

УДК 575.174.015.3

ЦИТОХРОМЫ P450 2F И ГЕНЫ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ ЧЕРТ: КОВАРИАЦИИ ЭКСПРЕССИИ В МОЗГЕ ЧЕЛОВЕКА И ПОЛИМОРФИЗМ ОРТОЛОГОВ У ДОМАШНИХ КОЗ

А. К. Пискунов^{1, *}, П. М. Марченко¹, Г. Р. Свищева¹, Ж. В. Самсонова^{1, 2},
А. В. Кудрявцева³, Ю. А. Столповский¹, В. Н. Воронкова¹

¹Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, 119991 Россия,

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, 119991 Россия

³Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, 119991 Россия

*e-mail: aleksei.piskunov@gmail.com

Поступила в редакцию 15.05.2023 г.

После доработки 08.11.2023 г.

Принята к публикации 14.11.2023 г.

Цитохром P450 2F1 человека, как и его ортолог 2F3 домашней козы, считают довольно необычным ферментом. Описан единственный тип катализируемых им реакций: превращение скатола, продукта анаэробного обмена триптофана, в легочный токсин. Эндогенные субстраты CYP2F неизвестны, и хотя с открытия фермента прошло больше 30 лет, его биологическая роль остается невыясненной. Мы предположили, что физиологические функции CYP2F могут точно реализовываться в головном мозге, оставаясь ранее незамеченными вследствие высокой компартментализации органа. Используя открытые данные, мы изучили ковариацию экспрессии *CYP2F1* и генов поведенческих черт в мозге человека, а также полиморфизм их ортологов и *CYP2F3* в 180 популяциях домашних коз (*Capra hircus*). В гене *CYP2F3* было обнаружено два SNP, один из которых имел выраженные следы отбора, причем частота гомозигот увеличивалась по мере географического удаления от центра доместикиции. Экспрессия мРНК *CYP2F1* в мозге человека также имела регионарную специфичность. У обоих видов путем факторного анализа была выявлена взаимосвязь *CYP2F1/3* и ряда генов, регулирующих поведение: транспортера серотонина *SLC6A4* и его рецептора *HTR2A3*, транспортера *ABC1*, рецептора пуринов *P2RX7*, рецептора ГАМК *GABRA4*, регулятора циркадных ритмов *PER3* и Т-кадгерина *CDH13*. Анализ геномных данных домашней козы и транскриптомных данных человека выявил эволюционные и функциональные связи цитохромов CYP2F и нейрохимических систем регуляции поведения. Эти доказательства церебральной функции фермента являются косвенными, поскольку основаны на корреляционном анализе, однако свидетельствуют о перспективности дальнейшего поиска в данном направлении.

Ключевые слова: цитохром, мозг, личность, поведение, доместикиция, серотонин, коза.

DOI: 10.31857/S0016675824040042 **EDN:** CRFVBL

Цитохромы P450 катализируют перенос атома кислорода на небольшие органические молекулы, позволяя получать энергию, а также осуществлять взаимные превращения таких молекул. Благодаря цитохромам возникли аэробные организмы. С цитохромами тесно связана эволюция и функционирование нервной и эндокринной систем. Однако основное внимание эти ферменты получили за способность окислять ксенобиотики, в частности токсины и лекарства. Физиологическая роль многих представителей суперсемейства исследована значительно менее полно. Один из наиболее загадочных представителей принадлежит семейству 2F и описан у человека (*CYP2F1*), мыши (*CYP2F2*) и коз (*CYP2F3*) как легочно-специфичный фермент, для которого известен единственный тип

катализируемых реакций – частичное окисление 3-метилендола(скатола), приводящее к избирательной пневмотоксичности этого исходно безвредного вещества [1]. Эндогенные субстраты и физиологическая функция CYP2F не описаны.

При анализе генома коз в нашей предыдущей работе [2] было замечено, что распределение аллелей *CYP2F3* у древних и современных пород отличается от случайного. Это наблюдение послужило стимулом к поиску возможной физиологической роли фермента. Связь гена *CYP2F3* с одомашниванием может указывать на его роль в церебральных процессах, поскольку изменение поведения лежит в основе доместикиции. Закономерный вопрос, почему таковая до сих пор не была обнаружена, может быть адресован

к классическим методам изучения нового фермента. Среди них одним из основных служит поиск клеток и тканей с усиленной экспрессией мРНК изучаемого соединения. Исследования обычно проводятся на грызунах, причем в качестве образцов используют относительно крупные анатомические структуры. Однако следует учитывать, что в сравнении с другими органами головной мозг отличается высокой компартиментализацией, то есть поделен на множество микроанатомических структур. Например, у человека относительный объем гипоталамуса составляет около 1.5% от общего объема мозга, а сам гипоталамус состоит из более чем 50 пар ядер. Можно посчитать, что условное 100-кратное повышение уровня экспрессии фермента в одном из ядер увеличит общий уровень экспрессии менее чем на 1%, что ниже погрешности измерения [3]. Существуют и другие предпосылки возможной церебральной функции CYP2F. Так, одни из наиболее древних сигнальных молекул мозга, серотонин, мелатонин и кинуренин, как и субстраты CYP2F, являются производными триптофана [1]. Это позволяет предположить, что физиологическая роль CYP2F может быть связана с нейромедиаторными системами.

В настоящей работе для изучения возможной вовлеченности CYP2F1/3 в нейрохимические процессы были использованы два набора открытых данных, удачно соответствующих поставленной задаче. Первый набор содержит полногеномные SNP-генотипы более 5000 домашних коз (*Capra hircus*) из 188 пород и популяций, расположенных по всему земному шару. Этот набор унифицированных данных является одним из наиболее масштабных по числу генотипов и географическому распределению среди всех млекопитающих. С его помощью были изучены популяционно-географические и эволюционные связи полиморфизма гена *CYP2F3* и генов нейрохимических систем. Второй набор содержит данные об уровнях мРНК сотен тысяч генов в головном мозге человека на уровне микроструктур, полученные с помощью микрочипов. Он позволил исследовать функционально-анатомические особенности и регионарные профили экспрессии *CYP2F1* и других генов. Преимущества этих наборов данных связаны с популяционно-мировым масштабом геномных данных домашней козы и с высокой анатомической детализацией транскриптомных данных человека, а также с тем, что генетическая последовательность и каталитическая активность фермента у этих видов наиболее близки [1].

