

адаптационних можливостей учасників // Сборник науч трудов к 80-летию проф. П.Ф. Степанова. – Смоленск: СГМА. – 2004. – С. 116–118.

11. Левенець С.О., Начьотова Т.А. Спосіб прогнозування формування затримки статевого розвитку у дівчат-підлітків / Патент № 59158, Україна, А61В10/00, заявник і патентовласник ІОЗДП АМН України. – № 2003032378, заявл. 19.03.2003, опубл. 15.08.2003.
12. Гаспаров А.С., Кулаков А.В. Клинико-генетические параллели у больных с болезнью поликистозных яичников (БПКЯ) // Проблемы репродукции. – 1995. – № 3. – С. 30–32.
13. Кривич И.П. Особенности дерматоглифических показателей у девочек и девушек с гиперандрогенией различного генеза // Акушерство и гинекология. – 1987. – № 9. – С. 57–58.
14. Василенко Ю.А. Параллелизм изменений дерматоглифики, эндокринного и психического статуса в популяции детского населения, проживающего в районах с высокой антропогенной нагрузкой: автореф. дис. д-ра мед. наук. – Ставрополь, 2005. – 20 с.
15. Дмитриев А.Н. Метаболический синдром: маркеры индивидуальной предрасположенности, диагностика доклинической стадии, обоснование тактики ведения пациентов: автореф. дис.... д-ра мед. наук. – Екатеринбург, 2011. – 22 с.
16. Негашева М.А. Системный подход при изучении взаимосвязей соматических, дерматоглифических и психоэмоциональных признаков в структуре общей конституции человека // Морфология. – 2008. – № 1. – С. 73–77.

NACHOTOVA T.A.

State Institution “Institute for Children and Adolescents Health Care of the NAMS of Ukraine”, Ukraine, 61153, Kharkiv, pr. 50-lytya VLKSM, 52-A, e-mail: iozdp@ukrpost.ua

DERMATOGLYPHIC PATTERNS OF ADOLESCENT GIRLS WITH OF DIFFERENT CLINICAL TYPES OF SECONDARY AMENORRHEA

Aims. The investigate dermatoglyphic patterns of adolescent girls with of different clinical types of secondary amenorrhea. **Methods.** In order to find morphogenetic markers of different clinical types of secondary amenorrhea (SA) in adolescent girls, an analysis of dermatoglyphic patterns has been carried out in 102 adolescent girls with SA aged from 13 to 17, who were under clinical research in the S.I. “ІСАНС NAMS of Ukraine”; the control group consisted of 50 girls of the same age with a regular menstrual cycle. **Results.** It has been shown that the clinical types of SA have typical morphogenetic (dermatoglyphic) complexes. **Conclusions.** The suggested dermatoglyphic complexes can be applied for the prediction of SA in girls.

Key words: dermatoglyphic patterns, adolescent girls, secondary amenorrhea.

УДК 575.21:577.2

ПІДПАЛА О.В., ЛУКАШ Л.Л.

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, Україна, 03680, м. Київ, вул. Академіка Заболотного, 150, e-mail: pidpala@ukr.net

КОМПОЗИЦІЙНІ КЛАСТЕРНІ СТРУКТУРИ МОБІЛЬНИХ ГЕНЕТИЧНИХ ЕЛЕМЕНТІВ У ІНТРОНАХ ГЕНА *MGMT* ЯК ДЖЕРЕЛО РЕГУЛЯТОРНИХ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

Ген *MGMT* людини кодує репаративний фермент O^6 -метилгуанін-ДНК метилтрансферазу, який видаляє алкільні групи з O^6 -позиції гуаніну у ДНК і захищає клітини від їхнього токсичного та мутагенного впливів. Експресія даного гена та активність самого ензиму мають широкі межі як між-, так і внутрішньоіндивідуальної варіації [1], що вказує на складну його регуляцію. Дослідження останніх років зацентровані на залученні мобільних генетичних елементів (МГЕ) до

генної регуляції. Зокрема показано, що МГЕ можуть бути джерелом різноманітних регуляторних послідовностей, таких як сайти альтернативного сплайсингу [2], цис-регуляторні модулі, які є кластерами сайтів зв'язування транскрипційних факторів [3, 4], чи виконувати роль альтернативних промоторів [5]. У своїх попередніх дослідженнях ми вивчали розподіл МГЕ у промоторній ділянці гена *MGMT* людини і у його структурних частинах [6, 7]. У межах промоторної ділянки виявили

послідовність частково делетованого *AluSp*-повтору, що має гомологію із сайтами зв'язування для восьми транскрипційних факторів, а саме Elk-1; SREBP; Sp1; GATA-2; Tst-1; E47; E2F та Oct-1 [6]. Аналізуючи розподіл МГЕ у самому гені, виявили, що вони присутні лише в інтронних послідовностях із перевагою *LINE*-елементів. У двох інтронах МГЕ утворюють композиційні кластерні структури, які можуть бути джерелом різноманітних регуляторних послідовностей [7]. Тому метою даної роботи є аналіз зазначених композиційних кластерних структур на наявність послідовностей, що гомологічні сайтам зв'язування транскрипційних факторів.

