Возможно, мониторинг содержания в составе вкДНК GC- и AT- богатых повторов позволит в будущем заранее оценивать уровень стресса и предотвращать развитие психоза.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-15-00437 (П).

1. Goldner E.M. Prevalence and incidence studies of schizophrenic disorders: a systematic review of the literature. / Goldner E.M., Hsu L., Waraich P., Somers J.M. // Can J Psychiatry. 2002 Nov;47(9):833-43. doi: 10.1177/070674370204700904..
2. Tandon R. Schizophrenia, "just the facts" what we know in 2008. Epidemiology and etiology. / Tandon R., Keshavan M.S., Nasrallah H.A. // Schizophr Res. 2008 Jul;102(1-3):1-18. doi: 10.1016/j.schres.2008.04.011
3. Ermakov E.A. Oxidative Stress-Related Mechanisms in Schizophrenia Pathogenesis and New Treatment Perspectives. / Ermakov E.A., Dmitrieva E.M., Parshukova D.A., Kazantseva D.V., Vasilieva A.R., Smirnova L.P. // Oxid Med Cell Longev. 2021 Jan 23;2021:8881770. doi: 10.1155/2021/8881770.
4. Ershova E.S. Copy number variations of satellite III (1q12) and ribosomal repeats in health and schizophrenia. / Ershova E.S., Malinovskaya E.M., Golimbet V.E., Lezheiko T.V., Zakharova N.V., Shmarina G.V., Veiko R.V., Umriukhin P.E., Kostyuk G.P., Kutsev S.I., Izhevskaya V.L., Veiko N.N., Kostyuk S.V. // Schizophr Res. 2020 Aug 6:S0920-9964(20)30415-1. doi: 10.1016/j.schres.2020.07.022.
5. Жесткова Е.М. Концентрация циркулирующей внеклеточной ДНК в плазме периферической крови больных с острыми психозами эндогенной и экзогенной этиологии. / Жесткова Е.М., Ершова Е.С., Мартынов А.В., Захарова Н.В., Костюк Г.П., Вейко Н.Н., Костюк С.В. // Психиатрия. т.19 №3 стр.6.
6. Ershova E.S. Accumulation of Circulating Cell-Free CpG-Enriched Ribosomal DNA Fragments on the Background of High Endonuclease Activity of Blood Plasma in Schizophrenic Patients. / Ershova E.S., Jestkova E.M., Martynov A.V., Shmarina G.V., Umriukhin P.E., Bravve L.V., Zakharova N.V., Kostyuk G.P., Saveliev D.V., Orlova M.D., Bogush M., Kutsev S.I., Veiko N.N., Kostyuk S.V. // Int J Genomics. 2019 Aug 5;2019:8390585. doi: 10.1155/2019/8390585.
7. Veiko N.N. Ribosomal repeat in the cell free DNA as a marker for cell death. / Veiko N.N., Bulycheva N.V., Roginko O.A., Veiko R.V., Ershova E.S., Kozdoba O.A., Kuz'min V.A., Vinogradov A.M., Iudin A.A., Speranskiy A.I. // Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry, 2008, Vol. 2, No. 2, pp. 198–207.PMID: 18421913

**Полеткина А.А.¹, Ершова Е.С.¹, Шмарина Г.В.¹, Клименко П.А.², Костюк Э.В.³,
Мартынов А.В.¹, Клименко М.П.², Аветисова К.Г.², Пухальская Д.А.¹, Вейко Н.Н.¹,
Костюк С.В.¹**

Содержание рибосомных повторов в геномах пациенток с нормальной и осложненной беременностью

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»

² ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава РФ

³ ГБУЗ города Москвы "Центр планирования семьи и репродукции департамента
здравоохранения Города Москвы"
(Россия, Москва)

doi: 10.18411/trnio-10-2021-107

Аннотация

Исследовано число копий рибосомного повтора в геномах беременных женщин с нормально протекающей и осложненной беременностью. Выявлено, что более половины образцов ДНК женщин с патологией беременности содержали либо больше, либо меньше копий рДНК в геномах по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, есть все основания полагать, что вариации числа копий рибосомного повтора могут быть параметрами, позволяющими выявить группы риска среди беременных женщин на ранних сроках гестации. Женщины с низким и высоким содержанием рДНК в геноме нуждаются в более строгом наблюдении в период беременности.

