного заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мокрышева, Н. Г. Первичный гиперпаратиреоз: современное представление о проблеме / Н.Г. Мокрышева // Лечение и профилактика.–2013.–№ 2.–С. 144-148.
2. Рожинская, Л. Я. Современные представления об этиологии, патогенезе, клинической картине, диагностике и лечении первичного гиперпаратиреоза / Л. Я. Рожинская // Лечащий врач.–2009.
3. Борсук, А. Д. Первичный гиперпаратиреоз (обзор литературы) / А.Д. Борсук // Проблемы здоровья и экологии.–2013.–№ 4.–С. 34-36.
4. Дедов, И. И. Эпидемиология первичного гиперпаратиреоза / И.И. Дедов [и др.] // Проблемы эндокринологии.–2010.–№ 5.–С. 17-37.
5. Знаменский, А. А. Первичный гиперпаратиреоз: осложненные формы клинического течения и современные подходы к хирургическому лечению / А.А. Знаменский [и др.]; под ред. А.П. Калинина и В.А. Привалова // Современные аспекты хирургической эндокринологии. – Челябинск: Изд-во «Челябинская государственная академия», 2010. – 428 с.

РОЛЬ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ В САХАРНОМ ДИАБЕТЕ ROLE OF EPIGENETIC REGULATION IN DIABETES MELLITUS

***P. V. Baranovskiy, V. Yu. Abakumets, N. V. Bogdanova, K. Ya. Bulanava
R. Baranovskiy, V. Abakumets, N. Bogdanova, K. Bulanava.***

*Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь
baranovskii.return@gmail.com*

Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

Эпигенетика – направление генетики, сравнительно недавно оформившееся в самостоятельную область исследований. Она представляет собой изучение механизмов эпигенетического наследования. Эпигенетическое наследование – наследуемые изменения в фенотипе или экспрессии генов, вызываемые механизмами, которые не приводят к изменениям последовательности ДНК. В последнее время получены новые данные, говорящие о том, что эпигенетические механизмы играют одну из ключевых ролей в формировании сахарного диабета 2-го типа.

Epigenetics is a branch of genetics that has recently developed into an independent field of research. It is a study of the mechanisms of epigenetic inheritance. Epigenetic inheritance - inherited changes in the phenotype or expression of genes caused by mechanisms that do not lead to changes in the DNA sequence. Recently, new data have been obtained suggesting that epigenetic mechanisms play a key role in the formation of type 2 diabetes.

Ключевые слова: эпигенетическая регуляция, сахарный диабет, шапероны, метилирование, гистоны, некодирующие РНК.

Keywords: epigenetic regulation, diabetes mellitus, chaperones, methylation, histones, non-coding RNA.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2020-2-17-20>

Сахарный диабет (далее – СД) и его осложнения являются одной из серьезнейших медико-социальных и экономических проблем современного здравоохранения. Долгое время считалось, что в развитии СД2 главная роль принадлежит только генетическим факторам. Однако со временем стало ясно, что в патогенезе СД2 важную роль играют и эпигенетические факторы.

Эпигенетика – область генетики, сравнительно недавно выделившаяся в самостоятельную отрасль исследований. Эпигенетика исследует не мутации, а изменения активности генов, при которых структура ДНК остается прежней. Главные эпигенетические способы, меняющие активность генов – это модификация гистонов, меняющих упаковку ДНК, метилирование самой ДНК и привлечение микрорегуляторных РНК. Эпигенетические изменения сохраняются в ряде митотических делений соматических клеток, а также могут передаваться следу-

ющим поколениям. Эпигенетика изучает механизмы эпигенетического наследования. Эпигенетическое наследование – наследуемые изменения в фенотипе или экспрессии генов, вызываемые механизмами, которые не приводят к изменениям последовательности ДНК. Основным понятием в эпигенетике является эпигеном. Эпигеном – множество молекулярных меток, регулирующих активность генов, но не изменяющих первичную структуру ДНК. Эпигеном включает метилирование ДНК, модификации гистонов, некодирующие РНК и процессы ремоделирования хроматина которые могут регулировать клеточную дифференцировку, клеточно-специфическую экспрессию генов, геномный родительский импринтинг, инактивацию X-хромосомы, а также стабильность и структуру генома.

