

ИНФОРМАЦИОННЫЙ

# ВЕСТНИК ВОГиС

ОСНОВАН В 1997 г.

Том 10

3

ноябрь 2006

## Содержание

### ПРЕДИСЛОВИЕ

*В.П. Пузырев, М.И. Воевода* ..... 454

### МОСКВА, 1934: РОЖДЕНИЕ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ

*В.В. Бабков* ..... 455

### ГЕНЫ СИНТРОПИЙ И СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫЙ КОНТИНУУМ

*В.П. Пузырев, О.А. Макеева, М.В. Голубенко* ..... 479

### ГЕНЕТИКА АТОПИИ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ

*М.Б. Фрейдин, Е.Ю. Брагина, Л.М. Огородова, В.П. Пузырев* ..... 492

### ГАПЛОТИПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНА *HFE* В ПОПУЛЯЦИИ РУССКИХ И СРЕДИ ПАЦИЕНТОВ С МУЛЬТИФАКТОРИАЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

*С.В. Михайлова, О.В. Онопченко, А.В. Суханов, В.Н. Максимов, Т.К. Гаскина, А.Г. Ромащенко, М.И. Воевода* ..... 504

### ЭКОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АСПЕКТ ПОЛИФАКТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

*В.В. Ляхович, В.А. Вавилин, С.И. Макарова, А.Ю. Гришанова* ..... 514

### ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ НЕСТАБИЛЬНОСТИ ЭМБРИОНАЛЬНОГО ГЕНОМА В РАЗВИТИИ ЧЕЛОВЕКА

*И.Н. Лебедев, Т.В. Никитина, А.Г. Токарева, Н.Н. Суханова, С.А. Назаренко* ..... 520

### БИОЛОГИЧЕСКАЯ ИНДИКАЦИЯ МУТАГЕННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ И ГЕНЕТИЧЕСКОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ У ЧЕЛОВЕКА ПУТЕМ УЧЕТА ЧИСЛОВЫХ ХРОМОСОМНЫХ НАРУШЕНИЙ

*В.А. Тимошевский, С.А. Назаренко* ..... 530

### ГЕНОМНЫЕ ОСНОВЫ ПОДВЕРЖЕННОСТИ К ИНФЕКЦИОННЫМ ЗАБОЛЕВАНИЯМ

*И.А. Гончарова, М.Б. Фрейдин, А.А. Рудко, О.В. Напалкова, О.В. Колоколова, Э.А. Ондар, Л.Е. Дунаева, Е.В. Белобородова, В.П. Пузырев* ..... 540

**МЕМБРАННЫЕ РЕЦЕПТОРЫ ТРОМБОЦИТОВ: ФУНКЦИИ И ПОЛИМОРФИЗМ**

*Е.Н. Воронина, М.Л. Филипенко, Д.С. Сергеевичев, И.В. Пикалов* ..... 553

**ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОЙ СВЯЗИ ПОЛИМОРФИЗМОВ ИНТЕРФЕРОН-ИНДУЦИРУЕМЫХ ГЕНОВ ЧЕЛОВЕКА *OAS1*, *OAS3*, *EIF2AK2* И *RNASEL* С ОСОБЕННОСТЯМИ ТЕЧЕНИЯ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА**

*А.В. Бархаиш, В.Ф. Кобзев, П.И. Пилипенко, Ю.О. Богданова, О.В. Морозова, А.Г. Ромащенко, М.И. Воевода* ..... 565

**ОЧАГИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЗЛАКОВ В ДРЕВНОСТИ НА ТЕРРИТОРИИ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ ПО ПАЛЕОБОТАНИЧЕСКИМ ДАННЫМ**

*Н.Е. Рябогина* ..... 572

**ИЗОГЕННЫЕ ЛИНИИ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ПО ГЕНАМ КОНТРОЛЯ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЯРОВИЗАЦИИ**

*В.И. Файт* ..... 580

**ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ПРИЗНАКА «КРАСНАЯ ПИГМЕНТАЦИЯ ЛИСТА» У САХАРНОЙ СВЕКЛЫ**

*А.В. Мглинец, З.А. Осипова* ..... 588

**ТРОФИМ ЯКОВЛЕВИЧ ЗАРУБАЙЛО И ГЕНЕТИКА ВО ВСЕСОЮЗНОМ ИНСТИТУТЕ РАСТЕНИЕВОДСТВА ИМ. Н.И. ВАВИЛОВА (К 100-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ)**

*Б.В. Ригин* ..... 594

**ЮБИЛЕЙ ВЫДАЮЩЕГОСЯ ГЕНЕТИКА КУКУРУЗЫ ЭДВАРДА КО**

*В.А. Соколов* ..... 602

**ПАМЯТИ Л. И. КОРОЧКИНА**

*И.Ф. Жимулев, Л.А. Васильева, С.М. Закиян* ..... 604

## THE HERALD

OF VAVILOV SOCIETY  
FOR GENETICISTS AND  
BREEDING SCIENTISTS

Vol. 10

3

November 2006

THE HERALD VAVILOV SOC. GENET. BREED. SCI.

## Content

<b>FOREWORD</b>	
<i>V.P. Puzyrev, M.I. Voevoda</i> .....	454
<b>MOSCOW, 1934: THE RISE OF MEDICAL GENETICS</b>	
<i>V.V. Babkov</i> .....	455
<b>GENES OF SYNTROPIES AND CARDIOVASCULAR CONTINUUM</b>	
<i>V.P. Puzyrev, O.A. Makeeva, M.V. Golybenko</i> .....	479
<b>GENETICS OF ATOPY: CURRENT STATE</b>	
<i>M.B. Freidin, E.Yu. Bragina, L.M. Ogorodova, V.P. Puzyrev</i> .....	492
<b>HAPLOTYPIC ANALYSIS FOR THE <i>HFE</i> GENE IN RUSSIAN POPULATIONS AND IN PATIENTS WITH COMMON DISEASES</b>	
<i>S.V. Mikhailova, O.V. Onopchenko, A.V. Sukhanov, V.N. Maksimov, T.K. Gaskina, A.G. Romaschenko, M.I. Voevoda</i> .....	504
<b>ECOGENETICS ASPECT OF MULTIFACTORIAL DISEASES</b>	
<i>V.V. Lyakhovich, V.A. Vavilin, S.I. Makarova, A.J. Grishanova</i> .....	514
<b>PATHOGENESIS OF EMBRYONIC GENOME INSTABILITY IN HUMAN DEVELOPMENT</b>	
<i>I.N. Lebedev, T.V. Nikitina, A.G. Tokareva, N.N. Sukhanova, S.A. Nazarenko</i> .....	520
<b>BIOLOGICAL INDICATION OF THE MUTAGENIC INFLUENCES AND GENETIC INSTABILITY IN HUMAN USING EVALUATION OF NUMERICAL CHROMOSOME ABERRATIONS</b>	
<i>V.A. Timoshevsky, S.A. Nazarenko</i> .....	530
<b>GENOMIC BASIS OF SUSCEPTIBILITY TO INFECTIOUS DISEASES</b>	
<i>I.A. Gonchyarova, M.B. Freidin, A.A. Rudko, O.V. Napalkova, O.V. Kolokolova, E.A. Ondar, L.E. Dunaeva, E.V. Beloborodova, V.P. Puzyrev</i> .....	540
<b>PLATELET MEMBRANE GLYCOPROTEIN RECEPTORS: FUNCTIONS AND POLYMORPHISM</b>	
<i>E.N. Voronina, M.L. Filipenko, D.S. Sergeevichev, I.V. Pikalov</i> .....	553
<b>POSSIBLE ASSOCIATION OF POLYMORPHISMS IN INTERFERON-INDUCED <i>OAS1</i>, <i>OAS3</i>, <i>EIF2AK2</i> AND <i>RNASEL</i> GENES WITH SEVERITY OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS IN HUMANS</b>	
<i>A.V. Barkhash, V.F. Kobzev, P.I. Pilipenko, Yu.O. Bogdanova, O.V. Morozova, A.G. Romaschenko, M.I. Voevoda</i> .....	565

<b>SPOT AREAS OF CEREAL CULTIVATION IN THE ANCIENT TIMES ON THE TERRITORY OF WEST SIBERIA ACCORDING TO PALEOBOTANIC DATA</b> <i>N.E. Ryabogina</i> .....	572
<b>NEAR-ISOGENIC LINES ON THE GENES CONTROLLING DIFFERENCES IN DURATION OF VERNALIZATION IN WINTER COMMON WHEAT</b> <i>V.I. Fayt</i> .....	580
<b>GENETIC CONTROL OF RED LEAF COLOR TRAIT IN SUGAR BEET</b> <i>F.V. Mglinets, Z.A. Osipova</i> .....	588
<b>TROFIM YAKOVLEVICH ZARUBAILO AND GENETICS IN VAVILOV INSTITUTE OF PLANT INDUSTRY (ON THE 100-YEAR ANNIVERSARY OF THE BIRTH)</b> <i>B.V. Rigin</i> .....	594
<b>THE JUBILEE OF AN OUTSTANDING MAIZE GENETICIST EDWARD KO</b> <i>V.A. Sokolov</i> .....	602
<b>L.I. KOROCHKIN MEMORIZED</b> <i>I.F. Zhimulev, L.A. Vasilyeva, S.M. Zakian</i> .....	604



Приглашенные редакторы раздела журнала, посвященного медицинской генетике: В.П. Пузырев (ГУ НИИ медицинской генетики Томского научного центра СО РАМН) и М.И. Воевода (ГУ НИИ терапии СО РАМН, Новосибирск).

**Пузырев Валерий Павлович.** Доктор медицинских наук, профессор, академик РАМН, заслуженный деятель науки РФ. Директор НИИ медицинской генетики ТНЦ СО РАМН, заведующий кафедрой медицинской генетики Сибирского государственного медицинского университета. Научный консультант по проблемам генетики человека Якутского научного центра СО РАМН и Многопрофильной медико-биологической лаборатории Министерства здравоохранения Республики Тыва. Член научно-консультативного Совета по медицинской генетике Минздравсоцразвития РФ.

Является членом Президиума, председателем проблемной комиссии СО РАМН, главным ученым секретарем Президиума ТНЦ СО РАМН, заместителем председателя Российского общества медицинских генетиков и председателем его Томского отделения, членом Центрального совета ВОГиС.

Член редакционных советов журналов «Медицинская генетика», «Бюллетень СО РАМН», «Сибирский медицинский журнал», «Бюллетень сибирской медицины», «Якутский медицинский журнал», «Вестник этнической медицины». Лауреат премии им. академика РАМН С.Н. Давиденкова и премии академика РАН А.А. Баева. Награжден правительственной наградой – Орденом Почета, медалью академика РАМН С.Н. Давиденкова Российского общества медицинских генетиков, РАЕН присвоено почетное звание и знак «Рыцарь науки и искусства», награжден Европейской академией естественных наук почетной медалью Р. Вирхова.

Под его научным руководством защищены 7 докторских и 27 кандидатских диссертаций; создана научная школа по направлению «Наследственный полиморфизм сибирских популяций и здоровье человека».

Автор и соавтор 500 научных публикаций, в том числе 11 монографий. Редактор выпусков научной серии «Наследственность и здоровье», сборников «Генетика человека и патология».

**Воевода Михаил Иванович.** Доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАМН, директор ГУ НИИ терапии СО РАМН, заведующий сектором молекулярной эпидемиологии и эволюции человека ИЦиГ СО РАН, профессор кафедры медицинской генетики Новосибирского государственного медицинского университета.

Лауреат премии в области антропологии и археологии имени академика В.П. Алексеева за цикл работ, посвященных этнической истории населения Горного Алтая в эпоху раннего железа по данным археологии, антропологии и генетики.

Член экспертного совета СО РАМН, член докторского диссертационного совета при НИИ терапии СО РАМН, член кандидатского диссертационного совета по геронтологии и гериатрии при Научном центре клинической и экспериментальной медицины СО РАМН. Руководитель нескольких международных программ по разным аспектам медицины и генетики.

Ведет активную общественную и педагогическую работу. Под руководством и при научном консультировании М.И. Воеводы защищены 2 докторские и 11 кандидатских диссертаций.

Выполняет совместные исследования с различными научно-исследовательскими учреждениями СО РАМН, РАМН, СО РАН, РАН, Минздравсоцразвития, вузами и учреждениями практического здравоохранения Сибири и Дальнего Востока.

Автор и соавтор 150 научных статей, 4 монографий и 5 сборников.

## ПРЕДИСЛОВИЕ

Одним из побудительных мотивов развития современной медицинской генетики, определяющим поддержку со стороны широкой общественности, является перспектива использования результатов генетических исследований для совершенствования подходов к диагностике и лечению различных заболеваний человека. Действительно, уже сейчас достижения молекулярной генетики позволили разработать принципиально новые подходы к диагностике наследственных заболеваний, по-иному взглянуть на молекулярно-биологические нарушения, лежащие в основе распространенных заболеваний, сформировать новые концепции их диагностики, профилактики и лечения.

Хотя достижения российской медицинской генетики на общем фоне результатов, полученных мировой наукой, выглядят достаточно скромными, все же они начинают вносить совершенно специфический и очень важный вклад в общую мировую копилку знаний о генетических основах патологии человека. Это обусловлено несколькими обстоятельствами. Во-первых, практически все заболевания являются результатом взаимодействия индивидуальных генотипов с факторами внешней среды. В этом отношении российская популяция, и особенно ее сибирская составляющая,

представляет уникальный в масштабах планеты пример проживания человека в самых экстремальных в температурном отношении условиях и, соответственно, уникальный естественный эксперимент взаимодействия генотипа и среды в плане формирования предрасположенности к заболеваниям. Во-вторых, этническое разнообразие населения Северной Азии чрезвычайно велико, включает уникальные компоненты генофонда современного человечества, что в свою очередь создает возможность формирования принципиально новых по отношению к другим изученным популяциям мира примеров комбинированных генотипов, ответственных за формирование предрасположенности к различным заболеваниям.

В данном выпуске журнала представлены работы сибирских ученых, посвященные различным аспектам медицинской генетики от наследственных нарушений обмена веществ до генетики инфекционных заболеваний. Авторский коллектив надеется, что подборка статей даст некоторое представление о тех направлениях, в которых проводятся исследования в различных научно-исследовательских учреждениях региона, и проиллюстрирует уникальные возможности по выяснению некоторых аспектов генетических основ заболеваний человека при обследовании различных этнических групп Северной Азии.

**В.П. Пузырев, М.И. Воевода**

## МОСКВА, 1934: РОЖДЕНИЕ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ

В.В. Бабков

Институт истории естествознания и техники РАН, Москва, Россия, e-mail: heba@ihst.ru

Медицинская генетика, возникшая в нашей стране в результате деятельности Русского евгенического общества, была создана в первой половине 1930-х гг. усилиями небольшой группы крупных русских биологов и врачей. Выдающуюся роль в консолидации этих усилий и оформлении новой науки сыграл С.Г. Левит и его Медико-генетический институт, а важной вехой стала конференция по медицинской генетике 1934 г.

### Специфика русского евгенического движения – предтечи медицинской генетики

Генетика человека в России, принявшая в 1930-е гг. форму медицинской генетики С.Г. Левита, в 1920-е гг. начиналась как русское евгеническое движение, лидерами которого были Н.К. Кольцов, Ю.А. Филипченко, С.Н. Давиденков и некоторые другие биологи и врачи. Надо уточнить: евгеника не была медгенетикой и вообще не была наукой. Евгеника Н.К. Кольцова была преамбулой к исследованиям эволюции и наследственности человека, поведения человека, типов конституции, генеалогий и патографий. Евгеника 1920-х гг. была не наукой, а движением, участвовать в котором было почетно.

Обсуждение возможностей евгеники, совпавшее по времени со стартом и быстрым развитием генетических исследований в России, опиралось на мощные традиции русской медицины и биологии. Руководитель движения Н.К. Кольцов обладал достаточным влиянием для поддержания в нем высоких научных стандартов и этических норм. Любое отклонение от строгого научного мышления в сторону недостаточно обоснованных фантазий встречало строгую критику на страницах кольцовского евгенического журнала. Движение было либеральным по характеру. Либерализм означает первенствование интересов личности над интересами группы. Поэтому *программа социальных действий* Ф. Гальтона, с *негативным* и *позитивным* направлениями, имеющая

целью улучшение человеческого племени, была исключена из задач движения. Его деятельность строилась вокруг *исследовательской программы* Ф. Гальтона, целью которой было раскрытие фактов наследственности человека и относительной роли наследственности и среды в развитии различных признаков. То, что Кольцов, Давиденков, Филипченко и др. в духе времени называли *евгеникой*, на деле было обсуждением проблем генетики человека и медицинской генетики, включая популяционный аспект проблемы. Благодаря этим характерным чертам русского евгенического движения, в его рамках был выработан прочный фундамент для создания медицинской генетики в 1930-х гг. в России.

**Русское евгеническое движение.** Для удовлетворения глубокого интереса к генетике человека (а также интереса к физико-химическим методам в биологии) чл.-кор. РАН Николай Константинович Кольцов (1872–1940) создал в Москве в 1917 г. Институт экспериментальной биологии, в составе которого был евгенический отдел (Астауров, Рокицкий, 1975).

Кольцов организовал и возглавил Русское евгеническое общество (РЕО) и «Русский евгенический журнал» (с 1922 по 1930 гг. вышло 7 томов по 4 выпуска), с помощью которых успешно консолидировал обширное и разнобразное евгеническое движение. Общество, охватывающее широкий круг вопросов, было организовано «работающими по созданию Отдела расовой гигиены при Социально-гигиеническом музее НКЗдрава» в 1920 г. Учре-

длительное собрание прошло 15 октября, а 1-е заседание, в ИЭБ, – 19 ноября 1920 г. За первый год работы состоялось 19 заседаний; они проходили раз в две недели в ИЭБ. Было заслушано 26 научных сообщений, освещающих научные проблемы, фундамент евгенического учения (эти сообщения не касались практических мероприятий, диктуемых евгеническими идеями). Наследственности у человека было посвящено 6 докладов из 26; генеалогиям – 3; роли естественного отбора в жизни человеческого общества – 2; социальной стороне вопроса – 4; морфологической – 5; общим вопросам евгеники – 6 докладов. Важнейшей задачей РЕО была пропаганда медико-генетических знаний. В 1923 г. дело шло к созданию Общества евгенической пропаганды (при Музее социальной гигиены), но оно не возникло. Впрочем, «Русский евгенический журнал» хорошо выполнял функцию медико-генетического просвещения – «медико-евгенического», как тогда принято было говорить.

В работе Общества принимали участие нарком здравоохранения Н.А. Семашко, профессора Г.И. Россолимо, Д.Д. Плетнев, С.Н. Давиденков, А.И. Абрикосов, нарком просвещения А.В. Луначарский, антрополог В.В. Бунак и многие другие. Работе Общества сочувствовал Максим Горький, ответивший на вопросы Кольцова для Годичного заседания Общества 22 октября 1926 г. «Родословные наших выдвинутых» (Кольцов, 1926), где были приведены также родословные Федора Шаляпина, физиолога Н.П. Кравкова, Леонида Леонова и современных писателей и где было сформулировано основное понятие генетики популяций: «генофонд».

В «Журнале» были впервые напечатаны генеалогии Ч. Дарвина и Ф. Гальтона, рода Аксаковых, рода графов Толстых, потомков сподвижников Петра I барона П.П. Шафирова, декабристов Муравьевых, Бакуниных, А.С. Пушкина, П.Я. Чаадаева, Ю.Ф. Самарина, А.И. Герцена, К.-Э. Бэра, князей П.А. Кропоткина и С.Н. Трубецкого, графа С.Ю. Витте и др.

В кольцовском институте Генетический отдел С.С. Четверикова (противника евгеники) разработал в 1920-е гг. направления, впоследствии давшие своеобразие русской медицинской генетике. Это, с одной стороны, популяционно-

генетическая теория Четверикова, трактовавшая проблему *природы изменчивости и механизмов поддержания ее в популяциях*, и теория роли *случайных процессов в эволюции* Д.Д. Ромашова и его последователей. С другой стороны, это фенотипическая линия исследований школы Четверикова; в цепи «ген–признак» она придавала первостепенное значение *процессу развития*, идущему от гена. Основой этих работ была теория *генотипической среды* Четверикова; к ней относятся исследования *неполного и варьирующего проявления гена*, проведенные Н.В. Тимофеевым-Ресовским, и его *общая схема действия гена*; принцип *флуктуирующей асимметрии* Б.Л. Астаурова; всестороннее изучение Е.И. Балкашиной *наследственных гомеозисов*; концепция *полей действия генов* П.Ф. Рокицкого и др. (Бабков, 1985).

Н.К. Кольцов широко понимал евгенику и включал в нее составление генеалогий, географию болезней, витальную статистику, социальную гигиену и ряд демографических тем. Но, прежде всего, это были инициированные и руководимые им исследования генетики психических особенностей человека, типов наследования цвета глаз и волос, биохимических показателей крови и групп крови, роли наследственности в развитии эндемического зоба, обследование монозиготных близнецов (к 1925 г. в ИЭБ было обследовано 105 пар близнецов Москвы).

Об отрицательном настроении РЕО по поводу мер негативной евгеники говорит, среди прочего, реферат едкого выступления Дж.Б. Шоу «В защиту дегенератов», подготовленный Т. Юдиным. «Если стремления евгеников исполнятся и не будет больше больных, дегенератов, слабых умом и волей, что будет с людьми? Ни минуты покоя, ни дня мира, никто не захочет исполнять будничную работу, для которой вовсе не нужно первоклассной интеллигентности; мы должны иметь массы, которые делают, что им прикажут. Всегда должно быть два класса: один, который находит функции и средства для работы, и второй, который ее исполняет без особых размышлений» (Рефераты, 1922).

В евгенических докладах и статьях Н.К. Кольцов постоянно подчеркивал роль биологического разнообразия (и, шире, желательность естественно сложившихся открытых полииерархических систем, биологических и социаль-

ных). Поэтому то, чем он занимался, говоря о евгенике, нельзя назвать евгеникой в собственном смысле слова. Напротив, все сказанное дает основание утверждать, что Н.К. Кольцов выдвинул *программу исследований в области генетики человека*.

Пропаганда генетических знаний, в том числе применительно к человеку, занимала видное место в евгенике Кольцова. Он читал многочисленные публичные лекции, чрезвычайно популярные в 1920-х. Кольцов рассказывал фабричным работницам, как наследуются признаки у человека и что делать, чтобы будущий малыш рос здоровым ребенком. Большой интерес вызывали его лекции по евгенике на радио. На съезде животноводов в 1923 г. он убеждал участников в необходимости изучать генетику и отказаться от ламаркизма и т. д. На курсах ГИНЗ (Государственный институт народного здравоохранения – ассоциация научных институтов при Наркомздраве в 1920-е гг.) для врачей по санитарии и эпидемиологии 1922 г. его заключительная лекция стала своего рода введением в генетику человека.

Первую в России кафедру генетики организовал Юрий Александрович Филипченко (1882–1920) при Петроградском университете (Медведев, 2006). В изучении количественных признаков статистическими методами у человека заключен исток его евгенических интересов, вылившихся в создание Бюро по евгенике РАН. С 1922 по 1930 гг. вышло 8 выпусков «Известий Бюро по евгенике» (позже – «по генетике и евгенике» и «по генетике»). В 1930 г. Ю.А. Филипченко на основе Бюро создал лабораторию генетики АН СССР, затем преобразованную Н.И. Вавиловым в Институт генетики АН СССР. Ю.А. Филипченко занялся учетом интеллектуального потенциала страны; главной работой этого цикла была «Интеллигенция и таланты» (Филипченко, 1925б). Он провел обследование ученых Петрограда и статистический анализ членов Императорской Академии наук в Санкт-Петербурге за 80 лет (Филипченко, 1922а, б, 1925а). Он выступал против мер негативной евгеники и за проведение количественной политики народонаселения. Медико-евгеническая программа Филипченко, включавшая изучение наследственности человека путем анкетных обследований, генетическое и евгеническое

просвещение, подачу советов евгенического характера, исключала вмешательство в структуру естественно сложившихся работоспособных биологических полииерархических систем. В контексте сегодняшних представлений она должна быть определена как *медико-генетическая программа*.

Видное положение Филипченко среди биологов Ленинграда сделало его мишенью жестокой травли, организованной И.И. Презентом (тогда морганистом-диалектиком, а затем идеологом Т.Д. Лысенко), которая стала причиной его преждевременной смерти в 1930 г.

О работах евгениста и невропатолога-клинициста Сергея Николаевича Давиденкова (1880–1961), занимавшегося *клиническим полиморфизмом наследственных болезней и генетической гетерогенностью нозологических единиц*, будет сказано позже. Здесь заметим, что в декабре 1927 г. Давиденков учредил Генетическое бюро при Московском обществе невропатологов и психиатров им. А.Я. Корсакова. Бюро работало на базе психиатрической клиники I МГУ.

**Социалистическая евгеника.** Кольцов, в прошлом близкий к народным социалистам, и Филипченко, прежде социалист-революционер, при коммунистическом режиме отказались от обсуждений политических предпочтений. Напротив, Александр Александрович Серебровский (1892–1948) и Герман Германович Мёллер (Hermann Joseph Muller, 1890–1967) открыто симпатизировали большевизму.

Американский зоолог Мёллер, член-корреспондент АН СССР, будущий Нобелевский лауреат за открытие искусственного мутагенеза, работал в 1933–1937 гг. в СССР. Он пользовался любой возможностью пропагандировать в США и в СССР свою идею «сознательного контроля над биологической эволюцией человека – т. е. контроля человека над наследственным материалом, лежащим в основе жизни в самом человеке». Мёллер подчеркивал: «генетики, принадлежащие к левому крылу, признают, что только социалистическая экономическая система может дать материальную базу и социальные и идеологические условия» для разумной политики, которая будет руководить биологической эволюцией человека «в социально желательном направлении». Он назвал



«пустой фантазией» мысль об изменении наследственности в желаемом направлении и подчеркивал, что не следует изменять гены, следует увеличивать концентрации желаемых генов в человеческом населении. Для этого подходил метод искусственного осеменения здоровых женщин спермой выдающихся доноров. «Многие матери завтрашнего дня, освобожденные от оков религиозных предрассудков, будут горды смешать свою плазму с плазмой Ленина или Дарвина и дать обществу ребенка, наследующего их биологические качества», – писал он И.В. Сталину весной 1936 г.

