

ГЕН ЛЕПТИНА — МАРКЕР КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

Н. В. Петрова

ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий
Федерального медико-биологического агентства России»

143442, Российская Федерация, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, владение 1

Показано, что анализ уровня экспрессии гена *Lep* является маркером для мышей линии B/Ks-*Lep*^{db/+}, служащей оптимальной моделью для описания метаболического синдрома (МС) в доклинических исследованиях. Мышам проведена трансплантация культивированных изогенных клеток костного мозга (ККМ) от гетерозиготных db/+ доноров. Реципиенты были разделены на группы по разным стадиям развития МС — ранняя и выраженная. Проанализирована экспрессия гена *Lep* на 3-и, 8-е и 14-е сут после введения стволовых ККМ в клетки головного мозга, печени и поджелудочной железы методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Экспрессию гена *Lep* оценивали в количестве копий кДНК. Согласно данным нашей лаборатории, лептин является полноценным регулятором обменных процессов за счет своего влияния на гипоталамус, который, в свою очередь, совместно с гиппокампом, контролирует продукцию ацетилхолина и инсулина в мозге. Нами доказана роль *Lep* гена как количественного оценочного критерия эффективности клеточной терапии при МС.

Ключевые слова: кДНК, метаболический синдром (МС), мыши линии B/Ks-*Lep*^{db/+}, экспрессия гена, ген лептина *Lep*, стволовые клетки костного мозга (СККМ)

Конфликт интересов: автор заявил об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности: Автор выражает благодарность научному руководителю — директору ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России», д. м. н., проф. Каркищенко Владиславу Николаевичу за поддержку, выбор темы, консультативную помощь, рекомендации по оформлению статьи, а также выражает признательность заведующей лабораторией клеточных технологий ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России», к. б. н. Степановой Ольге Ивановне за содействие в работе и проведение культуральных исследований.

Для цитирования: Петрова Н. В. Ген лептина — маркер клеточной терапии метаболического синдрома. *Биомедицина*. 2019;15(3):12–22. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-12-22>

Поступила 22.05.2019

Принята после доработки 08.08.2019

Опубликована 10.09.2019

THE LEPTIN GENE IS A MARKER FOR THE CELL THERAPY OF METABOLIC SYNDROME

Nataliya V. Petrova

Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia
143442, Russian Federation, Moscow region, Krasnogorsk district, Svetlye gory village, building 1

It is shown that the level of the *Lep* gene expression is a marker for B/Ks-*Lep*^{db/+} mice, which line serves as an optimal model for describing metabolic syndrome (MS) in preclinical studies. Mice were transplanted with cultured isogenic bone marrow cells (BMC) from heterozygous db/+ donors. The recipients were divided into two groups according to an early or advanced stage of MS development. We analyzed the

expression of the *Lep* gene on the 3rd, 8th and 14th day following the administration of stem BMCs in the brain, liver and pancreas cells by polymerase chain reaction (PCR) in real time. The *Lep* gene expression was evaluated in terms of the number of cDNA copies. According to our data, leptin is a complete regulator of metabolic processes due to its effect on the hypothalamus, which, together with the hippocampus, controls the production of acetylcholine and insulin in the brain. We have proven the role of the *Lep* gene as a quantitative criterion for evaluating the efficacy of a cell therapy in MS.

Keywords: cDNA, metabolic syndrome (MS), B/Ks-Lepr^{db/+} mice, gene expression, *Lep* leptin gene, bone marrow stem cells (BMSC)

Conflict of interest: the author declares no conflict of interest.

Acknowledgments: The author would like to express her sincere appreciation to her supervisor — director of the Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, Dr. Sci. (Med.), Prof. Vladislav Nikolayevich Karkischenko for his support, choice of the topic, advisory assistance, recommendations on writing the manuscript. The author is also grateful to the head of the Cell Technology Laboratory of the Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, Cand. Sci. (Biol.) Olga Ivanovna Stepanova for her valuable assistance in conducting the work.

For citation: Petrova N.V. The Leptin Gene is a Marker for the Cell Therapy of Metabolic Syndrome. *Journal Biomed.* 2019;15(3):12–22. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-12-22>

Submitted 22.05.2019

Revised 08.08.2019

Published 10.09.2019

Введение

Существует достаточно большое количество генов с установленной функцией и еще большее количество генов-кандидатов, играющих определенную роль при формировании основных проявлений метаболического синдрома (МС) [5].