Матеріали і методи

Нуклеотидні послідовності гена *MGMT* людини взято на сайті Ensembl (<http://www.ensembl.org>). Результати пошуку та ідентифікації МГЕ здійснено за допомогою програми CENSOR (<http://www.girinst.org>). Функціональні сайти визначено програмою TFSEARCH: Searching Transcription Factor Binding Sites (ver 1.3) (<http://www.cbrc.jp/research/db/TFSEARCH.html>).

Результати та обговорення

Відомо, що МГЕ мають тенденцію до кластеризації у внутрішньогенних ділянках генів та в інтронах [8]. У інтронних послідовностях гена *MGMT* людини виявлено композиційні кластерні структури МГЕ [7]. Із шести структур для подальшого аналізу відібрали ті, які, крім фрагментів *LINE*-елементів, містять і *Alu*-повтори. Таких композиційних кластерів виявлено два, по одному в інтроні 2 та в інтроні 3 (табл. 1). Довжина першого кластера становить 1339 п.н. До його складу, крім повнорозмірного *AluSg*-повтору, який розташований у протилежному до транскрипції напрямку, входять фрагменти двох *LINE*-елементів. У межах *AluSg*-повтору

виявлено гомологію із сайтами зв'язування для чотирьох транскрипційних факторів, а саме YY1, р300, С/ЕВР і для транскрипційного активатора генів теплового шоку HSF2.

Цікаво, що аналіз консенсусної послідовності *Alu*-повторів показав, що вона містить консервативні ділянки, з якими теоретично може зв'язуватись транскрипційний фактор YY1 [9]. Відомо, що у геномі людини є велика кількість консенсусних сайтів для зв'язування транскрипційного фактора YY1, і частина із них (24 %) локалізована в *Alu*-повторах. Зазначається, що близько 50 % *Alu*-повторів містять потенційний сайт для зв'язування YY1 [9]. Це дозволило висловити припущення про роль *Alu*-повторів у активації та у пригніченні транскрипції. Припущення опосередковано підтверджується даними про здатність білка YY1 зв'язуватись із регуляторними ділянками гена і таким чином підвищувати, або пригнічувати рівень транскрипції [10]. Властивість YY1 залучати до сайту свого зв'язування із ДНК інші білки також може впливати на активність геному. Наприклад, YY1, специфічно зв'язуючись із білком hRPD3, який виявляє гістондеацетилазну активність, може ініціювати у певних ділянках геному утворення комплексу, який переводить хроматин у неактивний стан [11]. Така взаємодія може призводити до зміни рівня транскрипції.

Крім цього, білок YY1 може взаємодіяти із білком ADPRT, який має АДФ-рибозилтрансферазну активність [12]. Показано, що білок YY1, взаємодіючи із білком ADPRT, стимулює його авто-рибозилування [13]. На основі цих даних запропоновано механізм, за допомогою якого може здійснюватись негативна регуляція транскрипції за участю *Alu*-повторів. Білок YY1 зв'язується із *Alu*-повтором, «приваблює» білок ADPRT та ініціює його авто-рибозилування.

Таблиця 1. Складові послідовностей кластерних структур у інтронах гена *MGMT* людини

Координати у межах інтрону	Мобільний генетичний елемент, назва	Довжина, п.н.	Клас/родина	Ланцюг	Інтрон, номер
103739-104018	<i>AluSg</i>	281	NonLTR/SINE/SINE1	-	2
104019-104712	<i>LIME ORF2</i>	820	NonLTR/L1	+	2
104713-105077	<i>LIME ORF2</i>	448	NonLTR/L1	+	2
13431-14056	<i>LIMEC 5</i>	636	NonLTR/L1	+	3
14060-14677	<i>LIME ORF2</i>	712	NonLTR/L1	+	3
14681-14963	<i>AluSz6</i>	284	NonLTR/SINE/SINE1	+	3

У певній ділянці гена виникає комплекс, який стерично протидіє утворенню комплексу ініціації транскрипції. На думку авторів подібним чином може здійснюватись регуляція генів, які знаходяться під контролем гормон-асоційованих елементів. Про це свідчать дані про взаємодію білка ADPRT із комплексом TR/RXR, що ускладнює зв'язування ядерних рецепторів із комплексом ініціації [14].