Выбор генов, связанных с нейрохимическими процессами в случае человека, не являлся сложной задачей, поскольку уровни экспрессии мРНК определялись в собственно головном мозге. В случае домашней козы имелись данные об однонуклеотидных заменах в геномной ДНК, привязанные к хромосомным координатам. Требовалось идентифицировать гены с функционально-значимым для работы мозга полиморфизмом, обусловленным одной из представленных замен с высокой частотой встречаемости в популяции. Таким образом, соответствующие имфенотипические признаки должны обладать популяционной вариацией, иметь высокую наследуемость, а также быть измеримыми для того, чтобы их вариацию можно было сопоставить с генотипической.

Одним из непосредственных продуктов мозговой активности является поведение. Для многих поведенческих признаков характерны индивидуальные отличия в их выраженности, стабильные в течение жизни и в различных контекстах. Такие отличия составляют устоявшееся формальное академическое определение черт личности.

Стоит отметить, что личность в большинстве пониманий — это больше, чем просто совокупность черт личности; последние, однако, составляют ее часть, которая потенциально измерима и таким образом может быть исследована математическими методами. Наличие черт личности, в данном определении, показано для человека и многих других животных с развитым мозгом и социальной структурой, и особенно хорошо исследовано у одомашненных видов, в частности у домашней козы.

Выраженность черт личности вариабельна, при этом имеет высокую наследуемость, а в их основе лежат нейрохимические процессы. Исходя из этого, в качестве генов, связанных с нейрохимическими процессами, в настоящей работе были выбраны гены, полиморфизм которых связан с выраженностью черт личности [4], а в случае коз — ортологи этих генов. Наличие и распространенность полиморфных вариантов этих генов обуславливают возможность подтвердить (или опровергнуть) предположение о том, что их полиморфность может быть неслучайным образом ассоциирована с полиморфностью гена *CYP2F1/3*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Рабочая база полногеномных данных домашней козы

Был использован массив данных из нашей предыдущей работы [2], включающий: 1) геноти-

пы животных из проекта AdaptMap, описанного в статье L. Colli с соавт. [5]; 2) данные из исследования Т.Е. Денисковой и соавт. [6], представляющие генотипы семи пород коз из России; 3) генотипы шести популяций из пяти регионов Китая, описанные Н. Verihulay с соавт. [7]; 4) данные пяти популяций монгольских коз, генотипированные в нашем исследовании. Генотипирование всех популяций проведено с помощью Goat 50K BeadChip (Illumina Inc., Сан-Диего, Калифорния, США). Итоговый комбинированный набор данных содержал 38276 SNP от 5176 животных 188 популяций [2].

Поиск полиморфизмов ДНК у коз

С помощью PLINK 1.9 был проведен поиск SNP в гене *CYP2F3* и ортологах 18 генов (табл. 1), связанных с личностью человека, также недавно идентифицированных в геноме лошади [7]. Хромосомные координаты были получены из генома козы, аннотированного в Ensembl (табл. 1). Была использована сборка генома ARS1 (ASM170441v1). Ген *CYP2F3* был расположен на 18-й хромосоме и имел два SNP-мар-

кера (snp21618-scaffold2118-550706, snp21617-scaffold2118-498278). Частоты минорных аллелей (MAF) были рассчитаны для идентифицированных SNP-маркеров в мировой популяции, а также для каждой популяции животных, состоящей не менее чем из 10 особей. Число таких популяций составило 158, со средним числом животных 50 ± 2.2 ($M \pm SEM$). Для всех популяций минорным всегда считали один и тот же аллель, исходя из его частоты в мировой выборке, даже если он являлся преобладающим в конкретной популяции.

Распределение ДНК-вариантов у коз

Статистическое распределение частот аллелей SNP визуализировали гистограммами с MAF по оси X и количеством популяций коз по оси Y. Среднее значение (M), стандартное отклонение (SD), асимметрия и эксцесс были рассчитаны для представления численных данных о распределении аллелей.

Географическое распределение частот аллелей визуализировали с помощью ArcGis 10.8,

Таблица 1. SNP в генах коз – ортологах генов черт личности человека

Ген	Белок	Положение на хромосоме	Идентификатор SNP на чипе
<i>FAAH</i>	Fatty acid amide hydrolase	3: 21,026,588-21,047,140	snp17501-scaffold181-440831 snp17502-scaffold181-510286
<i>PER3</i>	Period circadian regulator 3	16: 44,082,685-44,149,046	snp44080-scaffold597-1100913
<i>CDH13</i>	Cadherin 13	18: 10,713,157-11,547,248	snp6116-scaffold1216-1475632
<i>NPY</i>	Neuropeptide Y	4: 48,587,984-48,618,665	snp27655-scaffold295-4443665
<i>LEP</i>	Leptin	4: 27,665,917-27,682,282	snp24940-scaffold2551-297044 snp7099-scaffold1264-42116
<i>HSD11B1</i>	Hydroxysteroid 11-beta dehydrogenase 1	16: 72192303-72232521	snp23279-scaffold2329-257953 snp23276-scaffold2329-78243
<i>ANKK1</i>	Ankyrin repeat and kinase domain containing 1	15: 58404829-58418257	snp57901-scaffold937-1037722
<i>DRD2</i>	Dopamine receptor D2	15: 58322506-58393525	snp57902-scaffold937-1074027
<i>BDNF</i>	Brain derived neurotrophic factor	15: 24503417-24569735	snp54722-scaffold837-1900767
<i>COMT</i>	Catechol-O-methyltransferase	1: 547660-553624	snp2811-scaffold1082-402075 snp2810-scaffold1082-348665
<i>P2RX7</i>	Purinergic receptor P2X 7	17: 17203049-17255098	snp29995-scaffold327-1964517 snp30001-scaffold327-2285684
<i>APOE</i>	Apolipoprotein E	18: 58979223-58984704	snp46071-scaffold632-588199 snp46070-scaffold632-517251
<i>CNR1</i>	Cannabinoid receptor 1	9: 49082848-49084266	snp47005-scaffold657-454462 np47003-scaffold657-348206
<i>SLC6A4</i>	Solute carrier family 6 member 4	19: 21107560-21127442	snp6455-scaffold1229-2653423
<i>GABRA6</i>	Gamma-aminobutyric acid type A receptor subunit alpha 6	7: 37186194-37207432	snp41489-scaffold54-1527889 snp41488-scaffold54-1473617
<i>HTR2A</i>	5-Hydroxytryptamine receptor 2A	12: 69719711-69785162	snp24155-scaffold246-2237548
<i>DGKH</i>	Diacylglycerol kinase eta	12: 74178634-74373984	snp52847-scaffold792-1018579 snp52845-scaffold792-943854