Наиболее изучаемы из кандидатных генов — мутации генов лептина, рецептора лептина, предшественника гормона конвертазы 1, проопиомеланокортина, рецептора мелано-кортина-4 и др. [2, 1, 7]. Поэтому в 1990 г. было предложено каталогизировать все генетические варианты и хромосомные локусы, связанные с ожирением, в генетическую карту ожирения (<http://obesitygene.pbrc.edu>) [13].

Лептин представляет собой полипептидный гормон с молекулярной массой около 16 кДа и кодируется геном *ob* (от англ. «obesity»), который был открыт при позиционном клонировании у мышей. Ген лептина у мышей находится в проксимальной части 6-й хромосомы мыши [8]. Была определена нуклеотидная последовательность

кДНК гена, которая содержала открытую рамку считывания для белка из 167-ми аминокислотных остатков и очень длинную 3'-нетранслируемую область [14]. Рecessивные мутации гена в гомозиготном состоянии приводят у мышей к накоплению избыточного веса и развитию сахарного диабета типа 2 [10].

Предполагается, что ген лептина, наряду с др. генами ожирения, связан с фенотипами ожирения у человека [1]. Ген рецептора лептина (*LEPR*) кодирует рецептор трансмембранной области, через который ген лептина (*LEP*), адипоцитспецифического гормона, регулирует массу жировой ткани, процессы приема пищи и расходы энергии. Рецептор лептина отвечает за передачу сигнала лептина в гипоталамусе до нескольких преобразователей сигнала и активатора транскрипции, а также является основным лептин-связывающим белком в крови [4].

Лептин циркулирует в кровотоке как в свободной, так и в связанной со специфическими белками формах. При этом

уровень секретируемого лептина, как правило, соответствует массе жировой ткани в организме [3]. У женщин концентрация лептина в крови значительно выше, чем у мужчин [9].

Цель работы — количественная характеристика экспрессии гена *Lep* лабораторных мышей линии B/Ks-Lepr^{db/+}, находящихся на разных стадиях МС при введении СККМ.

Задачами исследования являлись:

- проведение биоинформационного анализа с помощью базы NCBA последовательностей гена *Lep* мышей, специфичных для отбора наиболее перспективных нуклеотидных последовательностей для использования в синтезе праймеров и флюоресцирующего зонда;
- подбор и исследование расчетным и эмпирическим путем оптимальных конечных концентраций компонентов ПЦР-системы в режиме реального времени: дезоксинуклеотидтрифосфатов, ионов магния (Mg^{2+}) и олигонуклеотидных праймеров и зонда;
- проведение молекулярно-генетического исследования уровней экспрессии гена *Lep* у мышей линии B/Ks-Lepr^{db/+}, находящихся на разных стадиях развития МС, до и после введения ККМ. Сравнение уровней экспрессии гена *Lep* в клетках головного мозга, печени и поджелудочной железы методом ПЦР в режиме реального времени на разных сроках.

Материалы и методы

Экспрессию гена *Lep* изучали на мышах-реципиентах линии B/Ks-Lepr^{db/+} (db/db), которые несут рецессивный ген *leptin receptor-Lepr^{db}*. Ген *db* в гомозиготном состоянии вызывает диабет без дефицита инсулина. Гомозиготные мыши db/db были разделены на 3 группы в зависимости от стадии развития МС:

группа 1 — особи, находящиеся на ранней стадии развития МС (n=10), которым провели однократное введение ККМ смешанной культуры гемопоэтических клеток костного мозга (ГПКМ) и мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга (ММСКМ), культивированных в течение 5-ти сут. Введение внутрибрюшинное по 10 млн клеток;

группа 2 — мыши на стадии выраженных клинических признаков развития болезни (n=10), с однократным введением ККМ смешанной культуры ГПКМ и ММСКМ, культивированных в течение 5-ти сут. Введение внутрибрюшинное по 10 млн клеток;

группа 3 — контрольные (без введения донорских СККМ) животные на стадии выраженных клинических признаков развития болезни (n=10), с внутрибрюшинным введением физ. р-ра в тех же объемах.

В качестве доноров стволовых и прогениторных ККМ использовали фенотипически здоровых гетерозиготных мышей той же линии db/+.

