УДК: 575.87

М. С. Силкин, В. Д. Фомин, А. А. Шантуров, В. А. Глотов

Проблема распознавания генов, контролирующих васкуло- и ангиогенез in vivo в геноме человека и животных, их локализация и функции, конструкция и механизм работы молекулярной генетической машины: новая постановка задачи

ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, Смоленск, Россия

M. S. Silkin, V. D. Fomin, A. A. Shanturov, V. A. Glotov

The problem of recognition of genes controlling vascular and angiogenesis in vivo in the human and animal genome, their localization and functions, the design and mechanism of the molecular genetic machine: a new formulation of the problem

Smolensk State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Smolensk, Russia

В статье описан процесс работы с банком генов NCBI, в частности, поиск генов отвечающих за ангиогенез в соответствующей литературе и таких базах данных, как PubMed, eLibrary, Medline, NCBI и др., поиск найденных генов в геноме Homo Sapiens при помощи банка генов NCBI, анализ структуры и локализации найденных генов, выявления белка кодируемого этими генами, систематизация, анализ и структурирование полученных данных. Проделанная работа была стимулирована проверкой гипотезы А. М. Хазена, касающаяся происхождения кровеносной системы у погонофор (Rifia pachypila), обитающих в зоне подводных вулканов на глубине 2600 м, которая заключается в том, что кровеносная система погонофор развилась в результате включения в их геном крупного фрагмента ДНК из клеток позвоночных животных, оказавшихся на дне океана в числе прочих органических останков. Это было бы возможно в том случае, если гены, обуславливающие процесс ангиогенеза, находились примерно в одной области генома и могли быть перенесены вместе. В процессе работы было установлено, что гены, участвующие в процессе ангиогенеза, «разбросаны» практически по всему геному человека, находясь в разных частях хромосом. При этом большинство генов расположено разрозненно, так, что один ген не следует за другим (исключение - некоторые «родственные» группы генов). В связи с этим можно предположить, что в результате эволюции сформировался вырожденный пул генов ангиогенеза, чтобы данный (без сомнения, один из важнейших) процесс выполнялся в норме при всем необходимом и достаточном разнообразии факторов и условий, требующих его запуска, и мог адекватно проистекать в изменяющихся условиях внешней и внутренней среды. Сложная регуляция ангиогенеза, в том числе генетическое многообразие его факторов, эволюционно обусловлена необходимостью предупредить его избыточное развитие или участие в опухолевых процессах. Также можно сделать предположение, что для механизма активации ангиогенеза не играет принципиальной роли место расположения гена в хромосоме и доступ к нему осуществляется аналогично тому, как осуществляется доступ к файлам на компьютере. В качестве аналогии была составлена сравнительная таблица работы «операционных систем» персонального компьютера и клеток человека.

Ключевые слова: ангиогенез, факторы ангиогенеза, ген, геном, погонофоры.

The article describes the process of working with the NCBI gene bank, in particular, the search for genes responsible for angiogenesis in the relevant literature and databases such as PubMed, eLibrary, Medline, NCBI, etc., the search for found genes in the genome of Homo Sapiens using the NCBI gene bank, analysis of the structure and localization of found genes, identification of the protein encoded by these genes, systematization, analysis and structuring of the data obtained. The work done was stimulated by testing the hypothesis of A. M. Hazen, concerning the origin of the circulatory system of pogonophores (Rifia pachypila) living in the zone of underwater volcanoes at a depth of 2600 m, which consists in the fact that the circulatory system of pogonophores developed as a result of the inclusion in their genome of a large fragment of DNA from vertebrate cells found on the ocean floor, among other organic remains. This would be possible if the genes that cause the process of angiogenesis were located in approximately the same region of the genome and could be transferred together. During the work, it was found that the genes involved in the process of angiogenesis are "scattered" almost throughout the human genome, being in different parts of chromosomes. At the same time, most of the genes are located separately, so that one gene does not follow another (with the exception of some "related" groups of genes). In this regard, it can be assumed that as a result of evolution, a degenerate pool of angiogenesis genes was formed so that this (undoubtedly one of the most important) process was performed normally with all the necessary and sufficient variety of factors and conditions requiring its launch, and could adequately proceed in changing conditions of the external and internal environment. The complex regulation of angiogenesis, including the genetic diversity of its factors, is evolutionarily conditioned by the need to prevent its excessive development or participation in tumor processes. It can also be assumed that the location of the gene in the chromosome does not play a fundamental role for the mechanism of activation of angiogenesis and access to it is carried out in the same way as access to files on a computer. As an analogy, a comparative table of the operation of the "operating systems" of a personal computer and human cells was compiled.

