

## Резюме

Впервые в популяции центральной Украины проведены популяционные исследования 12 личностных признаков, оцененных по модифицированной версии опросника FPI. Характер распределения большинства признаков не соответствует закону Гаусса, а характеризуется отрицательной асимметрией и отрицательным эксцесом. У представителей младшего поколения по изученным поведенческим признакам не выявлено статистически значимого полового диморфизма. У дочерей, но не у сыновей, обнаружено влияние типа брака родителей по этническому признаку на выраженность открытости, эмоциональной лабильности и маскулинизма-феминизма.

Вперше в популяції центральної України проведено популяційні дослідження 12 особистісних ознак, оцінених за модифікованою версією опитувальника FPI. Характер розподілу більшості ознак не відповідає закону Гауса, а характеризується негативною асиметрією та негативним ексцесом. У представників молодшого покоління за вивченими поведінковими ознаками не знайдено статистично значущого статевого диморфізму. У дочок, але не у синів, знайдено вплив типу шлюбу батьків за етнічною ознакою на вираженість відкритості, емоційної лабільності та маскулінізму-фемінізму.

For the first time population research on 12 personality traits evaluated by modified version of FPI questionnaire was conducted in the central Ukraine population. Distribution characteristics of majority traits were not in accordance with Gaussian law and were characterized by negative asymmetry and negative excess. There was no statistically significant sex dimorphism in members of younger generation. In daughters, but not in sons, there was found a parental ethnicity effect in marriage on openness, emotional stability and masculinity-femininity.

**ПШЕНЬ О.О.<sup>1</sup>, МАЦЕВИЧ Л.Л.<sup>1</sup>, КОСТЕЦЬКИЙ І.С.<sup>1</sup>, РЕДІС Г.<sup>2</sup>, ЛУКАШ Л.Л.<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Інституту молекулярної біології та генетики НАН України,  
Україна, 03143, Київ, вул. Заболотного, 150, E-mail: igorka@imb.org.ua

<sup>2</sup>Медичний коледж Джефферсон, Філадельфія, США,  
e-mail: glenn.radice@jefferson.edu

## РОЛЬ N-КАДЕРИН/КАТЕНІНОВОГО КОМПЛЕКСУ У КАРДІОГЕНЕЗІ ССАВЦІВ

Структурна цілісність серця забезпечується інтеркалярними дисками, які мають у своєму складі різні з'єднувальні комплекси: адгеринові з'єднання, десмосоми і гар-з'єднання. Найбільш поширений тип міжклітинної адгезії — це адгезія, котра забезпечується кадерин/катеніновим комплексом [1]. У серці кадерины представлені виключно N-кадерином [2]. Сімєйство катенінів включає в себе  $\alpha$ -,  $\beta$ - і  $\gamma$ -катеніни, які забезпечують зв'язок кадєринів та актинового цитоскєлету клітини. Кадєрини разом з катєнінами є структурними ланками адгєзивного комплексу (рис. 1).

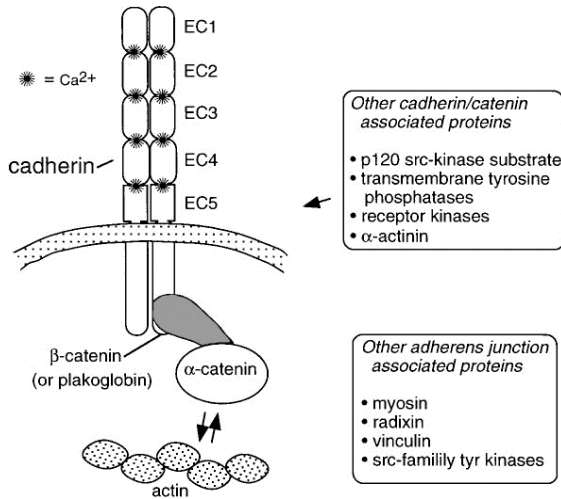


Рис. 1. Кадерин-катеніновий комплекс та асоційовані з ним білки. Кадерин — трансмембранний білок, екстрацелюлярний домен якого складається з п'яти кадеринових повторів, EC1-EC5.