Всех экспериментальных животных содержали в условиях свободного доступа к воде и пище на рационном питании (без диет), соответствующем нормативам ГОСТ.

Для решения поставленных задач работа проводилась в несколько этапов.

Проведение культуральных исследований

Работы по выделению клеток и их культивированию проводились в соответствии с общими принципами культуральных исследований на живых и трупных донорах сотрудниками лаборатории клеточных технологий ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Жизнеспособность клеток гемопоэтической и стромальной фракций ККМ исследовали по окраске трипановым синим, а пролиферативную активность в культуре стромальных ККМ — по скорости образования монослоя.

Морфологическое исследование тканей и органов

Гистологический анализ выполнен на мышах db/db экспериментальных и контрольной групп после введения ККМ с интервалом 3, 8 и 14 сут. Для исследования отобраны образцы тканей органов-мишеней, которые подвергались стандартному гистологическому анализу.

Исследования методом ПЦР в режиме реального времени

Материалом для исследования служили ткани различных органов (печень, поджелудочная железа, головной мозг) мышей db/db экспериментальных групп. Забор материала осуществляли строго по времени. Интервал наблюдения: первая точка — до введения ККМ, затем на 3-и, 8-е и 14-е сут после введения стволовых клеток.

Исследование экспрессии гена *Lep* мышей линии db/db в разных органах проводили методом ПЦР в режиме реального времени. При использовании специфических праймеров и зонда к генам (табл. 1) на детектирующем амплификаторе CFX-96 («Bio-Rad», США).

Из исследуемого материала выделяли тотальную РНК на магнитных частицах с помощью набора для выделения «МАГНО-сорб» на автоматической станции выделения нуклеиновых кислот и белков «Kingfisher DUO» («ThermoScientific»,

Финляндия). Синтез первой цепи кДНК проводили согласно инструкции «Комплект реагентов для получения кДНК на матрице РНК РЕВЕРТА-L» («ИнтерЛабСервис», Россия). Количество исследуемых кДНК в образцах рассчитывали путем определения пороговых циклов ПЦР.

Стадию амплификации кДНК *Lep* на детектирующем амплификаторе CFX-96 («Bio-Rad», США) в режиме реального времени проводили в 25 мкл смеси следующего состава ПЦР-буфера ($\times 10$): 700 мМТрис-НСl, pH 8,6/25 °C, 166 мМ (NH₄)₂SO₄, 25 мМ MgCl₂, 0,2 мМ dNTPs, Taq-полимераза.

Подбор оптимальных условий проведения амплификации представлен в табл. 2.

Результаты и их обсуждение

После трансплантации культивированных изогенных ККМ реципиентам от гетерозиготных db/+ доноров установлено, что на 3-и, 8-е и 14-е сут гистологически у мышей db/db экспериментальных и контрольной групп были выявлены нарушения в структуре поджелудочной железы и печени, типичные для МС.

В исследуемом биоматериале на 3-и, 8-е и 14-е сут после введения ККМ ни в одной из групп не было выявлено структурной позитивной динамики в органах, которые, как правило, проявляются после клеточной терапии позже — на сроках, начиная с 21–27–30 дней после введения клеток. Однако изме-

Таблица 1. Олигонуклеотидные праймеры и зонд ПЦР-системы

Table 1. Oligonucleotide primers and probe PCR system

Исследуемая мишень гена <i>Lep</i>	Олигонуклеотидные праймеры и зонд
MusDB F	5-TCACCTCCGTCACAGAAGA-3
MusDB R	5-GGCTCTACTGGAATGGAACC-3
MusDB Z	ROX-TTCCACGCACAGTCACAAGATAATG-BHQ-2

Таблица 2. Режимы проведения амплификации в реальном времени

Table 2. Real-time amplification modes

Режимы	Температура	Продолжительность	Число циклов
Начальная денатурация	95 °C	3 мин	1
Денатурация	95 °C	20 сек	45
Отжиг	57 °C	40 сек	
Элонгация	72 °C	30 сек	

нение уровня экспрессии гена *Lep* в органах мышей-реципиентов db/db мы зафиксировали уже на 3-и сут после трансплантации ККМ.