У консенсусній послідовності *Alu*-повторів також виявлено блок AGGTCA, із яким можуть зв'язуватись транскрипційні фактори, які належать до родини ядерних гормональних рецепторів. Основна частина (більше ніж 70 %) потенційних гормон-асоційованих елементів для тиреоїдного гормону, ретиноїдної кислоти і естрогенів розташована саме в *Alu*-повторах. У клітинах CV-1 показано, що зв'язуючись із ядерними рецепторами, *Alu*-асоційований елемент DR-4 може регулювати транскрипційну активність залежно від присутності гормону щитовидної залози [9]. Білки великої родини ядерних гормональних рецепторів можуть зв'язуватися не лише із AGGTCA-блоком, але і з різними варіантами, що виникають внаслідок його дуплікації. Висловлено припущення, що *Alu*-повтори є "контейнерами", які містять набори потенційних послідовностей для зв'язування різноманітних транскрипційних факторів [15, 16].

У межах фрагментів *LINE*-елементів, які входять до композиційної кластерної структури у межах інтрону 2 гена *MGMT* виявлено гомологію із сайтами зв'язування для 17 транскрипційних факторів. Серед низки виявлених потенційних сайтів, хотілося б виокремити сайти зв'язування для білків теплового шоку (HSF2), C/EBP, SRY, STAT, Oct, GATA і AP-1. Крім того, виявлено ТАТА бокс і сайти для зв'язування із глюкокортикоїдним рецептором (GR) і RORalpha1 (orphan hormone nuclear receptor). Це особливо цікаво, оскільки раніше показано наявність сайтів для зв'язування із глюкокортикоїдним рецептором у межах *Alu*-повторів [9]. Також виявлено, що гормон-акцепторні елементи для тиреоїдного гормону, естрогенів і ретиноїдної кислоти переважно локалізовані в *Alu*-повторах [9].

Наявність ТАТА боксу може бути передумовою для існування альтернативного промотору в гені *MGMT* людини у межах інтрону 2. Варто зазначити, що крім внутрішнього промотору L1 містить антисенсовий промотор (АСП) [17]. Аналіз бази

даних експресованих послідовностей геному людини виявив 49 химерних транскриптів, які починаються в АСП L1 і входять до складу мРНК відомих генів [18]. У 45 випадках напрямок транскрипції із АСП L1 і з промотора гена збігався, а у чотирьох активність АСП призводила до утворення відповідної комплементарної РНК. Передбачається, що співнаправлений із геном АСП L1 може слугувати альтернативним промотором і призводити або до появи химерної мРНК, яка транслюється з утворенням того ж білка (у випадку L1, «вищележачого» відносно точки початку транскрипції), або ж до утворення 5'-вкорочених мРНК, трансляція яких призводить до появи різних N-кінцевих форм білка (у випадку розташування L1 в інтроні гена). Крім того, особливої уваги заслуговує активність АСП співнаправлена із геном L1, що розташований в інтроні, оскільки у цьому випадку утворюються химерні РНК, які містять послідовності, комплементарні екзонам гена, що потенційно можуть регулювати активність відповідного гена за механізмом РНК-інтерференції.

Варто згадати і про гіпотезу «розривання гена» («gene-breaking»), згідно якої L1, що розташований в інтроні гена у протилежній напрямку транскрипції гена орієнтації, може «разбивати» транскрипт на дві частини: 1 – РНК, яка охоплює «вище лежачий» екзон і закінчується в антисенсовому сайті поліаденілування L1 і 2 – транскрипт, який утворюється із АСП L1 і охоплює «нищележачі» екзони [19].

Другий досліджений нами композиційний кластер розташований у межах інтрону 3 гена *MGMT* людини. Він має довжину 1533 п.н. і складається із двох фрагментів *LINE*-елементів і повнорозмірного *AluSz6*-повтору. Напрямок транскрипції усіх складових частин кластерної композиційної структури у цьому випадку збігається із напрямком транскрипції гена. Цікаво, що, як і у випадку *AluSg*-повтору із кластера в інтроні 2, *AluSz6*-повтор також містить елемент відгуку на білки теплового шоку HSF2. У межах фрагментів *LINE*-елементів серед інших потенційних сайтів, як і у попередньому кластері, виявлено гомологію із сайтами зв'язування для C/EBP, SRY, STAT, Oct, GATA і AP-1, ТАТА бокс і сайти для зв'язування із RORalpha1 (orphan hormone nuclear receptor).