Цитоплазматичний хвіст білку зв'язується з β-катеніном, який у свою чергу взаємодіє з α-катеніном, формуючи стабільний білковий комплекс. β-катенін забезпечує зв'язок з актиновим цитоскелетом. Білки, що асоційовані з кадерином — катеніновим комплексом (верхній блок). Інші білки, що концентруються у місцях адгеринових зв'язків (нижній блок), але їх відношення до кадеринових зв'язків невідоме. За матеріалами: Alpha S. Yap and all Molecular and Functional Analysis of Cadherin-Based Adherens Junctions // Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 1997. 13:119–46

Порушення адгезивного комплексу у серці призводять до розвитку серцевих аритмій та інших патологій, так було показано, що делеція N-кадерину у дорослому серці призводить до яскраво вираженої тахікардії шлуночка, внаслідок якої наступала смертність піддослідних мишей [3]. Делеція гену β-катеніну у дорослому серці мишей, згідно результатам, що були отримані групою Figain Li, не призводила до летального ефекту, більш того мутантні тварини не відрізнялись від нормальних ні за фізіологічними, ні за морфологічними ознаками. Імунологічні дослідження показали, що за умов делеції гену β-катеніну відбувалось підвищення рівня експресії гену плакоглобіну (γ-катенін) [4]. Як відомо, плакоглобін приймає участь у формуванні десмосом та адгеринових з'єднань і має високу ступінь гомології до β-катеніну, і за припущеннями авторів здатен функціонально замінити останній.

Результати, отримані іншою групою дослідників [6,7], показали, що делеція α- або β-катеніну в дорослому міокарді у ранні строки спостережень дійсно не призводила до смертності тварин, здебільшого нокаутні тварини мали нормальний фенотип, і лише у віддалені після делеції строки (32 тижні)

автори спостерігали морфологічні зміни тканини міокарду: витончення стінок серця, що призводило до кардіоміопатії серця.

Наведені експериментальні дані підтверджують важливість міжклітинних з'єднань у підтриманні нормальної функції дорослого серця. У своїй роботі ми вирішили зосередитись на дослідженні ролі білків кадєрин-катєнінового комплексу у ембріогенезі серця, а саме, дослідити значення  $\alpha$ E-катєніну та  $\beta$ -катєніну у ембріональному розвитку серцево-судинної системи ссавців.

### **Матеріали та методи**

Для дослідження ролі  $\alpha$ E-катєніну або  $\beta$ -катєніну використовували модельних мишей з умовним нокаутом aCAT СКО та bCAT СКО, відповідно (Jackson Lab, USA). У результаті схрещувань таких мишей з трансгенними тваринами (генотип aMHC-Cre (Ni), California, USA), котрі в кардіоміоцитах експресують не індуквану Cre рекомбіназу, ми отримували мутантний фенотип флор/флор, NiCre, де відбувалась делеція гену-мішені. Варто зауважити, що у своїй роботі ми застосували модель тарнсгенних тварин, де рекомбіназа знаходиться під регуляцією aMHC промотору, який експресується виключно в серці починаючи з 6–6,5 доби гїстації, саме тоді, коли починається формування області ембріонального серця. Цей промотор досить добре вивчений та широко застосовується при проведенні подібних досліджень. Таким чином, ми могли аналізувати морфологічні та імунологічні особливості тканини серця на різних термінах ембріогенезу за умови делеції  $\alpha$ E-катєніну або  $\beta$ -катєніну. У дослідженнях використовували ембріони віком 10,5, 12,5 та 14,5 дїб а також новонароджених тварин.