Ключевые слова: рибосомные гены, копияность, беременность.

Abstract

Copy Number Variation of the ribosomal repeat in the genomes of pregnant women with normal and complicated pregnancies was investigated. It was revealed that more than half of the DNA samples of women with pregnancy pathology contained either more or less rDNA copies in the genomes compared to the control group.

Thus, there is every reason to believe that variations in the number of copies of the ribosomal repeat may be parameters for identifying risk groups among pregnant women in early gestation. Women with low and high rDNA content in their genome need more strict monitoring during pregnancy.

Keywords: Ribosomal Genes, Copy Number Variation, pregnancy.

Организм женщины переживает тяжелый стресс на протяжении всего периода беременности. При этом с увеличением срока гестации стрессорная нагрузка на организм матери возрастает. Индивидуальная устойчивость к стрессорным воздействиям подобного рода существенно различается в популяции и детерминируется генетически. Сегодня мы обладаем достаточными необходимыми средствами для верификации и анализа индивидуальных генетических детерминант, важных для персонифицированного подхода к оценке возможностей организма преодолеть стресс и обеспечить приживаемость эмбриона и нормальное течение беременности.

Рибосомные повторы являются ключевыми игроками в поддержании стабильности всего генома, который функционирует в эукариотической клетке. Изменения в числе копий рибосомных генов (уменьшение или увеличение) приводит к нестабильности генома, что, в свою очередь, индуцирует старение, рак и различные заболевания.

От числа копий рибосомных генов в организме зависит биогенез рибосом. Биогенез рибосом влияет на способность клеток человека пролиферировать и нормально выполнять свои функции. В делящейся клетке синтез рибосомной РНК (рРНК) наиболее активен – количество транскрипта рРНК составляет 35-60% от общего количества РНК в клетках [1]. Соответственно, скорость транскрипции связана с ростом клеток и их пролиферативной активностью, зависит в значительной степени от различных факторов, таких, как окислительный стресс, старение, повреждения ДНК, ограничения в питании и т.д. [2-4]. В настоящее время скорость биогенеза рибосом рассматривается в качестве очень чувствительного сенсора клеточного стресса [5]. Дисрегуляция биогенеза рибосом, вызванная нарушением транскрипции рибосомных генов или малым количеством их копий, приводит к развитию ряда заболеваний [6].

Таким образом, анализ количества рибосомных повторов генома –направлен на выявление генетических маркеров, предопределяющих высокую или низкую эффективность ответа организма на стресс.

Методы.

Образцы крови женщин с нормально протекающей беременностью (52 пациентки) и с осложненной беременностью (57 пациенток), получены в рамках совместной работы с Кафедрой акушерства и гинекологии Педиатрического факультета ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова. Весь биологический материал для проведения научной работы в рамках НИР получен с соблюдением этических норм в рамках проведения совместных научных исследований.

ДНК из клеток крови выделяли по стандартной методике экстракции фенол-хлороформом (включая обработку РНКазой), концентрацию ДНК определяли флуориметрически с применением интеркалирующего флуоресцентного красителя PicoGreen (Invitrogen, США), измерение проводили на планшетном спектрофлуориметре EnSpire.

Для определения числа копий рибосомного повтора в составе генома применяли метод нерадиоактивной количественной дот-гибридизации с биотинилированными зондами и метод ПЦР в реальном времени на приборе StepOnePlus («Applied Biosystems», США).

Статистическую обработку проводили с использованием программы Excel Microsoft Office, Statistica 6.0, StatGraph.

Результаты.

В исследовании принимали участие 109 женщин в возрасте 22-40 лет (средний возраст 32 ± 4 года), проживающие в г. Москве (РФ) в одинаковых социальных условиях. У 52 участниц исследования беременность протекала без осложнений (срок гестации более 37 недель); 57 беременных женщин с осложненной беременностью были госпитализированы в стационар в отделение патологии беременности. Характеристика пациенток представлена в Таблице 1.