Евгенические взгляды Серебровского, раннего ученика Кольцова в области генетики (Кольцов отучил его от ламаркизма, и в окопах империалистической войны Серебровский решал задачи математической генетики), практически совпадали со взглядами Мёллера. Важное отличие составляло устремление Серебровского изучать географию болезней и генофонды изолированных людских населений. Но это должно быть отнесено к генетике популяций – той ее традиции, которая создана русскими зоологами и ботаниками (Бабков, 1985).

**«Биосоциальная» евгеника.** Параллельно с широким, разнообразным, интересным русским евгеническим движением и важной, хотя и более узкой, социалистической евгеникой в Комакадемии недолго существовала маргинальная «пролетарская» или «биосоциальная» евгеника. Суть дела точно передает высказывание Пауля Каммерера, как оно записано А.В. Луначарским. «Согласно теории унаследования благоприобретенных признаков, улучшение жизненных условий, правильное воспитание должно в огромной мере содействовать улучшению всей человеческой породы. При социализме человек сам путем изменения среды будет изменять все человечество на будущие времена» (Луначарский, 1929).

В генетическом просвещении Филипченко и Кольцова особое место занимала критика ламаркизма, альтернативы идеи о неизменности и вечности гена, следовательно, теории гена. В 1925 г. Филипченко писал: «Биосоциальная евгеника, по-видимому, надеется наградить новыми благоприятными наследственными свойствами пролетариат и крестьянство путем чисто внешних влияний, посредством особой

физической культуры. Согласимся на минуту, что это возможно. Но что представляет из себя именно с этой точки зрения тот самый пролетариат, за интересы которого так ратуют сторонники «биосоциальной евгеники»? Раз наследственность приобретенных свойств существует, то, очевидно, все представители этого класса несут на себе следы тех неблагоприятных влияний, которым их отцы, деды и целый ряд более отдаленных предков подвергались в течение длительного ряда лет. Уже в силу этого благоприятных наследственных зачатков, генов наиболее ценных специальных особенностей среди наших многострадальных пролетариев и крестьян должно быть неизмеримо меньше, чем в других классах, живших так долго в особо благоприятных условиях» (Филипченко, 1925в).

Этот аргумент – его повторит другими словами Мёллер (по настоянию Кольцова, несмотря на возражения Вавилова) на дискуссии по генетике 1936 г., вызвал резкую реакцию ламаркистов Комакадемии. «Редко я испытывал так остро и болезненно чувство обиды, как когда я читал, как наиболее умный из буржуазных евгенистов – проф. Филипченко – поучает нашего идеологического союзника, т. Волоцкого, каким образом пролетариат мог бы использовать выводы генетики к своей выгоде», – писал Б.М. Завадовский (Завадовский, 1926). От удара «биосоциальная евгеника» не оправилась.

**Стратегия исследований.** Серьезным шагом к оформлению медицинской генетики как автономной области исследований стало создание в 1928 г. (когда в значительной мере были выполнены просветительские задачи раннего этапа) нового общества с конкретными задачами и определенными методами исследований.

Ныне вряд ли доступен в полной мере дух 1920-х годов, когда генетика человека именовалась «евгеникой», а Наркомздрав хлопотал об изучении «расовой гигиены» и «расовой патологии». Напротив, у многих читателей сохраняется стойкая идиосинкразия к словам «евгеника» и «расовая гигиена». Дело не только в успешной работе Агитпропа.

Вспомним произведение «Шум и ярость» Фолкнера. Рассказ ведется от лица мальчика с синдромом Дауна. В городке произошло изнасилование. Добропорядочные граждане, чтобы уберечь виновника от наказания и позора, но и

соблюсти «приличия», кастрируют мальчика с синдромом Дауна.

Законы о принудительной стерилизации лиц, которых суд признавал (на произвольной основе) нежелательными для общества, существовали в большинстве штатов США: только в Калифорнии к 1935 г. такой приговор был приведен в исполнение в отношении 12 тыс. человек. Первым штатом, где закон был принят, была Индиана, поэтому принудительная стерилизация именовалась «индианской идеей».

В Европе подобный закон широко и с интересом обсуждался. Он был принят во всех скандинавских странах, в Эстонии и одном из кантонов Швейцарии. В Германии 1 января 1934 г. вступил в силу закон, по которому стерилизации подлежали немцы, страдающие врожденным слабоумием, шизофренией, циркулярным психозом, наследственной эпилепсией, наследственной слепотой, наследственной глухотой, тяжелыми наследственными физическими уродствами и страдающие тяжелым алкоголизмом. «Подготовка к стерилизации – это подготовка к расправе со всеми недовольными элементами», – говорил Г.Г. Мёллер 17 октября 1933 г. в докладе, посвященном критике нацистского закона. Нацисты пошли дальше: душевнобольные немцы были отправлены в газовые камеры ради чистоты расы, но когда эта практика прекратилась, то исходный уровень душевнобольных в населении восстановился.

Евгеника в США имела еще одну отвратительную черту. Евгенисты посредством строго избирательного анкетирования аргументировали тезис о превосходстве во всех отношениях северо-западной расы; за ними шла центрально-европейская, затем средиземноморская раса и т. д.; замыкали шкалу китайцы, цыгане, евреи и негры. На эти наукообразные фальсификации опирались расисты-политики, принявшие в 1924 г. закон об ограничении иммиграции представителей «низших рас».

Нацисты Третьего Рейха пропагандировали идею ранга расы и называли нордическую расу высшей. Впрочем, итальянцы и японцы получили высокий ранг, когда стали союзниками Рейха. Они выдвинули лозунг борьбы «высшей расы» за установление «нового порядка», исключавшего возможность достойной жизни большинства человеческих рас. В наши дни

расизм существует в форме пропаганды идеи, что «золотой миллиард» людей достоин жить за счет остального человечества.

В 1940 г. большая группа немецких евреев зафрахтовала пароход «Сент-Луис» до Нью-Йорка в надежде воссоединиться с американскими родственниками и избежать угрозы концлагеря. Служба иммиграции и натурализации США на основе закона 1924 г., запретила им въезд в страну и вернула пароход с пассажирами в Германию, в руки нацистов.

В США и некоторых странах Западной Европы евгенические движения развивались изолированно от генетики (важным исключением был Р. Фишер в Великобритании: евгенические интересы привели его к формулированию принципов генетики популяций), а крупные генетики в первую треть 20-го века дистанцировались от евгеники. В 1932 г. III Международный евгенический конгресс проходил в Нью-Йорке 21–23 августа, тогда как VI Международный генетический конгресс – в Итаке 24–31 августа, так что два конгресса, посвященных двум автономным областям исследований, смешались в один совместный. Поскольку генетики не желали брать ответственность за чужую область деятельности, то на VI Генетическом конгрессе было принято решение впредь устраивать только генетические конгрессы, но не совместные; в их рамках генетику человека надлежало трактовать с тех же позиций, что и генетику любых растительных и животных объектов. На этом фоне специфическая черта русского евгенического движения состояла в том, что оно было основано и направлялось пионерами генетических исследований. Именно поэтому русское евгеническое движение дало основу для создания медицинской генетики, провозглашенной в качестве автономной области исследований на Конференции 1934 г.

Очевидно, что в 1920-е гг. будущие эксцессы расистов-евгенистов и расовых гигиенистов не были предвидены. «Евгеника» и «гигиена расы» были почтенными выражениями, имевшими хождение во всем мире. Анализ понятия *раса* (т. е. *подвид*) дал антрополог В.В. Бунак в статье «Термин “раса” в зоологии и антропологии» (Бунак, 1930).

В соответствии с предпочтениями времени организация для изучения генетики популяций

человека и географического распространения средовых и наследственных предрасположений к болезням, основанная весной 1928 г., получила наименование «Общество по изучению расовой патологии и географического распространения болезней» (ОРП). Первое организационное собрание Общества состоялось 14 ноября 1928 г. Председателем был избран проф. Н.К. Кольцов; заместителями – профессора А.К. Богомолец, С.Н. Давиденков, Д.Д. Плетнев и А.Н. Сысин; казначеем – проф. В.В. Бунак; секретарем стал Г.А. Баткис (он займется разрушением Общества изнутри). Членами правления были: профессора А.И. Абрикосов и Т.И. Юдин; кандидатами: доктора наук А.Г. Галачьян, М.А. Колдобский, С.Г. Левит и Н.Е. Лямин, а также В.В. Сахаров. Членами ревизионной комиссии: профессора А.С. Серебровский и А.А. Андреев; д-р И.Д. Певзнер; кандидатами: профессора В.В. Николаев и В.Н. Лебедев. Среди членов-учредителей Общества, не принявших участие в заседаниях, были профессора С.С. Четвериков (в начале 1929 г. он был арестован по политическому обвинению, в середине года повторно арестован и выслан из Москвы) и Г.И. Россолимо (умерший до начала работы Общества). В марте–мае 1929 г. прошло 4 научных заседания Общества под председательством проф. Плетнева; на 25 мая 1929 г. было 50 членов Общества.

Бросается в глаза участие в ОРП нескольких открытых противников евгеники. С.С. Четвериков, человек глубоко верующий, не принимал евгенику на том основании, что человек не дрозофила или гречиха, и применять искусственный отбор к человеку неприемлемо; напротив, целью нового Общества была адаптация к человеку задач и методов популяционной теории Четверикова и его теории генотипической среды. Большевик С.Г. Левит отвергал евгенику как буржуазную псевдонауку; напротив, новое Общество предоставляло возможность заняться оформлением подходов медицинской генетики, свободной от евгеники и расизма. Отметим также, что антропогенетика и евгеника А.С. Серебровского включала, помимо евгеники Г.Г. Мёллера, именно проблемы, поставленные для решения Обществом.

ОРП, как показало первое полугодие его работы, конкретностью задач отличалось от РЕО с широчайшим кругом интересов и масштабом

исследований – от маленького Евгенического отдела ИЭБ. Новое общество представляло собой эскиз будущего Медико-генетического института, давшего основу для создания медицинской генетики. Однако развитие событий 1929–1930 гг. не оставило возможности для существования ОРП и РЕО.

**Конец евгеники.** Весьма благоприятный для научных исследований период 1920-х гг. резко оборвался в начале «великого перелома» (пятилеток и коллективизации) и «культурной революции», открывших сталинский период отношений государства и науки. Тогда все «русские» журналы, а их было несколько десятков, были ликвидированы или сменили имя и ориентацию; например, журнал «Русская клиника», издаваемый в 1924–1930 гг. ЦЕКУБУ, стал «Советской клиникой». То же случилось и с другими: ряд специальных журналов был ликвидирован; «Естествознание и марксизм» был переименован и стал «За марксистско-ленинское естествознание»; постановление ЦК разъясняло, чем следует заниматься журналу «Под знаменем марксизма» и т. п. Непрерывные атаки на автономию специалистов «снизу», хорошо организованные и скоординированные с мероприятиями высшего начальства, были весьма эффективны.

Подавлению академических свобод способствовал ряд мер, среди которых: большевизация Академии наук в ходе выборов 1928–1931 гг.; реформа университетов и закрытие ряда научных обществ в 1929–1930 гг.; инсценированные «Шахтинское дело», «дело Академии наук», процессы «Промпартии», «Союзного бюро», «ТКП» и др. Арестам и казням предшествовали широкие газетные кампании и организованные «требования народа». Впрочем, важные и сами по себе, для запугивания публики и превращения структурированного общества в безликую массу.

Характерным для «Культурной революции» было резкое снижение влияния ЦЕКУБУ, комиссии по улучшению быта (главным образом, спасению от голода и холода) ученых, артистов, поэтов и т. п., созданной в 1921 г. при участии Максима Горького и поддержке Ленина, и замена ее новой организацией – ВАРНИТСО – Ассоциацией работников науки и техники для содействия социалистическому строительству под руководством



академика Баха. Негласной целью ассоциации была *атомизация* научного сообщества – часть общего устремления сталинской политики на ликвидацию общественного сознания народа, превращение общества в запуганную, хорошо управляемую людскую массу, которая уже сама будет сдерживать и принижать до своего уровня яркие индивидуальности и уничтожать их. Явной задачей ассоциации в связи с новым требованием *партийности* стала ликвидация нейтральности специалистов: раскол интеллигенции на «*наших*» и «*не наших*». Отвечая на апрельский 1929 г. пленум ЦК, ассоциация постановила «вызвать на соревнование ОГПУ» в деле «раскрытия вредительства».

Подавлять в первую очередь следует независимую крупную личность, которая дает пример многим другим. Н.К. Кольцов входил в V категорию ЦЕКУБУ – ученых с мировым именем (74 из 13 922 научных работников РСФСР); он был очевидной мишенью атак приспешников Сталина. В его Институт были направлены «варнитсовка» М.Л. Рохлина и «партийка» Д.З. Комиссарук, провокаторы со стажем, чтобы организовать фронт атак на *буржуазных ученых* (Варнитсовец, 1930; Рохлина, 1930; Соболева, 1930).

Евгеника оказалась удобной мишенью идеологической критики. Б.М. Завадовский еще в 1925 г. писал о Кольцове: «... попытки буржуазных биологов сделать из законов генетики и менделизма выводы, явно направленные своим острием против власти пролетариата, и провозгласить революцию противоевгеническим фактом, как победу “черной кости” над “белой костью”, заставляют даже биологов-марксистов отшатнуться от генетики ...» и «... что нам здорово, то Кольцову – смерть» (Завадовский, 1925). Тогда Кольцов дал должный ответ.

В 1929–1930 гг. обстановка стала иной. В январе 1930 г. Н.А. Семашко, покровитель ИЭБ, был снят с поста наркома здравоохранения. А.В. Луначарский, другой влиятельный благодетель Кольцова, потерял пост наркома просвещения в сентябре 1929 г. Деятельность провокаторов внутри ИЭБ привела в 1929 г. к скандалам, поставившим на грань ареста Н.К. Беляева и Б.Л. Астаурова, учеников Н.К. Кольцова. Несмотря на хлопоты Горького и Семашко, был арестован и выслан С.С. Четвериков. Генетический отдел ИЭБ шаг за шагом рассыпался.

Идеологические кампании включают прием жесткой критики второстепенных подробностей и распространения необязательной нелепости и ее критики на объект атак в целом. В евгеническом движении такую легкую добычу предоставил критикам А.С. Серебровский. Рассуждая о геногеографии и генофонде человека, он утверждал: «... если бы нам удалось очистить население нашего Союза от различного рода наследственных страданий, то, наверное, пятилетку можно было бы выполнить в 2½ года» (Серебровский, 1929). Серебровский зашел слишком далеко, демонстрируя общедоступность обсуждения перспектив пятилетки, что Сталин не без основания считал собственной привилегией. С критикой идеи *позитивной евгеники* выступил идеолог А. Максимов; Демьян Бедный высмеял их поэмой, занявшей треть полосы «Известий». Серебровский, говоря языком газет, *признал ошибки и разоружился* (Серебровский, 1930), и из-за этого 18 лет не мог перейти из кандидатов в члены ВКП(б). Более тяжелые последствия эта история имела для Н.К. Кольцова и его Института экспериментальной биологии.

14 и 24 апреля 1931 г. прошло инспирированное Сталиным общее собрание Общества биологов-материалистов, о котором Ф.Г. Добржанский отзывался так: «происходившее было генеральной репетицией грандиозных конференций, поставленных позже Лысенко с целью устроить процесс генетики и ее осуждение». В основном докладе Б.П. Токин (не дотягивавший до Презента и Лысенко и позже отошедший в тень) требовал «организовать изучение и разоблачение» «механистической школы» Н.К. Кольцова. Он отметил «единственную, но неудачную» попытку С.Г. Левита использовать работы Ленина для разрешения «проблемы внешнего и внутреннего в явлениях изменчивости и наследственности». Н.К. Кольцов на собрании утверждал, что генетика должна быть поставлена в основу селекционной работы, и требовал ответа на вопрос, который следует признать пророческим: «С чем должны идти биологи-материалисты на строительство сельского хозяйства: с генетикой или ламаркизмом?» (Против механистического материализма..., 1931, С.49). Ответ Г.А. Баткис назвал Н.К. Кольцова «руководителем реакционной партийной биологии», а

председатель Общества Б.П. Токин «отверг попытку» Кольцова «возглавить позицию единства теории и практики». Г.А. Баткис при поддержке Б.П. Токина обвинил медицинскую генетику Левита в идеологических ошибках. В Обществе расовой патологии, говорил он, «получился альянс представителей реакционной партийной биологии с представителями “социалистической” евгеники. Ничего удивительного в этом нет, потому что “социалистическая” – это только фиговый листок для проникновения сюда того же самого, т. е. партийной ленцевской биологии» (Против механистического материализма..., 1931, С. 57–58).

Резолюция собрания постановила организовать бригаду по разбору работ Кольцова под руководством организатора его травли Д.З. Комиссарук и при участии Рохлиной. Статьи против Н.К. Кольцова и Ю.А. Филипченко печатали теперь Э. Кольман (1931) и И. Презент (1931). Итог антикольцовской кампании подвел Баткис в статье «Евгеника»: «В СССР Н.К. Кольцов пытался перенести в советскую практику выводы фашистской евгеники ...» (БСЭ, 1931).

Почему Сталин велел идеологам заняться евгеникой? Потому ли, что движение было «русским», а не «большевистским»? Или же оно было слишком вольнодумным, на его взгляд? Желал ли он показать, кто на деле имеет власть определять политику народонаселения? Или же он страдал от подозрения о своей неевгеничности? Вспоминал ли он, богоборец, детскую веру, что человек таков, как он создан Творцом? Или же желал уничтожить всякие ассоциации с ненавистным Троцким, патроном некоторых областей биологии человека, в особенности психологии и психоанализа?

Разгром трех «П» (педологии, профкабинетов, психоанализа) не заставил себя долго ждать. В ретроспективе очевидно, что ликвидация евгеники была первой атакой Сталина на биологию человека и теорию гена и продолжением атак на академическую автономию.

Целью антикольцовской кампании была ликвидация ИЭБ; в апреле 1932 г. к этому шло дело. Однако Кольцову помог Максим Горький. В очередной приезд в Россию он передал Сталину из рук в руки письмо Кольцова, а Сталин был тогда заинтересован в Горьком! Это произошло 13 мая 1932 г. На следующий день новый нарком

М.Ф. Владимирский, обычно вялый и нерешительный, железной рукой «восстановил единоначалие директора и устранил ряд досадных мелочей, которые делали тогда мое существование совершенно невозможным», – вспоминал впоследствии Кольцов (Бабков, 1989).

В 1920–1930-е гг. Дзига Вертов развивал методы «cinéma-vérité» в своей кинохронике «Кино-Глаз»: следовало подсматривать реальных людей в реальной жизни. Монтируя в 1934 г. «Три песни о Ленине» и даже в 1930 г. «Энтузиазм (Симфония Донбасса)», он пришел в ужас от измененного поведения и нового антропологического типа людей, возникшего в 1929–1930 г., «год великого перелома! Пришлось ему взять съемки людей из «Кино-Правды», ежемесячной хроники 1922–1925 гг.

Желая сохранить то, что можно, Кольцов закрыл Евгеническое отделение ИЭБ; он передал темы и сотрудников в Институт С.Г. Левита. В ходе кампании Кольцов предпочел прекратить издание «Русского евгенического журнала» (в 1930 г. он влился в «Биологический журнал» Кольцова) и деятельность Русского евгенического общества. Без них работа по генетике человека и медицинской генетике в стране распалась на ряд изолированных островков, которые не могли дать прорыва.

### Медико-генетический институт С.Г. Левита

Соломон Григорьевич Левит (1894–1938) по окончании МГУ и службы в Красной Армии в 1921–1928 гг. работал в Отделении клинической терапии проф. Д.Д. Плетнева; в 1925 г. стажировался в Германии; в 1929 г. опубликовал монографию «Геморрагические диатезы. Болезнь Верльгофа и сходные с ней патологические формы». В 1926–1930 гг. он был ученым секретарем Общества врачей-материалистов при Комкадемии. Одно время Левит держался лamarкистских воззрений. Это обычно для врача, физиолога, воспитателя, физкультурника: они наблюдают, так сказать, унаследование приобретаемых в индивидуальном развитии свойств и переносят наблюдение на развитие историческое. Но он быстро освоил современную генетику. Левит даже прошел полный дрозофильный практикум у А.С. Серебровского и стал, таким

образом, научным внуком Н.К. Кольцова.

В конце 1928 г. С.Г. Левит создал Кабинет наследственности и конституции человека при Медико-биологическом институте. МБИ был основан В.Ф. Зелениным в 1924 г. как Клинический институт функциональной диагностики и экспериментальной терапии. Кабинет был «предтечей» Медико-генетического института, дело жизни Левита.

Основные задачи Кабинета совпадали с задачами Общества расовой патологии. Это были: составление топологической карты хромосом человека (задача Т. Моргана: выяснение локализации генов на определенном участке хромосомы, на ином, несопоставимо более сложном объекте; ее преемником стал проект «Геном человека»); далее изучение географического распределения генофонда населения СССР (распространение на человека русской традиции эволюционной генетики С.С. Четверикова, А.С. Серебровского, Н.И. Вавилова); дифференциация патологических форм по данным генетики (новая задача, для нее были важны теория *генотипической среды* Четверикова, а также изучение *генетической гетерогенности нозологических единиц* Давиденковым).

Работа Кабинета включала стационарное изучение локальной популяции человека (на антропогенетической станции в селе Петровском); изучение близнецов, одно- и двойцовых; сбор генеалогий. В 1929 г. вышли «Труды Кабинета», том I (№ 4/5 «Медико-биологического журнала», С. 1–116). В программной статье «Генетика и патология. (В связи с современным кризисом медицины)» С.Г. Левит опирался на последние достижения русской и американской генетики для новой постановки вопросов этиологии патологических форм. «Передовая генетическая теория способна вывести клиническую практику из кризиса», – утверждал С.Г. Левит. (Заметим, что именно тогда, в декабре 1929 г., Сталин провозгласил отставание теории от практики и требовал находить такое отставание во всех областях деятельности).

В 1930 г. Кабинет был расширен до Генетического отделения. С.Г. Левит стал директором МБИ и переориентировал его на генетику человека, когда В.Ф. Зеленин впал в немилость и потерял некоторые из высоких постов («Зеленин» – видный клиницист-терапевт, – читаем

в 10-м томе БМЭ (1929); из верстки 26-го тома БСЭ (1933) его биография была изъята. «Труды МБИ», том II (№ 4/5 «Медико-биологического журнала», 1930, С. 273–448), открывались статьей С.Г. Левита «Человек как генетический объект и изучение близнецов как метод антропогенетики». Тогда же МБИ им. М. Горького разместился в новом роскошном комплексе зданий в конструктивистском стиле на улице Калужской, напротив загородной усадьбы, где теперь находится президиум РАН.

В декабре 1930 г. С.Г. Левит по Рокфеллеровской стипендии уехал к Мёллеру и провел год в его Техасской лаборатории. Вернувшись в начале 1932 г. в Москву, С.Г. Левит узнал, что он больше не директор. Только что назначенный исполняющим обязанности директора Б.Б. Коган свернул генетические исследования в пользу клинических исследований. С.Г. Левит провел полгода в Отделении патофизиологии 2-го мединститута. Он добился поручения ЦК и занялся восстановлением генетики в МБИ (помогавшие ему друзья говорили, что это «равносильно самоубийству»).

«С осени 1932 г. Институт после 8-месячного перерыва снова сосредоточился на разработке проблем биологии, патологии и психологии человека путем применения новейших достижений генетики и смежных дисциплин (цитологии, механики развития, эволюционного учения). Основные работы Института пошли по трем руслам: клинко-генетическому, близнецовому и цитологическому» (предисловие к «Трудам МБИ», Т. III, 1934, 284 с.).

В день 5-летия Института (март 1935 г.) он получил название Медико-генетический, что отвечало тематике и методам. Работы 1934 и начала 1935 гг. составили т. IV «Трудов МГИ» (М.; Л., 1936, 543 с.). Том открывался работой С.Г. Левита «Проблема доминантности у человека». Теория эволюции доминантности Р. Фишера, согласно которой вновь возникающие мутантные гены рецессивны, была общепринятой. С.Г. Левит показал, что у человека большинство мутантных генов, в том числе патологических, – доминантны, с низким и варьирующим проявлением. Он развил конкурирующую гипотезу, не понятую западными коллегами. Однако в свете работ школы Кольцова–Четверикова 1920–1930-х гг. следует признать гипотезу С.Г. Левита более

адекватной. Заметим, что Н.С. Четвериков и др. перевели на русский язык пионерскую книгу Фишера «Генетическая теория естественного отбора», где, в частности, обсуждалась эволюция доминантности. Материалы книги широко обсуждались и серьезно комментировались; но перевод, к которому проявлял интерес автор, не был напечатан из-за ликвидации МГИ.

К концу 1933 г. Медико-биологический институт им. М. Горького располагал: отделениями – генетики, цитологии, экспериментальной патологии, внутренних болезней; кабинетами – психиатрии, одонтологии, психологии, конституции и биометрии, а также рядом обслуживающих научную работу кабинетов – рентгеновским, физиотерапевтическим, патологоанатомическим и др.