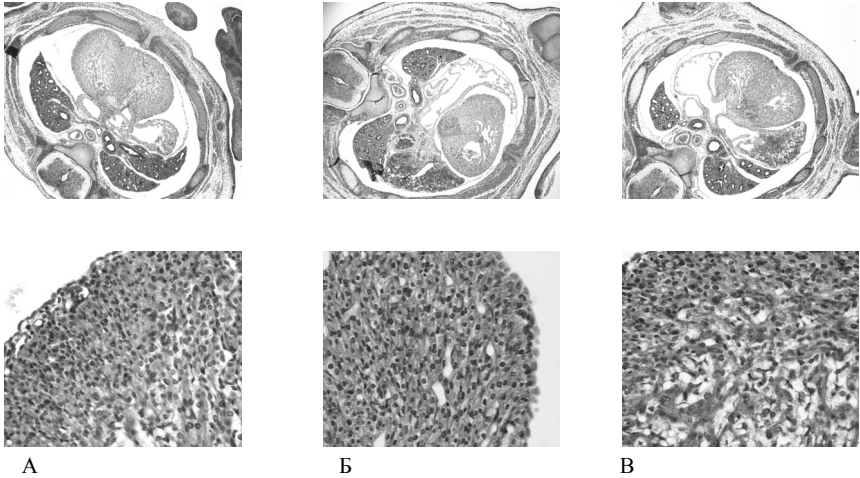
Всі молекулярно-біологічні процедури (виділення ДНК, ПЛР) проводили згідно зі стандартними протоколами [8].

### *Імунофлуоресцентний аналіз, гістологія та електронна мікроскопія*

На визначеному терміні вагітності дослідних тварин забивали та оперували, амніон використовували для генотипування ембріону, а ембріони фіксували у розчині 4% параформальдегіду. Після фіксації проводили дегідратацію дослідного матеріалу, готували парафінові блоки згідно стандартної процедури [9] і на мікротомі готували зрізи зразків товщиною 6 мкм. Інкубацію з первинними антитїлами проводили у концентрації, рекомендованій виробником (розведення 1:200–1:1000). Після відмивання додавали відповідні вторинні антитїла (Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, USA), мічені флуоресцентним барвником (Cy3). Аналіз забарвлення і фотографування проводили на флуоресцентному (Nikon, Japan) або конфокальному мікроскопі. Для гістологічного аналізу дослідного матеріалу зрізи серця фарбували розчином гематоксилину та еозину і аналізували під світловим мікроскопом (збільшення  $\times 40$ ).

### **Результати та обговорення**

Морфологічні дослідження ембріонів терміном гїстації E10,5 дїб, 12,5 та 14,5 дїб показали, що ембріони з делецією  $\alpha$ E- або  $\beta$ -катєніну суттєво не відрізнялись від контрольних зразків відповідного терміну гїстації (рис. 2).



**Рис. 2. Порівняльний морфологічний аналіз зрізів серця контрольного ембріону (А); ембріону з делецією гену  $\alpha$ Е-катеніну (Б) та ембріону з делецією гену  $\beta$ -катеніну (В). Аналіз проведено з використанням ембріонів віком 14,5 діб (E14,5), (забарвлення гематоксилін-еозином)**

При порівняльному аналізі ембріонів не спостерігали виражених вад розвитку серцево-судинної системи, витончень стінок серця чи порушень формування міжклітинних зв'язків (рис. 2).

Імуногістохімічні дослідження зрізів тканини ембріонального серця показали, що делеція  $\alpha$ Е-катеніну у тканині ембріонального серця не впливала на рівень експресії та розподіл N-кадєрину у тканині порівняно з контролем. У той же час, спостерігали підвищення рівня експресії  $\alpha$ Т-катеніну відносно контрольних зразків, що дає змогу висунути припущення про здатність останнього функціонально компенсувати делетований  $\alpha$ Е-катенін як у дорослому, так і у ембріональному міокарді.

