

Федоров Даниил Александрович

магистрант

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет ИТМО»

г. Санкт-Петербург

DOI 10.31483/r-139138

**О ВОЗМОЖНОСТИ СОЗДАНИЯ ПРЕПАРАТА, ЗАМЕДЛЯЮЩЕГО
ЕСТЕСТВЕННОЕ СТАРЕНИЕ, НА ОСНОВЕ РНК-ИНТЕРФЕРЕНЦИИ**

Аннотация: в статье высказана гипотеза о возможности создания препарата, замедляющего естественное старение, на основе РНК-интерференции.

Ключевые слова: NOS3-intron-4-VNTR, ecNOS4a/4b, 27bp VNTR intron4 гена NOS3, модель Гомпертца, ген NOS3, фермент NOS3, eNOS, скорость старения.

Прошло уже несколько лет после того, как FDA (Food and Drug Administration, Управление США по контролю за лекарствами и пищевыми продуктами) одобрил патисиран (коммерческое название – *Onpattro*, «Онпаттро»), который стал первым одобренным этой организацией препаратом на основе РНК-интерференции. Сейчас работы по созданию препаратов, действующим веществом которых являются малые интерферирующие РНК, ведутся во многих странах, в том числе и в России, разрабатываются всё новые инновационные средства доставки РНК, но можно ли, используя данную технологию, в ближайшие годы создать по-настоящему инновационный препарат, замедляющий естественное старение человека? Скорее всего, ответ на данный вопрос утвердительный, и, более того, уже, в общих чертах, понятно как это можно сделать.

Ранее автором настоящих тезисов, на данных, полученных О. С. Готовым в работе [2], было показано, что гипотеза о случайном характере возрастания частоты генотипа 5./5 (или в других обозначениях 4b/4b) 27bp VNTR intron4 гена NOS3 (ecNOS4a/4b) с возрастом у мужчин отвергается при уровне значимости 0,01 [9], [8]. Достоверность разности между выборочными долями гено-

типа 5./5 у мужчин 75 лет и старше и в группе новорожденных мальчиков составила более 0,99 [6]. Точный критерий Фишера составил 0,032 [6]. Следует сказать, что при малых или не очень больших выборках, точный критерий Фишера, как правило, «излишне осторожен» [1, с.62]. Уже в [6] было отмечено отсутствие противоречия данных результатов с выводами, сделанными в [13], так как в [13] исследовали ассоциации с долголетием других полиморфных сайтов гена *NOS3* (двух SNP в промоторе и в седьмом экзоне этого гена). В работе же [2], данными которой, с любезного разрешения автора, пользовался автор настоящей работы, исследовался полиморфный сайт в 27п.о. 4/5 в 4 интроне этого гена.

Позже, в тезисах [10], автором настоящей работы было показано, что скорость старения (показатель *G* в модели Гомпертца) у мужчин в группе *C* с генотипом 5./5 (или в других обозначениях 4b/4b) 27bp VNTR intron4 гена *NOS3* меньше, чем в целом по группе *C*. И ничего удивительного в этом нет, так как генерация оксида азота в кровеносных сосудах млекопитающих при старении имеет очень большое значение [3] и именно этот минисателлит ассоциирован с сердечно-сосудистыми заболеваниями [7] (хотя, стоит сказать, что в некоторых работах, например, в [12] связь с сердечно-сосудистыми заболеваниями 27bp VNTR intron4 гена *NOS3* (ecNOS4a/4b) наблюдалась лишь у мужчин). Но не смотря огромную важность *NOS3* для организма человека [3], которая по достоинству оценена врачами-гериатрами (см., например, [4]) и важность снижения концентрации оксида азота при реабилитации [5], большинство исследований даже не рассматривало ген *NOS3* в качестве гена кандидата на ген ассоциированный с долголетием (в качестве примера можно привести работу [14]) или исследовали другие полиморфные сайты этого гена [13], что теперь представляется не совсем разумным.