Планировалась организация всех разделов клинической медицины (глазные, ушные болезни и др.); расширение психологического кабинета, где работал знаменитый фрейдомарксист А.Р. Лурия (он был сторонником идеи о человеке как социальном существе и с недоверием относился к генетике); превращение кабинета конституции в антропологическое отделение. Таким образом, С.Г. Левит, поначалу сузив направление МБИ, теперь возвращал Институту те отделы, которые были при В.Ф. Зеленине (клинический, физиологический, биохимический, патофизиологический, эндокринологический), но ставил их на новый мощный теоретический фундамент.

Среди конкретных работ МБИ следует обратить особое внимание на замечательное теоретическое исследование В.П. Эфроимсона 1932 г. Анализируя равновесие между накоплением мутаций и интенсивностью отбора, он рассчитал темп мутационного процесса у человека (Эфроимсон, 1932а, б). В это время В.П. Эфроимсон был арестован по политическому обвинению, а в 1933 г. осужден ОГПУ по ст. 5810–11 на три года исправительно-трудовых лагерей. Через отца он из тюрьмы передал текст статьи для зачитания на семинаре. Статья не была опубликована; вскоре Холдейн независимо сделал аналогичную работу (Haldane, 1935). Приведу ответ С.Г. Левита на вопрос С.Н. Давиденкова об оценке уровня мутационного процесса у человека в планах МГИ на 1937-й год: «...На эту тему вышла недавно

работа Холдейна. Надо сказать, что у нас была сделана такая же работа года четыре тому назад и чисто случайно она не была опубликована. Причем у нас шла речь не только о гемофилии [как у Холдейна], но о целом ряде наследственных признаков человека, которые ведут к уменьшению размножаемости. Безусловно, это важная задача, и этим надо заниматься...» (Стенограмма дискуссии..., 1937).

К *клинико-генетическому анализу болезни* относилось, в первую очередь, изучение этиологии болезней, т. е. выяснение, в какой мере данная болезнь обусловлена наследственными факторами (и каков тип наследования) и в какой мере и какими именно факторами среды. Из достижений МБИ в этой области выделялась работа проф. С.Н. Давиденкова (он закончил это исследование в Институте усовершенствования врачей в Ленинграде) о боковом амиотрофическом склерозе, этиология которого оставалась неясной. С.Н. Давиденков выяснил, что причиной болезни является один доминантный ген с неполным проявлением и варьирующим выражением. Носители гена, у которых обнаруживаются лишь зачаточные формы болезни, больными себя не считают; поэтому до работы С.Н. Давиденкова не удавалось выяснить наследственную природу болезни. Аналогичное клинико-генетическое исследование сиригомиеэлии провели Н.А. Крышова и Л.М. Духовникова, сотрудники С.Н. Давиденкова.

Большое значение МБИ придавал обследованию одно- и двуйцовых близнецов. Близнецовый метод, предложенный Ф. Гальтоном, начал использоваться в Евгеническом отделе ИЭБ (работы Г.В. Соболевой и др.), но по размаху работ Институт Левита вышел на первое место в мире. В конце 1933 г. обследованием было охвачено 600 пар близнецов, весной 1934 г. – 700 пар, а весной 1937 г. – 1700 пар. В МБИ близнецы изучались врачами всех специальностей; им оказывалась необходимая медицинская помощь; при МБИ был детский сад (на 7 пар близнецов в 1933 г.); по предложению С.Г. Левита в консерватории обучалось 5 пар близнецов для выяснения более эффективных методов обучения. К 1933 г. применение близнецового метода дало результаты в выяснении роли наследственности и среды в физиологии и патологии ребенка, в из-



менчивости электрокардиограммы, некоторых психических признаков и т. д. Другой круг вопросов касался корреляций различных функций и признаков организма; третий был посвящен выяснению сравнительной эффективности различных способов обучения и целесообразности того или иного воздействия.

Первая задача, которую следовало решить Институту в рамках цитологического исследования человека, – найти доступный метод изучения и подсчета хромосом человека. Метод подсчета хромосом в делящихся лейкоцитах крови, выращиваемых в культуре ткани, разработал Г.К. Хрущов. (1930-е годы диплоидным числом считалось 48; набор из 46 хромосом у человека был установлен лишь в 1956 г.). Проверкой предположения об изменении хромосом человека при лейкемии занимался А.Г. Андрес. Ко времени ликвидации МГИ в 1937 г. сотрудники Института вплотную подошли к открытию хромосомных aberrаций у человека; это открытие было сделано спустя 20 лет учеными Франции, США, Англии.

Н.С. Четвериков и М.В. Игнатъев занимались разработкой вариационно-статистических методов для интерпретации получаемых данных. Л.Я. Бляхер и другие исследовали проблемы регенерации и т. п.

При выдающемся прогрессе исследований за короткий срок (около полутора лет) следовало оценить перспективы.

### Рождение науки

4 апреля 1934 г. после предварительных переговоров в начале года председатель Ученого медицинского совета (УМС) Наркомздрава РСФСР проф. Е.И. Марциновский направил проф. С.Г. Левиту краткое письмо с просьбой взять на себя, от имени УМС, «организацию широкого совещания, посвященного вопросам генетики».

С.Г. Левит назвал широкий и весьма представительный состав совещания, наметил семь докладов по крупным проблемам, назначил дату. В ответ на запрос о 3 тыс. рублей для «лиц с периферии» Марциновский распорядился перевести на счет МБИ 2 тыс. рублей из средств УМС. На этом бюрократическая часть дела закончилась (ГА РФ. Ф. 482. Оп. 25. Д. 835).

Конференция по медицинской генетике

прошла 15 мая 1934 г. в Медико-биологическом институте.

Во вступительном слове С.Г. Левит указал характер конференции: «... поскольку сегодняшняя конференция является первой в истории советской биологии и медицины, она имеет одну специфическую задачу», а именно: «наметить принципы исследований в этом направлении, пределы и области применения достижений генетики».

Последующие конференции (ближайшая будет назначена на осень 1936 г. в Киеве) должны заниматься по преимуществу конкретными исследованиями, т. е. там будет много кратких сообщений по частным вопросам. Но задаче дня отвечают семь докладов, крупными мазками рисуя состояние области исследований в момент ее рождения, проблемы, подлежащие решению, и должные методы. Вот их список (Конференция..., 1934):

1. Проф. Г.Г. Мёллер. Некоторые основные этапы развития теоретической генетики и их значение с точки зрения медицины.
2. Проф. Н.К. Кольцов. Роль генетики в изучении биологии человека.
3. Проф. С.Г. Левит. Объем и задачи курса генетики для студентов-медиков и врачей.
4. Проф. С.Н. Давиденков. Генетика и клиника.
5. Проф. Т.И. Юдин. Конституция и генетика.
6. Проф. В.В. Бунак. Конституциональные типы в генетическом освещении.
7. А.Г. Андрес. Вопросы медицинской кариологии.

Отметив известные недостатки человека как объекта генетического исследования: невозможность эксперимента, малочисленность потомков пары, длительность периода полового созревания и пр., С.Г. Левит указал на ряд его преимуществ в этом отношении. Это «совершенно исключительная изученность человека в морфологическом и физиологическом отношениях, позволяющая, в частности, проводить тонкие различия там, где дело идет о фенотипически весьма сходных явлениях»; и далее «... тот факт, что лишь человек обладает в развитем виде тем особым качеством, которое мы называем психикой и которое главным образом благодаря человеку является новым объектом

генетического анализа»; затем – это наличие у человека как одно-, так и двуяйцовых близнецов, «представляющих собой исключительно благоприятный объект для изучения в особенности генетики количественных признаков и динамики их развития»; наконец, «почти полное отсутствие естественного отбора в современном человеческом обществе, вследствие чего громадное количество патологических генов, которые в диких условиях погибли бы, сохраняются в популяции человека, представляя, таким образом, богатый материал для генетических и генетико-географических исследований» (Конференция..., 1934, С. 4).

Левит разбирает проблемы доминирования и соотношения наследственности и среды («nature vs. nurture» англичан) и ряд других вопросов, которые он относит к сфере генетики человека. Но «антропогенетика», или генетика человека, означает лишь частную генетику еще одного вида животных – *Homo sapiens*.

Применение генетики человека к медицине и психологии оказывается чрезвычайно плодотворным; обогатив их, генетика человека получает возможность новых теоретических открытий. С.Г. Левит рассматривает воздействие генетики на новую формулировку задач кардинальных разделов медицины – этиологии, патогенеза и нозологии. Он разбирает вопрос о стертых формах болезней (*formes frustes*) в свете генетических концепций, разработанных Н.К. Кольцовым, школой С.С. Четверикова, С.Н. Давиденковым, А.С. Серебровским.

С.Г. Левит подчеркивает, что «наибольший интерес с точки зрения практической медицины представляет вопрос о том, что может дать генетика для профилактики и терапии», и описывает три группы перспектив. «Сюда относится, во-первых, одно обстоятельство, вытекающее из вышеуказанной возможности, которую доставляет генетика в деле дифференциации болезней. Ведь *a priori* как будто не может вызвать сомнения то обстоятельство, что если две болезни различны по своей биологической природе, то мыслима и различная терапия их. Приходится, однако, констатировать, что эта возможность является до сих пор, за исключением отдельных случаев, далеко еще не реализованной и требует поэтому к себе пристального внимания врачей-генетиков».

«Другая перспектива для профилактики и терапии открывается недавно доказанной вышеупомянутой возможностью констатировать, пользуясь методами генетики, зачаточные формы болезней. Совершенно ясно, что чем больше мы эти последние узнаем и чем более изученными явятся те моменты, которые эти зачаточные формы переводят во вполне развитые болезни, тем более эти факты могут быть использованы для указанных практических целей. В этом направлении работы лишь только начались, и их необходимо всячески форсировать».

«Третья возможность использования генетики в целях терапевтических открывается экспериментами на однояйцовых близнецах (воздействие на одного из партнеров и оставление второго в качестве контроля). Не буду на эту тему долго распространяться, поскольку в печати уже находятся соответствующие работы. Скажу лишь, что уже первые опыты в этом направлении дали чрезвычайно ободряющие результаты, особенно по изучению *длительности* получаемого положительного терапевтического эффекта. Опыты подобного рода следует рекомендовать ставить *largamani*, – тем более, что они в смысле своей постановки поразительно просты» (Конференция..., 1934, С. 11–12).

С.Г. Левит мимоходом признает, что советская наука «отстает от требований, предъявляемых практикой социалистического строительства», и привлекает внимание к быстрому развитию теоретической медицины. Он заключает вступление словами: «На наш великий Союз выпала честь превратить то чахлое оранжерейное растение, которое вырастил капиталистический мир и которое получило у нас название *медицинская генетика*, в крепкое дерево, в крупную науку, свободную от отвратительных наростов, созданных расистами и буржуазными евгенистами, и служащую делу социализма, делу советского здравоохранения» (Конференция..., 1934, С. 16).

Так С.Г. Левит и другие докладчики, каждый из которых внес оригинальный вклад в общее дело, определили предмет новой автономной области исследований. 15 мая 1934 г. новая наука получила официальное наименование: «медицинская генетика».

### Резолюция Конференции

Замечательные клиницисты, обладающие широким кругозором и интересом к смежным областям исследований, Д.Д. Плетнев, С.Н. Давиденков, представитель последнего их поколения С.Г. Левит получили образование на медицинских факультетах университетов. Солидный естественнонаучный фундамент, необходимый для постановки новых вопросов, был в немалой степени обязан благотворной атмосфере первых университетских семестров, знакомивших студентов-медиков с физикой, химией, зоологией и др. на общеуниверситетском уровне. Но в 1930 г. медицинские факультеты в университетах были ликвидированы. На базе университетских клиник были созданы медвузы с усеченной программой, которые выпускали узких специалистов низкого уровня. Официальное признание этого факта последовало летом 1934 г., когда были объявлены изменения в системе медицинского образования. Устанавливался пятилетний курс обучения. На первых 5 семестрах вводилась единая программа с повышенной общетеоретической подготовкой. Устранялась ранняя специализация. Ликвидировалась заочная подготовка врачей.

Новая наука может получить полную жизнь только при следующих условиях: если у ее истока стоят крупные ученые; ведутся конкретные исследования; имеются исследовательские структуры и научная печать; наконец, готовятся специалисты, т. е. существует программа преподавания, учебник, дополнительная литература. Естественно, что Конференция, провозгласившая новую науку, озаботилась подготовкой квалифицированных исследователей.

С.Н. Давиденков сообщил о впечатлении от своего необязательного курса «Введение в общую и медицинскую генетику», прочитанного в последний год в Ленинградском институте для усовершенствования врачей: «Я могу засвидетельствовать о совершенно исключительном интересе, который обнаружили слушатели к этому курсу, равно как и о том, что степень их неподготовленности превосходила все мои ожидания». Он завершил доклад (первый вариант озаглавлен: «О месте медицинской генетики во врачебном образовании и в системе органов здравоохранения») выводами: «1. Необходимо

ввести преподавание общей и медицинской генетики в наших медвузах и в особенности в институтах для усовершенствования врачей. 2. Ввиду необходимости приступить к организации в СССР медико-евгенической консультации, необходимо озаботиться воспитанием соответствующих квалифицированных кадров для этой работы» (Конференция..., 1934, С. 42).

В резолюции Конференции предлагалось учредить исследовательские центры медицинской генетики и цитологии во всей стране, кабинеты при крупных клиниках и НИИ, кафедры на курсах усовершенствования врачей и в медвузах, издать учебник по медицинской генетике и цитологии, расширить аспирантуру МБИ и проч.

**Курс генетики для врачей.** Доклад С.Г. Левита был посвящен задачам курса генетики для студентов-медиков и врачей на основе анализа курса, прочитанного в МГИ в 1933–1934 гг. Курс (14 глав, 51 час.) был построен на кратко упомянутых выше принципах С.Г. Левита изучения здорового и больного человека. Самые замечательные разделы программы курса, читанного в 1933–1934 гг., были основаны на теориях С.С. Четверикова и его школы и на теории С.Н. Давиденкова, необходимых для понимания природы стертых форм болезней, следовательно, для их лечения. При составлении курсов в 1970-е гг. эти выдающиеся достижения были в значительной мере забыты.

Как следует оценить эту программу (Конференция..., 1934, С. 70–71) с позиций нашего дня? В ней недостает представления об автокатализе в воспроизведении *молекул наследственности* и принципа *конвариантной редупликации*. Нет здесь *двойной спирали* ДНК Уотсона–Крика (25 апреля 1953 г.); нет *центральной догмы* Френсиса Крика (наследственная информация передается от нуклеиновых кислот к белкам, но не наоборот, 1958 г.); нет сегодняшних *цитогенетики*, *биохимии*, *генетической инженерии*, проекта «*Геном человека*» и многого другого. Но все эти понятия можно встроить в имеющуюся структуру и изъять лишние. В этом смысле программа курса генетики для врачей 1933/34 гг. может трактоваться как основа *общей части* сегодняшнего курса медицинской генетики. Материалы для *специальной части*, практически все, были получены после второй мировой войны.

«Буржуазная евгеника» начала века утерьяла актуальность (между прочим, в 1980-е *позитивной евгеникой* стали обозначать нечто иное, чем в начале века – проект пересадки генов для повышения умственных и физических способностей человека). Зато в программу следует включить вопросы медицинской этики, этики биологических исследований и другие активно обсуждаемые в последние десятилетия вопросы. Заметим, что формулу «меньшевистствующий идеализм» Сталин разъяснил партбюро Института красной профессуры в декабре 1930 г. При предъявлении публике эта формула была применена в числе десяти лиц и к С.Г. Левиту.

Когда 3 марта 1935 г. Бюро УМС приняло решение по результатам Конференции, то в одном отклике была упомянута формула 1930 г. Директор Института патофизиологии 1-го ММИ проф. С.С. Халатов увидел в нем вмешательство во внутренние дела института. В докладной записке в деканат Лечебного факультета он подчеркнул: «Попытка свернуть курс патологической физиологии в вузах и вернуться к рутине морфологического направления курса старой общей патологии не раз возникала из недр меньшевистско-идеалистических тенденций в высшей школе, но всегда разоблачалась как реакционная, идущая во вред подготовке кадров. Такая попытка в последний раз была сделана С.Г. Левитом во II ММИ, когда ему было предоставлено заведывание кафедрой патологической физиологии в 1932 г., причем С.Г. Левит начал преподавать под видом патофизиологии «общепатологическую медицинскую генетику». Такая попытка провалилась как вредящая подготовке кадров, а Левит был принужден оставить эту кафедру. Всякие попытки навязать курсу патологической физиологии медицинскую генетику исходят из этих же установок и в настоящее время, несомненно, должны считаться реакционными...» (ГА РФ. Ф. 482. Оп. 25. Д. 835. Л. 37).

Некорректное выступление профессора, не желавшего отдавать свое лекционное время чуждой ему науке, не имело последствий: даже после смерти Е.И. Марциновского (летом предыдущего года) УМС был настроен в пользу медицинской генетики; кроме того, С.Г. Левит располагал поддержкой со стороны наркома здравоохранения Г.Н. Каминского.

Обсудив резолюцию Конференции, Бюро Ученого медицинского совета Наркомздрава РСФСР 3 апреля 1935 г. постановило: «1. Считать необходимым при пересмотре программы по патологической физиологии и общей биологии значительно расширить в них разработку вопросов генетики. 2. Рекомендовать введение в медицинских институтах Москвы и Ленинграда и в курсах усовершенствования врачей факультативный (доцентский) курс генетики на 40–50 часов. 3. Признать желательным усилить аспирантуру по медицинской генетике в Медико-биологическом институте и Институте экспериментальной биологии. 4. Просить УНИ обязать Медико-биологический институт разработать в годичный срок учебник по медицинской генетике» (ГА РФ. Ф. 482. Оп. 25. Д. 835. Л. 53 и 57).

Ученый медицинский совет поручил Институту Левита составление учебника по медицинской генетике. Институт был тогда занят подготовкой IV тома «Трудов» и составлением двух монографий: «Генетика внутренних болезней» и «Физиология и патология близнецов». (Летом 1934 г. Левит, помимо прочего, должен был отбивать атаки переехавшей в Москву Академии наук СССР, которая претендовала на комплекс зданий МБИ). Левит обещал приступить к составлению учебника, когда Институт освободится от монографий, т. е. к концу 1935 г. В учебнике, как полагал Левит, будут представлены разделы: 1. Основы современной генетики (с обращением особого внимания на генетику человека). 2. Основные проблемы медицинской генетики. 3. Методы собирания материалов по генетике человека. 4. Методы генетического анализа человека. 5. Вопросы медицинской кардиологии (методы исследований, проблематика, достижения). 6. Критика буржуазных расовых и евгенических теорий (ГА РФ. Ф. 482. Оп. 25. Д. 835. Л. 56 и 52).

#### **Ликвидация Медико-генетического института**

Обсуждение проблем медицинской генетики предполагалось продолжить осенью 1936 г. в Киеве, на Медико-биологической конференции, а позже – на VII Международном генетическом конгрессе в августе 1937 г. в Москве. Предста-



вительную программу по медицинской генетике готовили Г. Мёллер и С.Г. Левит – генеральный секретарь Оргкомитета.

В начале 1930-х гг. Т.Д. Лысенко стал любимцем партийной прессы и сельскохозяйственной номенклатуры. Его «чудодейственная» яровизация вместо кропотливой селекционной и агротехнической работы пришлась ко времени: И.В. Сталин требовал получать в каждой области угодные ему результаты, невзирая ни на какие пределы возможностей. Но принцип неизменности гена отменял перспективу переделки природы растений и животных в угодном начальству направлении и масштабе, и Сталин задумывался о том, что делать с генетикой: приручать ее или ликвидировать. Т.Д.Лысенко как потенциально ценный кадр заслуживал поощрения, примера для подражания номенклатуре и журналистам. Его выступление на Втором съезде колхозников-ударников с демагогическими призывами к классовой борьбе и требованиями сбросить оковы научного метода было прервано репликой: «Сталин: “Браво, т. Лысенко, браво!” В зале аплодисменты» (Правда. 1935. 15 февраля). Сталин методично выдвигал Лысенко и готовил его к выполнению важной задачи. Тогда-то Мёллер и отправил письмо о перспективах позитивной евгеники в социалистическом обществе, а Сталин использовал его как ценный материал для аргументации своих решений среди товарищей по ЦК и Политбюро.

**Письмо Мёллера Сталину.** 5 мая 1936 г. Г.Г. Мёллер направил И.В. Сталину новую книгу «Выход из мрака» (Muller, 1935) с большим сопроводительным письмом. «Дорогой товарищ Сталин! – писал Мёллер. – В качестве ученого, убежденного в окончательной победе большевизма во всех отраслях человеческой деятельности, я обращаюсь к Вам с вопросом жизненной важности, возникающим в области науки, которой я занимаюсь, – биологии, и в частности генетики»... «Дело касается ни много, ни мало как сознательного контроля над биологической эволюцией человека – то есть контроля человека над наследственным материалом, лежащим в основе жизни самого человека. Это тот процесс, которому буржуазное общество было совершенно неспособно смотреть прямо в лицо», – писал Мёллер. Он продолжал: «... генетики, принадлежащие к левому крылу,

признают, что только социалистическая экономическая система может дать материальную базу и социальные и идеологические условия, необходимые для действительно разумной политики в отношении генетики человека, для политики, которая будет руководить человеческой биологической эволюцией в социально желательном направлении»... «Подлинная евгеника может быть только продуктом социализма, и, подобно успехам в физической технике, явится одним из средств, которое будет использовано социализмом для улучшения жизни».

«Человеческая порода не неизменна и не неспособна к улучшению и это так же справедливо в генетическом, как и в социальном смысле. Не пустая фантазия, что посредством сочетания благоприятного воспитания и общественных и материальных преимуществ, которые может дать социализм, с одной стороны, с научным применением генетики, освобожденной от буржуазных общественных и идеологических оков, с другой стороны – возможно будет в течение лишь нескольких поколений наделить даром даже так называемого “гения” практически каждого отдельного индивидуума – поднять фактически всю массу на уровень, на котором сейчас стоят наши наиболее одаренные индивидуальности, те, которые больше всего способствуют прокладыванию новых путей жизни. И даже это еще только начало. Если рассматривать вопрос с более далекой перспективой, то это может быть началом биологического прогресса, с небывалой быстротой и верностью цели шагающего от одной вершины к другой. Подобный прогресс явится результатом того, что вместо случайных, колеблющихся и мучительных процессов естественного отбора, господствовавших в отдаленном прошлом, вместо близорукого, неправильного и зачастую губительного вмешательства в природу, осуществлявшегося людьми в досоциалистическую эпоху, будет сознательный социалистический контроль, основанный на разумной теории».

Изложив представление о гене, Мёллер определил отношение к взглядам Т.Д. Лысенко и Презента, назвав пустой фантазией их идею безграничного изменения организмов в желательном направлении. В качестве альтернативы он назвал меры позитивной евгеники: «Наука генетика установила, что есть одно и только

одно средство, с помощью которого может быть положено ценное начало в деле обеспечения все более и более благоприятными генами. Оно заключается не в прямом изменении генов, а в создании относительно высокого темпа размножения наиболее ценных генов, которые могут быть найдены повсюду. Ибо нельзя искусственно изменять сами гены в каком-либо особом специальном направлении. Представление о том, что это может быть сделано, является пустой фантазией, вероятно, неосуществимой еще в течение тысячелетий».

«Процесс, посредством которого такой биологический прогресс может быть искусственно осуществлен при минимуме вмешательства в личную жизнь, заключается в том, чтобы дать возможность всем людям, желающим принять участие в производстве детей, обладающих наилучшими генетическими свойствами, получить соответственный воспроизводительный материал для использования посредством искусственного обсеменения». . . «Следует понять, что процесс искусственного обсеменения сам по себе не влечет никакого полового акта у индивидуума и не мешает осуществлению им нормальных любовных отношений и полового акта, который продолжается как обычно, и может быть связан с таким контролем над деторождением, который желателен. Таким образом, к искусственному обсеменению могут также прибегать брачные пары, желающие иметь детей с необычайно высокими генетическими качествами, причем это не нарушает любовных отношений между партнерами». «Правда, мы сейчас, укоренившись в традициях буржуазного общества, проникнуты идеей о том, что наш ребенок должен происходить от наших собственных половых клеток». «Но с постепенным ростом понимания больших социальных возможностей и обязанностей воспроизводства и при отделении воспроизводства от полового акта эти чувства все больше будут заменяться другими, столь же сильными и действенными для дела создания высокого типа семейной жизни».

В пользу позитивной евгеники в социалистическом плановом обществе Мёллер выставляет такой аргумент: «Многие матери завтрашнего дня, освобожденные от оков религиозных предрассудков, будут горды смешать свою плазму с плазмой Ленина или Дарвина, и дать обществу

ребенка, наследующего их биологические качества».

Изложив принципы генетики популяций, современной стадии развития учения Дарвина, Мёллер отмечает, что при социализме «становится возможным начать сознательный общественный контроль не только над социальной эволюцией как таковой, но через нее также и над биологической эволюцией».

«Ввиду непосредственно предстоящей дискуссии по вопросам, относящимся к генетике, важно, чтобы позиция советской генетики в этом вопросе была быстро выяснена. Она должна иметь свою точку зрения, позитивную большевистскую точку зрения в противовес так называемой “чистоте расы” и извращенным “евгеническим” учениям наци и их союзников, с одной стороны, и теории “лессе-фер” и “не торопитесь” отчаявшихся либералов – с другой стороны».

Мёллер отмечает, что этот позитивный, или большевистский, взгляд на проблему подробно сформулирован им в книге «Выход из мрака». Он подводит итог обращения к Сталину указанием на оптимистическую позицию, объединяющую его евгенику и большевистскую политику: «Отбросив ложных богов, человек, организованный при социализме, должен взять на себя роль творца, завоевывая с большевистским энтузиазмом также и ту неприступную крепость, в которой находится ключ к его собственному внутреннему существу» (Письмо. . ., 1997).

