**Досенко Віктор Євгенович. Роль алельного поліморфізму генів ендотеліальної NO-синтази та протеасоми в патогенезі серцево-судинних захворювань: молекулярно-генетичні аспекти : Дис... д-ра мед. наук: 14.03.04 / НАН України; Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця. — К., 2006. — 310арк. : рис., табл. — Бібліогр.: арк. 255-310.**

|  |  |
| --- | --- |
| |  | | --- | | **Досенко В.Є. Роль алельного поліморфізму генів ендотеліальної NO-синтази та протеасоми в патогенезі серцево-судинних захворювань: молекулярно-генетичні аспекти.** – Рукопис.  Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. - Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ, 2006.  Дисертацію присвячено вивченню ролі алельного поліморфізму гена ендотеліальної NO-синтази та генів, що кодують субодиниці імунопротеасоми, в патогенезі серцево-судинних захворювань. При дослідженні частоти алельного поліморфізму промотору (Т-786С), 7-го екзону (G894T) та 4-го інтрону (4а/4b) гена ендотеліальної NO-синтази показано, що С/С варіант промотору в 2.7 рази частіше зустрічається у хворих на гострий коронарний синдром, ніж у практично здорових осіб. Інтенсивність експресії гена ендотеліальної NO-синтази на 35% менша при С/С генотипі промотору, ніж за Т/Т варіанту промотору, а активність продукції NO тромбоцитами людей з С/С варіантом промотору у 2.1 рази менша, ніж при Т/Т генотипі, що вказує на функціональне значення цього алельного поліморфізму. Розподіл різних алельних варіантів генів, що кодують субодиниці протеасоми (LMP2 та LMP7) не відрізняється у хворих на серцево-судинні захворювання та у практично здорових індивідуумів. За допомогою розробленого нами методу доведено, що матричні РНК різних ізоформ NO-синтази розщеплюються 26S протеасомою, а це свідчить про участь протеасомного протеолізу в регуляції активності NO-синтази як на посттранскрипційному, так і посттрансляційному рівні. В експериментах in vitro та на культурі кардіомоцитів показано, що кардіопротекторні механізми дії біофлавоноїду кверцетину пов’язані із впливом на протеасомний протеоліз. | |
| |  | | --- | | Сучасними роботами в галузі патологічної фізіології та медичної генетики доведено, що індивідуальні особливості генетичної інформації людини можуть обумовлювати розвиток не тільки відомих моногенних спадкових захворювань, але й полігенних патологій, в тому числі і найбільш поширених серцево-судинних захворювань. Важливим підходом до ідентифікації генотипу людини є визначення алельного поліморфізму генів, зокрема тих, що пов’язані із хворобами серця та судин, серед яких ген ендотеліальної NO-синтази має виняткове значення.  1. При дослідженні частоти алельного поліморфізму промотору (Т-786С), 7-го екзону (G894T) та 4-го інтрону (4а/4b) гена ендотеліальної NO-синтази показано, що С/С варіант промотору в 2.7 рази частіше зустрічається у хворих на гострий коронарний синдром, ніж у практично здорових осіб.  2. У виникненні есенціальної артеріальної гіпертензії у дітей та підлітків має значення алельний поліморфізм 7-го екзону (G894T) гена ендотеліальної NO-синтази – Т/Т варіант виявлявся у хворих втричі частіше, ніж у практично здорових осіб.  3. Інтенсивність експресії гена ендотеліальної NO-синтази на 35% менша при С/С генотипі промотору, ніж за Т/Т варіанту промотору, а активність продукції NO тромбоцитами людей з С/С варіантом промотору у 2.1 рази менша, ніж при Т/Т генотипі, що вказує на функціональне значення цього алельного поліморфізму як одного із патогенетичних механізмів серцево-судинних захворювань.  5. Поліморфізм генів, що кодують субодиниці протеасоми (LMP2 та LMP7), дуже рідко зустрічається в українській популяції, а розподіл різних алельних варіантів цих генів не відрізняється у хворих на серцево-судинні захворювання та у практично здорових індивідуумів.  6. Експресія генів LMP2 та LMP7 не залежить від алельного поліморфізму зазначених генів, проте хімотрипсиноподібна та трипсиноподібна активність протеасоми в ізольованих моноцитах залежить від поліморфізму гена LMP2: за алельного варіанту Arg/Arg спостерігається зменшення пептидазних активностей протеасоми, а гетерозиготи (Arg/His) відрізняються найбільшою активністю макромолекулярного протеїназного комплексу.  8. Доведено, що протеасома приймає участь в регуляції активності ендотеліальної NO-синтази в ізольованих тромбоцитах кроля - активація протеасомного протеолізу спричинює вірогідне підвищення активності ферменту на 25 %, а інгібітори протеасоми та метильований убіквітин запобігають цьому ефекту. За умов in vitro рекомбінантна ендотеліальна NO-синтаза також зазнає убіквітин-залежної протеасомної деградації.  9. За допомогою розробленого нами методу доведено, що матричні РНК різних ізоформ NO-синтази розщеплюються 26S протеасомою, а інгібітор протеасоми класто-лактацистин b-лактон пригнічує РНКазну активність протеасоми. Цей факт свідчить про участь протеасомного протеолізу в регуляції активності NO-синтази як на посттранскрипційному, так і посттрансляційному рівні.  10. Кардіопротекторні механізми дії біофлавоноїду кверцетину пов’язані із впливом на протеасомний протеоліз, бо зазначений препарат дозозалежно пригнічує усі три пептидазні активності пурифікованої протеасоми та активність цього протеїназного комплексу в культивованих неонатальних кардіоміоцитах. При цьому кверцетин запобігає некротичній та апоптотичній загибелі культивованих кардіоміоцитів при моделюванні аноксії-реоксигенації, однак не зменшує кількість клітин, що гинуть шляхом аутофагії.  13. Внутрішньовенне введення водорозчинного аналогу кверцетину «Корвітину» призводить до значного пригнічення активності протеасоми в нейтрофільних гранулоцитах, що дозволяє використовувати цей лікувальний препарат з метою регуляції активності протеасомного протеолізу при серцево-судинних захворюваннях.  14. Проведені генетичні та патофізіологічні дослідження підтримують сучасний напрямок у медичній генетиці, що відкриває нові можливості ранньої діагностики та індивідуалізації лікування серцево-судинних захворювань за принципами фармакогенетики. | |