Keywords: angiogenesis, angiogenesis factors, gene, genome, pogonophores.

Вопросы васкуло- и ангиогенеза изучаются достаточно давно. Развитие новых технологий, в частности, создание общедоступного банка генов NCBI [1] в рамках международного проекта «Геном человека», позволяет взглянуть на механизм этого процесса с новой стороны. Многолетние исследования дали возможность установить многофакторность ангиогенеза. В нём участвует большое количество взаимосвязанных факторов, значительная часть которых – белковой природы, соответственно, информация о них заложена в ДНК в виде генов, влияние на которые позволяет стимулировать запуск ангиогенеза как in vivo, так и in vitro [2]. По-прежнему существует ряд вопросов, на которые необходимо ответить для полноценного понимания процесса. Среди них можно выделить:

1. Локализацию генов, кодирующих факторы васкуло- и ангиогенеза, в хромосомах, и их взаимное расположение
2. Вероятность наличия групп сцепления.
3. Филогенетическое развитие этих генов. Возможно ли применение подходов Клёсова, успешно применённых в ДНК-генеалогии.
4. Рецепторные комплексы, активация которых приводит к запуску процесса ангиогенеза.
5. Белки, кодируемые данными генами, их вариации, точки приложения.
6. Биомеханика процессов запуска и регуляции ангиогенеза

Цель исследования: структурировать информацию о генах, контролирующих ангиогенез.

Задачи исследования:

1. Собрать информацию об известных генах, участвующий в процессе ангиогенеза: порядковый номер гена; локализация в геноме; количество нуклеотидов в гене; функция белка, который закодирован этим геном; количество вариаций.
2. Систематизировать полученную информацию.

Материалы и методы

1. Поиск информации в литературных источниках и интернет-ресурсах.
2. Поиск гена на сайте NCBI по его названию, полученному из литературы (Приложение 1, рис. 1) [3].
3. Выбор варианта гена, присущего геному Homo Sapiens (Приложение 1, рис. 2) [3].
4. Каталогизация информации о гене: полное название, функция, формирование специальной таблицы (Приложение 1, рис. 3) [3].
5. Выявление местоположения гена в хромосоме (Приложение 1, рис. 4) [3].
6. Выявление точного местоположения гена в данном локусе хромосомы (Приложение 1, рис. 5) [3].
7. Подсчет количества вариантов кодирующих последовательностей и белков, а также установление названий данных протеинов и их функций (Приложение 1, рис. 6) [3].
8. Определение нуклеотидной последовательности гена с дальнейшим подсчетом количества нуклеотидов (Приложение 1, рис. 7) [3].

Результаты собственных исследований и их обсуждение

Появление кровеносных сосудов (васкуло- и ангиогенез) происходит на самых ранних этапах эмбрионального развития и на протяжении всего онтогенеза. У взрослого в организме он особенно интенсивно осуществляется при патологических состояниях.

Процесс ангиогенеза на разных стадиях регулируется при помощи системы мессенджеров, наиболее известными являются фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor - VEGF), семейство факторов роста фибробластов (FGF), ангиопоэтины и др. Они оказывают свое эффекторное действие, связываясь с соответствующими рецепторами на эндотелиальных клетках, и стимулируют их миграцию в паренхиму, пролиферацию и формирование новых незрелых сосудов.