Не исключено, что выявленные в Северо-Западном регионе России существенные половые различия в ассоциации с долголетием ecNOS4a/4b гена *NOS3*, а также половые различия в ассоциации этого минисателлита с рядом заболеваний в некоторых популяциях (см., например, [12]) связаны с тем, что в

посттрансляционных модификациях NOS3, вероятно, участвуют эстрогены [11]. Автором настоящей работы также неоднократно (см., например, [6]) отмечалось, что ассоциация с долголетием по исследуемому в минисателлиту гена NOS3 у женщин если и есть, то выражена существенно слабее [6].

У автора нет никаких оснований не доверять данным, полученным О.С. Готовым при написании работы [2], да и собственным расчётам, но всё же стоит, для начала, проверить повторяемость результатов другими исследователями, при этом необходимо провести анализ ДНК группы пожилых мужчин разного возраста, а также провести анализ данных так, как это сделано автором настоящей работы, например, в работах [9] и [10]. При этом группу новорожденных иметь не обязательно [6]. Стоит сказать, что при выполнении работы [2] её автором применялись следующие реактивы: ферменты, биопрепараты: акриламид, бис-акриламид, ЭДТА, бычий сывороточный альбумин, персульфат аммония, протеиназа К (фирма «Sigma» США), ТЕМЕД, додецилсульфат натрия, трис-HCl (фирма «Serva», ФРГ), 2-меркаптоэтанол (фирма «Ferax», ФРГ), дезоксинуклеотидтрифосфаты, тритон X100, хлорид натрия, хлорид магния, сульфат аммония, персульфат аммония, ферменты рестрикции: *Tth111I*, *BstDEI*, *Hinfl*, *MspI*, *Bsc4I*, («Сибэнзим»), термостабильная ДНК-полимераза («Сибэнзим», г. Новосибирск), набор для амплификации, нуклеотидтрифосфаты («Сибэнзим», г. Новосибирск), олигонуклеотидные праймеры («Литех», г. Москва), набор реагентов для анализа генетической предрасположенности к онкозаболеваниям (ПФ-биочип) («БИОЧИП-ИМБ», г. Москва) [2]. Характеристика изученных полиморфных вариантов генов и последовательности олигопраймеров были приведены в таблице 5 из работы [2] (здесь это таблица 1, которая представляет собой часть таблицы 5 из работы [2]).

Таблица 1

Список олигонуклеотидных праймеров использованных
для проведения ПЦР [2]

Ген, локализация	Полиморфизм	Структура праймеров 5' < > 3'
NOS3	Полиморфный сайт в	F: AGGCCCTATGGTAGTGCCTT

(7q35–36)	27п.о. 4/5 в 4 интроне	R: TCTCTTAGTGCTGTGGTCAC
-----------	------------------------	-------------------------

Для амплификации использовался программируемый термоциклер фирмы «ДНК-технология» (Москва). Условия проведения ПЦР были представлены в таблице 6 из работы [2], в которой также очень подробно изложена вся методика проведения экспериментов.

Но даже и такое относительно несложное и недорогое исследование требует определённого финансирования, которое, к сожалению, полностью отсутствует.