Метилирование – перенос метильной группы ДНК-метилтрансферазами (DNMT) от S-аденозиметинина к нуклеотидам ДНК – цитозину или аденину. ДНК метилируется в основном по специфическим динуклеотидным сайтам в геноме – CpG-островкам.

В нормальных клетках по всему геному человека большинство динуклеотидов CpG метилированы, в то время как CpG-островки, содержащие длинные участки CpG, обычно свободны. Такие процессы, как дифференциация или импринтинг, могут вызвать метилирование CpG областей промоторов, что приводит к инактивации генов. Гипометилирование ДНК связано с активацией генов, гиперметилирование ДНК может приводить к выключению генов.

Метилирование ДНК вовлечено в широкий спектр биологических процессов, которые включают регуляцию экспрессии тканеспецифических генов, клеточную дифференцировку, инактивацию X-хромосомы самок млекопитающих, регуляцию структуры хроматина, репликацию ДНК, латентный период у вирусов, канцерогенез и старение. Полный профиль геномного метилирования ДНК среди пациентов с СД2 показал 276 локусов CpG. Данные локусы гипометилированы и могут играть важную роль в нарушении регуляции и патогенезе заболевания.

Получены данные, подтверждающие роль эпигенетики в нарушении регуляции β -клеток у больных СД, а также в процессах воспаления, при оксидативном стрессе и эндотелиальной дисфункции, состояниях, характерных для сердечно-сосудистых осложнений при сахарном диабете. Так же обнаружено, что при СД2 такие известные локусы как TCF7L2, FTO и KCNQ1, были избирательно метилированы. Что касается скелетных мышц человека, было показано, что субъекты с СД2 имели гиперметилирование цитозина PGC-1 α . Так же у них снижалось содержание митохондрий в мышцах.[1] Важно отметить, что напряженные физические упражнения индуцируют гипометилирование промотора и увеличение экспрессии генов PGC-1 α , PDK4 и PPAR- δ в скелетных мышцах. В жировой ткани человека 6- месячная тренировка привела к избирательному метилированию ДНК и экспрессии мРНК генах RALBP1, HDAC4 и NCOR2. Кроме того, нокдаун генов Hcad4 и Ncor2 в адипоцитах приводит к усилению липогенеза *in vitro*. Эти данные предполагают, что существуют тканеспецифические эпигенетические изменения при СД2, которые, по крайней мере, частично регулируются вариациями активности тех или иных последовательностей ДНК. Так же в последнее время все больше данных свидетельствуют о том, что изменение метилирования ДНК играют важную роль в развитии атеросклеротических осложнений при сахарном диабете, т.к. полногеномный анализ определил снижение метилирования геномной ДНК человека при данных поражениях. К генам с измененным паттерном метилирования ДНК, связанным с атеросклеротическими осложнениями СД2, относятся: рецепторы эстрогенов ER α и ER β , супероксиддисмутаза SOD3, apoE, рецептор ЛПНП. Так же метилирование важно для регуляции экспрессии воспалительных цитокинов. Так, липополисахариды снижают метилирование промотора фактора некроза опухоли (TNF) и увеличивают экспрессию фактора в макрофагах, индуцируя тем самым воспалительную реакцию. Так же существует предположение, что процессы метилирования ДНК играют важную роль в регуляции синтеза специфических стрессорных белков, известных как белки теплового шока. Белки теплового шока относятся к классу шаперонов, которые участвуют в процессах формирования правильной конформации белковых молекул. Считается, что в патогенезе СД2 важную роль играет семейство белков теплового шока с молекулярной массой в районе 70 кДа (все изоформы HSP 70). Самыми главными изоформами этого шаперона являются HSC 70 (конституционная форма) и HSP 72 (индуцибельная форма). Показано, что при СД2 в организме отсутствует HSC 70, что может приводить к неправильному сворачиванию молекулы инсулина, который вследствие этого теряет возможность взаимодействия со своим рецептором. Предполагается, что ген, который ответственен за экспрессию HSC70, может быть гиперметилирован в промоторной области, что в свою очередь блокирует последующий процесс транскрипции, и приводит к остановке синтеза HSC70. Важно установить фактор, провоцирующий гиперметилирование промотора этого гена, что позволяет, в первую очередь, обратить внимание на возможную роль гистонов [2].