Як видно із наведених у табл. 2

результатів, для деяких транскрипційних факторів, послідовності, які гомологічні їхнім сайтам зв'язування, присутні у ретроелементах, що належать до різних родин. Є й такі, що присутні лише у послідовностях фрагментів *LINE*-елементів, це зокрема ТАТА бокс і потенційний гормон-асоційований елемент для ретиноїдного орфанового рецептора RORalpha1 (orphan hormone nuclear receptor).

Отже, проаналізувавши дві композиційні кластерні структури в інтроні 2 та в інтроні 3 гена *MGMT* людини, до складу яких входять *Alu*-повтори і фрагменти *LINE*-елементів виявили, що обидва *Alu*-повтори містять

послідовності, що гомологічні елементам відгуку на білки теплового шоку, а кластерні структури у межах фрагментів *LINE*-елементів мають ТАТА бокс послідовності. Це дає підстави розглядати проаналізовані композиційні кластерні структури МГЕ у межах інтронних послідовностей гена *MGMT* людини як потенційні альтернативні промотори.

Висновки

Показано, що композиційні кластерні структури МГЕ у інтронах 2 і 3 гена *MGMT* людини збагачені промотороспецифічними елементами і мають потенціал для формування альтернативних промоторів.

Таблиця 2. Представленість потенційних сайтів зв'язування у межах композиційних кластерних структур МГЕ в інтронах гена *MGMT* людини

Транскрипційний фактор, назва	Складові елементи композиційних кластерів					
	інтрон 2			інтрон 3		
	<i>AluSg</i>	<i>LIME_ORF2</i>	<i>LIME_ORF2</i>	<i>LIMEC_5</i>	<i>LIME_ORF2</i>	<i>AluSz6</i>
C/EBP	+	+	+	+	+	
Oct-1		+	+	+	+	+
SRY		+	+	+	+	+
GATA		+	+	+	+	+
HSF2	+	+	+			+
AP-1		+		+		+
Pbx-1		+		+	+	
MZF1		+	+	+		
TATA		+			+	
STAT			+		+	
RORalp		+			+	

Література

1. Pegg A.E. Repair of O⁶-alkylguanine by alkyltransferases // *Mutat. Res.* – 2000. – 262, № 2–3. – P. 83–100.
2. Callinan P.A., Batzer M.A. Retrotransposable elements and human disease // *Genome Dyn.* – 2006. – 1. – P. 104–115.
3. Sorek R., Ast G., Graur D. Alu-containing exons are alternatively spliced // *Genome Res.* – 2002. – 12, N 7. – P. 1060–1067.
4. Jordan I.K., Rogozin I.B., Glazko G.V., Koonin E.V. Origin of a substantial fraction of human regulatory sequences from transposable elements // *Trends Genet.* – 2003. – 19, N 2. – P. 68–72.
5. Shankar R., Grover D., Brahmachari S.K., Mukerji M. Evolution and distribution of RNA polymerase II regulatory sites from RNA polymerase III dependant mobile Alu elements // *BMC Evol. Biol.* – 2004. – 4, N 1. – P. 37.
6. Підпала О.В., Яцишина А.П., Лукаш Л.Л. Потенційні цис-елементи *AluSp*-повтору в промоторі гена *MGMT* // *Фактори експериментальної еволюції організмів.* – 2009. – 7. – С. 42–47.
7. Підпала О.В., Лукаш Л.Л. Розподіл мобільних генетичних елементів у гені O(6)-метилгуанін-ДНК метилтрансфераза людини // *Актуальні проблеми сучасної біології та здоров'я людини.* – 2012. – 12. – С. 150–154.
8. Sela N., Mersch B., Hotz-Wagenblatt A., Ast G. Characteristics of transposable element exonization within human and mouse // *PloS One.* – 2010. – 5, N 6. – e10907.
9. Oei S., Babich V.S., Kazakov V.I., Usmanova N.M., Kropotov A.V., Tomilin N.V. Clusters of regulatory signals for RNA polymerase II transcription associated with Alu family repeats and CpG islands in human promoters // *Genomics.* – 2004. – 83, N 5. – P.873–882.
10. Thomas M.J., Seto E. Unlocking the mechanisms of transcription factor YY1: are chromatin modifying enzymes the key? // *Gene.* – 1999. – 236, N 2. – P. 197–208.