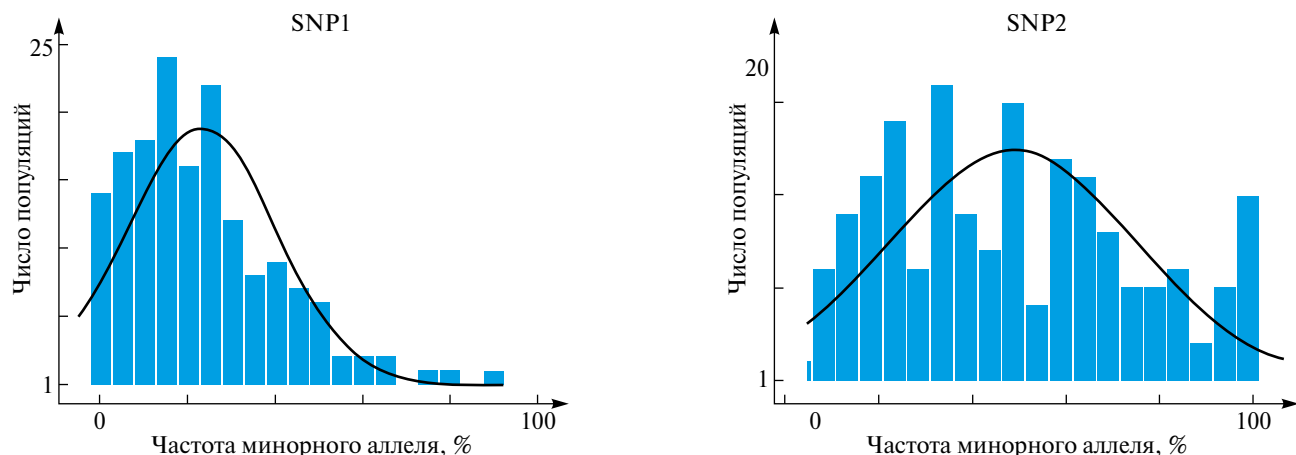


Рис. 1. Распределение частот минорных аллелей (MAF) SNP1 и SNP2 гена *CYP2F3* в популяциях коз.

используя интенсивность цвета маркера как отображение MAF для каждой популяции.

Анализ экспрессии мРНК в мозге человека

Данные об экспрессии мРНК в головном мозге шести доноров были предоставлены Allen Human Brain Atlas [8]. Образцы ткани для выделения мРНК получали путем последовательной диссекции. На первом этапе были получены срезы головного мозга толщиной 0.5–1 см, которые разделяли на блоки и сохраняли при -80°C . Далее в криостатах получали срезы толщиной 25 мкм. Срезы (через один) использовали для гистологического окрашивания либо дальнейшей диссекции. Макродиссекция вручную использовалась для относительно крупных и легко идентифицируемых структур мозга, лазерную микродиссекцию использовали для более мелких структур и структур неправильной формы, которые требовали микроскопической визуализации. Области, в которых образцы отбирали с помощью макродиссекции, включали кору головного мозга и мозжечка, а также крупные подкорковые ядра правильной формы, такие как хвостатое тело, скорлупа и бледный шар. Образцы других подкорковых ядер, в частности миндалевидных тел, таламуса и гипоталамуса, а также ядер мозжечка были отобраны с помощью лазерной микродиссекции. Нейроанатомические структуры были идентифицированы на основе гистологического окрашивания оставшихся срезов по Нисслию или серебром. При макродиссекции иссекали от 50 до 200 мг ткани в зависимости от региона. Масса корковых образцов в среднем составляла 100 мг. При лазерной микродиссекции извлекались образцы со средним объемом 3.6 мм^3 . Всего на каждое полушарие головного мозга было около 500 образцов. Более подробно эти проце-

дуры, методы выделения мРНК, использование микрочипов, нормализация данных экспрессии, а также данные доноров доступны на интернет-странице проекта (Allen Human Brain Atlas, раздел Documentation). Онтология и номенклатура микроструктур были составлены в соответствии с несколькими источниками, и описываются на сайте проекта в подразделе “Ontology and Nomenclature”.

Для получения численных данных на главной странице атласа мозга выбирали опцию “Human brain”, затем “Microarray”, в поисковом окне вводили названия интересующих генов и для результатов поиска выбирали вид цветовой шкалы интенсивности экспрессии с разрешением до микроструктур, затем выбирали опцию “Download data”. На первом этапе были извлечены значения экспрессии *CYP2F1* в основных отделах и микроструктурах мозга. Далее были отобраны гены, ассоциированные с чертами личности, и загружены данные, связанные с экспрессией генов. Значения экспрессии представлены в виде нормализованных величин.