Делеція гену  $\beta$ -катеніну у ембріональному серці також не впливала на рівень експресії N-кадєрину, можливо, що під час ембріонального розвитку адгєринові зв'язки кардіоваскулярної системи можуть формуватися за рахунок функціональної компенсації між  $\beta$ -катеніном та плакоглобіном (або  $\gamma$ -катеніном).

Аналіз співвідношення генотипів новонароджених мишей (табл.) показав, що делеція гену  $\alpha$ Е-катеніну не впливала на життєздатність новонароджених тварин: так ми спостерігали 20% тварин гомозиготних за нокаутом гену  $\alpha$ Е-катеніну (генотип cre+, Nflox/Nflox) та 20% тварин гетерозиготних за нокаутом гену  $\alpha$ Е-катеніну (cre+, Nflox/-), що є досить близьким до Менделівського розщеплення генів. На відміну від попереднього спостереження, аналіз новонароджених тварин з делецією  $\beta$ -катеніну показав, що нокаут цього гену негативно впливає на життєздатність новонароджених тварин,

## Генетичний аналіз ембріонів та новонароджених тварин

№ п/п	Досліджуваний ген	Термін гістації	Контрольні ембріони		Ембріони з делецією гену	
			кількість	відсоток, %	кількість	відсоток, %
1	$\alpha$ Е-катенін	E10.5	19	79	5	21
2		E14.5	26	76	8	24
3		новонароджені	12	80	3	20
4	$\beta$ -катенін	E10.5	36	80	9	20
5		E14.5	33	82	7 (3 <sup>#</sup> )	18 (8 <sup>#</sup> )
6		новонароджені	27 (1 <sup>#</sup> )	90 (3 <sup>#</sup> )	3 (1 <sup>#</sup> )	10 (3 <sup>#</sup> )

Примітка: () — аномальні ембріони/тварини, # — мертві ембріони/тварини.

та ембріонів: так лише 10% тварин народжувалось з генотипом cre+, Nflox/Nflox і 3% з цих тварин були мертвнонародженими, відсоток тварин гетерозиготних за нокаутом  $\beta$ -катеніну (cre+, Nflox/-) становив 20%, з них 3% — були мертвнонародженими. Тож, ми припускаємо, що делеція гену  $\beta$ -катеніну негативно впливає на життєздатність новонароджених мишей як у гомозиготному, так і гетерозиготному стані. А тварини з мутантним генотипом cre+,  $\beta$ -cat flox / flox елімують ще у ембріогенезі, так ми показали, що така елімінація відбувається десь посередині ембріонального розвитку до 14,5 доби.

### Висновки

Порушення адгеринових з'єднань у тканині ембріонального серця, а саме делеція цитоплазматичних партнерів N-кадерину ( $\alpha$ Е-катеніну або  $\beta$ -катеніну) не призводить до вад розвитку серцево-судинної системи на ранніх термінах гістації, можливо, завдяки функціональній компенсації іншими представниками родини катенінів ( $\alpha$ Т-катеніном та  $\gamma$ -катеніном відповідно). Однак, делеція  $\beta$ -катеніну у ембріональному серці негативно впливає на життєздатність ембріонів та новонароджених тварин.

### Література

1. *Takeichi M.* Morphogenetic roles of classic cadherins // *Curr Opin Cell Biol.*— 1995.— №17.— P. 619–627.
2. *Lilien J., Balsamo J., Arregui C., Xu G.* Turn-off, drop-out: functional state switching of cadherins // *Dev Dyn.*— 2002.— Vol.224.— P. 18–29.
3. *Igor Kostetskii, Lifen Li, Yanming Xiong, Rong Zhou, Victor A. Ferrari, Vickas V. Patel, Jeffery D. Molkentin, Glenn L. Radice.* Induced Deletion of the N-Cadherin Gene in the Heart Leads to Dissolution of the Intercalated Disc Structure // *Circulation Research.*— 2005.— №18.— P. 1–9.
4. *Jibin Zhou, Jiexiang Qu, Xian Ping Yi, Kelly Graber, Lu Huber, Xuejun Wang, A. Martin Gerdes, and Faqian Li.* Upregulation of g-catenin compensates for the loss of  $\beta$ -catenin in adult cardiomyocytes // *Am J. Physiol Heart Circ Physiol.*— 2007.— Vol.292.— P.270–276.