Экспрессию гена *Lep* в органах мышей-реципиентов db/db оценивали в количестве копий кДНК. Полученные результаты исследования экспрессии гена *Lep* и распределения его соотношения в различные интервалы времени забора биоматериала представлены на рисунках.

Клетки поджелудочной железы

В поджелудочной железе наблюдается увеличение уровня экспрессии гена *Lep* у исследуемых животных во всех группах, от 1-го дня до 3-х сут, — в 2,5 раза у мышшей на ранней стадии заболевания и почти в 4 раза у мышшей на выраженной стадии. На 14-е сут наблюдается снижение активности гена. Терапевтическое действие более явно прослеживается в группе мышшей на ранней стадии МС, начиная с 3-х сут после введения ККМ.

Клетки головного мозга

В головном мозге наблюдается увеличение уровня экспрессии гена *Lep* в 1,3 раза на 3-и сут у исследуемых животных на ранней стадии заболевания, затем, к 14-м сут, наблюдается снижение уровня экспрессии в 6 раз по сравнению с исходным. У мышшей на выраженной стадии заболевания изначально очень высокий уровень экспрессии, на 3-и сут происходит снижение (в 9 раз)

и дальнейшие незначительное увеличение активности гена *Lep*.

Клетки печени

Уровень экспрессии гена *Lep* в клетках печени мышшей менялся на протяжении всего эксперимента: у животных на ранней стадии развития МС вырос на 3-и сут в 1,3 раза по сравнению с экспрессией до введения стволовых клеток и упал в 8,5 раза на 8-е сут, затем несколько увеличился на 14-е сут. У мышшей на выраженной стадии развития МС уровень экспрессии гена упал на 8-е сут в 3,5 раза по сравнению со значением до введения, затем, на 14-е сут, снова вырос в 5,3 раза.

В дальнейшем мы осуществили сравнение уровней экспрессии гена *Lep* в клетках различных органов у исследуемых мышшей и в контрольной группе. В контрольной группе мышшей db/db с выраженными признаками МС (без введения ККМ) с внутривенным введением физ. р-ра наблюдается следующая картина, показанная на рис. 4.

Изначальный уровень экспрессии высок только в клетках печени, после введения препарата он снижается уже на 3-и сут. Подобное снижение активности гена мы наблюдаем и в клетках мозга. В клетках же поджелудочной железы, наоборот, на 3-и и 8-е сут мы наблюдаем увеличение экспрессии, а к концу эксперимента, на 14-е сутки, — напротив, резкое снижение по сравнению с началом опыта (табл. 3).

Таблица 3. Уровень экспрессии гена *Lep* в клетках различных органов у мышшей контрольной группы (количество копий кДНК в пробе)

Table 3. Levels of the *Lep* gene expression in cells of various organs in mice of the control group (the number of cDNA copies in a sample)

Период	Поджелудочная железа	Головной мозг	Печень
До введения	8912509	132396041	621942163
3-и сут	54638654 (↑ в 6 раз)	103663292 (↓ в 1,2 раза)	135285110 (↓ в 4,5 раза)
8-е сут	50845202	13823722 (↓ еще в 7,5 раза)	29639781 (↓ еще в 4,5 раза)
14-е сут	1528886 (↓ в 5,8 раз по сравнению с экспрессией до введения)	14537843 (↓ в 9 раз по сравнению с экспрессией до введения)	

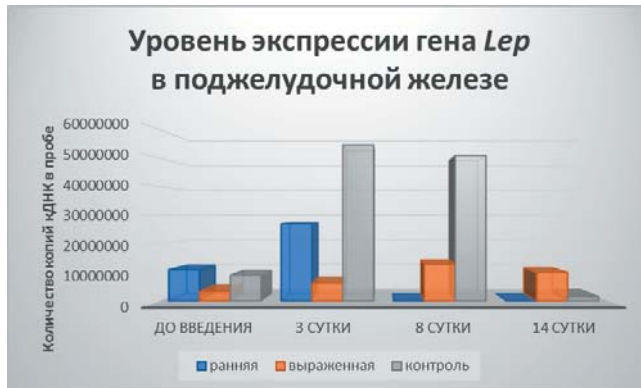


Рис. 1. Корреляция экспрессии гена *Lep* в клетках поджелудочной железы от времени взятия проб у мышей линии db/db на разных стадиях МС.