Факторный анализ проводили в SPSS Statistics v26. В использованных матрицах строки (“наблюдения”) соответствовали микроструктурам мозга, а столбцы (“переменные”) – генам (их транскриптам). В качестве метода выделения факторов использовали метод максимального правдоподобия с вращением промакс с нормализацией Кайзера. Число итераций при вращении было ограничено до 15. Для проверки выборочной адекватности использовали критерий Кайзера–Мейера–Олкина (КМО). График собственных значений использовали для определения числа выделяемых факторов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ полиморфизма CYP2F3 у коз

С помощью PLINK 1.9 в пределах хромосомных координат гена *CYP2F3* было обнаружено два SNP с частотами минорных аллелей (MAF) 0.224 и 0.491 (далее – SNP1 и SNP2) (табл. 2). MAF были также рассчитаны для каждой популяции животных.

Таблица 2. Параметры статистического распределения частот минорных аллелей гена *CYP2F3* в популяциях коз

Параметр	SNP1	SNP2
М	0.23	0.48
SD	0.17	0.26
Асимметрия	1.12	0.35
Экссесс	1.62	-0.83
Минимум	0.00	0.03
Максимум	0.90	1.00

Примечание. М – среднее, SD – среднее квадратичное отклонение.

Как видно из гистограммы (рис. 1), распределение аллелей несколько отличается от нормального. SNP2 отличается тенденцией к фиксации крайних вариантов: гомозигот по минорному и мажорному аллелям, а SNP1 демонстрирует смещение распределения в сторону минорного аллеля.

Географическое распределение аллелей CYP2F3

На карте мира (рис. 2) отображены распределения частот аллелей *CYP2F3* по SNP1 и SNP2. Для каждой популяции доля минорного аллеля отображена с помощью цветового градиента. Здесь аллель также считали минорным исходя из частоты во всей мировой выборке. Частота минорных аллелей SNP1 и SNP2 у дикого предка (безоарового козла) составила 1 и 0.64 соответственно.

Для частоты встречаемости SNP1 в популяциях животных заметна выраженная географическая зависимость. В европейских популяциях фактически зафиксирован мажорный аллель, в азиатских – минорный, причем у дикого предка (безоарового козла) встречается только минорный аллель. Аллели SNP2 не имеют настолько выраженного географического паттерна распределения, однако заметно, что по мере удаления от очага первичной доместикиации в древней Анатолии (на территории современного Пакистана) происходит “заострение” генетической вариации: то есть появление популяций с все большим преобладанием одного из аллелей.

Далее исследовали взаимосвязь аллелей гена *CYP2F3* и аллелей ключевых генов, связанных с поведением. Основная часть SNP использованных генов поведения была идентифицирована путем поиска в пределах хромосомных координат генов, ортологичных генам, связанным с выраженностью черт личности у человека в соответствии с моделью “Большой пятерки”, как в работе Т. Yokomogi и соавт. [7] (табл. 1). В этой модели личность определяется как совокупность стабильных индивидуальных особенностей поведения. Таким образом, ассоциированные с чертами личности гены могут рассматриваться как регуляторы поведения. Семь SNP с наибольшими значениями модуля корреляции MAF с MAF *CYP2F3* были выявлены в генах *GABRA6*, *CDH13*, *HSD11B1*, *HTR2A* и *LEP*. Затем был проведен факторный анализ, в качестве переменных в котором были использованы частоты минорных аллелей в отдельных популяциях (табл. 3). Частота минорного аллеля *CYP2F3* оказалась одной из наиболее “сильных” переменных, войдя в состав первого фактора, объясняющего 26% совокупной дисперсии. Это довольно интересный результат, учитывая, что данный ген ранее не был замечен в связи с нейробиохимическими процессами. Помимо него в первый фактор вошли гены *HTR2A*, *LEP*, *ABC_B1*, *ANKK1*, *CDH13*, *PER3*, *BDNF*. Второй аллель гена *CYP2F3* вошел в состав V и VII факторов, совместно объясняющих 6% общей дисперсии, вместе с *SLC6A4* и *ABC_B1* – генами, кодирующими одни из основных транспортеров серотонина [9], и *P2RX7* – пуриновым рецептором, служащим модулятором серотонинэргической передачи [9].

Анализ экспрессии CYP2F1 в мозге человека по данным атласа экспрессии Института Алена

Анализ экспрессии мРНК *CYP2F1* был проведен на основе открытых данных Института Алена (Сиэтл, США). Уровни мРНК в этом исследовании определялись с помощью микрочипа в предварительно изолированных микроанатомических структурах головного мозга, представляющих основные корковые и ядерные элементы всех его отделов. Уровни экспрессии *CYP2F1* были определены в головном мозге шести доноров в возрасте от 25 до 57 лет, пять из которых были мужчины. Число микроструктур составило 169 на один мозг; общее количество образцов составило 1014. Было выявлено два транскрипта гена *CYP2F1*, общая информация о которых содержится в табл. 4. Регионарные профили экспрессии транскриптов *CYP2F1* были не идентичны: корреляция между средними значениями