Гистоны – белки, окружающие ДНК, образуя тетрамерную структуру, нуклеосому. Описаны пять гистонов: H1, H2A, H2B, H3 и H4. Гистоны играют важную роль в эпигенетике, регулируя экспрессию генов. N-концевая часть гистонов подвергается различным модификациям. Эти модификации включают в себя: фосфорилирование, убиквитинирование, ацетилирование, метилирование, сумоилирование. Эти модификации гистонов участвуют в регуляции экспрессии генов, формируя участки связывания для коактиваторов, косупрессоров и других регуляторных белков хроматина. Самой изученной модификацией гистонов является ацетилирование и деацетилирование. Ацетилирование гистонов опосредуется гистонацетилтрансферазами (НАТ), которые осуществляют реакцию переноса ацетильной группы CH₃CO- (реакция ацетилирования) на остатки лизина в гистонах. Данный процесс приводит к активации транскрипции ДНК. Гистонацетилтрансфераза связывается с эухроматином, когда к последнему присоединяется фактор транскрипции. Последующее ацетилирование гистонов вносит отрицательный заряд на их поверхность, что приводит к отталкиванию гистонов друг от друга. В результате закрытая до этого ДНК становится открытой для ферментов, выполняющих транскрипцию. В свою очередь, про-

цесс деацетилирования опосредуется гистондеацетилазами (HDAC). Процесс деацетилирования по своей сути обратен процессу ацетилирования, и заключается в отрыве ацетильной группы $\text{CH}_3\text{CO}-$ от гистонов. В настоящее время известно, что модификации гистонов участвуют в индукции экспрессии генов, вовлеченных в патогенез атеросклеротических осложнений сахарного диабета. Известно, что гистондеацетилазы (HDAC) играют важную роль в регуляции гомеостаза клеток сосудов, и их дерегуляция может быть частично ответственна за патогенез атеросклероза при СД2. Существуют различные изоформы гистондеацетилаз. HDAC3 необходима для поддержания целостности эндотелия и ее выключение приводит к атеросклерозу и разрывам сосудов. HDAC3 также играет важную роль в эндотелиальном воспалении. Сверхэкспрессия непротессированной изоформы HDAC7 (HDAC7u) может подавлять пролиферацию гладкомышечных клеток за счет ингибирования циклина D1 и остановки клеточного цикла. Кроме того, HDAC7 контролирует рост эндотелиальных клеток, взаимодействуя и модулируя транслокацию β -катенина, что удерживает эндотелиальные клетки от деления. HDAC2 деацетилюет СРТА (class II transactivator) – медиатора вызванного макрофагами хронического воспаления. Но самые новые данные свидетельствуют о том, что процесс ацетилирования гистонов так же регулирует синтез белков теплового шока. Гиперацетилирование гистона H3 у промотора и транскрибирующих областей гена HSPA1, повысило доступность фактора теплового шока для целевого элемента теплового шока и способствовало транскрипции. Так же было выявлено, что гиперацетилирование данного гистона увеличивало экспрессию, как конституционной формы HSP70, так и индуцибельной, что может иметь решающее значение для профилактики и лечения сахарного диабета 2-го типа [4].