Fig. 1. Correlation of the *Lep* gene expression in pancreatic cells depending on the time of sampling in db/db mice at different MS stages.

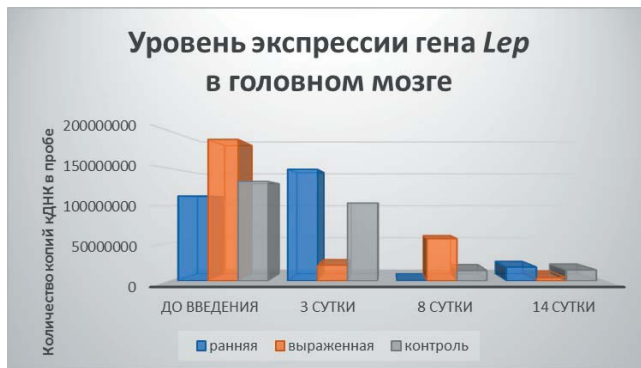


Рис. 2. Корреляция экспрессии гена *Lep* в клетках головного мозга от времени взятия проб у мышей линии db/db на разных стадиях МС.

Fig. 2. Correlation of the *Lep* gene expression in brain cells depending on the time of sampling in db/db mice at different MS stages.



Рис. 3. Корреляция экспрессии гена *Lep* в клетках печени от времени взятия проб у мышей линии db/db на разных стадиях МС.

Fig. 3. Correlation of the *Lep* gene expression in liver cells depending on the time of sampling in db/db mice at different MS stages.

У мышей на ранней стадии развития МС, к сожалению, не удалось получить экспериментальные данные на 8-е и 14-е сут в клетках поджелудочной железы, а также на 8-е сут в клетках мозга. Тем не менее картина отличается от таковой в контрольной группе, и мы можем наблюдать схожую тенденцию роста активности исследуемого гена после введения препарата (на 3-и сут), а также снижение этой активности к концу эксперимента (на 14-е сут), причем экспрессия гена ниже, чем до введения препарата (рис. 5, табл. 4).

Полученные результаты по клеткам печени иллюстрируют, что после 3-х сут в какой-то момент ген перестает активно работать, уровень экспрессии сильно снижается: уже на 8-е сут ген «работает» в 6,5 раза менее активно, чем до начала

эксперимента. Анализируя, можно предположить аналогичное развитие событий в клетках поджелудочной железы и мозга.

У мышей db/db на выраженной стадии развития МС уровень экспрессии гена *Lep* во всех исследуемых органах нестабилен и изменяется резко и независимо от клеток др. органов (рис. 6).

Такую динамику активности можно связать с несбалансированным обменом веществ и большим количеством патологических процессов, присутствующих на выраженной стадии заболевания (табл. 5).

Наблюдается наибольшее снижение уровня экспрессии гена *Lep* в клетках головного мозга до введения стволовых клеток, на 14-е сут активность гена снижается в 45 раз.

Таблица 4. Уровень экспрессии гена *Lep* в клетках различных органов у мышей на ранней стадии заболевания (количество копий кДНК в пробе)

Table 4. Levels of the *Lep* gene expression in cells of various organs in mice at an early MS stage (the number of cDNA copies in a sample)

Период	Поджелудочная железа	Головной мозг	Печень
До введения	10901844	113012114	131446794
3-и сут	26992928 (↑ в 2,5 раза)	148555080 (↑ в 1,3 раза)	171543789 (↑ в 1,3 раза)
8-и сут		Нет данных	20040929 (↓ в 6,5 раза по сравнению с экспрессией до введения)
14-е сут	Нет данных	18302061 (↓ в 6 раз по сравнению с экспрессией до введения)	90416980 (↓ в 1,5 раза по сравнению с экспрессией до введения)

Таблица 5. Уровень экспрессии гена *Lep* в клетках различных органов у мышей на выраженной стадии заболевания (количество копий кДНК в пробе)

Table 5. Levels of the *Lep* gene expression in cells of various organs in mice at an advanced MS stage (the number of cDNA copies in a sample)