Забегая вперед, скажем, что идеи Мёллера вошли в жизнь не в СССР, а в США, в частной программе Р. Грэма по созданию банка спермы от Нобелевских лауреатов и других выдающихся мужчин и искусственного оплодотворения здоровых и умных женщин с целью получения выдающихся потомков. После первой информации 1960-х гг. о 15 детях все сообщения исчезли из печати (возможно, программа перестала представлять частный интерес), и дальнейшая судьба ее неизвестна.

Биограф Мёллера утверждал, что перевод книги «Выход из мрака» был сделан лишь в начале 1937 г. и тогда же Сталин прочел письмо и принял за книгу; основанием для утверждения послужил факт, что только тогда Мёллеру стало известно, что Сталин «недоволен» книгой, и что все печатающиеся рецензии

были сняты (Carlson, 1981). Логика действий Сталина не позволяет, однако, утверждать, что он мог оставить без внимания какой-либо документ по интересующему его вопросу. Совершенно беспочвенно навязываемое этой версией предположение, что для перевода интересующей Сталина книги могло потребоваться восемь или девять месяцев (по неофициальным сведениям такой перевод делался за одну ночь). Поэтому мы заключили, что Сталин не откладывая прочел письмо Мёллера и тогда же принял фатальное для русской генетики решение (Бабков, 1997). Но машинописная копия из личного архива Сталина датирована 19 июля 1936 г. О чем говорит факт заказа копий (расылка определенному кругу лиц плюс копия в архив)? Быть может, Сталин желал опереться на этот материал, беседуя с товарищами (на этой основе можно в любой момент сочинить постановление Политбюро, ЦК или Совнаркома) о том, что VII Международный генетический конгресс в Москве в августе 1937 г. окажется рассадником идей расизма, и что его следует поэтому запретить.

**VII Конгресс и IV Сессия.** В Итаке прошел VI Международный генетический конгресс. Лондон, Нью-Йорк, Париж и Берлин уже принимали конгрессы, и Международный комитет генетических конгрессов обратился, при определении места VII Конгресса 1937 г., к скандинавским генетикам, но имел в виду также предложение советского руководства, за которое настоятельно агитировал Н.И. Вавилов. Менделевское общество в Лунде (Швеция) пожелало устроить конгресс, но вскоре отказалось от своего проекта. Воспоследовало предложение Президиума АН СССР, которое было с признательностью принято. После ряда бюрократических процедур Н.И. Вавилов с энтузиазмом обнародовал план проведения VII Генетического конгресса в СССР (Вавилов, 1936).

Н.И. Вавилов, разумеется, видел все знаки симпатии Сталина и номенклатуры к группе Лысенко–Презента и их нарастающий скептицизм в отношении настоящих ученых. Стратегия Н.И. Вавилова была ориентирована на выдающийся успех настоящих ученых (прежде всего, из своей научной империи) в августе 1937 г. и разоблачение лысенковцев. Конгресс мог поправить положение самого Н.И. Вави-

лова: в 1935 г. после критики Совнаркомом ВАСХНИЛ он был смещен с поста президента ВАСХНИЛ. Ради социально значимого успеха в будущем в 1935–1936 гг. Вавилов допускал некоторые небольшие, но уже выстраивающиеся в систему уступки, неудачи, компромиссы. По контрасту Н.К. Кольцов немедленно резко реагировал на каждую попытку ущемить автономии его области исследований или интересы его Института экспериментальной биологии (Бабков, 1989, 1992). Н.И. Вавилов согласился на включение в национальный Оргкомитет ряда номенклатурных персон, симпатизирующих Т.Д. Лысенко; он не пытался противостоять изъятию генетики человека из программы Конгресса, отмене приглашений генетикам из Германии, бюрократическим проволочкам в разрешении мелких забот, которые блокировали подготовку Конгресса.

«Нет царской дороги в геометрию», – сказал Аристотель своему ученику Александру Македонскому. Но Т.Д. Лысенко в ходе событий 1935–1936 гг. убедился, что есть быстрая дорога в сталинские сановники. Высочайшая похвала в начале 1935 г., персональный журнал в середине года, кинофильм о чудо-яровизации, выездные сессии АН СССР и ВАСХНИЛ на его базу летом 1935 и 1936 гг., безудержное восхваление в прессе – все это обеспечивало Т.Д. Лысенко исключительное положение. С целью окончательно установить его законное место в науке была организована дискуссия между группой Лысенко–Презента, с одной стороны, и селекционерами и генетиками, с другой. Дискуссия шла в различных формах с середины 1935-го г.; ее кульминацией стала грандиозная IV сессия ВАСХНИЛ 19–27 декабря 1936 г. «Я имею право входа», – ответил Т.Д. Лысенко на вопрос, как ему удаются такие крупные дела (Круглый стол, 1988).

**Газеты о С.Г. Левите.** В преддверии декабрьской сессии была развернута кампания против С.Г. Левита и Медико-генетического института. Зав. отделом науки МГК ВКП(б) Э. Кольман созвал 13 ноября 1936 г. в Доме ученых собрание биологов и медиков для разоблачения «жульничества фашистских и фашиствующих ученых» и «расистских фальсификаций биологии». Э. Кольман обвинил в идеологических ошибках морфолога проф.

В.Г. Штефко, но особенно жесткая критика была адресована МГИ и его директору. С.Г. Левит опроверг все обвинения Э. Кольмана: аргументировал его некомпетентность в разбираемых вопросах и необоснованность критики. Возразить С.Г. Левиту по сути дела было нечего, тогда провокатор Д.З. Комиссарук «указала, что С.Г. Левит по своим взглядам меньшевистствующий идеалист и фактически не разоружился». Статья Кольмана на основе материалов доклада была напечатана установочным журналом (Кольман, 1936). Тенденциозное сообщение о собрании было напечатано «Комсомольской правдой» 15 ноября 1936 г. (М.Ц., 1936). На следующий день «Известия» поместили маленький фельетон братьев Тур, где речь шла о юбилее МГИ (пятилетие в марте 1935 г.) и праздничной стенгазете: они сетовали, что там не нашлось места критике С.Г. Левита. Стиль «фельетонистов ОГПУ» (как их назвал акад. Д.С. Лихачев) и предмет критики усматриваются из фрагмента: «...Куца “соломонова” мудрость профессора Левита и возглавляемого им Медико-генетического института сводилась к таким откровениям, как признание абсолютного значения наследственности в происхождении почти всех болезней, фатальная биологическая предопределенность характера ребенка и тому подобной ерунде...» (Братья Тур, 1936, 16 ноября). Общее собрание МГИ три дня обсуждало фельетон и отвергло грубую и необоснованную критику.

4 декабря 1936 г. Фрунзенским райкомом ВКП(б) С.Г. Левит был исключен из партии «за связь с врагом народа, за протаскивание враждебных теорий в трудах института и за меньшевистствующий идеализм». Тогда-то «Известия» и братья Тур, долго молчавшие, возмутились тем, что МГИ не принял их предыдущее выступление за руководство к расправе. С.Г. Левиту ставили в вину подпись под письмом в защиту арестованного друга, Н. Карева; попытку на собрании «скомпрометировать работу прекрасного советского ученого Лысенко»; реплику «голоштаный марксист» в ответ на конъюнктурное выступление Н.П. Дубинина. Фельетонисты пошли теперь дальше и обвинили в поддержке С.Г. Левита и МГИ зав. Сектором научных институтов Наркомздрава Х.Г. Раковского и наркома Г.Н. Каминского (Братья Тур, 1936, 10 декабря).

В ноябре установочный журнал напечатал длинную, вялую, некомпетентную рецензию III и IV томов «Трудов» МГИ с целью подвести эти исследования под действие постановления ЦК ВКП(б) «О педологических извращениях в системе наркомпросов» от 4 июля 1936 г. (Карлик, 1936). В этом постановлении говорилось, что «теория и практика так называемой педологии базируется на ложнонаучных, антимарксистских положениях. К таким положениям относится, прежде всего, главный “закон” современной педологии – “закон” фаталистической обусловленности судьбы детей биологическими и социальными факторами, влиянием наследственности и какой-то неизменной среды».

Г.Н. Каминский последовательно поддерживал С.Г. Левита и его дело. Когда в № 1 «Бюллетеня» Второго съезда невропатологов и психиатров, напечатанном накануне его открытия, оказалась мерзкая клевета в статье академика М.Б. Кроля – обвинение Левита в расизме и фашизме, Каминский провел через партгруппу съезда решение об изъятии «Бюллетеня». Заказчики клеветы сообщили через «Правду», что Каминский взял под защиту пропагандиста «лженаучных теорий» (По ложному пути, 1936). Партгруппа обсудила заметку в «Правде» и «полностью с ней солидаризировалась» (Заккрытие съезда..., 1936).

**Статья в «Нью-Йорк Таймс».** Киевская медико-биологическая конференция, назначенная на осень 1936 г., была отменена. Ее главный организатор акад. АН УССР И.И. Агол был арестован. 8 декабря Мёллер из Москвы неофициально сообщает президенту Постоянного международного комитета О.Л. Мору в Осло, что было сочтено нецелесообразным проведение Конгресса следующим летом и что официальное сообщение вскоре последует. 13 декабря из Москвы идет радиграмма, и на следующий день «Нью-Йорк Таймс» печатает уравновешенную статью информированного корреспондента об отмене Москвой проведения в СССР всемирного генетического конгресса. Среди советских ученых некоторые наиболее выдающиеся ученые обвинены руководителями компартии в том, что они разделяют взгляды германских фашистов на генетику и даже покрывают «троцкистов»; это стало причиной отмены. Ботаник Т.Д. Лысенко, получивший



признание правительства за опыты по «яровизации», оспорил ценность классической генетики, включая законы Менделя и хромосомную теорию, заклеил их как «формальные» и не имеющие практической ценности. Лысенко заявил, что «генетика – развлечение, как шахматы или футбол», и критиковал ВИР и акад. Н.И. Вавилова за отрыв от практики. Профессора Агол и Вавилов, – продолжает газетная статья, – арестованы в Киеве по обвинению, связанному с троцкизмом. Недавно профессор Левит стал объектом жесткой критики партийной печати; это подтверждает, что он попал в немилость у руководителей компартии, которые управляют всеми сторонами советской жизни, включая науку, литературу и искусство, а не только экономику и политику. Кульминацией кампании стало обвинение проф. Левита [на собрании 13 ноября] в разработке его институтом научных взглядов, враждебных советским теориям и дружественных нацистам, что удивительно ввиду его опубликованных теорий, – отменила газета (*Moscow cancels...*, 1936).

После торжественного открытия сессии ВАСХНИЛ «Известия» печатают «Ответ клеветникам» на статью двухнедельной давности: 1. «В СССР действительно не существует той “свободы” генетической науки, под которой в некоторых государствах понимают свободу убийства людей или свободу уничтожения целых народов из-за их будто бы “неполноценности”». 2. Действительная интеллектуальная свобода существует только в СССР. Свидетельство – публичная дискуссия по генетике, которая идет в Сельскохозяйственной академии: «На заседании Академии, якобы арестованный, Вавилов выступает, как уже известно из советской печати, 22 декабря с докладом, критикующим научные воззрения молодого ученого Лысенко, а последний – выступает с докладом, критикующим антидарвинистический характер некоторых теоретических положений Вавилова. Насчет ареста Вавилова “Нью-Йорк Таймс” просто наврал». (Сталин занимался Конституцией; отмена Конгресса не была объявлена; и арест был отложен почти на 4 года. Но пафос текста заключался в том, что Вавилов теперь олицетворяет “отжившее, старое”, на которое, по формуле Сталина, следует в свое время “поднять руку”). 3. «Господин Агол, ничего общего

не имеющий с наукой, действительно арестован следственными органами за прямую связь с троцкистскими убийцами» (это означало смертный приговор). 4. «Генетический конгресс, ранее назначенный на 1937 г., действительно отложен на некоторое время по просьбе ряда ученых» (возможно, Сталина), «пожелавших удлинить сроки своей подготовки к конгрессу...» (Ответ клеветникам..., 1936).

На следующий день газета печатает заметку Н.И. Вавилова, опровергающую мнение о несвободе исследований в СССР и сообщение о его аресте (Телеграмма академика..., 1936), еще через два дня – слова Генри Уорда, секретаря Американской ассоциации развития науки (AAAS): он рад, что Вавилов не арестован; он надеется на дальнейшее плодотворное развитие науки в СССР (Нью-Йорк Таймс..., 1936).

#### **Вопросы генетики человека на сессии.**

Н.И. Вавилов избегал конфронтации и демонстрировал лояльность к партийному руководству. Он настаивал, чтобы Г.Г. Мёллер, один из четырех основных докладчиков, не касался генетики человека и ламаркизма. Но Мёллер, поддержанный Н.К. Кольцовым, объединил эти вопросы в заключительной части доклада. Он другими словами повторил аргумент Ю.А. Филиппенко 1925 г., известный ему от Кольцова, стойкого защитника генетики, ставшего в дискуссии 1936 г. лидером наиболее активной антилысенковской части аудитории. Основную часть доклада Мёллера зачитал Кольцов. Поблагодарив его, Мёллер прочел заключение, замененное в опубликованной стенограмме тремя вялыми бесцветными фразами. Приведем этот энергичный фрагмент по стенограмме.

«Мы должны удвоить наше внимание, чтобы не только высоко держать знамя в больших теоретических разделах нашей области, но даже еще выше в отношении той связи теории с практикой, какую мы покажем. Если, однако, наши выдающиеся практики будут высказываться в пользу теорий и мнений, явно абсурдных для каждого обладающего хотя бы элементарными знаниями в генетике, как положения, выдвинутые недавно Презентом, Лысенко и их единомышленниками, то ученые, являющиеся друзьями СССР, будут глубоко шокированы, ибо в данном случае стоящий перед нами выбор аналогичен выбору между знахарством и

медициной, между астрологией и астрономией (*Аплодисменты*), между алхимией и химией.

Наконец, необходимо отметить, что если бы ламаркизм, идейная группа которого боролась здесь против генетики, получил здесь широкое распространение, то этим была бы создана благодатная почва для сильной идеологической поддержки претензий фашистов, верящих в сохранение зародышевой плазмы.

Должен казаться совершенно естественным вывод, что поскольку пролетарии всех стран и особенно колониальных в продолжение долгого времени были в условиях недоедания, болезней и при отсутствии возможностей для умственного труда и фактически были рабами, то они должны стать за это время по своим наследственным задаткам и биологически низшей группой по сравнению с привилегированными классами (*Аплодисменты*) как в отношении физических, так и умственных черт. Ведь согласно этой теории подобные фенотипические признаки должны были в некоторой степени отразиться и в половых клетках, развивающихся как часть соматических тканей.

То обстоятельство, что эта порочная и опасная доктрина была бы логическим следствием ложных ламаркистских предпосылок, которые в настоящее время выдвигаются противниками генетики, должно заставить взяться с особенной резкостью поддерживать перед всем миром критическую научную концепцию наследственности и изменчивости. Обострение борьбы с фашизмом, свидетелями которой мы в настоящее время являемся, делает это особенно настоятельным (*Продолжительные аплодисменты*)» (РГАЭ. Ф. 8390. Оп. 1. № 763. Лл. 210–212).

А.С. Серебровский выступил с четким и содержательным докладом, включавшим критику лысенковщины, и возразить ему по сути дела лысенковцы не могли. Поэтому критики обратились к его старым антропогенетическим идеям (совпадающим с идеями Мёллера), характеризуя их как *мусор* и *фашистский бред*. Серебровский повторно *разоружился* и упомянул целый ряд грубейших политических и антинаучных, антимарксистских ошибок (Бюллетень № 8, 1936). Газеты сообщили, что «бредовую теорию акад. А.С. Серебровского... фашизм охотно включит в свою программу» (Известия. 26 декабря 1936). Так широкой пуб-

лике навязывалось определенное отношение к медицинской генетике.

**Разгром МГИ.** В начале апреля 1937 г. Н.И. Вавилов сообщил председателю Постоянного международного комитета О.Л. Мору, что несколькими днями ранее было получено определенное решение правительства о Конгрессе в Москве в 1938 г. В середине июня Мор обращает внимание на то, что новое письмо подписано в качестве генерального секретаря Оргкомитета Мейстером, а не С.Г. Левитом. В Москве 22 июня 1937 г. 13 генетиков подписывают письмо Мору в поддержку Конгресса в СССР.

Тем временем в мае–июне 1937 г. Комиссия Наркомздрава обследует МГИ. Ее заседания идут в спокойной, деловой обстановке, но атмосфера резко меняется: появляются необоснованные претензии, клевета и предательства. Тем не менее в заключении Комиссии было подчеркнуто, что МГИ должен быть сохранен.

Одновременно на июньском пленуме ЦК партии, где Сталин выдвигал Л.П. Берия и проводил предложение ввести упрощенный порядок следствий по политическим делам, произошло нерядовое событие. Г.Н. Каминский выступил с резкой критикой Берия. По позднейшим воспоминаниям Н.С. Хрущева, был мгновенно объявлен перерыв, после которого Каминский больше на публике не появлялся. Накануне пленума кандидат в члены ЦК Каминский был на «чашке чая», где в узком кругу высокопоставленных партийцев обсуждались способы смещения Сталина с поста генсека. Там был провокатор, и операция НКВД носила, по Антонову-Овсеенко, то же название: «Чашка чая». Поэтому Сталин воспринял выступление Каминского – друга С.Г. Левита и покровителя МГИ – как сигнал к восстанию.

5 июля 1937 г. С.Г. Левит был снят с поста директора МГИ; 13 июля снят с работы в МГИ (он заведовал лабораторией и был старшим научным сотрудником). Вскоре МГИ был закрыт; большинство сотрудников уволено. Немногие оставшиеся составили лабораторию при ВИЭМ, не прославившуюся яркими исследованиями; она была ликвидирована осенью 1939 г.

С.Г. Левит был арестован в ночь с 11 на 12 января 1938 г.; 17 мая приговорен к смертной казни за терроризм и шпионаж (основанием послужили изъятые при обыске пишущая

машинка, фотоаппарат, кинжал) и 29 мая расстрелян.

С.Г. Левит реабилитирован посмертно 5 сентября 1956 г.

### Судьба медицинской генетики

**После МГИ.** Когда Сталин весной 1937 г. разрешил проведение VII Конгресса в Москве в августе 1938 г., он блефовал. В июле два члена Постоянного международного комитета голосовали, безусловно, за СССР, два – условно, восемь – определенно против. VII Конгресс прошел в Эдинбурге в августе 1939 г. А в Москве в октябре 1939 г. состоялась новая дискуссия по генетике, теперь при редакции журнала «Под знаменем марксизма». В докладе С.Н. Давиденков (там он осуждал евгенику американского и германского типа, а себя к таким евгенистам не причислял) охарактеризовал дух времени. Назвав ряд успехов применения генетики в клинической неврологии, он отметил: «...Доцентура по генетике, которая была в ленинградском Институте усовершенствования врачей, уничтожена, и вообще атмосфера работы очень тяжелая. Вы чувствуете себя так, как будто протаскиваете враждебную идеологию, и часто кто-нибудь дает дружеский совет (я недавно получил дружеский совет одного видного врача по нашей специальности): бросьте заниматься генетикой, слово “наследственность” нельзя произносить» (Стенограмма дискуссии..., 1939).

С.Н. Давиденков тогда подводил итоги многолетней работы, которая увенчалась гипотезой *условных тропизмов*, изложенной в замечательной монографии «Эволюционно-генетические проблемы в невропатологии». Издание книги, представленной на Сталинскую премию, задержалось из-за войны, и она вышла в свет в Ленинграде только в 1947 г. Жизнь ее была недолгой. Августовская сессия ВАСХНИЛ 1948 г. провозгласила запрет теории гена. 25 августа известный карьерист Н.И. Гращенков напечатал в газете «Медицинский работник» погромную критику книги С.Н. Давиденкова, озаглавленную «Откровенная пропаганда идеализма». 9–10 сентября 1948 г. Президиум АМН СССР официально запретил медицинскую генетику.

Вопросы медицинской генетики на августовской сессии ВАСХНИЛ (1948 г.) не обсужда-

лись. Однако Борис Ефимов, чьи политические карикатуры редактировал лично Сталин, снабдил статью «Мухолобы–человеконенавистники» А.Н. Студицкого в популярном «Огоньке» (1949, № 11) рисунками, которые не оставляли сомнений в преступности медицинской генетики (врач – убийца в белом халате – изображен в компании куклуксклановца и гангстера-полицейского).

**Восстановление науки.** Спустя десятилетия были созданы лаборатории В.П. Эфроимсона, А.А. Прокофьевой-Бельговской, Е.Э. Погосян, М.А. Арсеньевой, планы которых включали вопросы медицинской генетики.

Межвузовская конференция по экспериментальной генетике 1961 г. с фантастически богатой программой (запрещенная в последний момент) включала 30-минутный доклад А.А. Прокофьевой-Бельговской (ученицы Ю.А. Филипченко и Мёллера) «Цитогенетика человека». Там был доклад ученицы С.Н. Давиденкова Н.А. Крышовой (с соавторами) о географическом распределении и наследственности прогрессивной мышечной атрофии и еще два, по близнецовому методу, да и другие доклады по смежным темам.

В конце 1962 г. Институт экспериментальной медицины АМН СССР организовал симпозиум по изучению проблем медицинской генетики. К симпозиуму был подготовлен сборник «Проблемы медицинской генетики» под редакцией действительного члена АМН СССР Д.А. Бирюкова, на тот же 1962 г. был запланирован его выход в свет. Сборник был запрещен, запрет потерял силу лишь после полуосуждения лысенковщины в октябре 1964 г. при снятии Н.С. Хрущёва с поста первого секретаря ЦК КПСС и разрешении генетики. Сборник был выпущен в свет в 1965 г. Ленинградским отделением издательства «Медицина».

В 1964 г. еще до снятия запрета на генетику вышел в свет первый современный учебник «Введение в медицинскую генетику» В.П. Эфроимсона. Потом были сборники научных трудов и переводные руководства. Наконец, в 1969 г. был организован Институт медицинской генетики АМН СССР, ядро которого составили сотрудники отдела Н.В. Тимофеева-Ресовского и лабораторий А.А. Прокофьевой-Бельговской и В.П. Эфроимсона. При этом планировался

специальный журнал, но он не возник. Первый с 1930-х гг. журнал, посвященный изучению человека, «Человек» был создан в 1990 г. при Академии наук СССР и ее Институте человека. Лишь в 2001 г. Общество медицинских генетиков организовало свой «Журнал медицинской генетики».

Политическая «машина» удерживала сталинский запрет на ознакомление широкой публики с достижениями медицинской генетики, да и с фактом ее существования. (Такой запрет всегда располагает к созданию монополии по типу лысенковской.) Конечно, позволялись учебники, сборники трудов, монографии. Но даже появление статьи о генетике и эволюции человека в более общем издании, вроде журнала «Вопросы философии», становилось событием, о котором говорили.

Популярные и литературные журналы были для этих тем закрыты. Поэтому появление в «Новом мире» (1971, № 10) очерка проф. В.П. Эфроимсона «Эволюция альтруизма» и очерка акад. Б.Л. Астаурова «*Homo sapiens et humanis*» вызвало широкий общественный резонанс, но также и попытку рвущегося к монополии акад. Н.П. Дубинина обвинить борца за автономию науки Б.Л. Астаурова в чудовищных идеологических преступлениях. Дело шло к осуждению «вражеской вылазки» на заседании президиума Академии наук. Но Б.Л. Астауров разослал участникам копии публикации; крамола не была найдена; заседание не состоялось.

Самый жесткий запрет на медицинскую генетику был наложен в кинематографе. Тем не менее кинорежиссер Е.С. Саканян снял фильм о проблемах медицинской генетики в связи с Конгрессом по генетике в Москве в 1977 г. Фильм «Генетика и мы» вышел на экраны в 1978 г.; автор получил премию Ленинского комсомола.

Два несостоявшихся масштабных проекта описали Р.Л. Берг и В.П. Эфроимсон.

«В 1959 г. С.Н. Давиденкову предложили создать в рамках Академии медицинских наук Институт медицинской генетики. Он созвал генетиков Ленинграда, и они дружно промямлили, что нет людей, знающих генетику, и работать в таком институте некому – подождем, когда Кафедра генетики ЛГУ создаст кадры. Все пристроены, руководят лабораториями в биологических учреждениях, работают в смеж-

ных областях, все травмированы, претерпели гонения, и страх рецидива превращал для них генетику в табу. Причина была мнимой. Они сидели здесь, в роскошной квартире С.Н. Давиденкова на Площади Революции, профессора, способные вырастить сотни специалистов, лишённые этой возможности в сталинское время и отвергающие эту возможность, когда она предоставлялась. П.Г. Светлов, Н.А. Крышова, И.И. Штильбанц, Ю.М. Оленов, И.И. Канаев. Я пыталась отговорить их, С.Н. Давиденков выдвигал свои предложения, но видно было, что и он во власти общей пассивности. Давиденков организовал все же Лабораторию медицинской генетики, и она существует поныне. Он умер, не успев даже наметить тематику лаборатории», – писала Р.Л. Берг (1983, С. 190–191).

В.П. Эфроимсон связал упущенную возможность восстановления медицинской генетики с именем «одного из крупнейших генетиков мира, мирового авторитета» Н.В. Тимофеева-Ресовского, «великолепного исследователя, несравненного педагога и одного из благороднейших людей в кругу крупнейших ученых», которых В.П. Эфроимсону довелось узнать за свою жизнь. Весной 1981-го г. В.П. Эфроимсон произнес горячую речь на его похоронах в Обнинске, где высказывал «глубокую горечь, что Тимофееву-Ресовскому не удалось участвовать в восстановлении медицинской генетики, потому что это не устраивало монополистов...» «То, что Н.В. Тимофееву-Ресовскому пришлось работать не в Москве, и не по генетике человека, области остродефицитной по кадрам, а в биофизике, погрому не подвергшейся, считаю ударом для советской науки». «Конечно, главная беда его после освобождения заключалась в том, что он был титаном в науке, очень нетерпимым и для лысенковцев, и для тех, кто, пользуясь лысенковским засильем, создавали в ущерб делу свои монополии в различных разделах генетики», – говорил Владимир Павлович (по: Саканян, 2002, С. 346).