Таблица 1

Характеристика выборки женщин с патологией беременности

Клинический показатель			Количество пациенток
Срок гестации	✓	До 36 недель	23
	✓	36 недель и больше	34
Белок в моче	✓	Высокий	42
	✓	Нормальные значения	15
Артериальное давление	✓	Высокое	33
	✓	Нормальное	24
Жалобы на головную боль	✓	Есть	16
	✓	Нет	41

Для 109 образцов ДНК, выделенных из лейкоцитов крови, определено содержание рДНК методом нерадиоактивной количественной гибридизации (Рисунок 1). Распределение числа копий рДНК в группе беременных с патологией отличается более широким интервалом варьирования значений и большим коэффициентом вариации. В группе женщин с нормально протекающей беременностью не встречались значения числа копий рДНК больше 508 и меньше 341 копий рДНК на диплоидный геном. 16 образцов (28%) ДНК женщин с патологией беременности имели значения числа копий рДНК ниже, чем в геномах с нормальной беременностью и 15 (26%) – выше.

Рисунок 1. Рибосомные повторы в клетках крови женщин с нормальной и осложненной беременностью.

Примечание: значения числа копий рДНК в геномах женщин с осложненной беременностью (красная линия) и с нормальной беременностью (зеленая линия), представленные в виде кумулятивных гистограмм. Данные описательной статистики приводятся в Таблице 2. Согласно критерию Колмогорова-Смирнова, распределения различаются ($D = -0,28$; $p = 0,02$)

Таким образом, более половины образцов ДНК женщин с патологией беременности содержали либо больше, либо меньше копий рДНК в геномах по сравнению с контрольной группой. Это очень важный вывод. Ранее мы показали, что очень низкие и очень высокие значения числа копий рДНК в геноме человека практически не встречаются у людей старше 72 лет [7]. Сбалансированное содержание рДНК в геноме является одним из признаков более высокой продолжительности жизни человека. Распределение числа копий рДНК в геномах старых людей значительно сужено по сравнению с распределением в геномах молодых людей. Иными словами, до преклонных лет доживают люди со средними значениями числа копий рДНК в геноме. Средние значения числа копий обеспечивают более сбалансированный биогенез рибосом и, по-видимому, обеспечивают большую устойчивость организма к стрессам.

Таблица 2

Данные описательной статистики копийности рДНК в клетках крови при нормальной и осложненной беременности

<i>Число копий рДНК в геноме</i>	<i>Патология</i>	<i>Норма</i>
<i>Число элементов ряда</i>	57	52
<i>Среднее</i>	419	428
<i>Стандартное отклонение</i>	107	48
<i>Стандартная ошибка (среднего)</i>	14	7
<i>Минимум</i>	191	341
<i>Максимум</i>	656	508
<i>Диапазон (максимальное расстояние)</i>	465	167
<i>Коэффициент вариации</i>	0,25	0,11
<i>Медиана</i>	423	428
<i>Ошибка медианы</i>	2,36	1,15
<i>U – test (значение p)</i>	> 0,7	

Примечание: сравнение выборок проводили с использованием критерия U Манна-Уитни.

Поскольку беременность является высокой нагрузкой для организма, то для ее успешного протекания необходим сбалансированный биогенез рибосом. Женщины с низким количеством копий рДНК и с очень высоким количеством могут оказаться в группе риска. Таким образом, параметр «число копий рДНК в геноме» женщины может служить дополнительным маркером, указывающим на возможные осложнения беременности. Женщины с низким и высоким содержанием рДНК в геноме нуждаются в более строгом наблюдении в период беременности.

Таким образом, есть все основания полагать, что вариации числа копий рибосомного повтора могут быть параметрами, позволяющими выявить группы риска среди беременных женщин на ранних сроках гестации.

Работа выполнена в рамках темы 0400-2020-0013 Минобрнауки.

1. Moss T. At the center of eukaryotic life / Moss T., Stefanovsky V.Y. // Cell. 2002 May 31;109(5):545-8. doi: 10.1016/s0092-8674(02)00761-4.
2. Hannan R.D. Regulation of ribosomal DNA transcription during neonatal cardiomyocyte hypertrophy / Hannan R.D., Rothblum L.I. // Cardiovasc Res. 1995 Oct;30(4):501-10. PMID: 8574998.
3. Russell J. The RNA polymerase I transcription machinery / Russell J., Zomerdijs J.C. // Biochem Soc Symp. 2006;(73):203-16. doi: 10.1042/bss0730203. PMID: 16626300; PMCID: PMC3858827.