Период	Поджелудочная железа	Головной мозг	Печень
До введения	3301794	188364908	107151930
3-и сут	6174829 (↑ в 2 раза)	20832912 (↓ в 9 раз)	59566214 (↓ в 1,8 раза)
8-е сут	12863969 (↑ еще в 2 раза)	56234132 (↑ в 2,7 раза по сравнению с 3-ми сут)	30505278 (↓ еще в 2 раза)
14-е сут	9928302 (↓ в 1,3 раза по сравнению с 8-ми сут и ↑ в 3 раза по сравнению с экспрессией до введения)	4186730 (↓ в 13,5 раза по сравнению в 8-ми сут и ↓ в 45 раз по сравнению с экспрессией до введения)	164295247 (↑ в 5,4 раза по сравнению в 8-ми сут и ↑ в 1,5 раза по сравнению с экспрессией до введения)

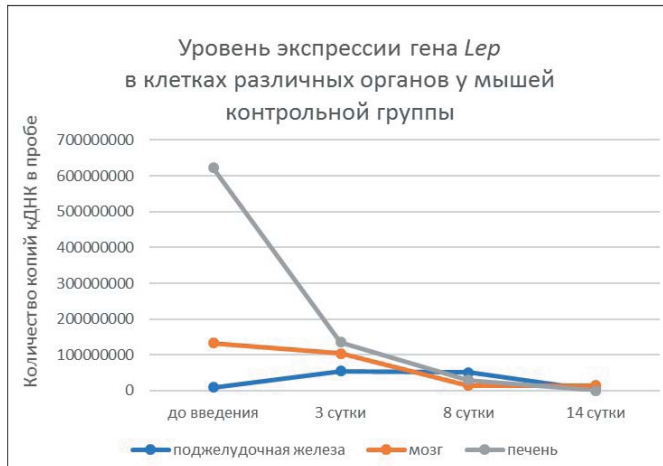


Рис. 4. Сравнение уровней экспрессии гена *Lep* в клетках различных органов от времени взятия проб у мышей контрольной группы (без ККМ) линии *db/db*.

Fig. 4. Comparison of the *Lep* gene expression levels in cells of various organs depending on the time of sampling in mice of the control group (without BMC) of the *db/db* line.

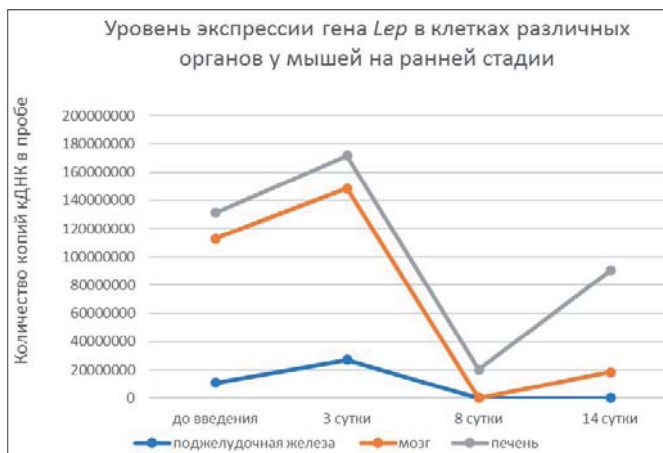


Рис. 5. Сравнение уровней экспрессии гена *Lep* в клетках различных органов от времени взятия проб у мышей линии *db/db* на ранней стадии МС.

Fig. 5. Comparison of the *Lep* gene expression levels in cells of various organs depending on the time of sampling in *db/db* mice at an early MS stage.

Заключение

Содержание лептина в общей циркуляции крови коррелирует с массой тела: чем больше масса жировой ткани, тем больше она секретирует гормона в кровяное русло. Подобное явление позволяет назвать жировую ткань эндокринным органом, гуморально регулирующим свое собственное состояние. Уменьшение количества жировой

ткани влияет на уровень лептина: снижение массы тела на 10% приводит к снижению концентрации лептина на 53%. Напротив, увеличение массы на 10% сопровождается увеличением содержания сывороточного лептина втрое [6].

Именно снижение концентрации сывороточного лептина в результате болезни или радикальных диет «запускает» компен-



Рис. 6. Сравнение уровней экспрессии гена *Lep* в клетках различных органов от времени взятия проб у мышей линии *db/db* на выраженной стадии МС.

Fig. 6. Comparison of the *Lep* gene expression levels in cells of various organs depending on the time of sampling in *db/db* mice at an advanced MS stage.