Широкое разнообразие ангиогенных факторов и спектра их действия, без сомнений, имеет под собой отлаженные механизмы регуляции, в том числе на генетическом уровне, сформированные в процессе эволюции.

Крайне интересной иллюстрацией возможного филогенеза сосудистой системы у некоторых животных являются погонофоры (Rifia pachypila), обитающие в зоне подводных вулканов на глубине 2600 м. Это прикреплённые к камням организмы в виде трубки длиною до метра, которые состоят только из системы кровообращения. Она транспортирует кислород, сероводород, углекислоту от «жабр» на конце трубки внутрь – в систему капилляров, пронизывающих внутренность трубки. Объём крови составляет 30% всей массы погонофор. Генетически собственной системы энергообеспечения у погонофор нет. Внутри них находится не контактирующая непосредственно с внешней средой колония бактерий – хемолитоавтотрофов, генетически чуждая организму – кровеносной системе, но взаимодействующая с окружением только через кровеносную систему.

А. М. Хазен предположил и обосновал термодинамически [4], что подобные организмы могут развиться в результате переноса крупного комплекса ДНК из клеток позвоночных животных, оказавшихся на дне в числе прочих органических останков. Это было бы возможно в том случае, если гены, обуславливающие процесс ангиогенеза, располагались компактно, находились бы примерно в одной области генома и могли быть перенесены вместе.

Нами была проанализирована информация из баз данных PubMed, eLibrary, Medline, NCBI и др. о факторах, активирующих ангиогенез, и из этих факторов выбраны полипептиды. В базе NCBI «Геном человека» были найдены гены, кодирующие эти факторы, проанализирована их локализация в геноме человека и изменения в филогенезе. Было рассмотрено более 50 факторов, однако на деле их больше, поскольку роль многих полипептидов ещё предстоит выяснить. Помимо влияния на ангиогенез, рассмотренные нами белки действуют и на другие процессы в организме, что подчеркивает сложность данных механизмов.

Экспрессия ангиогенных факторов зависит от множества причин; зачастую они могут индуцировать экспрессию друг друга, также на это влияют условия внутренней среды организма, другие сигнальные белки, эпигенетические механизмы регуляции (метилирование, модификация гистонов).   
Рассмотренные нами гены характеризуются широкой вариабельностью. Вариантов одного и того же гена встречается от 1 до 42, в среднем около 4. Помимо того, что у разных людей встречаются различные вариации генов, отвечающих за синтез ангиогенных факторов, один ген может кодировать различные изоформы полипептида, что связано с особенностями сплайсинга или трансляции. Отличающаяся структура обуславливает нюансы функций: одна из изоформ VEGF обладает, наоборот, антиангиогенным действием. Многообразие белков обеспечивает различные варианты процесса ангиогенеза у разных людей. Распространен и однонуклеотидный полиморфизм (single nucleotide polymorphism, SNP): разница в один нуклеотид между ДНК представителей одного вида, возникающая в результате точечных мутаций.

Выяснилось, что гены, участвующие в процессе ангиогенеза, «разбросаны» практически по всему геному человека, находясь в разных частях хромосом. При этом большинство их расположено разрозненно, так что один ген не следует за другим (исключение - некоторые «родственные» группы генов). В связи с этим можно предположить, что в результате эволюции сформировался вырожденный пул генов ангиогенеза, чтобы данный (без сомнения, один из важнейших) процесс выполнялся в норме при всем необходимом и достаточном разнообразии факторов и условий, требующих его запуска, и мог адекватно проистекать в изменяющихся условиях внешней и внутренней среды (Приложение 2 и 3) [3].

На основание полученных нами данных можно с высокой вероятностью утверждать, что модель появления кровеносной системы у погонофор, предложенная А. М. Хазеном (гены, обуславливающие процесс ангиогенеза, находятся примерно в одной области генома и могут быть перенесены вместе), является, скорее всего, ошибочной, так как оказалось, что гены, обуславливающие ангиогенез рассредоточены по всему геному. Но может оказаться так, что у низших классов позвоночных, которые имеют меньшее количество хромосом, гены, отвечающие за ангиогенез располагались рядом. Например, у рыб различных видов количество хромосом в соматических клетках варьирует от 12 у представителей семейства Gonostomatidae до 248 у осётра ленского (Acipenser baeri Brandt).