4. Hein A.M. Neuroinflammation and cognitive dysfunction in chronic disease and aging / Hein A.M., O'Banion M.K. // J Neuroimmune Pharmacol. 2012 Mar;7(1):3-6. doi: 10.1007/s11481-011-9340-1.
5. Grummt I. A metabolic throttle regulates the epigenetic state of rDNA / Grummt I., Ladurner A.G. // Cell. 2008 May 16;133(4):577-80. doi: 10.1016/j.cell.2008.04.026
6. Hannan K.M. Dysregulation of RNA polymerase I transcription during disease / Hannan K.M., Sanij E., Rothblum L.I., Hannan R.D., Pearson R.B. // Biochim Biophys Acta. – 2013. – V. 1829(3-4). – P.342-360. doi: 10.1016/j.bbagr.2012.10.014.
7. Malinovskaya E.M. Copy Number of Human Ribosomal Genes With Aging: Unchanged Mean, but Narrowed Range and Decreased Variance in Elderly / Malinovskaya E.M., Ershova E.S., Golimbet V.E., Porokhovnik L.N., Lyapunova N.A., Kutsev S.I., Veiko N.N., Kostyuk S.V. // Group. Front Genet. 2018 Aug 7;9:306. doi: 10.3389/fgene.2018.00306. eCollection 2018.

Хуссиен Мусаб

Влияние регуляторов роста на клональное микроразмножение *Cymbidium erythrostylum* Rolfe

*ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева
(Россия, Москва)*

doi: 10.18411/trnio-10-2021-108

Аннотация

Цимбидиум эритростилум - один из самых красивых представителей рода цимбидиума, который используется в качестве комнатных растений из-за своего уникального строения цветка и раннего цветения. Семенное размножение цимбидиума в природе ограничено. Клональное микроразмножение является эффективным решением этой проблемы. В работе было изучено влияния регуляторов роста растений на размножение *C. erythrostylum* в культуре *in vitro*. В качестве объектов исследования использовали протосомы *C. erythrostylum*, полученные из семян пророщенных ассимбиотическим методом на питательной среде ½ МС с добавлением 1,0 мг / л 2iP. На этапе собственно микроразмножения число образовавшихся протосом на питательной среде, содержащей 0,8 мг/л 6-БАП было больше (3,8±0,68) по сравнению с другими вариантами. При последующем культивировании на питательной среде ½ МС, содержащей 2,0 мг/л 6-БАП и 0,5 мг/л НУК, были получены наибольшее число побегов (4,00±0,99).

Ключевые слова: *Cymbidium erythrostylum*, *in vitro*, протосомы, регуляторы роста.

Abstract

Cymbidium erythrostylum Rolfe is one of the most beautiful species of the genus *cymbidium* which is used as an indoor plant because of its unique flower structure and early flowering. Propagation of *Cymbidium* by seeds in nature is limited. Clonal micropropagation is an effective solution to this problem. In this study was studied the effects of plant growth regulators on the propagation of *C. erythrostylum* in vitro. We used protosoms obtained by the asymbiotic germination of seed on ½ MS medium supplemented with 1.0mg/l 2iP as objects of study. During the multiplication stage, the number of formed protosoms on a culture medium containing 0.8 mg / L 6-BAP was higher (3.8±0,68) compared with other variants. During the subsequent cultivation on ½ MS medium supplemented with 2.0 mg / l 6-BAP and 0.5 mg / l NAA, which was the best culture medium for growth and development of seedling, were obtained the highest numbers of shoots (4.00±0,99).

Keywords: *Cymbidium erythrostylum*, *in vitro*, protosoms, plant growth regulators.

Род цимбидиум (*Cymbidium* Swartz) относится к семейству орхидных (Orchidaceae), который включает около 50 видов [1]. Представители рода *Cymbidium* занимают первое место среди орхидей по производству срезанных цветков из-за красивых соцветий. Они популярны как в цветочных композициях, так и в комнатном озеленении [2].