11. Yang W.M., Inouye C., Zeng Y., Bearss D., Seto E. Transcriptional repression by YY1 is mediated by interaction with a mammalian homolog of the yeast global regulator RPD3 // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1996. – 93, N 23. – P. 12845–12850.
12. Oei S.L., Griesenbeck J., Schweiger M., Babich V., Kropotov A., Tomilin N. Interaction of the transcription factor YY1 with human poly (ADP-ribosyl) transferase // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1997. – 240, N 1. – P. 108–111.
13. Griesenbeck J., Ziegler M., Tomilin N., Schweiger M., Oei S.L. Stimulation of the catalytic activity of poly (ADP-ribosyl) transferase by transcription factor Yin Yang 1 // *FEBS Lett.* – 1999. – 443, N 1. – P. 20–24.
14. Kakizawa T., Miyamoto T., Ichikawa K., Kaneko A., Suzuki S., Hara M., Nagasawa T., Takeda T., Mori Ji., Kumagai M., Hashizume K. Functional interaction between Oct-1 and retinoid X receptor // *Biol. Chem.* – 1999. – 274, N 27. – P. 19103–19108.
15. Umesono K., Murakami K.K., Thompson C.C., Evans R.M. Direct repeats as selective response elements for the thyroid hormone, retinoic acid, and vitamin D3 receptors // *Cell.* – 1991. – 65, N 7. – P. 1255–1266.
16. Mangelsdorf D.J., Evans R.M. The RXR heterodimers and orphan receptors // *Cell.* – 1995. – 83, N 6. – P. 841–850.
17. Speek M. Antisense promoter of human L1 retrotransposon drives transcription of adjacent cellular genes // *Mol. Cell. Biol.* – 2001. – 21, N 6. – P. 1973–1985.
18. Matlik K., Redik K., Speek M. L1 antisense promoter drives tissue-specific transcription of human genes // *J. Biomed. Biotechnol.* – 2006. – N 1. – P. 71753.
19. Wheelan S.J., Aizawa Y., Han J.S., Boeke J.D. Gene-breaking: a new paradigm for human retrotransposon-mediated gene evolution // *Genome. Res.* – 2005. – 15, N 8. – P. 1073–1078.

PIDPALA O.V., LUKASH L.L.

Institute of Molecular Biology and Genetics of Natl. Acad. Sci. of Ukraine, Ukraine, 03680, Kyiv, Akad. Zabolotnogo str., 150, e-mail: pidpala@ukr.net

COMPOSITE CLUSTER STRUCTURE OF MOBILE GENETIC ELEMENTS IN THE *MGMT* GENE INTRON AS A SOURCE OF REGULATORY SEQUENCES

Aims. It was carried out analysis of the composite cluster structures MGE in intron 2 and 3 of human *MGMT* gene for the sequences homologous to binding sites of transcription factors. **Methods.** Searching and identifying MGE was realised by using CENSOR (<http://www.girinst.org>). Functional sites were defined by program TFSEARCH: Searching Transcription Factor Binding Sites (ver 1.3) (<http://www.cbrc.jp/research/db/TFSEARCH.html>). **Results.** Composite clusters in the introns 2 and 3 of human *MGMT* gene consist of Alu-repeat and fragments of LINE-elements. Both sequences are enriched promoterspecific elements including the TATA box, AP-1, Sp1, SREBP-1, Oct-1, HSF2 and others. Except that fragments of the LINE-elements have sites binding for the glucocorticoid receptor and orphan hormone nuclear receptor. **Conclusions.** The obtained results allow to consider analyzed intron clusters of MGE as potential alternative promoters.

Key words: human O⁶-methylguanin-DNA methyltransferase gene, mobile genetic elements, composite cluster structures.

УДК 611-018.5:616.1:616-018:616.13-004.6.005:1:575.191

ПІСКУН Р.П., БІЛОШИЦЬКА А.В., ГРИНЧАК Н.М., ШЕВЧУК Т.І., ГОРБАТЮК С.М., ПІСКУН І.І., РОМАШКІНА О.А., САВИЦЬКА А.А.

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, Україна, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, e-mail: piskun2006@mail.ru

ГЕННА ТЕРАПІЯ: ОСОБЛИВОСТІ ТА ДОСВІД ЗАСТОСУВАННЯ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ АТЕРОСКЛЕРОЗІ

Рубіж другого й третього тисячоліть у медицині ознаменувався значним поширенням захворювань серцево-судинної системи, які за даними ВООЗ, посідають перше місце в структурі смертності населення планети [1].

В Україні хвороби системи кровообігу становлять 62 % у структурі загальної смертності. Інфаркт міокарда, ішемічна хвороба серця, мозковий інсульт – це клінічно маніфестовані форми атеросклерозу. Тому одними з