**Вторая «Первая» Конференция.** Держу в руках сборник материалов «1-я Конференция по медицинской генетике» (Первая Всесоюзная конференция..., 1975) и вижу год выпуска: «1975».

Но первая конференция по медицинской генетике прошла в 1934 г., в Медико-генетическом



институте С.Г. Левита (Конференция..., 1934). Там было большое число видных участников из разных городов СССР и из-за границы. Среди основных докладчиков – блистательные ученые Г.Г. Мёллер, Н.К. Кольцов, С.Г. Левит, С.Н. Давиденков, Т.И. Юдин и др.

Наука, будучи живым телом, непрерывна во времени. Перерыв традиции дает тот же результат, что и временная остановка мозга: возобновят работу лишь отдельные группы нейронов и случайно сохранившиеся нервные связи. Запрет науки резко сокращает количество исследований и обедняет их разнообразие. Но и разрешение науки после перерыва традиции может иметь далеко идущие последствия, нежелательные с точки зрения успехов развития этой науки. Искусственное насаждение любой области деятельности создает возможности скорой карьеры.

10 июня 1977 г. на заседании в Институте медицинской генетики АМН СССР обсуждался вопрос о развитии медико-генетического консультирования в СССР. Было предложено открыть 100 новых консультационных кабинетов в дополнение к наличным 60. Ученик Ю.А. Филипченко и Мёллера, а теперь член Ученого совета ИМГ АМН, Н.Н. Медведев сразу после заседания рассказал историю бурного роста числа пунктов медико-генетического консультирования в СССР, начиная с 5 пунктов в марте 1967 г. Поражало в этой истории то, что в 1977 г. числилось 60 пунктов, хотя специалистов было достаточно лишь для двух или трех.

Но возвратимся к первой и еще одной «первой» конференциям.

В 1934 г. было 7 докладов и свыше 300 участников: дата конференции совпала со свободным временем участников Международного антимревматического конгресса в Москве, и многие замечательные биологи и клиницисты оставили восторженные отзывы в альбоме Медико-биологического института после ознакомления с его работой.

На конференцию 1975 г. было прислано свыше 300 докладов, отобрано около 100, и число авторов совпадало с числом участников. Конференция 1975 г., возможно предвиденная в 1934 г., соответствует зрелому периоду науки, когда основные принципы работы и направления исследований твердо установлены и

идет прогрессивное накопление специальных материалов.

Воздадим же хвалу создателям медицинской генетики в 1934 г. и восхитимся первой ее молодостью.

Автор благодарен академику РАН Ю.П. Алтухову и академику РАМН В.И. Иванову за обсуждение материалов.

Статья подготовлена при поддержке РФФИ; проект № 04-06-80174.

### Литература

- Астауров Б.Л., Рокицкий П.Ф. Николай Константинович Кольцов, 1872–1940. М.: Наука, 1975. 168 с.
- Бабков В.В. Биологические и социальные иерархии. Контексты письма Г.Г. Мёллера И.В. Сталину // Вопр. истории естествознания и техники. 1997. № 1. С. 76–94.
- Бабков В.В. Московская школа эволюционной генетики. М.: Наука, 1985. 216 с.
- Бабков В.В. Н.К. Кольцов и его Институт в 1938–1939 гг. // Онтогенез. 1992. № 4. С. 443–459.
- Бабков В.В. Н.К. Кольцов: борьба за автономию науки и поиски поддержки власти // Вопр. истории естествознания и техники. 1989. № 3. С. 3–20.
- Берг Р. Суховой. N.Y.: Chalidze Publications, 1983. 335 с.
- Братья Тур. В пылу увлечения // Известия. 10 декабря 1936. С. 3.
- Братья Тур. Контрамарка в Пантеон // Известия. 16 ноября 1936. С. 4.
- Большая Советская Энциклопедия. 1931. Т. 23. Стб. 815.
- Бунак В.В. Термин «раса» в зоологии и антропологии // Русский евгенический журнал. 1930. Т. VII. Вып. 4. С. 117–132.
- Бюллетень IV сессии. № 8. 30 декабря 1936. С. 21.
- Вавилов Н.И. VII Международный конгресс генетики в СССР // Известия. 29 марта 1936.
- Варнитсовец. Правая профессура за работой // ВАРНИТСО. 1930. № 2. С. 76–79.
- ГА РФ. Ф. 482. Оп. 25. Д. 835.
- Завадовский Б.М. // Под знаменем марксизма. 1925. № 10–11. С. 100, 106.
- Завадовский Б.М. Дарвинизм и марксизм. М., 1926. С. 76.
- Закрытие съезда невропатологов и психиатров. Выступление тов. Г.Н. Каминского // Правда. 30 декабря 1936. С. 6.
- Карлик Л. Труды МБИ. Вып. III. 1934. Труды МГИ. Вып. IV. 1936 // Под знаменем марксизма. 1936.

- № 12. С. 178–186.
- Кольман Э. Вредительство в науке // Большевик. 1931. № 2. С. 73–81.
- Кольман Э. Черносотенный бред фашизма и наша медико-биологическая наука // Под знаменем марксизма. 1936. № 11. С. 64–72.
- Кольцов Н.К. Родословные наших выдвинутых // Русский евгенический журнал. 1926. Т. IV. Вып. 3–4. С. 103–143.
- Конференция по медицинской генетике. Доклады и прения. М., 1934. 71 с.
- Круглый стол. Вопросы истории советской генетики в литературе последних лет // ВИЕТ. 1988. № 1. С. 121–122.
- Луначарский А. Как возник сценарий «Саламандра» // Советский экран. 1 января 1929. № 1. С. 4.
- М.Ц. Против антинаучных враждебных «теорий» // Комсомол. правда. 15 ноября 1936. С. 2.
- Медведев Н.Н. Юрий Александрович Филипченко, 1882–1930. 2-е изд. М., 2006.
- «Нью-Йорк Таймс» и «Сайенс Сервис» оправдываются // Известия. 24 декабря 1936. С. 3.
- Ответ клеветникам из «Сайенс Сервис» и «Нью-Йорк Таймс» // Известия. 21 декабря 1936. С. 1.
- Первая Всесоюзная конференция по медицинской генетике, Москва, 25–26 ноября 1975 г. / Ред. Н.П. Бочков, В.И. Иванов и др. М., 1975.
- Письмо Германа Мёллера И.В. Сталину. (Публикация Ю. Вавилова, предисловие И. Захарова, статья В. Бабкова) // Вопр. истории естествознания и техники. 1997. № 1. С. 65–94.
- По ложному пути // Правда. 26 декабря 1936. С. 4.
- Презент И. Проблема научных кадров в освещении буржуазного биолога // Под знаменем марксизма. 1931. № 6. С. 160–177.
- Против механистического материализма и меньшевистствующего идеализма в биологии. М.; Л., 1931.
- РГАЭ. Ф. 8390. Оп. 1. № 763. Лл. 210–212.
- Рефераты. Shaw. В защиту дегенератов. (A plea for the degenerate. The Lancet, 1915, p. 1665) // Русский евгенический журнал. 1922. Т. I. Вып. 1. С. 105.
- Рохлина М. Общественный смотр Ин-та экспериментальной биологии // ВАРНИТСО. 1930. № 5. С. 44–48.
- Рохлина М. Революция в институтах физмата I МГУ // ВАРНИТСО. 1930. № 2. С. 79–83.
- Саканян Е.С. ...Чтоб не очень совестно было помирать // В.В. Бабков, Е.С. Саканян. Николай Владимирович Тимофеев-Ресовский. М., 2002.
- Серебровский А.С. Антропогенетика и евгеника в социалистическом обществе // Труды Кабинета наследственности и конституции человека при Медико-биологическом институте. М., 1929. Вып. I. С. 12.
- Серебровский А.С. Письмо в Редакцию // Труды Генетического отделения при Медико-биологическом институте. М., 1930. Вып. II. С. 447–448.
- Соболев Г. Русское евгеническое общество // ВАРНИТСО. 1930. № 5. С. 49–50.
- Стенограмма дискуссии при редакции журнала «Под знаменем марксизма» 1939 г.
- Стенограмма заседания Комиссии Наркомздрава от 15 мая 1937 г.
- Телеграмма академика Н.И. Вавилова в американскую газету «Нью-Йорк Таймс» // Известия. 22 декабря 1936. С. 4.
- Филипченко Ю.А. Действительные члены б. Императорской, ныне Российской Академии наук за последние 80 лет // Изв. Бюро по евгенике. 1925а. № 3. С. 3–82.
- Филипченко Ю.А. Интеллигенция и таланты // Известия Бюро по евгенике. 1925б. № 3. С. 83–101.
- Филипченко Ю.А. Статистические результаты анкеты по наследственности среди ученых Петербурга // Изв. Бюро по евгенике. 1922а. № 1. С. 8–21.
- Филипченко Ю.А. Наши выдающиеся ученые // Изв. Бюро по евгенике. 1922б. № 1. С. 22–38.
- Филипченко Ю. Наследственность приобретенных свойств // Т. Морган, Ю. Филипченко. Наследственны ли приобретенные признаки? Пг., 1925в. С. 56–57.
- Эфроимсон В.П. О скорости мутационного процесса у человека. Рукопись. 1932а. 16 с.
- Эфроимсон В.П. О некоторых проблемах накопления и действия леталей // Биол. журнал. 1932б. Т. 1. В. 3–4. С. 87–102.
- Carlson E.A. Genes, Radiation, and Society. The Life and Work of H.J. Muller. Ithaca. 1981.
- Haldane J.B.S. The rate of spontaneous mutations of a human gene // J. Genet. 1935. V. 31. P. 317–326.
- Moscow cancels genetics parley // The New York Times. 1936. Dec. 14. P. C 17.
- Muller H.J. Out of the Night. A Biologist's View of the Future. Vanguard, New-York, 1935 (репринт: Garland, New-York – London, 1984).

## ГЕНЫ СИНТРОПИЙ И СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫЙ КОНТИНУУМ

В.П. Пузырев, О.А. Макеева, М.В. Голубенко

ГУ Научно-исследовательский институт медицинской генетики  
Томского научного центра СО РАМН, Томск, Россия,  
e-mail: valery.puzurev@medgenetics.ru

Опыт изучения в постгеномный период генетики сложно наследуемых признаков, к которым относятся и широко распространенные заболевания человека, свидетельствует о том, что феном, а не геном является главной проблемой в генетических исследованиях их природы. Эту трудность (противоречие) предвидел в начале XX в. отечественный генетик А.С. Серебровский, сформулировавший положение о единстве бесконечного числа признаков и конечного числа генов, вошедшее имплицитно в разработку современных программ феномных исследований широко распространенных заболеваний. Ранее, во второй половине XIX в., французский клиницист Ш. Бушар обратил внимание на часто встречающийся феномен сочетания определенных болезней у индивида и его родственников, в последующем обозначенных как синтропии – сочетания у одного индивида клинически различных болезней с общим патогенезом. Высказано предположение, что синтропии есть природно-видовое явление, неслучайное и имеющее под собой эволюционно-генетическую основу. В статье обосновывается, что выборка из бесконечного числа признаков фенома человека, составляющая суть отдельных синтропий, однородных по механизмам формирования совокупностей признаков, параметров, болезней и факторов риска, может быть оптимальным объектом поиска для них общих генетических детерминант, названных нами «генами синтропий» («синтропные гены»). Приводятся результаты исследования таких генов для одной из синтропий – болезней сердечно-сосудистого континуума.

### Введение

Среди основных разделов медико-биологических знаний (генетика человека, молекулярная биология, популяционная генетика, сравнительная эволюционная генетика, функциональная геномика и биология клетки, эпидемиология, медицина, биоинформатика), вклад которых важен для понимания наследственных основ возникновения и развития широко распространенных заболеваний человека, две области – генетика человека и медицина – обрамляют проблему реализации генов в фенотипе. Задача первой, генетики человека, – установление соотношения (корреляции) генотипов и фенотипов *in vivo*, а другой, медицины, – дальнейшие систематизация и уточнение клинических фенотипов в стремлении уменьшить их этиологическую гетерогенность (Risch, 2005).

При исследовании в направлениях: генетика–фенетика, ген–фен, генотип–фенотип, генофонд–фенофонд, геном–феном, геномика–фено-

мика просматривается важное различие между геномом и феномом. Оно состоит в том, что во время как геном человека ограничен и состоит из приблизительно 3 млрд пар оснований, хотя и со сложной гаплотипической архитектурой генов, а предел фенома зависит от того, как далеко мы хотим продвигаться в его описании. На эту особенность, отмеченную К. Paigen и J.T. Eppig (2000) при обосновании проекта «Феном мыши», еще раньше, в 1939 г., указывал выдающийся отечественный генетик А.С. Серебровский, обсуждая вопрос о «единстве бесконечного числа признаков и конечного числа генов» (Серебровский, 1973). Следовательно, прежде всего феном, а не геном является главной проблемой в генетических исследованиях комплексных болезней и признаков (Cambien *et al.*, 1999).

Ранее нами (Пузырев, 1991) было высказано положение о том, что объектом генетического исследования может быть избрана не отдельная нозологическая форма мультифакториального заболевания (МФЗ), а совокупность тех из них,

которые одновременно встречаются у одного больного или его ближайших родственников. Такие неслучайные сочетания, мегаформы патологии, названные синтропиями, были предметом исследования клиницистов еще в 20-е годы ушедшего столетия (Lange, 1965). С появлением возможности описания наследственной компоненты подверженности к МФЗ в терминах конкретных генов, накоплением данных о генетической основе отдельных форм патологии было высказано предположение об общих генетических факторах таких синтропий (Пузырев, 2000). В последующем они получили название «гены синтропий» (синтропные гены).

В настоящей работе представлены обоснование для данного подхода, история формирования концепции синтропных болезней и результаты анализа болезней сердечно-сосудистого континуума в данном аспекте.

### Проблема сочетанности заболеваний (синтропии–дистропии)

В современной клинической медицине широко обсуждается феномен сочетания болезней у одного человека (полипатии, множественность болезней). До 20 % терапевтических больных имеют одновременно 4 болезни; у больных старше 60 лет выявляется не менее 3–4 заболеваний и во всех возрастных группах сочетанность болезней выше у женщин, чем у мужчин (Крылов, 2000).

Однако проблема множественных болезней у человека не нова и, вероятно, впервые была обозначена во второй половине XIX в. в концепции «артритизма» Шарлем Бушаром (С. J. Bouchard), поддержанной и другими представителями французской школы патологов и клиницистов (см.: Сахаров, Тареев, 1975). Сам термин происходит от греческого «artron» – «сустав» и обозначает, что у пациентов с болезнями суставов (артриты, подагра, ревматизм) имеются и другие болезни: диабет, ожирение, камни желчных и мочевых путей, ранний атеросклероз, мигрень, невралгии, бронхиальная астма, экзема и некоторые дерматозы. Эта особенная склонность к целому ряду заболеваний, казалось бы, имеющих между собой мало общего, встречается в различных комбинациях или последовательно как у одного и того же инди-

видуума, так и среди многих членов одной и той же семьи. Предполагалось, что в основе таких сочетаний лежат расстройства обмена веществ с характером его понижения (брадитрофия), а в отношении их этиологии подчеркивалась, в первую очередь, роль наследственности.

Понятие артритизма в условиях критического к нему отношения продолжает до сих пор сохранять известный *raison d'être*, пройдя в 20-е годы XIX в. период всплеска дискуссии о «второй болезни» в России (см.: Смольяников, 1979) и рождения в Германии понятия «синтропии» – по сути внимание к прежней, но и сегодня загадочной для патологов проблеме полипатий. В 1921 г. немецкий педиатр М. Пфаундлер предложил «взаимную склонность, притяжение» двух болезненных состояний, называть синтропией, «взаимное отталкивание» – дистропией (Lange, 1965). Позднее отечественные патологи среди этиологически и патологически связанных сочетаний болезней (синтропий, «семейств болезней») выделяли последовательные патологические процессы («цепь болезней») и параллельные процессы. Для болезни, развивающейся на фоне продолжающейся первой болезни (парапроцессы) или возникающей после ее излечения (метапроцессы), обсуждалась равноправность употребления наряду с термином «синтропии» других терминов – «конгломераты болезней», «нозологические мегаформы» (Лифшиц, Амеджанов, 1980). Для этой категории сочетаний болезней в отличие от случайных сочетаний (ассоциации, «соседство болезней») предполагаются общие механизмы их развития, которые обозначены для разных сочетаний болезней как «сумма болезней гомеостаза» (Дильман, 1968), «болезни адаптации» (Казначеев, 1980), «сердечно-сосудистый континуум» (Dzau, Braunwald, 1991; Беленков, Мареев, 2002), синдром «Х» или «метаболический синдром» (Reaven, 1988), апудопатии (Кветной, 1981; Писарев, Киричек, 1990) и др.

Эти предельно общие типы синтропий имеют внутреннюю структурированность, описываемую в терминах отдельных нозологий или их эндофенотипов. Доказательство неслучайности подобных сочетаний (болезней и признаков), обоснование биологической реальности таких взаимоотношений патологических феноти-



пов – трудная задача. Первые доказательства основывались на клинических материалах и клинико-генеалогических сведениях (чаще анамнестических), однако уже на этом этапе широко использовались как общепринятые статистические методы анализа, так и специально разработанные (индекс синтропии) и были попытками осмысленной количественной оценки проблемы синтропии (Lange, 1965). Использовался и материал вскрытий умерших больных, иногда достаточно большой по объему и тщательно унифицированный по методикам анализа биопсионного материала. Так, было проведено исследование в течение трех лет по вопросу синтропии между раковыми заболеваниями и атеросклерозом брюшного отдела аорты на основе 2800 случаев вскрытий (Lange *et al.*, 1966), кстати, отвергнувшее популярную в то время гипотезу о негативной синтропии (дистропии) между раком и атеросклерозом. Однако, по-видимому, более всего в доказательстве реальности синтропий пригоден проспективный подход, опирающийся на положение о том, что заболевание – это динамический феномен. Этот подход стал важнейшей частью в проведении исследований по эпидемиологии хронических неинфекционных заболеваний. Начавшиеся в середине 40-х годов прошлого столетия и активно осуществляемые по сей день, часто крупные проспективные и мультидисциплинарные исследования предоставили надежные факты о реальности феномена синтропии для определенных категорий болезней. Более того, эти данные стали теоретической основой для разработки интегрированных программ профилактики таких заболеваний, дополнительным способом уяснения этиологических и патологических аспектов конкретных форм патологии.

Убедительных и доказательных примеров синтропий к сегодняшнему дню немного. Однако предпосылки к успешному поиску таких феноменов существуют, особенно если этот поиск будет ориентироваться не только на конечные фенотипы (болезни), но и эндофенотипы, смещая при этом акцент в исследованиях с дихотомии к динамичной идее процесса. Основания для этого есть в итогах физиологических исследований. Так, утверждается, что система регуляторных пептидов образует функциональ-

ный континуум (Ашмарин, Королева, 2002); на уровне механизмов регуляции экспрессии генов эпигенетические процессы при развитии нервной системы составляют единый континуум (Анохин, Судаков, 2001); основу физиологической ориентации жизнедеятельности составляют функциональные блоки, число которых ограничено, а в ходе эволюции имеет место рекомбинация этих блоков с целью выбора оптимальных комбинаций (Уголев, 1982).

Накапливаются данные и исследуются механизмы иных вариантов взаимоотношений различных болезней у одного человека, называемых негативными синтропиями или дистропиями. Так, исследование среди норвежских детей показало крайне редкую встречаемость у больных с атопической экземой сахарного диабета 1-го типа (Stene, Joner, 2004); у африканских детей перенесенная корь предотвращает развитие атопии (Taylor-Robinson, 1998), что нашло подтверждение и в других группах населения, для которых отмечено, что перенесенные инфекции в детстве (корь, гепатит А, туберкулез) предотвращают развитие астмы и атопии (von Hertzen, Naahtela, 2000). Некоторые другие примеры дистропий приведены в обзоре А.А. Крылова (2000).

Возвращаясь к проблеме подходов выбора таких признаков из бесконечного их числа в феноме человека, для которых был бы эффективным поиск генетических детерминант, отметим, как нами формулировалось ранее (Пузырев, 1991, 2000), что синтропии представляют именно такую совокупность признаков. Предполагается, что достаточно большое число взаимосвязанных признаков, лежащих в основе патогенеза нозологически разных заболеваний, может определяться конечным числом общих генов.

### **Наследственная основа синтропий (гены синтропий)**

Как уже подчеркивалось, с общепатологических позиций синтропии представляют собой такие группы (сочетания) болезней, в возникновении (этиология) и развитии (патогенез) которых лежат общие закономерности, «общий корень», по образному выражению М. Штерн (Stern, 1995). Наряду с объясняющей

общепатологической гипотезой о неслучайности существования синтропий просматривается эволюционный аспект трактовки накопления в современных популяциях человека определенного спектра болезней, своеобразной «патологической панорамы».

Более широкое распространение сегодня ряда заболеваний рассматривается с точки зрения эволюционных перспектив. Так, рост в урбанизированных популяциях артериальной гипертензии связывают с тем, что ответная реакция по принципу «все или ничего» на опасные ситуации, поддерживаемая отбором в примитивных популяциях, стала редко возможной в цивилизованном обществе – физиологические механизмы реагирования, «заложенные» в геноме на предыдущих этапах эволюции человека, оказываются «вредными» в современном обществе. Другое объяснение – эволюционно оптимальная синхронизация и координация развития и перфузии органов-мишеней во время постнатального периода нарушается из-за современной склонности к переяданию. В отношении сахарного диабета заслуживает внимания давнишняя гипотеза «экономичного генотипа» охотников/собирателей в примитивных популяциях, по которой механизмы хранения и утилизации пищи, «отработанные» отбором, сегодня неэффективны в условиях избытка продуктов питания (Neel, 1962). Оригинальные эволюционные гипотезы высказаны и в отношении других болезней – рака, астмы, неблагоприятных реакций на лекарственные препараты и т. д. (Schork *et al.*, 1998). Эти гипотезы позволяют рассматривать синтропии как природно-видовое явление, неслучайное и имеющее эволюционно-генетическую основу (Пузырев, 2003).

Систематизация результатов изучения генетической основы широко распространенных заболеваний все убедительнее приближает исследователей к обоснованности предположения о том, что нередко клинически различные заболевания, но объединенные по критерию их синтропности, могут контролироваться общим набором генов подверженности. Такие общие гены, определяющие подверженность к конкретным синтропиям, были названы нами синтропными (гены синтропий). Распознавание этих генов, общих для часто сочетаемых

заболеваний, могут привести, на наш взгляд, к общим критериям ранней диагностики и стратегиям терапии.

Среди первых форм патологии, исследованных с точки зрения общих генетических детерминант в их развитии, были аутоиммунные заболевания. Имеется много общих элементов в клиническом фенотипе аутоиммунных заболеваний, методах их терапии, сходны популяционные частоты и соотношения полов (75 % пациентов с аутоиммунными заболеваниями – женщины), нередки сообщения о семейных случаях различных аутоиммунных заболеваний. К. Беккер с соавт. (Becker *et al.*, 1998) приводят результаты анализа сцепления в 23 исследованиях, посвященных полногеномному скринингу аутоиммунных заболеваний человека (рассеянный склероз, болезнь Крона, псориаз, астма и диабет 1-го типа) в сравнении с неаутоиммунными заболеваниями (диабет 2-го типа, шизофрения, биполярный психоз, лептин-зависимое ожирение и гипертензия), а также на животных моделях заболеваний (аутоиммунный энцефалит у мышей, воспалительный артрит у крыс, диабет 1-го типа у мышей и крыс, красная волчанка у мышей). Было показано, что большинство (около 65 %) положительно ассоциированных локусов у человека группируется неслучайным образом в 18 кластеров и имеет место перекрывание локусов подверженности для различных аутоиммунных заболеваний у человека. Сходная закономерность отмечена и для экспериментальных моделей аутоиммунных/иммунных заболеваний. Те кандидатные локусы, которые не попали в идентифицированные кластеры (синглетоны), по мнению авторов, могут быть независимыми и вносить свой вклад в подверженность к заболеванию, тканевой или органной тропизм, хотя и высоко вероятно ложноположительная ассоциация. В контрольной группе болезней (неаутоиммунных) человека взаимосвязь с аутоиммунными кластерами была редкостью. Впервые на необходимость скринирования/сканирования «иммунологического генома» как детекции генетических основ инфекционных, воспалительных и аутоиммунных заболеваний указывалось в начале 1990-х гг. (Epplen, 1992).

Сходная задача была сформулирована генетиками в связи с давнишним наблюдением клиницистов о существовании другой синтропии,

включающей псориаз, псориатический артрит, атопический дерматит и астму. Однако еще в догеномный период изучения отдельно каждого из этих заболеваний было установлено, что псориаз является четким примером *Th*-1 (клеточный иммунитет) заболевания, характеризующегося экспансией *INF*-гамма, в отличие от заболеваний *Th*-2 типа (гуморальный иммунитет), например, астмы, для которой характерна экспансия *IL*4. Геномные исследования этих заболеваний по сути подтвердили это положение: астма, хотя бы частично, но является результатом иных молекулярно-генетических механизмов. Так, к настоящему времени для астмы проведено 11 полногеномных исследований, которые согласованно идентифицировали несколько локусов, содержащих гены подверженности к заболеванию, включая хромосомы 2, 4, 5, 6, 7, 11, 12, 13 и 16, в том числе тонким картированием и позиционным клонированием идентифицированы три новых гена подверженности к астме: *ADAM33* (ген мембранно-связанной цинк-зависимой металлопротеиназы на хромосоме *20p13*), *PHF11* (ген-модулятор транскрипции на хромосоме *13q14*) и *DPP10* (ген пролинпептидазы на хромосоме *2q14*) (Weiss, Raby, 2004). Было показано, что локусы астмы и атопического дерматита, идентифицированные геномным сканированием, практически не перекрываются (Bowcock, Cookson, 2004). В то же время недавний анализ 12000 транскриптов показал, что большинство из исследованных генов сходно экспрессируются при атопическом дерматите и псориазе (Nakatani *et al.*, 2001). Следовательно, в предполагаемой ранее синтропии, включавшей 4 болезни, астма в генетической основе существенно отличается от других 3 заболеваний.