Некодирующие РНК – функциональные РНК, которые не транслируются в полипептиды. Они представлены двумя формами, участвующими в эпигенетических механизмах: микроРНК, длиной 20–22 нуклеотида и длинными некодирующими РНК (нкРНК) – более 200 нуклеотидов. Эти РНК регулируют экспрессию генов на посттранскрипционном уровне, воздействуя на нетранслируемые 3'-участки матричной РНК (мРНК) и влияя на их трансляцию, деградацию или секвестрацию. Некодирующие РНК регулируют до 90 % генов. Есть данные, что они воздействуют на структуру хроматина и формируют белковые комплексы на хромосомах, а также активируют транскрипцию на дистальных промоторах. Некодирующие РНК влияют на развитие атеросклероза, регулируют различные клеточные процессы, включая воспаление, регенерацию клеток, обмен глюкозы и липидов, так же они нужны для развития и дифференциации клеток-предшественников поджелудочной железы. Доказана роль некодирующих РНК в развитии метаболических нарушений жировой ткани, что приводит к развитию ожирения и инсулинорезистентности, которые, в свою очередь, являются предикторами СД2. Одними из первых изученных микроРНК, регулирующих метаболизм глюкозы и действие инсулина посредством ингибирования его рецептора, являются микроРНК семейства let-7. МикроРНК этого семейства в основном образуются в поджелудочной железе, однако обнаружены и в жировой ткани, где экспрессируется на поздних стадиях дифференциации адипоцитов и ингибирует клональную экспансию преадипоцитов, путём угнетения негистоновых белков. Чрезмерная экспрессия let-7 в преадипоцитах приводит к подавлению адипогенеза. Имеются данные, свидетельствующие о том, что участники семейства микроРНК let-7 регулируют инсулиночувствительность всего организма и метаболизм глюкозы. Показано, что различные микроРНК могут, как ускорять дифференцировку преадипоцитов в адипоциты, так и являться негативными регуляторами адипогенеза. К микроРНК, способствующим ускорению адипогенеза, относится miR-143. При исследовании экспрессии микроРНК преадипоцитов обнаружено, что при ингибировании miR-143 в клетках снижается количество инсулинзависимого белка-переносчика глюкозы4 (GLUT4), гормон-чувствительной липазы, белка, связывающего жирные кислоты (FABP4), PPAR- γ 2 и подавляется накопление триглицеридов. Исследования показали, что экспрессия miR-143 достоверно повышена в процессе дифференцировки преадипоцитов. Механизм действия miR-143 в преадипоцитах заключается в активизации сигнального пути ERK5, являющейся внеклеточной киназой, одного из ферментов системы митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК), контролирующей транскрипцию генов, клеточную пролиферацию, метаболизм и др. Таким образом, ингибиторы miR-143 могут использоваться для торможения дифференциации адипоцитов и накопления липидов. К группе микроРНК, проявляющих стимулирующее действие на адипогенез, относятся miR-103 и miR-107, которые воздействуют на мРНК, вовлеченные в клеточный метаболизм ацетил-КоА и липидов. Эти микроРНК регулируют активность пантотенат киназы, которая активирует пантотенат, являющийся необходимым для биосинтеза коэнзима А.

Исследования показали, что кластер miR17/92 (miR-17-5p, miR-17-3p, miR-18, miR-19b и miR-20) инициирует клеточную пролиферацию в клеточных линиях преадипоцитов *in vitro*. Также при гормональной стимуляции *in vitro* наблюдается дополнительная экспрессия этих микроРНК, что ускоряет дифференциацию адипоцитов. Происходит это посредством трансляционного подавления семейства белков Rb2/p130, которые относятся к семейству генов ретинобластомы и снижают клеточную пролиферацию. Доказано, что у пациентов с сахарным диабетом 2 типа и ожирением снижена экспрессия miR17/92 в жировой ткани сальника, а также в крови, что позволяет использовать эти микроРНК для диагностики метаболических заболеваний. Так же показано, что экспрессия микроРНК семейства miR-29 повышена в клеточных линиях преадипоцитов и ингибирует действие инсулина в отношении зрелых адипоцитов [3].

Выявлено, что данное семейство микроРНК действует посредством регуляции транскрипционного фактора FOXA2 (forkheadbox protein A2, ранее известный как HNF-3 β – ядерный фактор гепатоцитов). FOXA2 известен как индуктор экспрессии гормон-чувствительной липазы, GLUT4, гексокиназы 2, пируваткиназы M2, разобщающих белков 2 и 3 (UCP 2, 3) Обнаружено, что уровень экспрессии FOXA2 в адипоцитах может влиять на развитие и прогрессию ожирения через воздействие на ген FTO (ген, ассоциированный с ожирением и риском развития сахарного диабета 2 типа). Установлено, что miR-29b может служить биомаркером для диагностики сахарного диабета 2 типа,

так как выявлено ее достоверное снижение в плазме крови у больных сахарным диабетом 2 типа. Также установлено увеличение miR-29a в моче у больных СД 2 с диабетической нефропатией и альбуминурией по сравнению с больными без альбуминурии. Величина экспрессии miR-29b положительно коррелирует с толщиной интимы сосудов.

Таким образом, семейство микроРНК miR-29 может служить потенциальными биомаркером кардиометаболических заболеваний, особенно для оценки атерогенного риска ассоциированного с ожирением. Помимо микроРНК, проявляющих стимулирующий эффект на адипогенез, существуют микроРНК, обладающие супрессорной активностью. Одной из таких микроРНК является miR-27a, которая подавляет экспрессию транскрипционного фактора PPAR γ и дифференцировку преадипоцитов в клеточных линиях *in vitro*. В культуре зрелых адипоцитов, полученных от людей с ожирением, выявлено снижение экспрессии miR-27a, что позволяет предположить наличие ассоциации гипертрофии адипоцитов со снижением экспрессии этой микроРНК.