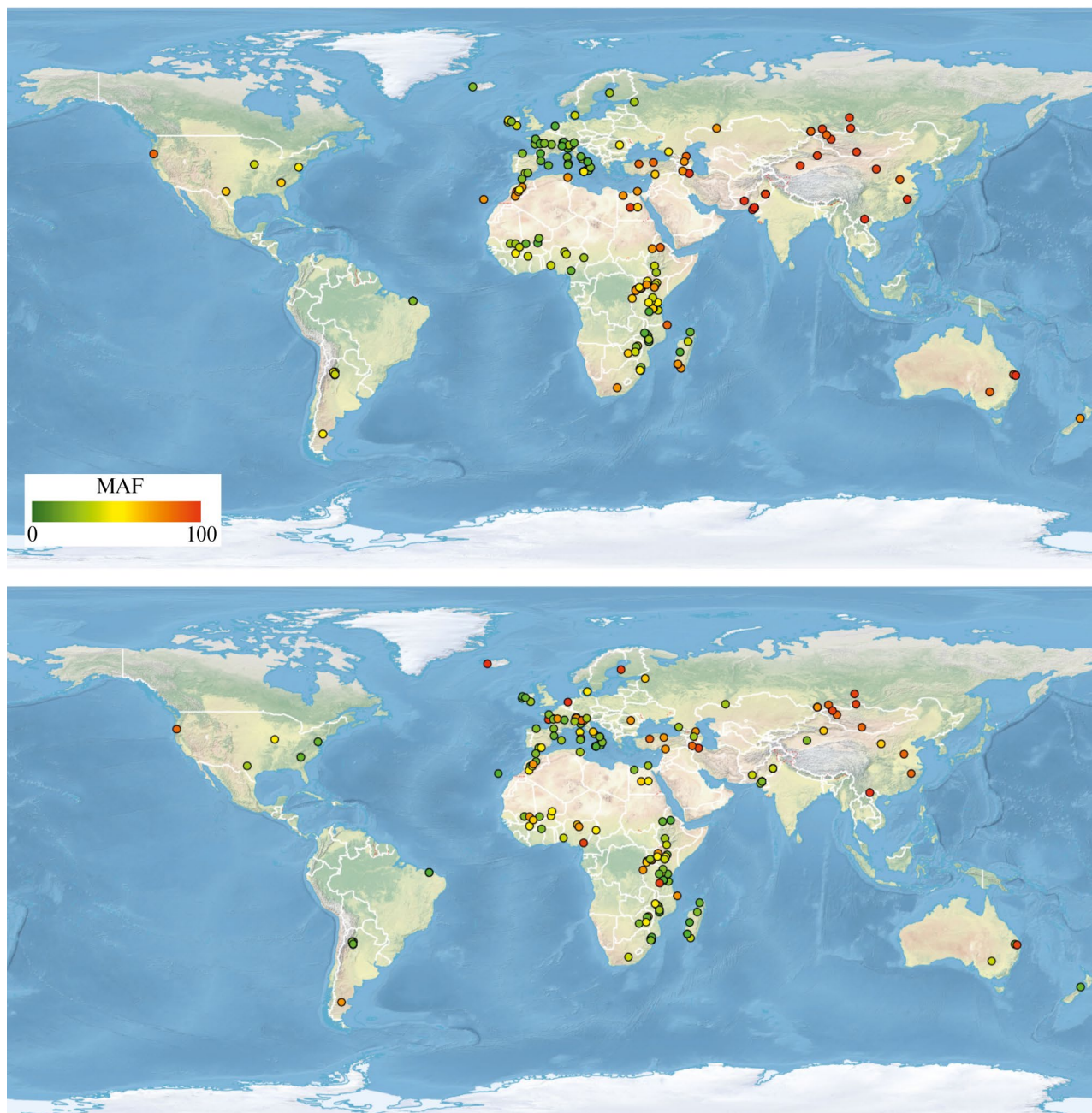


Рис. 2. Распределение частот минорных аллелей гена *CYP2F3* по SNP1 (сверху) и SNP2 (снизу) в популяциях домашней козы.

уровня мРНК двух транскриптов в 145 структурах мозга составила $r = 0.17$. Далее были отобраны гены, ассоциированные с чертами личности, ортологи которых были исследованы у коз (см. выше). Был проведен факторный анализ, используя те же параметры извлечения латентных переменных (факторов).

Как видно из табл. 5, транскрипты *CYP2F1* вошли в состав первого и третьего факторов, вместе с генами *ABCB*, *ANK1*, *BDNF*, *CDH13*,

CNR1, *FAAH2*, *GABRA4*, *HSD11B1*, *HTR2A3*, *LEP*, *P2RX7*, *PER3*, *SLC6A4*. Гены *SLC6A4* и *HTR2A* – транспортера и рецептора серотонина имели нагрузку на оба фактора. Причем один из транскриптов имел положительную, а второй отрицательную связь с экспрессией как *SLC6A4*, так и *HTR2A3*.

В табл. 6 сравниваются гены, ассоциированные с *CYP2F* по данным факторного анализа их полиморфизма и экспрессии соответственно у

Таблица 3. Факторный анализ частот минорных аллелей генов поведения и *CYP2F3* в популяциях коз (приведены факторные нагрузки)