В последние годы широко исследуется новый класс патологических состояний – серпинопатии, которые являются следствием сходных молекулярных механизмов (Crowther *et al.*, 2004). К семейству сериновых протеаз – серпинам (serpin – *ser*in protease inhibitors) относятся  $\alpha_1$  – антитрипсин (*AAT*), определяющий эластические свойства легочной ткани; антитромбин, контролирующий свертывание крови; *C*<sub>1</sub>-ингибитор, регулирующий реакции каскада системы комплемента; различные ингибиторы плазминогена, активация которых ингибирует

процессы фибринолиза. Семейство этих протеаз характеризуется более чем 30 %-й сиквенсной гомологичностью с *AAT* и сохранением третичной структуры (Crowther *et al.*, 2004). Мутации генов данных протеаз являются причиной таких заболеваний, как эмфиземы легких, болезни печени, некротизирующий панникулит, нефрит и другие. Общий механизм их развития позволяет разные болезни отнести к одной синтропии, а общие гены, лежащие в основе их развития, отнести к синтропным.

Систематика болезней человека в настоящее время носит описательный характер, классификации далеки от идеальных – сущностных. Примером сущностной классификации является периодическая система Д.М. Менделеева. Собственно, это единственный пример. Возможно, подход к классификации патологий человека через выделение синтропий и соответствующих им генов может оказаться плодотворным.

#### Концепция сердечно-сосудистого континуума

Эпидемиология хронических неинфекционных заболеваний в мире начиналась с патологии сердечно-сосудистой системы полвека назад. За этот период многочисленные проспективные наряду с клиническими и экспериментальными, исследования привели к созданию теории единого сердечно-сосудистого континуума, или непрерывного развития сердечно-сосудистых заболеваний от факторов риска до гибели пациента.

Основополагающими для формирования концепции сердечно-сосудистого континуума стали работы Дзау и Браунвальда начала 1990-х годов (Dzau, Braunwald, 1991). Авторы обратили внимание на связь между гипертензией и другими сердечно-сосудистыми заболеваниями. Действительно, артериальная гипертензия, ГЛЖ (гипертрофия левого желудочка), сахарный диабет 2-го типа, ожирение и дислипидемия – каждый из этих факторов в отдельности является самостоятельным фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний, однако чаще всего наблюдается сочетание (синтропность) всех этих патологических состояний у одного человека, а нередко и у ближайших родственников больных. Дальнейшие исследования

привели к пониманию роли ремоделирования сердца как необходимой стадии развития континуума. Ремоделирование при артериальной гипертензии, с одной стороны, является компенсаторной реакцией, дающей сердцу возможность работать в условиях повышенного давления, а с другой – одним из этапов прогрессирования изменений, приводящих к формированию дисфункции левого желудочка и развитию сердечной недостаточности (Levy *et al.*, 1990; Post *et al.*, 1994).

На рис. 1 показано, как события, происходящие вследствие воздействия известных факторов риска, таких, как артериальная гипертензия (АГ), дислипидемия, диабет, развиваясь по нескольким возможным сценариям, приводят к ремоделированию сердца. Таким образом, становится очевидным, что многие сердечно-сосудистые заболевания патогенетически связаны между собой. Их сочетание формируется в онтогенезе либо параллельно, либо последовательно, и они могут быть отнесены, по нашему мнению, к синдромам. Изучение генетики ремоделирования в контексте поиска синтропных генов может иметь важнейшее значение в понимании генетических основ

сердечно-сосудистых заболеваний, поскольку именно ремоделирование в конечном итоге приводит к формированию хронической сердечной недостаточности и определяет прогноз болезни. С позиции существования синтропных генов неслучайным выглядит тот факт, что одни и те же гены исследуются при чрезвычайно широком круге патологических состояний. В основе сочетанности патологий может лежать феномен плеiotропии генов. Например, для гена *ACE*, играющего ключевую роль в регуляции активности ренин-ангиотензиновой системы, показаны ассоциации не только с целым рядом сердечно-сосудистых заболеваний (артериальной гипертензией, коронарным атеросклерозом, инфарктом миокарда, инсультом, венозными тромбозами, ГЛЖ), но и с ожирением, нефропатией, ревматоидным артритом и ревматическим пороком сердца, осложнениями сахарного диабета 1-го и 2-го типов, осложнениями беременности, такими, как преэклампсия и гестоз, болезнью Альцгеймера, раком молочной железы и т. д. (рис. 2). Только изучению полиморфного варианта по вставке/отсутствию *Alu*-элемента (полиморфизм I/D) в 16-м интроне гена посвящено более

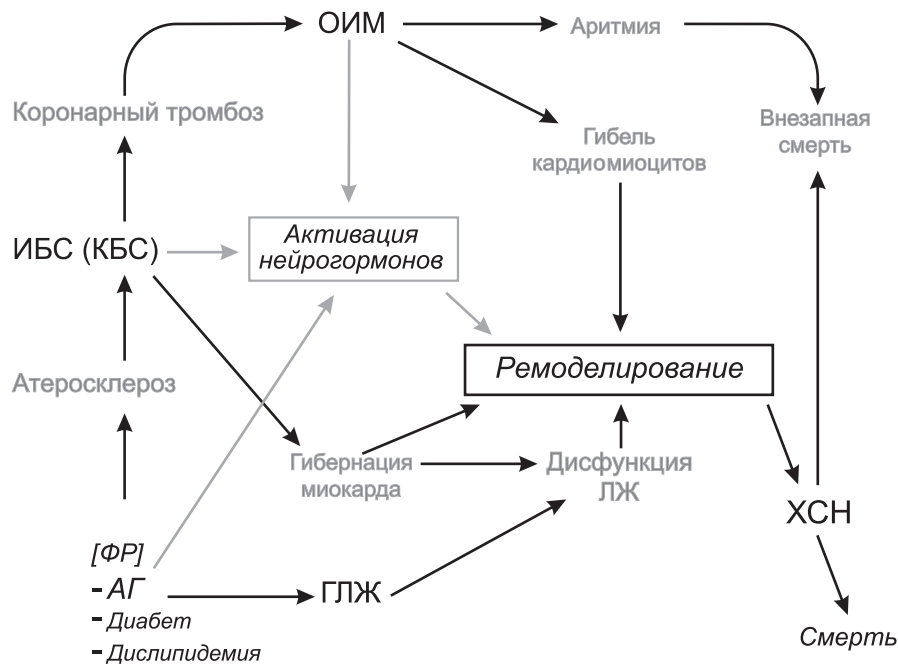
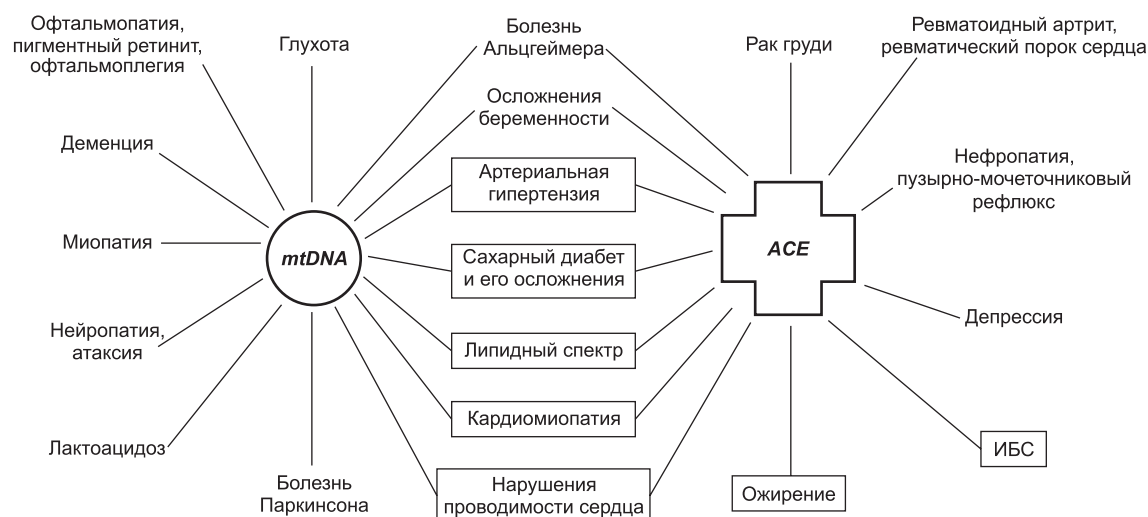


Рис. 1. Сердечно-сосудистый континуум (Беленков, Мареев, 2002).

ОИМ – острый инфаркт миокарда, ХСН – хроническая сердечная недостаточность, ФР – факторы риска, АГ – артериальная гипертензия, ИБС (КБС) – ишемическая (коронарная) болезнь сердца.





**Рис. 2.** Плейотропные и синтропные эффекты генов на примере митохондриальной ДНК (*mtDNA*) и гена ангиотензинпревращающего фермента (*ACE*).

Выделены фенотипы, входящие в сердечно-сосудистый континуум.

1000 работ (Luft, 2004). Полиморфизмы в гене ангиотензиногена (*AGT*) стоят на втором месте по количеству работ, посвященных изучению ассоциаций с различными заболеваниями, насчитывая более 500 публикаций.

Другой пример генетического локуса с плейотропным эффектом – митохондриальный геном человека. Известны так называемые митохондриальные болезни, обусловленные мутациями в митохондриальной ДНК. Митохондриальные болезни – пример, иллюстрирующий общую генетическую основу для, казалось бы, не связанных друг с другом заболеваний. Например, сочетание диабета и нейросенсорной глухоты у носителей мутации A3243G: 61 % пациентов с диабетом и мутацией A3243G в гене тРНК лейцина (UUR) имели глухоту (Kadowaki *et al.*, 1994).

В основе всех митохондриальных болезней лежит один базовый дефект – недостаточность системы синтеза АТФ. Для большинства болезней можно выделить общие эндофенотипы, например, лактат-ацидоз – накопление молочной кислоты в тканях, вызванное активацией анаэробного дыхания вследствие недостаточного аэробного синтеза АТФ. Другие эндофенотипы многих митохондриальных синдромов – «рваные красные волокна» при микроскопическом исследовании биоптата мышц, а также снижение

активности ферментов дыхательной цепи. Неблагоприятные последствия мутаций для тканей и органов зависят от энергетической потребности тканей и от уровня гетероплазии – доли мутантных мтДНК от общего числа молекул мтДНК в клетке. Сильнее всего страдают мышечная и нервная ткани. Среди характерных симптомов – миопатия, кардиомиопатия, атаксия, пигментный ретинит, глухота, офтальмоплегия, нарушения сердечной проводимости, сахарный диабет (Краснопольская, Захарова, 1998). Наряду с синдромами, вызываемыми патологическими мутациями мтДНК, открытым остается вопрос о роли «нормального» популяционного полиморфизма мтДНК в патогенезе мультифакториальных состояний. Известен феномен накопления соматических мутаций мтДНК с возрастом. Логично предположить, что такие болезни, как диабет, нейродегенеративные расстройства пожилых (болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона), сердечно-сосудистые заболевания содержат в своей генетической основе и митохондриальный компонент. Митохондриальный геном человека характеризуется очень высокой вариабельностью в популяциях, и этот полиморфизм активно изучается в эволюционно-генетическом аспекте. Вместе с тем многие «маркерные» полиморфизмы представляют собой миссенс-замены или же замены в

генах рибосомальных и транспортных РНК. Например, полиморфизм A10398G (+DdeI) ведет к замене треонина на аланин в третьей субъединице NADH-дегидрогеназы. Эта замена характеризует митохондриальные гаплогруппы J, K (европеоидные), M, Y, B5 (монголоидные). Трансверсия C5178A (-AluI), ведущая к замене лейцина на метионин во второй субъединице NADH-дегидрогеназы, является определяющей для азиатско-специфичной гаплогруппы D. Миссенс-полиморфизмы – это вероятные кандидаты с точки зрения их функциональной значимости. Исследования, посвященные роли полиморфизмов мтДНК в формировании подверженности к распространенным заболеваниям, относительно немногочисленны. Однако и для гаплогруппы J, и для гаплогруппы D была показана ассоциация с долгожительством в некоторых популяциях (Niemi *et al.*, 2003). Для гаплогрупп J и K был выявлен протективный эффект в случае болезни Паркинсона (van der Walt *et al.*, 2003). Интересны ассоциации, полученные для популяционных вариантов в регуляторных участках мтДНК: ассоциация варианта T16189C с сахарным диабетом 2-го типа (Poulton *et al.*, 2002), ассоциация полиморфизма T16519C (+HaeIII16517) с уровнем триглицеридов (Hegele *et al.*, 1997), с отягощенным акушерским анамнезом – гипоксией плода (Голубенко и др., 2000), артериальным давлением (Фрейдин и др., 1999), нарушениями сердечной проводимости (Никулина и др., 2003), ассоциация 9-нуклеотидной делеции V межгенного района с интервальными оценками ЭКГ (Фрейдин и др., 1999). Учитывая то, что для перечисленных позиций характерны повторные мутации, и они, таким образом, не маркируют определенные гаплогруппы или линии мтДНК, можно предположить, что некоторые регуляторные полиморфизмы мтДНК могут иметь функциональное значение и вносить вклад в предрасположенность к распространенным заболеваниям. Спектр этих фенотипов, относящихся к сфере компетенции митохондриальной генетики (Пузырев и др., 2001), может включать нейродегенеративные и сердечно-сосудистые заболевания, а также диабет.

Приведенный пример только для двух локусов (ядерного и митохондриального) показывает, что спектр плейотропных эффектов гена

*ACE* и мтДНК частично перекрывается (рис. 2). Это иллюстрирует сложную связь между множеством генов и множеством признаков. Анализ подобных связей позволит обозначить совокупности фенотипов, на которые влияют определенные группы генов с синтропными эффектами.

### Гены болезней сердечно-сосудистого континуума

Нами проведено исследование наследственной компоненты ремоделирования сердца, включавшее анализ (1) больных с эссенциальной гипертонией (ЭГ); (2) больных, имеющих сочетание артериальной гипертонии и сахарного диабета 2-го типа (СД2); и (3) больных с моногенной формой гипертрофии миокарда – гипертрофической кардиомиопатией (ГКМП). Для анализа были выбраны 9 ключевых генов, регулирующих гипертрофический ответ миокарда на разных этапах (см. рис. 3): *ACE* – ген ангиотензин I-превращающего фермента; *AGTR1* – рецептора к ангиотензину II 1-го типа; *NOS3* – ген эндотелиальной синтазы оксида азота; *TNF* – фактора некроза опухолей альфа; *GNB3* –  $\beta 3$ -субъединицы G-белка; *MYH7* – тяжелой цепи  $\beta$  миозина; *MYBPC3* – миозинсвязывающего белка C; гены кальцинеуринового пути – *GATA4* и *PPP3CA*, кодирующие транскрипционный фактор, – GATA-связывающий белок-4 и ген кальцинеурина A альфа соответственно.

Было использовано два подхода: во-первых, изучались ассоциации полиморфных генетических вариантов с эхокардиографическими параметрами (такими, как масса миокарда ЛЖ, индекс массы миокарда ЛЖ, толщина задней стенки ЛЖ, толщина межжелудочковой перегородки, конечный диастолический размер и индекс ремоделирования), которые являются важными эндофенотипами, определяющими тип ремоделирования левого желудочка, и, во-вторых, с качественным показателем – наличием/отсутствием ГЛЖ (исследование «случай–контроль»). Для восьми из девяти изученных генов были выявлены ассоциации с параметрами ЛЖ, причем ген тяжелой цепи  $\beta$  миозина был вовлечен в формирование гипертрофии сердца во всех трех патологических выборках, а полиморфные варианты генов ми-

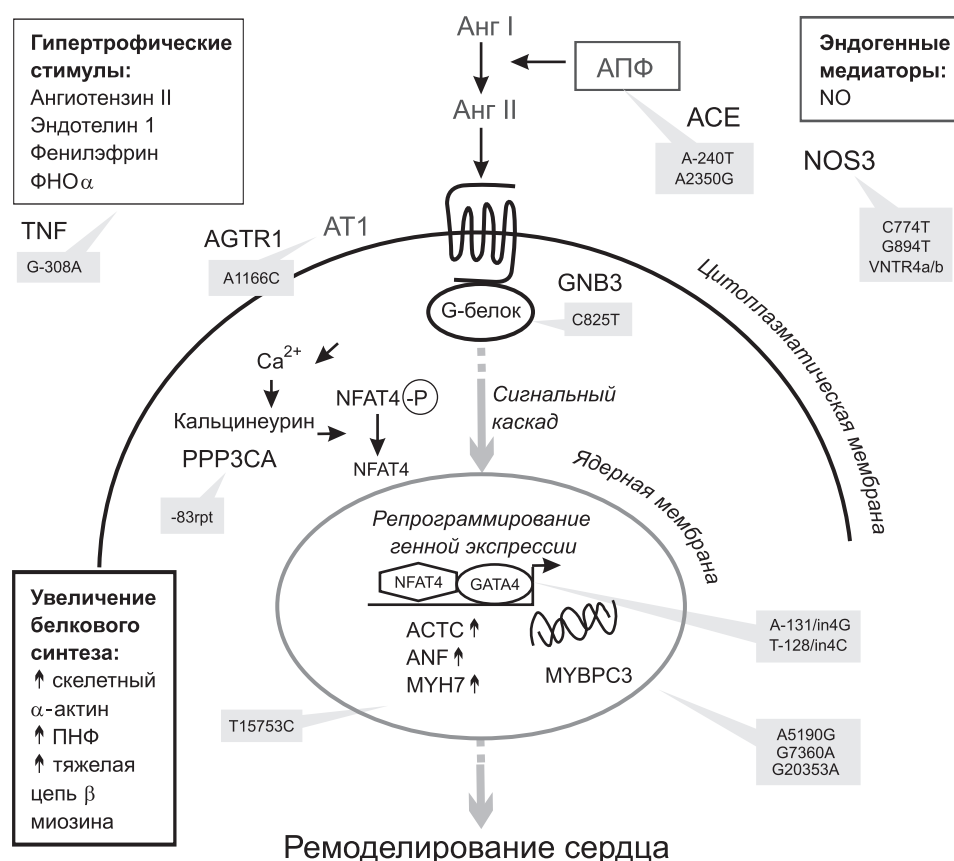


Рис. 3. Схема гиперτροφического ответа, изученные гены и полиморфизмы.

озинсвязывающего белка C, *GATA4*, эндотелиальной синтазы оксида азота и  $\beta 3$ -субъединицы G-белка показали ассоциации с параметрами миокарда одновременно в двух обследованных выборках (ЭГ и ГКМП, ЭГ и АГ в сочетании с СД2 или АГ в сочетании с СД2 и ГКМП). Методом «случай–контроль» были установлены ассоциации с фенотипом ГЛЖ (или ГКМП) для 4 генов, причем 2 из них были общими для двух выборок (ген эндотелиальной синтазы оксида азота – для артериальной гипертензии, сочетающейся с СД2, и для ГКМП, а ген рецептора к ангиотензину II – для эссенциальной гипертензии и ГКМП).

Таким образом, большая часть исследованных генов, с которыми получены ассоциации, составляют группу синтропных генов, хотя вклад отдельных полиморфизмов и их эффекты значительно варьируют. Механизм взаимосвязи может быть обусловлен координированной экспрессией этих генов, образующих единую генную сеть. Можно предположить следующую цепочку событий (см. схему на рис. 3): наслед-

ственно обусловленная повышенная активность ренин-ангиотензиновой системы (например, связанная с наличием определенных аллелей гена *ACE*) приводит к повышенному образованию ангиотензина II. Взаимодействие последнего с рецепторами 1-го типа (ген *AGTR1*) на поверхности кардиомиоцитов через G-белок-зависимые механизмы (*GNB3*) запускает внутриклеточный сигнальный путь, активирующий Ca/кальмодулин-зависимую протеинкиназу – кальцинеурин (*PPP3CA*). Кальцинеурин дефосфорилирует фактор *NFAT4*, который, получая способность транслоцироваться в ядро, взаимодействует с фактором транскрипции типа цинковых пальцев – *GATA*-связывающим белком 4 (*GATA4*) и активирует транскрипцию генов гиперτροφического ответа (*MYH7*, *ACE*, *AGTR1*, *TNF* и т. д.).

Установление различий в структуре генетической компоненты подверженности к гипертрофии миокарда при разных пусковых механизмах (специфические гены для каждого вида гипертрофии) может служить ориентиром для патогенетической терапии и

стать в будущем основой для этиологической (молекулярной) классификации. В частности, выявлено, что при эссенциальной гипертензии определяющая роль принадлежит полиморфным вариантам генов ренин-ангиотензиновой системы (*ACE* и *AGTR1*), они детерминируют около 6–8,5 % межиндивидуальной вариабельности индекса массы миокарда ЛЖ и влияют на параметры артериального давления, в то время как при сочетании артериальной гипертензии с сахарным диабетом наибольший вклад в генетическую предрасположенность к ГЛЖ вносят функциональные варианты гена эндотелиальной синтазы оксида азота (*NOS3*) – до 8 %. При ГКМП наиболее существенная роль в определении тяжести фенотипа принадлежит генам сократительных белков: показано, что не только мутации, но и полиморфные варианты последовательности генов *MYH7* и *MYBPC3* влияют на степень гипертрофии ЛЖ. Впервые было показано, что вклад генов сократительных белков не ограничивается только ГКМП: при эссенциальной гипертензии, сопровождающейся развитием ГЛЖ, полиморфизм в 24-м экзоне *MYH7* (T15753C) отвечает за 11 % варьирования индекса массы миокарда ЛЖ, а G20353A в 30-м экзоне *MYBPC3* – за 13 %.

Следует заметить, что темп детекции генов, имеющих отношение к тем или иным болезням-синдромам, может быть существенно увеличен с использованием современных технологий. Так, недавно был предложен биочип для генотипирования индивидов на подверженность к сердечно-сосудистым заболеваниям по 35 биаллельным маркерам 15 генов, участвующих в нескольких биохимических путях, – липидный и гомоцистеиновый метаболизм, регуляция уровня давления, тромбоз, адгезия лейкоцитов (Cheng *et al.*, 1999). На самом деле генов-участников патологического процесса, названного сердечно-сосудистым континуумом, значительно больше.

### Заключение

«Феном», по аналогии с термином «геном», определяется как точное фенотипическое представление вида (Freimer, Sabatti, 2003). Тогда феномике, как и геномике в отношении генома, предстоит обрисовать схему структуры фенома, обозначить вариабельность феноти-

пических (морфологических, биохимических, физиологических или характеристик развития организма) составляющих фенома. Осуществимость этой задачи – труднейшая проблема, исходя из тезиса о «бесконечности признаков». Концепция синтропий и синтропных болезней, не совпадающая с клинической традицией (где в центре внимания диагноз, нозология), предлагает, на наш взгляд, некий способ приближения к структурированию сложного фенома. Диагноз представляет лишь вершину айсберга фенотипических вариаций в человеческих популяциях, включающих также эндофенотипы (промежуточные фенотипы, субклинические признаки). «Не обращая внимания на диагноз» – такая переориентация на конгломераты болезней (синтропии), как предполагается, позволит выделить общие биологические связи и общие генетические детерминанты, присущие существенной выборке из фенома человека.

В то же время, оглядываясь назад на скромные успехи исследований ассоциаций кандидатных генов с фенотипом (отдельными признаками и болезнями), которые представляют малую часть генома и фенома, следует принять во внимание необходимость исчерпывающего тестирования генетической изменчивости по всему геному, включая весь спектр не только кодирующих, но и некодирующих вариантов генома, анализа блочной структуры неравновесия по сцеплению, паттернов совместного наследования аллелей в гаплотипе для популяций, в которых изучается наследственная компонента подверженности к заболеваниям человека (Crawford *et al.*, 2004; Hirschhorn, Daly, 2005). Завершение международного проекта «НарМар» будет способствовать этому. Для постижения феноменологии осуществления генов, лежащих в основе широко распространенных заболеваний, важно развитие «омных» технологий (транскриптом, ORFом – набор открытых рамок считывания, метаболом, протеом, интерактом, локализом), которые будут способствовать «наведению моста» между геномом и феномом (Vidal, 2001).

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ «Ведущие научные школы» (НШ-840-2003.4) и гранта РФФИ № 04-04-48532.