Список литературы

1. Ван дер Варден Б.Л. Математическая статистика / Б.Л. Ван дер Варден; пер. с нем. Л.Н. Большева; под ред. Н.В. Смирнова. – М.: Изд-во иностранной лит-ры, 1960.
2. Глотов О.С. Анализ полиморфизма генов сердечно-сосудистой системы и системы детоксикации в различных возрастных группах Санкт-Петербурга: специальность 03.00.15: дис. ... канд. биол. наук / Олег Сергеевич Глотов. – СПб., 2007. – 188 с. – EDN NOUQDN.
3. Кулева Н.В. Значение различных путей генерации оксида азота в кровеносных сосудах млекопитающих при старении / Н.В. Кулева, Д.А. Федоров, И.Е. Красовская // Цитология. – 2018. – Т. 60. №1. – С. 5–13. – DOI 10.31116/tsitol.2018.01.01. – EDN YMYTMK.
4. О возможности использования нитрит-редуктазной системы млекопитающих в гериатрической практике при лечении сердечно-сосудистых заболеваний / Н.В. Кулева, Д.А. Федоров, Л.М. Лавут, И.Е. Красовская // Специалист здравоохранения. – 2017. – №14. – С. 29–30. – EDN BIKPYN.
5. Савельева И.Е. Концентрация оксида азота периферической крови и показатели кислородного гомеостаза мышечной ткани в восстановительном периоде инсульта / И.Е. Савельева // Паллиативная медицина и реабилитация. – 2006. – №3. – С. 26–27. – EDN MJBQXD.

6. Федоров Д.А. Элементы возможной методики статистической обработки экспериментальных данных при поиске генотипов ассоциированных с долголетием / Д.А. Федоров // В мире научных открытий. – 2015. – №12–1 (72). – С. 274–283. – EDN VHAVZF.

7. Федоров Д.А. Сердечно-сосудистые заболевания, долголетие мужчин, проживающих в Северо-западном регионе России, и полиморфизм в четвёртом интроне гена NOS3 / Д.А. Федоров // Специалист здравоохранения. – 2019. – №20. – С. 37–38. – EDN AOGVQN.

8. Федоров Д.А. Борьба с ложноотрицательными результатами при поиске генотипов, ассоциированных с долголетием (на примере NOS3-intron-4-VNTR) / Д.А. Федоров // Гены и клетки. – 2020. – Т. 15. № S3. – С. 151. – EDN EMPKFJ.

9. Федоров Д.А. Проверка гипотезы о случайном характере увеличения с возрастом частоты генотипа 5./5 27bp VNTR intron4 гена NOS3 у мужчин Северо-западного региона России с помощью непараметрического парного критерия знаковых рангов / Д.А. Федоров // Фундаментальные и прикладные исследования по приоритетным направлениям биоэкологии и биотехнологии: сборник материалов VI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Ульяновск, 22 мая 2023 года) / гл. ред. Е.И. Антонова. – Чебоксары: Среда, 2023. – С. 99–102. – DOI 10.31483/r-107114. – EDN FSLUKE.

10. Федоров Д.А. Показатель G в модели Гомпертца у мужчин зависит от генотипа по NOS3-intron-4-VNTR? / Д.А. Федоров // Фундаментальные и прикладные исследования по приоритетным направлениям биоэкологии и биотехнологии: сборник материалов VII Всероссийской научно-практической конференции (Ульяновск, 28 мая 2024 года). – Чебоксары: Среда, 2024. – С. 45–48. – DOI 10.31483/r-112064. – EDN SHXQDG.

11. Dudzinski D., Michel T. Life History of eNOS: Partners and Pathways // Cardiovasc Res. 2007; 75 (2): 247–260. doi:10.1016/j.cardiores.2007.03.023. EDN IMXEJD

12. Matyar S., Attila C., Acarturk E. [et al.]. eNOS gene intron 4 a/b VNTR polymorphism is a risk factor for coronary artery disease in Southern Turkey // Clinica Chimica Acta. 2005. 354. Pp. 153–158. doi:10.1016/j.cccn.2004.11.022

13. Montesanto A., Crocco P., Tallaro F. [et al.]. Common polymorphisms in nitric oxide synthase (NOS) genes influence quality of aging and longevity in humans // Biogerontology. 2013. Vol. 14. Pp. 177–186. doi.org/10.1007/s10522-013-9421-EDN SDQCOD

14. Soerensen M., Nygaard M., Debrabant B. [et al.]. No Association between Variation in Longevity Candidate Genes and Aging-related Phenotypes in Oldest-old Danes. Experimental Gerontology. 2016. 78. Pp. 57–61. doi:10.1016/j.exger.2016.03.001