саторный механизм, подавляющий термogenesis и увеличивающий потребление пищи до тех пор, пока не будет достигнут уровень лептина, являющийся нормой для данного организма. Поэтому считается, что ожирение является состоянием лептинорезистентности.

По некоторым данным, уровень лептина является фактором риска ишемической болезни сердца умеренной силы и коррелирует с показателями общего холестерина и триглицеридов. В последнее время обсуждается новая теория патогенеза артериальной гипертензии при ожирении, связанная с гиперлептинемией у таких пациентов, что подтверждается нашими исследованиями.

Анализируя результаты, полученные у мышей на ранней и выраженной стадии МС, заметно, что уровень экспрессии в тканях печени и головного мозга значительно выше, чем в поджелудочной железе, что обусловлено реально более высоким содержанием адипоцитов (жировых клеток) в этих органах. Нами продемонстрировано, что на ранней стадии развития МС (3-и сут) после введения препарата стволовых клеток наблюдается более высокий уровень

лептина, что, возможно, обусловлено влиянием препарата на корректировку обменного процесса в сторону нормализации. Т. е. высокий уровень лептина, влияя на гипоталамус, снижает чувство голода, а накопленный жир сжигается.

В нашем случае у больных животных возникает толерантность организма к лептину: приводит к понижению уровня лептина, несмотря на большое количество жировой ткани, но организм при этом никак не реагирует и продолжает накапливать жировую ткань. При введении ККМ, по-видимому, происходит корректировка обменных процессов и лептина в сторону нормализации.

На выраженной стадии развития МС у животных наблюдается обратная связь: уровень лептина растет в печени и головном мозге из-за высокого содержания жировой ткани, а ККМ перестают оказывать нормализующее действие.

Результаты гистологических исследований тканей печени и поджелудочной железы у всех групп животных не показали характерных структурных и функциональных изменений при введении фракции

ККМ. Возможно, эти изменения могут проявляться при иных условиях проведения эксперимента.

Для полной картины гистологических изменений будут выполнены исследования с более длительным сроком наблюдения и сбора информации.

По-видимому, ген лептина *Lepr* можно считать одним из реперных генов, полноценным регулятором обменных процессов, за счет своего влияния на гипоталамус, который,

в свою очередь, совместно с гиппокампом, контролирует продукцию ацетилхолина и инсулина в мозге [11, 12].