## Литература

- Анохин К.В., Судаков К.В. Молекулярно-генетические механизмы системной организации поведения // Журн. неврол. и психиатрии. 2001. № 10. С. 53–58.
- Ашмарин И.И., Королева С.В. Закономерности взаимодействия и функциональный континуум нейропептидов (на пути к единой концепции) // Вестн. РАМН. 2002. № 6. С. 40–48.
- Беленков Ю.Н., Мареев В.Ю. Сердечно-сосудистый континуум // Журн. серд. недост. 2002. Т. 3. № 1. С. 7–11.
- Голубенко М.В., Косянкова Т.В., Еремина Е.Р. и др. Полиморфизм ядерного и митохондриального генома в популяции бурят и у женщин-буряток с отягощенным акушерским анамнезом // Генетика человека и патология / Под ред. В.П. Пузырева. Томск: СГТ, 2000. Вып. 5. С. 251–260.
- Дильман В.П. Старение, климакс, рак. М., 1968. 378 с.
- Казначеев В.П. Современные аспекты адаптации. Новосибирск: Наука, 1980. 191 с.
- Кветной И.М. APUD-система (вопросы структурно-функциональной организации, гистогенез, патологии) // Архив. патол. 1981. Т. XLIII. № 1. С. 81–87.
- Краснопольская К.Д., Захарова Е.Ю. Современные достижения в диагностике и профилактике митохондриальных болезней // Журн. неврологии и психиатрии. 1998. № 8. С. 49–56.
- Крылов А.А. К проблеме сочетаемости заболеваний // Клин. медицина. 2000. № 1. С. 56–59.
- Лифшиц А.М., Амеджанов М.Ю. Проблема диагноза в настоящее время // Терапевт. архив. 1980. № 9. С. 91–97.
- Никулина С.Ю., Шульман В.А., Воротникова Ю.В. и др. Связь полиморфизма некодирующих областей митохондриального генома человека с первичными нарушениями сердечной проводимости // Терапевт. архив. 2003. № 10. С. 75–78.
- Писарев А.А., Киричек Л.М. APUD-система и перспектива использования нейропептидов в клинике (обзор литературы) // Врачеб. дело. 1990. № 10. С. 69–75.
- Пузырев В.П. Молекулярно-генетическое исследование населения приполярных регионов. Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1991. 200 с.
- Пузырев В.П. Состояние и перспективы исследований в генетической кардиологии // Вестн. РАМН. 2000. № 7. С. 28–33.
- Пузырев В.П., Голубенко М.В., Фрейдин М.Б. Сфера компетенции митохондриальной генетики // Вестн. РАМН. 2001. № 10. С. 31–37.
- Пузырев В.П. Генетика мультифакториальных заболеваний: между прошлым и будущим // Мед. генетика. 2003. Т. 2. № 12. С. 498–508.
- Сахаров Г.П., Тареев В.М. Артритизм // БМЭ. 1975. Т. 2. С. 216.
- Серебровский А.С. Некоторые проблемы органической эволюции. М.: Наука, 1973. 168 с.
- Смольянников А.В. Современная клиника и проблема «второй болезни» // Архив. патол. 1979. № 7. С. 20–25.
- Уголев А.М. Гипотеза о возможности эволюции и специализации функций на основе рекомбинации и транспозиции элементарных функциональных блоков // Журн. неврологии и психиатрии. 1982. Т. 18. № 1. С. 11–26.
- Фрейдин М.Б., Пузырев В.П., Салюков В.Б., Голубенко М.В. Связь полиморфизма некодирующих областей митохондриального генома человека с изменчивостью уровня артериального давления и величин интервальных оценок ЭКГ // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1999. Т. 127. Прил. 1. С. 82–84.
- Becker K.G., Simon R.M., Bailey-Wilson J.E. *et al.* Clustering of non-major histocompatibility complex susceptibility candidate loci in human autoimmune diseases // Proc. Natl Acad. Sci. 1998. V. 95. P. 9979–9984.
- Bowcock A.M., Cookson W.O.C.M. The genetics of psoriasis, psoriatic arthritis and atopic dermatitis // Hum. Mol. Genet. 2004. V. 13. Review Issue 1. R43–R55.
- Cambien F., Poirier O., Nicand V. *et al.* Sequence diversity in 36 candidate genes for cardiovascular disorders // Am. J. Hum. Genet. 1999. V. 65. P. 183–191.
- Cheng S., Grow M., Pallaud C. *et al.* A multilocus genotyping assay for candidate markers of cardiovascular disease risk // Genome Res. 1999. V. 9. P. 936–949.
- Crawford D.C., Carlston Ch.S., Rieder M.J. *et al.* Haplotype diversity across 100 candidate genes for inflammation, lipid metabolism, and blood pressure regulation in two populations // Am. J. Hum. Genet. 2004. V. 74. P. 610–622.
- Crowther D.C., Belorgey D., Miranda E. *et al.* Practical genetics: alpha-1-antitrypsin deficiency and serpinopathies // Europ. J. Hum. Genet. 2004. V. 12. P. 167–172.
- Dzau V., Braunwald E. Resolved and unresolved issues in the prevention and treatment of coronary artery disease: a workshop consensus statement // Am. Heart. J. 1991. V. 121. P. 1244–1263.
- Eppelen J.T. On genetic component in autoimmunity: a critical review based on evolutionary oriented rationality // Hum. Genet. 1992. V. 90. P. 331–341.
- Freimer N., Sabatti Ch. The Human genome project // Nat. Genet. 2003. V. 34. P. 15–21.



- Hegele R.A., Zinman B., Hanley A.J.G. *et al.* A common mtDNA polymorphism associated with variation in plasma triglyceride concentration // *Am. J. Hum. Genet.* 1997. V. 60. P. 1552–1555.
- Hirschhorn J.N., Daly M.J. Genome-wide association studies for common diseases and complex traits // *Nat. Genet.* 2005. V. 6. P. 95–108.
- Kadowaki T., Kadowaki H., Mori Y. *et al.* A subtype of diabetes mellitus associated with a mutation of mitochondrial DNA // *New Engl. J. Med.* 1994. V. 330. P. 962–968.
- Lange H.-J. Sintropie von krankheiten // *Method. Inform. Med.* 1965. V. 4. № 3. P. 141–145.
- Lange H.-J., Hempel K.-J., Muller K.-H. Untersuchung zur frage der syntropie zwischen carcinoma und arteriosklerose an 2800 sektionsfallen // *Frankfurter Zetschrift fur Pathologie.* 1966. V. 75. P. 362–374.
- Levy D., Garrison R.J., Savage D.D. *et al.* Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study // *N. Engl. J. Med.* 1990. V. 322(22). P. 1561–1566.
- Luft F.C. Geneticism of essential hypertension // *Hypertension.* 2004. V. 43. P. 1155–1159.
- Nakatani T., Kaburagi Y., Shimada Y. *et al.* CCR4 memory CD4+ T/lymphocytes are increased in peripheral blood and lesional skin from patients with atopic dermatitis // *J. All. Clin. Immunol.* 2001. № 107. P. 353–358.
- Neel J.V. Diabetes mellitus: «a thrifty» genotype rendered detrimental by progress? // *Am. J. Hum. Genet.* 1962. V. 14. P. 353–362.
- Niemi A.-K., Hervonen A., Hurme M. *et al.* Mitochondrial DNA polymorphisms associated with longevity in a Finnish population. // *Hum. Genet.* 2003. V. 112. P. 29–33.
- Paigen K., Eppig J.T. A mouse phenome project // *Mammalian Genome.* 2000. V. 11. P. 715–717.
- Post W.S., Larson M.G., Levy D. Cardiac structural precursors of hypertension, the Framingham Heart Study // *Circulation.* 1994. V. 90. P. 79–185.
- Poulton J., Luan J., Macaulay V. *et al.* Type 2 diabetes is associated with a common mitochondrial variant: evidence from a population-based case-control study // *Human. Mol. Genet.* 2002. V. 11. № 13. P. 1581–1583.
- Reaven G.M. Role of insulinresistance in human disease // *Diabetes.* 1988. V. 37. P. 1595–1607.
- Risch N. The SNP endgame: a multidisciplinary approach // *Am. J. Hum. Genet.* 2005. V. 76. P. 221–226.
- Schork N.J., Cardon L.R., Xu X. The future of genetic epidemiology // *Trends Genet.* 1998. V. 14. P. 266–271.
- Stene L.C., Joner G. Atopic disorders and risk of childhood-onset type 1 diabetes in individuals // *Clin. Exptl Allergy.* 2004. V. 34. № 2. P. 201.
- Stern M.P. Diabetes and cardiovascular disease. The «common soil» hypothesis // *Diabetes.* 1995. V. 44. № 4. P. 369–374.
- Taylor-Robinson A.W. Malaria-specific IgE as a risk factor for cancer and atopy // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1998. V. 59(2). P. 181.
- van der Walt J., Nicodemus K.K., Martin E.R. *et al.* Mitochondrial polymorphisms significantly reduce the risk of Parkinson disease // *Am. J. Hum. Genet.* 2003. V. 72. P. 804–811.
- Vidal M. A biological atlas of functional maps // *Cell.* 2001. V. 104. P. 333–339.
- von Hertzen L.C., Haahtela T. Could the risk of asthma and atopy be reduced by a vaccine that induces a strong T-helper type 1 response? // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2000. V. 22. P. 139–142.
- Weiss S.T., Raby B.A. Asthma genetics 2003 // *Hum. Mol. Genet.* 2004. V. 13. Review Issue 1. R83–R89.

## **GENES OF SYNTROPIES AND CARDIOVASCULAR CONTINUUM**

**V.P. Puzyrev, O.A. Makeeva, M.V. Golybenko**

Research Institute of Medical Genetics of Tomsk Scientific Center, SB of Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk, Russia, e-mail: valery.puzyrev@medgenetics.ru

### **Summary**

In the postgenomic era, the experience in studying genetics of complex traits, including common diseases, has led to the conception that the major problem in exploration of genetic basis for these traits is not genome but phenome. This contradiction was foreseen by A.S. Serebrovsky, the geneticist who stated the idea about unity of infinity of traits and finiteness of genes. This statement was included implicitly in the programs of phenomic investigations of common diseases. As long ago as in the first half of XIX century French clinician C. Buchar had noticed frequent simultaneous occurrence of certain diseases in an individual and the individual's relatives. This phenomenon was later designated as syntropy – that is combination of clinically different diseases having common pathogenetic mechanism and occurring in the same individual. The assumption was made that syntropy is a natural phenomenon having evolutionary genetic basis. In the paper, it is proved that a set chosen from the infinity of traits from the human phenome so that it constitutes the core of the syntropies (which are homogenous in relation to mechanisms of traits aggregate formation, parameters, diseases and risk factors), could be an object for search of common genetic determinants, which we call genes for syntropy (or syntropic genes). Results are presented on investigation of such syntropic genes for one syntropy, i.e. cardiovascular continuum.

## ГЕНЕТИКА АТОПИИ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ

М.Б. Фрейдин<sup>1</sup>, Е.Ю. Брагина<sup>1</sup>, Л.М. Огородова<sup>2</sup>, В.П. Пузырев<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ГУ НИИ медицинской генетики Томского научного центра СО РАМН, Томск, Россия,

<sup>2</sup> Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия,

e-mail: valery.puzurev@medgenetics.ru

В статье представлен обзор современных данных о наследственной основе атопии (предрасположенности к гиперпродукции IgE) и аллергических заболеваний (главным образом, бронхиальной астмы). Приведены обобщенные результаты картирования генов этих состояний, в том числе полученные с помощью полногеномных скрининговых исследований и позиционного клонирования. Представлены данные об исследованиях некоторых генов-кандидатов астмы и атопии (*FCER1B*, *IL4*, *IL5*, *IL4RA*, *GST* и т. д.) в разных популяциях.

Термин «атопия», или «странная болезнь», был впервые предложен А.Ф. Соса и Р.А. Кооке для обозначения семейных случаев бронхиальной астмы (БА), аллергического ринита и атопического дерматита (АД), или экземы (Соса, Кооке, 1923). Сегодня под атопией понимают наследственную тенденцию к гиперпродукции иммуноглобулинов класса Е (IgE), которая лежит в основе целого ряда аллергических заболеваний. Наследственный характер этого состояния сам по себе свидетельствует о роли генетических факторов в его детерминации, хотя, конечно, не является достаточным доказательством. Однако многочисленные данные, полученные в близнецовых и эпидемиологических исследованиях, однозначно свидетельствуют о генетической предрасположенности к атопии, а современные геномные работы конкретизируют, какие именно наследственные факторы имеют для этого наибольшее значение.

Генетические исследования атопии сосредоточены в основном на наиболее социально значимых заболеваниях (БА и АД), а также на различного рода атопических признаках, таких, как уровень IgE, кожные аллергопробы, радиоаллергосорбентные тесты и т. д. Кроме того, имеются многочисленные работы по изучению наследственной основы специфических признаков атопических заболеваний, например, бронхиальной гиперреактивности при астме (Anderson, Cookson, 1999). Генетика ато-

пии – одно из наиболее активно эксплуатируемых направлений исследований мультифакторных заболеваний. Несмотря на присущие такому рода работам трудности (неоднозначность корреляции генотипа с фенотипом, важная роль этнической составляющей, сложности с универсальностью клинических описаний и т. д.), успехи в генетике атопии очень велики и высока согласованность результатов, полученных разными научными коллективами.

В статье представлены данные об успехах в раскрытии наследственной составляющей атопии и связанных с ней заболеваний, полученные с использованием всего арсенала современной генетики: позиционное и кандидатное картирование, анализ профилей экспрессии, исследования модельных животных.

### Картирование генов астмы и атопии

В настоящее время в генетике человека практикуются два основных подхода к картированию генов распространенных заболеваний: позиционный и кандидатный подходы. Первый заключается в сканировании генома с помощью большого набора микросателлитных или однонуклеотидных полиморфных маркеров и в анализе сцепления без изначальной «привязки» к какому-то конкретному региону, суть второго подхода состоит в том, что анализ сцепления проводится в определенном участке,

где расположены известные гены-кандидаты заболевания или признака. Оба подхода имеют преимущества и недостатки, и наиболее точные результаты, по-видимому, можно получить при их совместном использовании.

К настоящему моменту опубликованы результаты 12 широкогеномных скрининговых исследований для атопии, АД и БА с тестированием большого количества маркеров, равномерно распределенных по всем хромосомам человека (Cookson, 2003). Кроме того, известно не менее двух-трех десятков анализов сцепления для этих состояний, выполненных для конкретных хромосомных регионов.

Согласно результатам этих работ, гены атопии и связанных с ней заболеваний расположены в основном в десяти участках генома человека (табл. 1). Для них показаны наибольшие значения LOD-баллов (показателей «за» сцепление) и высокая согласованность результатов в разных исследованиях.

Важно отметить ряд обстоятельств в связи с широкогеномными исследованиями атопии. Во-первых, наиболее высока повторяемость результатов этих работ для регионов 5q23-31,

6p21.1-p23, 11q13, 12q14-24.33 и 13q11-32. По-видимому, именно здесь расположены наиболее важные гены атопии. Во-вторых, имеет место этническая специфика в детерминации этого состояния, что доказывается различием некоторых участков сцепления в этнически дифференцированных популяциях. Эти различия могут лежать в основе межпопуляционной варибельности заболеваемости атопическими патологиями. В-третьих, подтверждается известная идея о различных молекулярных основах атопии и специфических признаков, свойственных конкретным атопическим заболеваниям. Например, локусы, сцепленные с БА или бронхиальной гиперреактивностью (повышенная чувствительность бронхов к констрикторным стимулам), в ряде случаев не проявляют сцепления с уровнем IgE и наличием специфической сенсибилизации по данным кожного тестирования.

Широкогеномный скрининг генов подверженности к БА и атопии проведен также у мышей, имеющих фенотипически сходные признаки (воспаление дыхательных путей, инфильтрацию эозинофилов, бронхиальную гиперреактивность). Показано сцепление «астмы»

Таблица 1

Хромосомные регионы, сцепленные с атопическими заболеваниями и признаками  
(по: Cookson, 2003; Carroll, 2005)

Хромосомный регион	Наивысший LOD-балл	Этническая группа
2q33	2,30	Латиноамериканцы
5p15	2,15	Афро-американцы
5q23-31	3,56	Амиши, англичане, европеиды США и Австралии, японцы, гаттериты (изолированная религиозная группа в США), голландцы
6p21.1-p23	2,6	Колумбийцы, европеиды США и Австралии, голландцы, немцы
11q	4,38	Афро-американцы
11q13	9,35	Англичане, европеиды Австралии, немцы, японцы
12q14-24.33	3,3	Афро-карибы, амиши, европеиды США, латиноамериканцы, гаттериты, немцы, англичане
13q11-32	3,0	Немцы, шведы, европеиды США, англичане, японцы, французы
14q24	4,0	Исландцы
20p13	2,94	Европеиды США, англичане

с пятью генными локусами, четыре из которых соответствуют гомологичным хромосомным областям, где локализованы гены-кандидаты заболевания у человека: 5q31, 6p21, 12q22-24, 17q12-22 (Zhang *et al.*, 1999).

Сам по себе анализ сцепления не является завершающим этапом картирования генов мультифакторных заболеваний (МФЗ), поскольку всего лишь локализуется наиболее вероятный участок на хромосоме, где может быть расположен(ы) искомый ген(ы). Следующими этапами исследования по картированию с помощью позиционного подхода должны быть последовательное сужение региона с использованием дополнительных маркеров, поиск всех расположенных там генов, определение их изменчивости и, наконец, установление генных вариантов, имеющих значение в детерминации заболевания или признака.

С помощью именно такого исследования недавно был охарактеризован первый позиционно клонированный ген астмы *ADAM33* (Van Eerdewegh *et al.*, 2002). В этой работе проведен анализ сцепления в выборке sibсовых пар, больных БА, из США и Англии, выявивший потенциально важный регион на коротком плече 20-й хромосомы, где расположены около 40 генов. Анализ 135 однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в 23 из них показал наиболее существенную ассоциацию заболевания с вариантом гена *ADAM33*, который кодирует металлопротеазу, играющую важную роль в функционировании гладких мышц.

Кроме *ADAM33* сегодня известны еще три гена астмы и атопии, открытых с помощью позиционного клонирования: *PHF11* (13q14), *DPP10* (2q14) и *GPR4* (7p) (Gao, Huang, 2004). Функции этих генов точно не известны, но предположительно *PHF11* кодирует хроматин-зависимый транскрипционный регулятор, *DPP10* – сериновую протеазу, участвующую в метаболизме хемокинов, *GPR4* – рецептор еще неизвестного лиганда, имеющего важное значение в патогенезе астмы.

### Гены-кандидаты астмы и атопии

Генетическим исследованиям МФЗ во многом способствует детальное описание патогенеза изучаемых болезней. Зная молекулярные

механизмы формирования заболеваний, можно наметить гены, белковые продукты которых имеют в этом наибольшее значение. Такие гены будут являться «кандидатами» на роль генов подверженности к заболеванию. Изучение их изменчивости в связи с патологическими состояниями позволит выявить наследственные молекулярные особенности, предрасполагающие к развитию болезни.

Молекулярные и клеточные механизмы реализации атопических состояний сегодня достаточно хорошо изучены. Важная роль здесь принадлежит цитокинам, ответственным за гуморальный иммунитет, факторам антигенного распознавания, рецепторам лимфоцитов, ферментам метаболизма воспалительных медиаторов и т. д. Соответственно можно выделить несколько групп генов-кандидатов, которые могут быть важны в развитии атопии и связанных с ней заболеваний: 1) гены факторов антигенного распознавания и гуморального иммунного ответа (*IL4*, *IL5*, *IL13*, *HLA-DR*, *TCRA* и т. д.); 2) гены метаболизма медиаторов воспаления и сопутствующих факторов (*LTC4S*, *PAFAH*, *NOS3* и т. д.); 3) гены рецепторов цитокинов и медиаторов воспаления (*IL4RA*, *HTR2A*, *ABRB2*, *FCER1B* и т. д.); 4) гены факторов транскрипции (*STAT6*, *JAK1*, *JAK3*, *NFYB* и т. д.); 5) другие гены (*GSTM1*, *GSTT1*, *CYP2E1*, *NAT2*, *SLC11A1* и т. д.).

О количестве генов, вовлеченных в развитие атопических заболеваний, можно только предполагать, однако одно из недавних исследований дает ключ к решению этого вопроса. С помощью технологии микрочипов был оценен профиль экспрессии примерно 40 тыс. анонимных последовательностей в легочной ткани обезьян с «атопической астмой» после экспозиции животных аллергенами (Zou *et al.*, 2002). Установлены изменения в уровне экспрессии более чем в 2,5 раза для 169 последовательностей, в том числе 149 из них, соответствующих известным генам. Таким образом, возможное число наиболее существенных генов атопии не превышает 150.

К настоящему моменту опубликованы исследования ассоциаций атопии примерно с 80 генами-кандидатами, практически для половины из них получены согласованные, воспроизводимые результаты (табл. 2).

Представим вкратце результаты исследова-



Таблица 2

Гены, для которых показана ассоциация с атопическими заболеваниями и признаками

Ген (белковый продукт)	Связанный фенотип	Ссылка
1	2	3
<i>Гены цитокинов и факторов антигенного распознавания</i>		
<i>IL1A</i> (интерлейкин-1 $\alpha$ )	БА	Adjers <i>et al.</i> , 2004
<i>IL4</i> (интерлейкин-4)	БА, общий и специфический IgE, АД	Rosenwasser <i>et al.</i> , 1995; Sandford <i>et al.</i> , 2000
<i>IL13</i> (интерлейкин-13)	БА, АД, общий IgE	van der Pouw Kraan, 1999, Graves, 2000; He <i>et al.</i> , 2003
<i>IL17F</i> (интерлейкин-17)	БА	Ramsey <i>et al.</i> , 2005
<i>CSF2</i> (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор)	БА	Hoffjan <i>et al.</i> , 2004
<i>TNFA</i> (фактор некроза опухолей- $\alpha$ )	БА	Sandford <i>et al.</i> , 2004
<i>LTA</i> (лимфотоксин- $\alpha$ )	БА	Moffatt, Cookson, 1997
<i>RANTES</i> (хемокин)	БА, АД	Nickel <i>et al.</i> , 2000, Fryer <i>et al.</i> , 2000b
<i>MCC</i> (химаза тучных клеток)	Экзема, общий IgE	Tanaka <i>et al.</i> , 1999
<i>CC16</i> (утероглобин)	БА	Laing, 1998
<i>TGFB1</i> (трансформирующий фактор роста-1 $\beta$ )	БА	Hoffjan <i>et al.</i> , 2004
<i>TLR4</i> (Toll-like рецептор 4)	БА	Fageras Bottcher <i>et al.</i> , 2004
<i>HLA-DQ/DR</i> , <i>HLA-G</i> (антигены гистосовместимости)	Специфический IgE, БА, бронхиальная гиперреактивность	Moffatt, Cookson, 1996, Nicolae <i>et al.</i> , 2005
<i>CD14</i> (рецептор лимфоцитов)	Общий IgE	Baldini <i>et al.</i> , 1999
<i>TCR</i> (Т-клеточные рецепторы)	Специфический IgE	Moffatt <i>et al.</i> , 1998
<i>Гены рецепторов цитокинов и медиаторов воспаления</i>		
<i>CCR5</i> (хемокиновый рецептор 5)	БА	Hall <i>et al.</i> , 1999
<i>FCER1B</i> (высокоаффинный рецептор к IgE)	БА, атопия	Shirakawa <i>et al.</i> , 1994; Hill <i>et al.</i> , 1996
<i>CYSLTR2</i> (клеточный лейкотриеновый рецептор)	БА	Fukai <i>et al.</i> , 2004
<i>IL4RA</i> ( $\alpha$ -цепь рецептора к интерлейкину-4)	БА, АД, атопия, уровень IgE	Hershey <i>et al.</i> , 1997; Mitsuyasu <i>et al.</i> , 1998; Kruse <i>et al.</i> , 1999
<i>IL13RA1</i> ( $\alpha$ -цепь рецептора интерлейкина-13)	Общий IgE	Heinzmann <i>et al.</i> , 2000
<i>ADRB2</i> ( $\beta_2$ -адренорецептор)	Ответ на лекарственную терапию, легочная функция, ночная БА, гормон-зависимая БА	Reihsaus <i>et al.</i> , 1993; Gao <i>et al.</i> , 2004
<i>Гены метаболизма медиаторов воспаления</i>		
<i>SPINK5</i> (ингибитор сериновых протеаз)	БА	Kabesch <i>et al.</i> , 2004
<i>PAFAH</i> (ацетилгидролаза фактора активации тромбоцитов)	БА, общий и специфический IgE	Kruse <i>et al.</i> , 2000
<i>LTC4</i> (лейкотриеновая С4 синтаза)	БА	Senak <i>et al.</i> , 2000

## Окончание таблицы 2

1	2	3
<i>NOS1, NOS2A</i> (NO-синтазы)	БА, общий IgE	Hoffjan <i>et al.</i> , 2004; Holla <i>et al.</i> , 2004
<i>Гены внутриклеточных сигнальных молекул</i>		
<i>GATA3</i> (ядерный активатор транскрипции)	Ассоциированные с БА фенотипы	Rykalainen, 2005
<i>STAT6</i> (внутриклеточный активатор транскрипции)	БА	Gao <i>et al.</i> , 2000
<i>Другие гены</i>		
<i>SLC11A1</i> (транспортер ионов железа и марганца)	Аллергия на воздушные загрязнители у лиц, вакцинированных BCG	Alm <i>et al.</i> , 2002
<i>HNMT</i> (гистамин N-метилтрансфераза)	БА	Yan <i>et al.</i> , 2000
<i>GSTM1</i> (глутатион S-трансфераза $\mu 1$ )	БА, атопия	Ляхович и др., 2000
<i>CYP1A1</i> (цитохром P450 1A1)	БА и ее клинические проявления у детей	Вавилин и др., 2002а, б
<i>NAT2</i> (N-ацетилтрансфераза 2)	БА	Ляхович и др., 2000
<i>GSTP1</i> (глутатион S-трансфераза $\pi 1$ )	БА, АД, уровень IgE, кожные аллергопробы	Сафронова и др. 2003; Fryer <i>et al.</i> , 2000a
<i>GSTT1</i> (глутатионовая S-трансфераза $\theta 1$ )	БА, атопия	Вавилин и др., 2002а, б; Fryer, 2000a
<i>C3, C3A1</i> (компоненты системы комплимента)	БА, общий IgE	Hasegawa <i>et al.</i> , 2004
DAP3 (death-associated protein 3)	БА, общий IgE	Hirota <i>et al.</i> , 2004
ADAM33 (дезинтегрин и металлопротеиназа 33)	БА, бронхиальная гиперреактивность	Van Eerdewegh <i>et al.</i> , 2002

Примечание. БА – бронхиальная астма, АД – атопический дерматит, атопия – наличие специфической сенсibilизации по данным кожных аллергопроб, радиоаллергосорбентных тестов, оценке уровня общего и специфического IgE.