Аллель	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
<i>HTR2A</i>	0.89	0.26	0.27	-0.11	0.10	0.09	-0.31	0.18
<i>CDH13_6</i>	-0.86	0.18	-0.09	0.03	0.08	0.03	-0.36	-0.15
<i>CYP2F3_SNP2</i>	0.69	-0.25	0.08	0.04	0.03	0.36	0.15	-0.06
<i>PER3</i>	0.65	0.14	-0.18	-0.11	-0.07	0.10	0.08	0.18
<i>LEP_2</i>	0.60	-0.25	0.00	0.21	-0.12	-0.10	0.05	0.01
<i>BDNF</i>	0.59	0.15	0.00	-0.21	-0.06	-0.02	-0.03	0.00
<i>ANKK1</i>	0.52	0.24	-0.38	-0.06	-0.12	-0.03	-0.26	-0.13
<i>GABRA6_1</i>	0.40	-0.38	0.01	0.02	0.21	0.06	-0.24	0.09
<i>CNR1_1</i>	0.27	0.78	0.07	0.01	-0.35	-0.09	0.06	0.18
<i>DGKH_2</i>	0.03	0.67	-0.13	0.07	-0.21	-0.04	-0.01	-0.13
<i>P2RX7_1</i>	-0.16	0.67	0.02	-0.04	-0.03	0.05	0.18	0.24
<i>LEP_1</i>	-0.02	-0.57	-0.01	-0.18	-0.20	-0.26	-0.13	0.10
<i>CNR1_2</i>	-0.05	0.56	0.24	0.06	0.13	0.15	-0.10	0.12
<i>HSD11B1_1</i>	0.00	-0.53	0.13	0.07	-0.13	0.19	-0.01	-0.08
<i>FAAH_2</i>	0.20	0.52	0.19	-0.07	0.03	-0.30	0.08	-0.11
<i>APOE_1</i>	0.30	-0.34	-0.17	0.10	-0.01	0.19	-0.08	0.25
<i>HSD11B1_2</i>	-0.11	0.04	0.63	-0.19	0.10	-0.07	0.14	0.16
<i>ABC_B1_SNP1</i>	-0.28	0.04	0.62	-0.13	-0.15	0.42	0.05	-0.27
<i>FAAH_1</i>	-0.14	-0.05	0.62	0.07	0.34	-0.18	-0.19	0.43
<i>DRD2_1</i>	-0.11	-0.08	-0.57	-0.02	-0.04	-0.07	0.03	-0.01
<i>APOE_2</i>	0.09	0.14	-0.46	0.00	0.43	0.18	0.14	0.14
<i>COMT_2</i>	0.05	0.25	0.06	1.01	-0.18	0.00	0.11	0.21
<i>COMT_1</i>	-0.30	-0.12	-0.10	0.86	0.07	0.08	0.02	0.11
<i>SLC6A4</i>	-0.14	-0.11	0.13	-0.03	0.85	-0.09	0.21	0.09
<i>CYP2F3_SNP1</i>	0.14	0.05	-0.23	-0.11	0.53	-0.05	0.52	-0.15
<i>ABC_B1_SNP2</i>	0.15	0.14	0.23	0.19	0.38	-0.24	0.05	-0.24
<i>NPY</i>	-0.08	0.13	-0.06	-0.05	0.12	-0.65	-0.04	0.08
<i>P2RX7_2</i>	-0.07	0.16	-0.04	0.10	0.25	0.07	0.77	-0.10
<i>DRD2_2</i>	-0.23	-0.10	-0.10	-0.20	-0.07	0.07	0.09	-0.46

Таблица 4. Транскрипты *CYP2F1* в головном мозге человека

	Транскрипт 1	Транскрипт 2
№ в NCBI	NM_000774.3	NM_000774.3
Длина, пн	60	60
Последовательность	TCTTTTGTACCCACAGAGCTTGTCT ATGGCACGCCCTTTTCTGGGCTTTT GTATCAT	AGAGGAGAAGGAGGACCCACTGAGCCA CTTCCACATGGATACCCTGCTGATGACC ACACA
GC, %	43	55

коз и человека. Из 13 таких генов восемь были общими для двух видов, два оказались связанными только с *CYP2F1* человека, и три – только с *CYP2F3* коз.

Сравнительный анализ уровня экспрессии транскриптов CYP2F1 в микроструктурах мозга человека

Наиболее высокие уровни экспрессии первого транскрипта *CYP2F1* были выявлены в верхней

Таблица 5. Факторный анализ уровня экспрессии мРНК генов поведения и *CYP2F1* в микроструктурах головного мозга человека (приведены факторные нагрузки)

Ген	I	II	III	IV	V
<i>HSD11B1</i>	0.77	0.46	0.17	-0.52	-0.01
<i>P2RX7</i>	0.76	0.18	-0.13	-0.34	0.2
<i>SLC6A4</i>	-0.74	-0.42	-0.46	-0.01	0.02
<i>CYP2F1_2</i>	-0.7	-0.33	-0.28	0.14	0.12
<i>LEP</i>	-0.66	-0.27	-0.33	-0.17	0.01
<i>PER3</i>	0.62	0.85	0.31	-0.37	-0.03
<i>ABCB1</i>	0.51	0.84	0.46	-0.19	0.05
<i>COMT</i>	0.31	0.76	0.22	-0.19	0.13
<i>FAAH2</i>	0.54	0.75	0.46	-0.08	-0.09
<i>BDNF</i>	0.17	0.60	0.46	0.09	-0.04
<i>DGKH</i>	0.06	-0.56	0.29	0.21	0.16
<i>GABRA4</i>	0.52	0.63	0.77	0.04	-0.15
<i>CNR1</i>	0.35	0.31	0.74	0.21	-0.24
<i>CYP2F1_1</i>	-0.09	-0.19	-0.72	0.15	-0.1
<i>HTR2A3</i>	0.56	0.31	0.67	0.31	-0.08
<i>DRD2</i>	-0.2	-0.17	0.17	0.85	0.03
<i>DRD2_2</i>	-0.11	-0.27	-0.24	0.59	-0.09
<i>NPY</i>	0.01	-0.07	-0.18	-0.05	0.91
<i>CDH13</i>	0.07	0.29	0.54	-0.02	0.62

лобной извилине, поле IV Аммонова рога, в паравермисе, в миндалевидно-гиппокампальной переходной зоне, в парацентральной дольке, в поясной извилине, в прецентральной извилине (табл. 7); второго транскрипта – в двигательном ядре тройничного нерва, в сосцевидном теле, в ядрах улитки, в моторном ядре лицевого нерва, в черной субстанции, в ретикулярной формации, в подъязычном ядре, в интерстициальном ядре Кахаля (табл. 7).

Таблица 6. Гены, связанные с *CYP2F1* человека и *CYP2F3* коз по данным факторного анализа их полиморфизма и экспрессии

	Человек (mRNA)	Коза (SNPs)
<i>ABCB1</i>	+	+
<i>ANK1</i>		+
<i>BDNF</i>		+
<i>CDH13</i>	+	+
<i>CNR1</i>	+	
<i>FAAH2</i>	+	
<i>GABRA4</i>	+	+
<i>HSD11B1</i>	+	
<i>HTR2A3</i>	+	+
<i>LEP</i>	+	+
<i>P2RX7</i>	+	+
<i>PER3</i>	+	+
<i>SLC6A4</i>	+	+

Примечание. “+” указывает на вхождение в гена в состав одной латентной переменной с *CYP2F1/3*.