Отдельного внимания заслуживают работы А. А. Клёсова [5] в области ДНК-генеалогии. Используя подходы А. А. Клёсова, можно будет отследить появление и изменения, произошедшие в генах ангиогенеза в филогенетическом ряду человека, а также в филогенетических рядах других животных с точностью до сотен лет. Это поможет детально понять механизм работы ангиогенеза, его генетический базис, а также вариации развития, которые можно соотнести с теми или иными изменениями эволюционного и экологического характера.

Нарушения механизмов ангиогенеза, повышенная секреция ангиогенных факторов имеют место при опухолевых процессах и могут использоваться в качестве мишеней химиотерапии, помимо этого, деформации генов, кодирующих ангиогенные факторы, например, VEGF, связаны с развитием опухолей, например, ювенальной гемангиомы [6]. Из этого можно сделать вывод, что сложная регуляция ангиогенеза, в том числе генетическое многообразие его факторов, эволюционно обусловлена необходимостью предупредить его избыточное развитие или участие в опухолевых процессах.   
Также можно сделать предположение, что для механизма активации ангиогенеза не играет принципиальной роли место расположения гена в хромосоме и доступ к нему осуществляется аналогично тому, как осуществляется доступ к файлам на компьютере. В качестве аналогии ниже приводится сравнительная таблица работы «операционных систем» персонального компьютера и клеток человека (табл. 1).

Таблица 1. Сравнение процессов, протекающих в клетке человека

и в персональном компьютере

|  |  |
| --- | --- |
| **«Аналогичный» процесс** | |
| **Персональный компьютер** | **Клетка** |
| Возникновение необходимости в открытии файла | Изменения во внешней среде, приводящие к локальному изменению во внутренней среде организма |
| Двойной клик на необходимом ярлыке | Локальное воздействие на эндотелиоциты факторов, индуцирующих ангиогенез (неспецифических) |
| Преобразование, обработка и перенаправление поступившего от аналогового устройства сигнала через цепь микросхем | Запуск и перестройка внутриклеточных биохимических процессов |
| Обращение к конкретным ячейкам памяти и извлечение из них информации | Завершение процесса биохимической перестройки, направленного на активацию необходимого гена (или их комплекса) с непосредственным стартом процесса биосинтеза белка |
| Запуск внутренних драйверов с последующей обработкой извлеченной из памяти информации | Образование генетически детерминированных пептидов, участвующих в ангиогенезе |
| Непосредственный старт работы драйверов с информацией (= запуск программы, но еще без видимого ее отображения на дисплее) | Специфическая перестройка биохимических процессов в клетке, проходящая совместно с воздействием на рецепторы других клеток |
| Видимый старт программы | Запуск процесса ангиогенеза на тканевом уровне |

Существует вероятность совокупного запуска генов, на что может указывать их большое количество, а в отношении генов, расположенных рядом (в пределах соседних локусов) – существует шанс их запуска каскадом при активации процесса или даже необходимость во взаимосвязанном запуске.

Можно предположить, что указанные гены можно разделить на 3 основные группы: те, что контролируют механизм активации эндотелиоцита и его дальнейшую трансформацию, те, которые контролируют механизм роста и образования эндотелиальных сетей, а также те, что приводят к образованию и росту вакуолей, приводящему к формированию просвета внутри сосудов [7]

Данные процесса также могут запускаться многостадийно, по принципу, упомянутому в приложении 2 [3].

В настоящее время открыто множество белковых факторов, так или иначе влияющих на процесс ангиогенеза. Гены, кодирующие их, отличаются широкой вариацией в длине – от 3801 до 248437. Вариантов одного и того же гена бывает от 1 до 42, в среднем около 4.