Некоторые микроРНК связаны с регуляцией процесса аутофагии. Аутофагия – процесс самопереваривания клеток, опосредованный системой лизосом. При старении клеток эффективность аутофагии снижается и накапливаются внутриклеточные отходы. Исследования показали, что содержание miR-21ba отрицательно коррелирует с факторами аутофагии Beclin1 и ATG5 во время старения эндотелиальных клеток пупочной вены. Сверхэкспрессия miR-21ba подавляет аутофагию, вызванную действиями окисленных ЛПНП в молодых эндотелиальных клетках, путем прямого воздействия на Beclin1. Напротив, ингибирование miR-21ba в старых эндотелиальных клетках сохраняет способность индуцировать защитную аутофагию в ответ на действие окисленных ЛПНП. Высокожировая диета значительно активизирует miR-30, что снижает защитные эффекты аутофагии в эндотелиальных клетках и ускоряет развитие атеросклероза, подавляя трансляцию Beclin1. Однако полный список процессов, в которых вовлечены некодирующие РНК до конца не известен.

Так же сравнительно новым и слабоизученным механизмом эпигенетической регуляции являются процессы ремоделирования хроматина – перемещения нуклеосом по ДНК, приводящие к изменению плотности нуклеосом или к расположению их на определённом расстоянии друг от друга. Ремоделирование осуществляется специальными белковыми комплексами, при этом затрачивается энергия в виде АТФ. У человека ремоделирование хроматина осуществляют около 5 белковых комплексов. Однако точная взаимосвязь процессов ремоделирования с патогенетическими механизмами сахарного диабета 2-го типа никак не изучена.

Таким образом, можно заключить, что эпигенетическая регуляция играет одну из ключевых ролей в формировании патологической картины сахарного диабета 2. Изучение эпигенетических модификаций имеет очень важный диагностический и прогностический потенциал. Существует терапевтическая перспектива для больных СД2, которая может быть реализована путем использования тканеспецифических эпигенетических препаратов-модификаторов. Так же возможно использование ингибиторов различных ферментов, вовлеченных в механизмы эпигенетической регуляции. Существуют предпосылки создания биомаркеров на основе микроРНК, которые могут быть использованы для прогнозирования диабета и его осложнений. И, в свою очередь, необходимо дополнительное изучение процессов ремодуляции хроматина и установления взаимосвязи этих процессов с СД2.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сахарный диабет и атеросклероз: эпигенетические механизмы патогенеза. / Л.К. Соколова [и др.] // Український кардіологічний журнал, 2017. – № 6 – С.104-115.
2. <https://ru.glance-tech.com/effects-histone-deacetylase-inhibitors-transcriptional-regulation-hsp70-gene-drosophila-689565>.
3. Тофило, Е. Н. МикроРНК, регулирующие адипогенез при Сахарном Диабете 2 типа/ Е.Н. Тофило М.А. Егорова Е.Н. // Медико-фармацевтический журнал «Пульс», 2017 – №.3. – С.108-110.
4. Теоретическое и прикладное значение белков теплового шока 70КДА ; Возможность практического применения и фармакологической коррекции. / Андреева Л. И., 2002. – № 2 – С.2-17.

ЭКОЛОГИЧЕСКИ ЦЕННЫЙ МЁД: МЕТОД ПОЛУЧЕНИЯ

ECOLOGICALLY VALUABLE HONEY: METHODS OF OBTAINING AND RESEARCH

А. Н. Батян, В. А. Кравченко, К. О. Зоричев, М. А. Чекрыгина

A. Batyan, V. Kravchenko, K. Zorichev, M. Chakryhina

Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,

г. Минск, Республика Беларусь

kravchenko.v.anat@gmail.com

Belarusian State University, ISEI BSU,

Minsk, Republic of Belarus

Предложен инновационный способ получения экологически ценного меда, расширяющий возможности для органического питания и повышения устойчивости организма человека к изменяющимся экологическим условиям, т.к. обладает сбалансированным углеводно-белково-витаминно-минеральным составом