Выбранная линия лабораторных мышей *B/Ks-Lepr^{db/+}* (*db/db*) является адекватной биомоделью для изучения и описания метаболического синдрома, оптимизированная ПЦР-система может быть использована для оценки степени возможного терапевтического воздействия на организм лабораторного животного в доклинической практике.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Беляева О.Д., Баженова Е.А., Березина А.В. и др. Уровень лептина и Q223R полиморфизм гена рецептора лептина у пациентов с абдоминальным ожирением. *Проблемы женского здоровья*. 2010;5(2):28–34. [Belyaeva O.D., Bazhenova E.A., Berezina A.V., et al. Uroven' leptina i Q223R polimorfizm gena receptora leptina u pacientov s abdominal'nym ozhireniem [Leptin level and Q223R polymorphism of the leptin receptor gene in patients with abdominal obesity]. *Problemy zhenskogo zdorov'ya* [Problems of Women's Health]. 2010;5(2):28–34. (In Russian)].
2. Бондарева Э.А., Шиян В.В., Спицын В.А. и др. Ассоциации четырех полиморфных генетических систем (ACE, EPAS1, ACTN3 и NOS3) со спортивной успешностью в борьбе самбо. *Вестник Московского университета. Серия XXIII. Антропология*. 2010;1:36–45. [Bondareva E.A., Shiyan V.V., Spicyn V.A., et al. Associacii chetyreh polimorfnykh geneticheskikh sistem (ASE, EPAS1, ACTN3 i NOS3) so sportivnoj uspešnost'yu v bor'be sambo [Associations of four polymorphic genetic systems (ACE, EPAS1, ACTN3 and NOS3) with sporting success in sambo wrestling]. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya XXIII. Antropologiya* [Moscow University Physics Bulletin. Series XXIII. Anthropology]. 2010;1:36–45. (In Russian)].
3. Завьялова Л.Г., Денисова Д.В., Симонова Г.И. и др. Генетические детерминанты атеросклероза, локализованные в первой хромосоме человека. *Актуальные проблемы современной науки: материалы Восьмой международной телеконференции*. 2012;1(2):47–53. [Zav'yalova L.G., Denisova D.V., Simonova G.I., et al. Geneticheskie determinanty ateroskleroz, lokalizovannye v pervoj hromosome cheloveka [Genetic determinants of atherosclerosis localized in the first chromosome of a person]. *Aktual'nye problemy sovremennoj nauki: mat-ly Vos'moj mezhdunarodnoj telekonferencii* [Actual problems of modern science: materials of the Eighth International Teleconference], 2012;1(2):47–53. (In Russian)].
4. Климова Т.М., Федорова В.И., Балтахинова М.Е. Критерии ожирения для идентификации метаболических факторов риска у коренного сельского населения Якутии. *Сибирский медицинский журнал*. 2012;8:110–113. [Klimova T.M., Fedorova V.I., Baltakhinova M.E. Kriterii ozhireniya dlya identifikacii metabolicheskikh faktorov riska u korenogo sel'skogo nasele-niya Yakutii [Obesity criteria for identifying metabolic risk factors in the indigenous rural population of Yakutia]. *Siberian Medical J.* 2012;8:110–113. (In Russian)].
5. Синицын П.А. *Метаболический синдром у детей и подростков. Клинико-генетические параллели: автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 2009. 27 с.* [Sinityn P.A. *Metabolicheskij sindrom u detej i podrostkov. Kliniko-geneticheskie paralleli: avtoref. diss. ... kand. med. nauk* [Metabolic syndrome in children and adolescents. Clinical and genetic parallels: abstract of dissertation ... Cand. Sci. (Med.). Moscow, 2009. 27 p. (In Russian)].
6. Тыртова Л.В., Паршина Н.В., Скобелева К.В. Генетические и эпигенетические аспекты ожирения и метаболического синдрома, возможности профилактики в детском возрасте. *Педиатрия*. 2013;IV(2):3–11. [Tyrtova L.V., Parshina N.V., Skobeleva K.V. Geneticheskie i epigeneticheskie aspekty ozhireniya i metabolicheskogo sindroma, vozmozhnosti profilaktiki v detskom vozraste [Genetic and epigenetic aspects of obesity and metabolic syndrome, the possibility of prevention in childhood]. *Pediatrics*. 2013;IV(2):3–11. (In Russian)].
7. Byrne C.D., Wareham N.J., Martens N.D., et al. Increased PAI activity and PAI-1 occurring with an oral fat load: associations with PAI-1 genotype and plasma active TGF- β levels. *Atherosclerosis*. 1998;140:45–53.
8. Dickie M.M., Lane P.W. Mapping of the ob locus. *Mouse News Lett.* 1957;17:52.
9. Kolaczynski J., Ohannesian J., Considine R., et al. Response of leptin to short-term and prolonged overfeeding in humans. *J. Clin. Endo. Metab.* 1996;81(11):4162–4165.

10. Kubaszek A., Pihlajamaki J., Komarovski V., et al. Promoter polymorphisms of the TNF-alfa (G-308A) and IL-6 (C-174G) genes predict the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes. The Finnish Diabetes prevention study. *Diabetes (New-York)*. 2003;52:1872–1876.
11. Persiyantseva N.A., Storozhevykh T.P., Senilova Y.E., Gorbacheva L.R., Pinelis V.G., Pomytkin I.A. Mitochondrial H₂O₂ as an enable signal for triggering autophosphorylation of insulin receptor in neurons. *J. Mol. Signal.* 2013;8(1):11. DOI: 10.1186/1750-2187-8-11.
12. Pomytkin I., Costa-Nunes J.P., Kasatkin V., Veniaminova E., Demchenko A., Lyundup A., et al. Insulin receptor in the brain: Mechanisms of activation and the role in the CNS pathology and treatment. *CNS Neurosci. Ther.* 2018. DOI: 10.1111/cns.12866.
13. Rankinen T., Zuberi A., Chagnon Y., et al. The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity (Silver Spring)*. 2006;14:529–644.
14. Zhang Y., Proenca R., Maffei M., Barone M., Leopold L., Friedman J.M. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994;352:425–432.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ | INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Петрова Наталья Владимировна, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России»;
e-mail: m-sklad@yandex.ru

Nataliya V. Petrova, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: m-sklad@yandex.ru