Почти все гены находятся на расстоянии друг от друга, что не позволяет сказать о наличии одного модуля в ДНК, отвечающего за ангиогенез, что опровергает гипотезу А. М. Хазена о происхождении кровеносной системы у погонофор. В целом гены, отвечающие за ангиогенез, у человека и животных схожи. Несомненно, отличия есть, чем дальше друг от друга находятся виды, тем больше это отличие. Однако принципиально большой разницы между ними не было обнаружено.

Механизм регуляции ангиогенеза – сложная система сдержек и противовесов, охватывающая значительное количество сигнальных молекул и кодирующих их генов. Для использования различных средств влияния на ангиогенез в клинической практике необходимо дальнейшее изучение этой системы, её элементов и закономерностей функционирования.

Можно предположить у живых организмов наличие особой генетической операционной системы, работающей с генами-«программными файлами» в какой-то мере аналогично классическим компьютерным операционным системам.

Выводы

1. Гены, отвечающие за ангиогенез расположены разрозненно, охватывая практически все хромосомы
2. Вероятно наличие групп сцепления у генов ангиогенеза
3. Вероятно наличие особой внутриклеточной биохимической системы, отвечающей за ангиогенез, общими чертами схожей с работой персонального компьютера
4. Теория А. М. Хазена о появлении кровеносной системы у погонофор, не находит подтверждения в свете современных представлений о локализации генов в геноме, контролирующих ангиогенез.
5. Гены ангиогенеза наследуются от одной таксономической группы к другой, видоизменяясь, увеличиваясь в количестве и накапливая при этом мутации.
6. Возможно применение подходов А. А. Клесова в ДНК-генеалогии для прослеживания генетической эволюции ангиогенеза
7. Есть вероятность совместной, синергетической работы генов ангиогенеза, а также специфичной «включаемости» генов в конкретных, определенных условиях среды.
8. Гены ангиогенеза вариабельны, вырождены.
9. Запуск ангиогенеза возможен как при непосредственном воздействии на рецепторы клетки, так и при первичном изменении биохимических процессов клетки в результате изменившихся условий среды.

Список литературы

1. Национальный центр биотехнологической информации [Электронный ресурс] URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/ (дата обращения: 15.12.2021).
2. Гистология (Введение в патологию. Под ред. проф. Э. Г. Улумбекова, проф. Ю. А. Челышева. – М. :Геотар, 1997. – С. 913.
3. Приложения к статье [Электронный ресурс] <URL:https://cloud.mail.ru/public/B5KG/4HwwKMknp> (дата обращения: 15.12.2021).
4. Клесов А. А. Днк-генеалогия как молекулярная история [Электронный ресурс] // Математическая морфология. Электронный математический и медико-биологический журнал. - Т. 14. - Вып. 1. - 2015. - URL: <http://www.sci.rostelecom67.ru/user/sgma/MMORPH/N-45-html/klyosov/klyosov.htm> (дата обращения: 15.12.2021).
5. Хазен А. М. Принцип максимума производства энтропии и движущая сила прогрессивной биологической эволюции. // Биофизика. – Т. 38. – Вып. 3. – 1993. – С. 531-551.
6. Челала Э., Дирани А., Фадлалла А. Интравитреальная инъекция анти-VEGF для лечения прогрессирующей юкстапапиллярной капиллярной гемангиомы сетчатки: клинический случай и мини–обзор литературы //Клиническая офтальмология (Окленд, Новая Зеландия). – 2013. - с. 7. – с. 2143.
7. Глотов В. А. Генетический контроль гистомеханики развития нового капилляра. //Физическая культура – фактор укрепления здоровья, профилактики и лечения заболеваний. - Смоленск: Изд. СГМА, 1996. – С. 30-31.

*Статья написана по материалам научного проекта, получившего Диплом III степени на XX Областной научно-практической конференции студентов и обучающихся «Шаг в науку» (г. Смоленск, 2020).*

*Авторы выражают благодарность за ценные советы чл.-корр. РАН, директору Института молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта и ведущему научному сотруднику Института биологии гена С. Г. Георгиевой.*