5. McKoy G., Protonotarios N., Crosby A., Tsatsopoulou A., Anastasakis A., Coonar A., Norman M., Baboonian C., Jeffery S., McKenna W.J. Identification of a deletion in plakoglobin in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy with palmoplantar keratoderma and woolly hair (Naxos disease) // *Lancet*.— 2000.— Vol.355.— P. 2119–2124.

6. Xin Chen, Sergei P. Shevtsov, Eileen Hsich, and other. The Catenin / T-cell Factor / Lymphocyte Enhancer Factor Signaling Pathway Is Required for Normal and Stress-Induced Cardiac Hypertrophy.// *Mol. And Cell. Biology*.— 2006.— Vol.26.— №12.— P. 4462–4473.

7. Farah Sheikh, Yinghong Chen, Xingqun Liang, Alain Hirschy, Antine E. Stenbit and other.  $\alpha$ E-Catenin Inactivation Disrupts the Cardiomyocyte Adherens Junction, resulting in Cardiomyopathy and Susceptibility to Wall Rupture // *Circulation*.— 2006.— Vol.114.— P. 1–10.

8. Maniatis G. *Molecular cloning*.— Oxford press.— 1994.— Vol.1.— 842 p.

9. Kaufman M.H. *The Atlas of Mouse Development*.— San Diego: Academic Press.— 1992.— 523 p.

### Резюме

Делеція  $\alpha$ E-катеніну та  $\beta$ -катеніну у тканині серця не призводила до розвитку морфологічних дефектів ембріонального серця, вірогідно, завдяки функціональній компенсації  $\alpha$ T-катеніном та  $\gamma$ -катеніном (плакоглобіном) відповідно. Спостерігали часткову летальність мутантних ембріонів з делецією  $\beta$ -катеніну на більш пізніх термінах ембріонального розвитку.

Делеция  $\alpha$ E-катенина и  $\beta$ -катенина в ткани серца не приводит к развитию морфологических дефектов эмбрионального сердца, вероятно, благодаря функциональной компенсации  $\alpha$ T-катенином и  $\gamma$ -катенином (плакоглобином) соответственно. Наблюдалась частичная летальность мутантных эмбрионов с делецией  $\beta$ -катенина на более позднем этапе эмбрионального развития.

The cardiac-specific deletion of  $\alpha$ E-catenin and  $\beta$ -catenin did not cause morphological defects in the embryonic heart presumably due to compensation by  $\alpha$ T-catenin and  $\gamma$ -catenin (plakoglobin), respectively. However,  $\beta$ -catenin mutant embryos did exhibit a cardiac defect later in development resulting in partial lethality.

ПОЛТАВСКАЯ О.А.<sup>1</sup>, ЗЕЛЕНАЯ Л.Б.<sup>1</sup>, КОВАЛЕНКО Н.К.<sup>1</sup>, ШАТИЛО В.Б.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, Украина, 03680, Киев, ул. Заболотного, 154, e-mail: poltavaska@ukr.net

<sup>2</sup>ГУ “Институт геронтологии АМН Украины”, Украина, 04114, Киев, ул. Вышгородская, 67

## ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ БИФИДОБАКТЕРИЙ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА ЛЮДЕЙ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА

Род *Bifidobacterium* — один из наиболее многочисленных родов микроорганизмов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) человека [7]. Бифидобактерии играют существенную роль в поддержании общего физиологи-