Поскольку по данным факторного анализа экспрессия второго транскрипта отрицательно связана с экспрессией рецептора серотонина, были также определены зоны минимальной экспрессии данного транскрипта. Они оказались в зоне VIIIA Бродмана, в медиальном надмамиллярном ядре, в нижнем дорсомедиальном ядре гипоталамуса и некоторых других участках лимбической системы в новой коре. В этих же структурах наблюдалась высокая экспрессия рецептора серотонина *HTR2A3*.

ОБСУЖДЕНИЕ

Статистическое и географическое распределение аллелей *CYP2F3* в популяциях домашней козы оказалось неслучайным и имело выраженные паттерны, которые свидетельствуют о том, что у гена есть функции, связанные с одомашниванием. Градуальное изменение частот аллелей гена по мере удаления от очага одомашнивания вдоль древних путей миграции, а также фиксация гомозиготных вариантов в современных популяциях, по-видимому, свидетельствуют о том, что функции гена *CYP2F3* не только играли важную роль на ранних этапах одомашнивания, но и значимы в текущее время для адаптации к создаваемым человеком условиям.

Выраженная статистическая связь обнаружилась при анализе корреляций и совместной

Таблица 7. Уровни экспрессии транскриптов *CYP2F1* в мозге человека (нормализованные значения)

Структура	Число образцов	Транскрипт 1		Транскрипт 2	
		М	SEM	М	SEM
Вентральный таламус	67	2.67	0.58	3.40	0.58
Средний мозг	51	2.45	0.66	2.89	0.66
Продолговатый мозг	48	2.42	0.67	2.72	0.67
Ядра мозжечка	337	2.39	0.27	2.78	0.27
Покрышка	31	2.38	0.82	2.83	0.82
Базальные ядра моста	148	2.37	0.40	2.69	0.40
Миндалины	47	2.31	0.68	3.04	0.68
Дорсальный таламус	175	2.26	0.37	2.85	0.37
Бледный шар	15	2.26	1.12	2.77	1.12
Клауструм	537	2.24	0.21	3.23	0.21
Гиппокамп	39	2.08	0.74	3.23	0.74
Эпиталамус	188	2.05	0.35	2.60	0.35
Гипоталамус	102	2.02	0.47	2.50	0.47
Полосатое тело	182	1.95	0.36	2.78	0.36
Базальный передний мозг	279	1.92	0.29	2.73	0.29
Парагиппокампальная извилина	212	1.91	0.33	2.67	0.33
Лобная доля	58	1.84	0.62	3.14	0.62
Теменная доля	290	1.77	0.29	2.96	0.29
Височная доля	170	1.75	0.37	3.05	0.37
Кора мозжечка	14	1.75	1.15	3.09	1.15
Поясная извилина	5	1.72	2.00	2.72	2.00
Затылочная доля	470	1.71	0.23	3.00	0.23
Белое вещество	34	1.69	0.79	2.53	0.79
Островковая кора	15	1.66	1.12	2.93	1.12

Примечание. М – среднее, SEM – стандартная ошибка.

дисперсии *CYP2F3* и генов, гомологичных генам человека, которые по данным полногеномного анализа [8] в наибольшей степени связаны с выраженностью личностных черт, т.е. индивидуальных отличий в поведении.

Данные об экспрессии гена *CYP2F1* в мозге человека выявили регионарную специфичность экспрессии двух транскриптов с наибольшими уровнями экспрессии первого транскрипта в ядрах лимбической системы, опосредующих эмоциональные реакции [9, 10], и в основных серотонинэргических структурах – ядре шва, красном ядре, оказывающих множественное влияние на высшие отделы. Высокие уровни экспрессии также обнаружены в интегративных отделах новой коры, связанных с осознанностью, целенаправленным поведением, объемом оперативной памяти [11]. Высокие уровни второго транскрипта *CYP2F* обнаружены также в ядрах и корковых структурах, связанных с регуляцией пищевого поведения, пищеваре-

ния и циркадных ритмов. Последняя закономерность гипотетически может быть связана с тем, что бактерии кишечника продуцируют производные триптофана [12], которые могли бы выступать в роли сигнальных соединений, а также являться субстратами *CYP2F*. Более того, поскольку нам неизвестны метаболические пути, которые напрямую связывали бы серотонинэргическую передачу с субстратной специфичностью *CYP2F* в отношении индольных соединений, есть основание предполагать, что активность *CYP2F* в мозге может быть связана с существованием альтернативной (ко)медиаторной системы индольных соединений, которые гипотетически могли бы опосредовать влияние микробиоты кишечника на пищевое поведение. Корреляционный анализ уровней экспрессии мРНК *CYP2F1* в мозге человека также показал вовлеченность гена в функциональные сети регуляции поведения. Как и у коз, наиболее сильные связи обнаружены с генами серотонинэргической системы. Интересно, что по данным

факторного анализа и сравнения регионарных уровней мРНК один из транскриптов *CYP2F1* и рецептор серотонина *HTR2A3* были экспрессированы в противофазе. Если предположить, что один из предшественников или метаболитов серотонина может подвергаться биоактивации в токсин под действием *CYP2F1*, то снижение уровня экспрессии последнего можно рассматривать как механизм защиты от токсического действия в структурах мозга, богатых серотонином.

Получены новые и достаточно убедительные данные, которые свидетельствуют об участии *CYP2F1/3* в нейрохимических процессах регуляции поведения. Насколько нам известно, это первые свидетельства существования физиологической роли цитохромов семейства *CYP2F*.

Полученные доказательства физиологической функции *CYP2F* достаточно многообразны, но в то же время являются косвенными, поскольку основаны на дисперсионно-корреляционном анализе. В дальнейшем прямые доказательства и уточнение роли *CYP2F* в мозге могут быть получены, например, с использованием инструментов измерения и ингибирования активности фермента. Однако необходимо учесть, что в случае если функция фермента реализуется не конститутивно, а связана с определенными функциональными состояниями, такие эксперименты могут оказаться малоинформативными. Поэтому, вероятно, имеет смысл далее углубиться в корреляционный анализ, а также использовать моделирование ферментативной активности *CYP2F* в зависимости от полиморфности гена и его транскриптов.

В целом выводы о физиологической роли *CYP2F* должны делаться с осторожностью, поскольку цитохромы в силу древнего происхождения могут служить точкой взаимодействия многих сигнальных путей. Наблюдаемые процессы могут быть в целом более сложными и многомерными, чем те понятия, которыми способен оперировать человек.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 22-76-10053).

Данное исследование было рассмотрено и одобрено на заседании комитета биоэтической комиссии ИОГен РАН 14.09.2020 г., протокол № 47.

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lanza D.L., Yost G.S. Selective dehydrogenation/oxidation of 3-methylindole by cytochrome p450 enzymes // *Drug Metabolism and Disposition: The biol. Fate of Chemicals*. 2001. V. 29. № 7. P. 950–953.
2. Mukhina V., Svishcheva G., Voronkova V. et al. Genetic Diversity, Population Structure and Phylogeny of Indigenous Goats of Mongolia Revealed by SNP Genotyping // *Animals*. 2022. T. 12. № 3. <https://doi.org/10.3390/ani12030221>
3. Toni R., Malaguti A., Benfenati F., Martini L. The human hypothalamus: a morpho-functional perspective // *J. Endocrinol. Invest*. 2004. V. 27. № 6. P. 73–94.
4. Yokomori T., Ohnuma A., Tozaki T. et al. Identification of personality-related candidate genes in thoroughbred racehorses using a bioinformatics-based approach involving functionally annotated human genes // *Animals*. 2023. V. 13. P. 769. <https://doi.org/10.3390/ani13040769>
5. Colli L., Nicolazzi E.L., Bertolini F. et al. AdaptMap project: Exploring worldwide goat diversity and adaptation // *37. Int. Soc. for Animal Genet. Conf. (ISAG)*. 2019
6. Deniskova T.E., Dotsev A.V., Selionova M.I. et al. SNP-based genotyping insight into the West Asian origin of Russian local goats // *Front. Genet*. 2021. V. 12. 708740. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.708740>
7. Berihulay H., Li Y., Liu X. et al. Genetic diversity and population structure in multiple Chinese goat populations using a SNP panel // *Anim. Genet*. 2019. V.50. P. 242–249. <https://doi.org/10.1111/age.12776>
8. Harris J.A., Mihalas S., Hirokawa K.E. et al. Hierarchical organization of cortical and thalamic connectivity // *Nature*. 2019. V. 575. P. 195–202. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1716-z>
9. Göllöncsér F., Baranyi M., Balázsfi D. et al. Regulation of hippocampal 5-HT release by P2X7 receptors in response to optogenetic stimulation of median raphe terminals of mice // *Front. Mol. Neurosci*. 2017. V. 10. 325. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00325>
10. Roxo M.R., Franceschini P.R., Zubaran C. et al. The limbic system conception and its historical evolution // *Sci. World J*. 2011. V. 11. P. 2428–2441. <https://doi.org/10.1100/2011/157150>
11. Wang S., Zhao Y., Li J. et al. Brain structure links trait conscientiousness to academic performance // *Sci. Reports*. 2019. V. 9. № 1. 12168.

<https://doi.org/10.1038/s41598-019-48704-1>
 12. Maes M., Lin A., Bosmans E. et al. Serotonin-immune interactions in detoxified chronic alcoholic patients without apparent liver disease: activation of

the inflammatory response system and lower plasma total tryptophan // *Psychiatry Res.* 1998. V. 78. № 3. P. 151–161.
[https://doi.org/10.1016/s0165-1781\(98\)00010-9](https://doi.org/10.1016/s0165-1781(98)00010-9)

Cytochromes P450 2F and Behavioral Traits Genes: Covariations of Expression in the Human Brain and Polymorphism of the Orthologues in Domestic Goats

A. K. Piskunov^{1,*}, P. M. Marchenko¹, G. R. Svishcheva¹, J. V. Samsonova^{1,2}, A. V. Kudryavtseva³,
 Yu. A. Stolpovsky¹, V. N. Voronkova¹

¹Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, 11999 Russia

²Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

³Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia

*e-mail: aleksei.piskunov@gmail.com

Human cytochrome P450 2F1, as well as its orthologue 2F3 in domestic goat, is considered to be a rather unusual enzyme. The only type of reaction it catalyzes has been described: the conversion of skatole, a product of anaerobic tryptophan metabolism, into a pulmonary toxin. Endogenous substrates of CYP2F are unknown, and although more than 30 years have passed since the discovery of the enzyme, its biological role remains unclear. We hypothesized that the physiological functions of CYP2F can be specifically implemented in the brain, remaining previously unnoticed due to the high compartmentalization of the organ. Using open data, we studied the covariation of the expression of *CYP2F1* and genes for behavioral traits: in the human brain, as well as the polymorphism of their orthologues and *CYP2F3* in 180 populations of domestic animals goats (*Capra hircus*). Two SNPs were found in the *CYP2F3* gene, one of which had pronounced traces of selection, and the frequency of homozygotes increased with geographic distance from the center of domestication. Expression of *CYP2F1* mRNA in the human brain also had regional specificity. In both species, factor analysis revealed the relationship between CYP2F1/3 and a number of genes regulating behavior: the serotonin transporter *SLC6A4* and its receptor *HTR2A3*, the *ABCB1* transporter, the purine receptor *P2RX7*, the GABA receptor *GABRA4*, the circadian rhythm regulator *PER3* and T-cadherin *CDH13*. Thus, analysis of the genomic data of the domestic goat and human transcriptomic data revealed the evolutionary and functional relationships of CYP2F cytochromes and neurochemical systems for regulating behavior. This evidence of the cerebral function of the enzyme is indirect, since it is based on correlation analysis, but indicates the promise of further search in this direction.

Keywords: cytochrome, brain, personality, behavior, domestication, serotonin, goat.