ний некоторых генов, которые, согласно имеющимся сегодня данным, можно рассматривать уже, скорее, не как кандидаты, а как установленные гены подверженности к атопии.

#### Гены интерлейкинов и их рецепторов.

Интерлейкины (ИЛ) играют ключевую роль на всех стадиях реализации атопических реакций. Особенно важными являются ИЛ-4, переключающий В-лимфоциты на производство IgE; ИЛ-5, привлекающий эозинофилы в очаг воспаления; ИЛ-9, активирующий тучные клетки; ИЛ-13, дублирующий функции ИЛ-4. Интересно, что все эти ИЛ расположены в одном кластере на хромосомном участке 5q24-31, для которого неоднократно было показано сцепление с атопическими заболеваниями и признаками. В связи с этим гены ИЛ активно исследуют в связи с атопией и БА.

В частности, установлена ассоциация полиморфизма –589С/Т промоторного региона гена *IL4* с атопической БА и уровнем IgE (Rosenwasser *et al.*, 1995; Sandford *et al.*, 2000). В недавнем масштабном исследовании с использованием дизайнов «случай–контроль» и семейных тестов на ассоциацию установлена связь гаплотипа, сформированного полиморфизмами –589С/Т гена *IL4* и миссенс-варианта Arg130Gln гена *IL13*, с БА, атопическим дерматитом и атопией, определяемой по кожным аллерготестам (He *et al.*, 2003).

Еще более интересные результаты получены при анализе ассоциации атопии с полиморфизмом генов рецепторов ИЛ, которые осуществляют трансмиссию сигналов этих лигандов в клетки-мишени. Начало этих работ было положено открытием и изучением у европеоидного

населения США миссенс-мутации Gln551Arg гена  $\alpha$ -цепи рецептора к ИЛ-4, *IL4RA* (Hershey *et al.*, 1997). Авторы установили статистически значимую ассоциацию аллеля Arg551 с атопией и представили возможный механизм для ее объяснения. Ими было показано, что Arg551 форма рецептора обладает пониженным сродством к внутриклеточной тирозинфосфатазе SHP-1, включающей сигнал терминации транскрипции гена *IL4*. Таким образом, индивиды с Arg551 характеризуются потерей возможности к супрессии синтеза ИЛ-4, что и является предрасполагающей к атопии особенностью. Данные о предрасполагающей к атопии роли аллеля Arg551 получили как подтверждения, так и опровержения. В частности, в противоречии с данными Hershey с соавт. было показано, что аллель Arg551 ассоциирован с пониженной концентрацией IgE (Kruse *et al.*, 1999). Этот эффект усиливается в присутствии аллеля Pro478 полиморфизма Ser478Pro гена *IL4RA*.

При исследовании Ile50Val варианта *IL4RA*, который в отличие от Gln551Arg локализован в экстраклеточном домене рецептора, у японцев показано, что вариант Ile50 ассоциирован с атопической БА и с повышением уровня общего и специфического к аллергенам домашней пыли IgE (Mitsuyasu *et al.*, 1998). Установлено, что Ile50 вариант *IL4RA* примерно в три раза по сравнению с Val50 увеличивает активность ИЛ-4 ответа за счет повышения активности субъединицы рецептора. Кроме этого, Ile50 в 1,8 раза по сравнению с Val50 повышает активацию STAT6, внутриклеточного активатора транскрипции генов *IL4* и тяжелых цепей иммуноглобулинов.

Для прояснения роли полиморфизмов Gln551Arg и Ile50Val в развитии атопии были сконструированы трансфектные клеточные линии, содержащие четыре возможных вида гена *IL4RA*, кодирующих Gln или Arg варианты рецептора в позиции 551 и Ile или Val в позиции 50 (Mitsuyasu *et al.*, 1999). Эксперименты с ними показали, что чувствительность к ИЛ-4 существенно повышена у трансфектантов с Ile50 типом рецептора и не зависит от вида аминокислоты в позиции 551. Тем самым были получены убедительные доказательства функциональной значимости в отношении БА полиморфизма Ile50Val и отвергнута роль миссенс-мутации

Gln551Arg в качестве генетического фактора предрасположенности к заболеванию.

Первые работы по генетике БА и атопии, проведенные в НИИ медицинской генетики совместно с Сибирским государственным медицинским университетом, были посвящены изучению полиморфизма генов интерлейкиновых лигандов и рецепторов (Фрейдин и др., 2000, 2002; Пузырев и др., 2002). Было изучено восемь SNP шести генов ИЛ (*IL4*, *IL5*, *IL9*, *IL4RA*, *IL5RA*, *IL5RB*) в родословных с семейным накоплением атопической БА и впервые в мире установлена ассоциация полиморфизма -703C/T гена *IL5* с этим заболеванием (Фрейдин и др., 2002). Кроме того, показано, что полиморфизм в области 3'-UTR гена *IL4*, находящийся в сильном неравновесии по сцеплению с транзицией -589C/T, может иметь прогностическое значение в отношении степени тяжести атопической БА (Freidin *et al.*, 2003). Наконец, установлено, что изученные полиморфные варианты генов ИЛ и их рецепторов вносят небольшой (до 5–10 %), но статистически значимый вклад в изменчивость количественных, патогенетически и клинически значимых для БА признаков: показатели легочной функции, уровни иммуноглобулинов, бронхиальная гиперреактивность (Фрейдин и др., 2003б).

Таким образом, имеющиеся сегодня данные неопровержимо свидетельствуют, что полиморфизм генов ИЛ и их рецепторов является важным фактором подверженности к БА и атопии.

**Ген высокоаффинного рецептора к IgE на тучных клетках (FCER1B).** Взаимодействие антиген-специфического IgE с рецептором на тучных клетках (FcεRI) играет центральную роль в патогенезе аллергических заболеваний. Полный рецептор FcεRI состоит из 4 субъединиц: IgE-связывающей  $\alpha$ , усиливающей сигнальную функцию  $\beta$  и 2 дисульфид-связанных  $\gamma$ , проводящих сигнал лиганда в клетку (Blank *et al.*, 1989). Ген, кодирующий  $\beta$ -субъединицу, был признан кандидатом для атопии по двум основным причинам: 1) функция его белкового продукта заключается в значительном (до 7 раз) усилении проведения сигнала  $\gamma$ -цепями (Lin *et al.*, 1996); 2) он локализован на хромосоме 11q13 вблизи маркера D11S97, проявившего тесное генетическое сцепление с гипотетическим локусом астмы/атопии (Cookson *et al.*, 1989). Было

высказано предположение, что молекулярные варианты  $Fc\epsilon RI-\beta$  могут благоприятствовать развитию атопического состояния за счет усиления высвобождения медиаторов воспаления тучными клетками или стимуляции экспрессии ИЛ-4 и CD40-лиганда (Norpin, 1996).

В шестом экзоне гена *FCER1B* обнаружены миссенс-мутации Leu181Ile и Leu183Val (Shirakawa *et al.*, 1994). В случайной выборке неродственных лиц из Англии авторы исследования нашли существенную ассоциацию аллеля Leu181 с высоким общим IgE и положительными аллергопробами к пыльце растений. Ретроспективно более чем половине (56 %) исследованных индивидуумов, имеющих аллель Leu181, был поставлен диагноз «атопия» согласно кожным аллергопробам и высокому уровню общего IgE. В том же исследовании при анализе детей из 60 ядерных семей, зарегистрированных по пробанду с аллергической БА, обнаружено, что носители аллеля Leu181 страдали аллергией, тогда как 10 из 12 детей, не имеющих этого аллеля, были здоровы. Причем во всех случаях Leu181 был унаследован от матери.

Еще один вариант *FCER1B*, приводящий к аминокислотной замене Glu237Gly соответствующего белка, проявил ассоциацию у европеоидов Австралии с положительными аллергопробами к пыльце растений и антигенам клеща домашней пыли (Hill, Cookson, 1996). Риск развития БА у индивидов с этой заменой был в 2,3 раза выше по сравнению с субъектами без нее ( $P < 0,05$ ). При исследовании японской популяции вариант Glu237Gly показал ассоциацию с высоким уровнем общего IgE и с атопической, но не с эндогенной БА (Shirakawa *et al.*, 1996). Установлена также ассоциация полиморфизмов гена *FCER1B* с тяжелым АД (Cox *et al.*, 1998).

Механизм ассоциаций полиморфных вариантов гена *FCER1B* с БА пока не изучен до конца, но уже сейчас, видимо, можно констатировать, что этот ген является важным компонентом наследственной составляющей подверженности к атопической форме заболевания.

**Гены ферментов биотрансформации.** Биотрансформация ксенобиотиков и эндогенных веществ, осуществляемая ферментами системы цитохрома P-450 и различными трансферазами, является мощным механизмом защиты

организма от внешних химических факторов и регуляции метаболических реакций. Ферменты системы биотрансформации отличаются широкой субстратной специфичностью и изозимным спектром, формирующимся, в частности, благодаря полиморфизму кодирующих их генов. Изменчивость генов ферментов биотрансформации считается важным фактором подверженности ко многим МФЗ, включая атопические.

Гены ферментов биотрансформации рассматривают как кандидаты для атопии и ассоциированных заболеваний в связи с тем, что они участвуют в метаболизме медиаторов аллергического воспаления лейкотриенов и простагландинов, а также в регуляции механизмов оксидативного стресса, существенного в патогенезе БА и других болезней (Carroll, 2005).

Один из генов ферментов биотрансформации, *GSTP1*, кодирующий глутатион S-трансферазу  $\pi 1$ , является особенно привлекательным геном-кандидатом для астмы и атопии, так как, во-первых, экспрессируется почти исключительно в легочной ткани, а, во-вторых, расположен в локусе 11q13, для которого неоднократно показано сцепление с атопическими признаками (Carroll, 2005). У европеоидов описано два функциональных полиморфизма *GSTP1*: Ile105Val и Ala114Val (Hu *et al.*, 1997; Fryer *et al.*, 2000a). Показано, что гомозиготность по аллелю 105Val является протективным фактором в отношении атопии (Fryer *et al.*, 2000a). Функциональная значимость замены Ala114Val не ясна, но предполагается, что этот вариант может усиливать эффекты полиморфизма Ile105Val (Hu *et al.*, 1997).

Нужно отметить, что гены ферментов биотрансформации в связи с атопическими патологиями активно исследуют в нашей стране. Видимо, первыми к разработке этой проблемы в России приступили коллеги из НИИ молекулярной биологии и биофизики СО РАМН (Новосибирск). Этот исследовательский коллектив опубликовал большой цикл работ, посвященных изучению роли полиморфизма генов ферментов биотрансформации в развитии БА и атопии с учетом влияния внешних факторов. В частности, ими установлено, что у больных БА по сравнению со здоровыми лицами повышена частота гетерозиготного генотипа *CYP1A1* 462Ile/Val и «нулевых» (не-



функциональных) генотипов *GSTT1* и *GSTM1*, а также более низкая доля аллеля *NAT2\*5* (Ляхович и др., 2000; Вавилин и др., 2002а). Кроме того, по данным этой группы, у детей, не являющихся пассивными курильщиками, риск поливалентной аллергии ассоциирован с аллелями медленного ацетилирования гена *NAT2* и нормальным генотипом *GSTM1*, риск раннего развития БА – с «медленными» аллелями *NAT2*, тяжелое течение заболевания – с генотипом *CYP1A1* 462Ile/Val и «медленными» аллелями *NAT2* (Ляхович и др., 2002). В исследовании этих же полиморфизмов в отношении проявлений атопии (пищевая аллергия, эозинофилия) установлено, что генотип *CYP1A1* 462Ile/Val имеет тенденцию к связи с обоими признаками, мутации S1 и S2 гена *NAT2* ассоциированы с эозинофилией, а функциональные генотипы *GSTT1* и *GSTM1* – с пищевой аллергией (Вавилин и др., 2002б). Наконец, установлено, что гетерозиготность по варианту *GSTP1* Ile105Val является протективным фактором в отношении развития АД (Сафронова и др., 2003).

Среди других российских исследовательских коллективов, разрабатывающих проблему связи генов ферментов биотрансформации с атопическими заболеваниями, можно отметить ученых из НИИ акушерства и гинекологии им. Отта (Санкт-Петербург). В частности ими опубликовано одно из первых у нас в стране исследований по оценке связи полиморфизма по «нулевым» и нормальным генотипам генов *GSTT1* и *GSTM1* с БА (Иващенко и др., 2001).

В НИИ медицинской генетики ТНЦ СО РАМН также активно ведутся работы по изучению вклада полиморфизма генов *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1*, *CYP2E1* и *CYP2C19* в развитие атопической патологии. При изучении полиморфизма этих генов у жителей г. Томска нами не показано существенной их ассоциации с атопией, определяемой по уровню общего IgE и специфической сенсибилизации к бытовым, эпидермальным и растительным аллергенам по данным кожных аллергопроб (Фрейдин и др. 2003а). В то же время установлено, что риск развития атопической БА примерно в два раза выше у гомозигот по «нулевому» аллелю *GSTM1* (OR = 2,02; 95 % ДИ = 1,18–3,46; P = 0,009). Показана также ассоциация БА с гетерозиготностью по варианту 7632A/G гена

*CYP2E1*. Установлено, что тяжесть течения БА ассоциирована с полиморфизмом по «нулевому» и нормальному аллелю гена *GSTT1*.

В целом, несмотря на некоторые противоречия, имеющиеся сегодня, данные свидетельствуют о заметном вкладе полиморфизма генов ферментов биотрансформации в развитие атопии и ассоциированных с ней заболеваний. Особенно это справедливо для полиморфизма генов *GSTT1* и *GSTM1*, «нулевые» генотипы которых проявляют ассоциацию с атопическими заболеваниями и признаками практически во всех проведенных исследованиях.

### Заключение

Результаты геномных исследований атопии представляют пример тех успехов, которые могут быть достигнуты с помощью современных концепций и технологий. Пожалуй, ни одно другое мультифакторное состояние у человека не охарактеризовано с точки зрения генетики столь хорошо, как атопия. Этому способствуют успехи и других наук, в частности иммунологии, детально охарактеризовавшей механизмы атопических реакций.

Конечно, утверждать, что сегодня имеется полное понимание наследственных основ атопии и ассоциированных с ней заболеваний рано, но прогресс в этой области очевиден: охарактеризованы многие гены подверженности к атопии, выявлены их «причинные» полиморфизмы, успешно выполнены широкогеномные скрининги для атопии и позиционное клонирование 4 генов этого состояния, разработаны и активно эксплуатируются экспериментальные модели атопических заболеваний, накапливаются публикации по анализу экспрессии генов атопии. Более того, уже «нащупываются» подходы к терапии атопических заболеваний на базе геномных технологий. В частности, проходит завершающие этапы клинического испытания препарат на основе антисмысловых олигонуклеотидов к гену рецептора воспалительного медиатора аденозина A1 для лечения БА.

Тем не менее изучение генетических основ атопии является по-прежнему актуальной задачей, поскольку пока трудно представить всю картину взаимодействия наследственных и средовых факторов в реализации столь



сложного патологического фенотипа. В этом отношении перспективными являются активно развиваемые технологии микрочипов и биоинформационные подходы к анализу генных сетей (Колчанов и др., 2000), а также концепция синтропий – неслучайности сочетания групп болезней, основанного на общности их наследственной составляющей (синтропные гены) (Пузырев, 2003). В свете этой парадигмы еще больший прогресс в генетике атопии может быть сделан только при комплексном подходе к этой проблематике. Необходим одновременный анализ популяционной специфики и патогенетической значимости групп наследственных факторов, имеющих разную «сферу компетенции», работающих на разные физиологические системы организма. Выявление «полей действия» этих комплексов генов, их плеiotропных эффектов для патологических фенотипов с учетом расовой и этнической принадлежности индивидов позволит решить сложную задачу установления генетической основы атопии и приблизит нас к пониманию механизмов взаимодействия полигенных систем в процессе реализации наследственной информации на уровне целостного организма.

В этой же связи интересно отметить возможную общность наследственной составляющей атопических, инфекционных и аутоиммунных заболеваний, основанную на универсальности механизмов иммунитета в развитии защитных реакций (Alm *et al.*, 2002; Rottem, Shoenfeld, 2003). По-видимому, эти три группы болезней можно рассматривать как общий феномен патологии иммунной системы, формирующийся на базе одних и тех же наследственных факторов, поэтому их генетический анализ с позиции синтропии может быть более продуктивным, чем изучение отдельных нозологических общностей, таких, как атопия.

### Литература

Вавилин В.А., Макарова С.И., Ляхович В.В. и др. Ассоциация полиморфных ферментов биотрансформации ксенобиотиков с предрасположенностью к бронхиальной астме у детей с наследственной отягощенностью и без таковой // Генетика. 2002а. Т. 38. № 4. С. 539–545.

Вавилин В.А., Макарова С.И., Ляхович В.В. и др. Оценка связи генетического полиморфизма

ферментов биотрансформации ксенобиотиков с некоторыми проявлениями сенсibilизации у детей с бронхиальной астмой // Бюл. эксперим. биол. мед. 2002б. Прил. 1. С. 74–77.

Ивашенко Т.Э., Сиделева О.Г., Петрова М.А. и др. Генетические факторы предрасположенности к бронхиальной астме // Генетика. 2001. Т. 37. № 1. С. 107–111.

Колчанов Н.А., Ананько Е.А., Колпаков Ф.А. и др. Генные сети // Молекуляр. биология. 2000. Т. 34. № 4. С. 533–544.

Ляхович В.В., Вавилин В.А., Макарова С.И. Роль ферментов биотрансформации в предрасположенности к БА и формировании особенностей ее клинического фенотипа // Вестн. РАМН. 2000. № 12. С. 36–41.

Ляхович В.В., Гавалов С.М., Вавилин В.А. и др. Полиморфизм генов ферментов биотрансформации и особенности бронхиальной астмы у детей // Пульмонология. 2002. Т. 12. № 2. С. 31–38.

Пузырев В.П. Генетика мультифакториальных заболеваний: между прошлым и будущим // Мед. генетика. 2003. Т. 2. № 12. С. 498–508.

Пузырев В.П., Фрейдин М.Б., Огородова Л.М., Кобякова О.С. Взаимосвязь полиморфных вариантов генов интерлейкинов и их рецепторов с атопической бронхиальной астмой // Мед. генетика. 2002. Т. 1. № 2. С. 86–92.

Сафронова О.Г., Вавилин В.А., Ляпунова А.А. Взаимосвязь между полиморфизмом глутатионовой S-трансферазы P1 и бронхиальной астмой и атопическим дерматитом // Бюл. эксперим. биол. мед. 2003. Т. 136. № 1. С. 73–75.

Фрейдин М.Б., Брагина Е.Ю., Петровский Ф.И. и др. Анализ связи полиморфизма генов *GSTT1*, *GSTM1*, *CYP2C19* и *CYP2E1* с атопией у жителей г. Томска // Мед. иммунол. 2003а. Т. 5. № 1/2. С. 107–112.

Фрейдин М.Б., Огородова Л.М., Пузырев В.П. Вклад полиморфизма генов интерлейкинов в изменчивость количественных факторов риска атопической бронхиальной астмы // Мед. генетика. 2003б. Т. 2. № 3. С. 130–135.

Фрейдин М.Б., Пузырев В.П., Огородова Л.М. и др. Оценка ассоциации полиморфизма T113M гена *IL9* с бронхиальной астмой // Генетика. 2000. Т. 36. № 4. С. 559–561.

Фрейдин М.Б., Пузырев В.П., Огородова Л.М. и др. Полиморфизм генов интерлейкинов и их рецепторов: популяционная распространенность и связь с атопической бронхиальной астмой // Генетика. 2002. Т. 38. № 12. С. 1710–1718.

Adjers K., Pessi T., Karjalainen J. *et al.* Epistatic effect of *IL1A* and *IL4RA* genes on the risk of atopy // J. Allergy Clin. Immunol. 2004. V. 113. P. 445–447.

- Alm J.S., Sanjeevi C.B., Miller E.N. *et al.* Atopy in children in relation to BCG vaccination and genetic polymorphisms at SLC11A1 (formerly NRAMP1) and D2S1471 // *Genes Immun.* 2002. V. 3. P. 71–77.
- Anderson G.G., Cookson W.O.C.M. Recent advances in the genetics of allergy and asthma // *Mol. Med. Today.* 1999. V. 5. P. 264–273.
- Baldini M., Lohman I.C., Halonen M. *et al.* A polymorphism in the 5' flanking region of the CD14 levels and with total serum immunoglobulin E // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1999. V. 20. P. 976–983.
- Blank U., Ra C., Miller L. *et al.* Complete structure and expression in transfected cells of high affinity IgE receptor // *Nature.* 1989. V. 337. P. 187–189.
- Carroll W. Asthma genetics: pitfalls and triumphs // *Paed. Respir. Reviews.* 2005. V. 6. P. 68–74.
- Coca A.F., Cooke R.A. On the phenomenon of hypersensitiveness // *J. Immunol.* 1923. V. 8. P. 163–182.
- Cookson W.O.C.M. A new gene for asthma: would you ADAM and Eve it? // *Trends Genet.* 2003. V. 19. P. 169–172.
- Cookson W.O.C.M., Sharp P.A., Faux J.A., Hopkin J.M. Linkage between immunoglobulin E responses underlying asthma and rhinitis and chromosome 11q // *Lancet.* 1989. P. 1292–1295.
- Cox H.E., Moffatt M.F., Faux J.A. *et al.* Association of atopic dermatitis to the beta subunit of the high affinity immunoglobulin E receptor // *Br. J. Dermatol.* 1998. V. 138. P. 182–187.
- Fageras Bottcher M., Hmani-Aifa M., Lindstrom A. *et al.* A TLR4 polymorphism is associated with asthma and reduced lipopolysaccharide-induced interleukin-12(p70) responses in Swedish children // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2004. V. 114. P. 561–567.
- Freidin M.B., Kobyakova O.S., Ogorodova L.M., Puzyrev V.P. Association of polymorphisms in the human IL4 and IL5 genes with atopic bronchial asthma and severity of the disease // *Comparative Func. Genom.* 2003. V. 4. P. 346–350.
- Fryer A.A., Bianco A., Hepple M. *et al.* Polymorphism at the glutathione S-transferase GSTP1 locus. A new marker for bronchial hyperresponsiveness and asthma // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2000a. V. 161. P. 1437–1442.
- Fryer A.A., Spiteri M.A., Bianco A. *et al.* The -403 G > A promoter polymorphism in the RANTES gene is associated with atopy and asthma // *Genes Immun.* 2000b. V. 3. P. 509–514.
- Fukai H., Ogasawara Y., Migita O. *et al.* Association between a polymorphism in cysteinyl leukotriene receptor 2 on chromosome 13q14 and atopic asthma // *Pharmacogenetics.* 2004. V. 14. P. 683–690.
- Gao J.M., Lin Y.G., Qui C.C. *et al.* Beta2-adrenergic receptor gene polymorphism in Chinese Northern asthma-tics // *Chin. Med. Sci. J.* 2004. V. 3. P. 164–169.
- Gao P.S., Huang S.K. Genetic aspects of asthma // *Panminerva Med.* 2004. V. 46. P. 121–134.
- Gao P.-S., Mao X.-Q., Roberts M.H. *et al.* Variants of STAT6 (signal transducer and activator of transcription 6) in atopic asthma // *J. Med. Genet.* 2000. V. 37. P. 380–382.
- Graves P.E., Kabesch M., Halonen M. *et al.* A cluster of seven tightly linked polymorphisms in the IL-13 gene associated with total serum IgE levels in three populations of white children // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2000. V. 105. P. 506–513.
- Hall I.P., Wheatley A., Christie G. *et al.* Association of CCR5 delta32 with reduced risk of asthma // *Lancet.* 1999. V. 354. P. 1264–1265.
- Hasegawa K., Tamari M., Shao C. *et al.* Variations in the C3, C3a receptor, and C5 genes affect susceptibility to bronchial asthma // *Hum. Genet.* 2004. V. 115. P. 295–301.
- He J.-Q., Chan-Yeung M., Becker A.B. *et al.* Genetic variants of the IL13 and IL4 genes and atopic diseases in at-risk children // *Genes Immun.* 2003. V. 4. P. 385–389.
- Heinzmann A., Mao X.Q., Akaiwa M. *et al.* Genetic variants of IL-13 signalling and human asthma and atopy // *Hum. Mol. Genet.* 2000. V. 9. P. 549–559.
- Hershey G.K.K., Friedrich M.F., Esswein L.A. *et al.* The association of atopy with a gain-of-function mutation in the a subunit of the interleukin-4 receptor // *New Eng. J. Med.* 1997. V. 337. P. 1720–1725.
- Hill M.R., Cookson W.O.C.M. A new variant of the  $\beta$  subunit of the high-affinity receptor for immunoglobulin E (FceRI- $\beta$  E237G): associations with measures of atopy and bronchial hyperresponsiveness // *Hum. Mol. Genet.* 1996. V. 5. P. 959–962.
- Hirota T., Obara K., Matsuda A. *et al.* Association between genetic variation in the gene for death-associated protein-3 (DAP3) and adult asthma // *J. Hum. Genet.* 2004. V. 49. P. 370–375.
- Hoffjan S., Ostrovnaja I., Nicolae D. *et al.* Genetic variation in immunoregulatory pathways and atopic phenotypes in infancy // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2004. V. 113. P. 511–518.
- Holla L.I., Schuller M., Buckova D. *et al.* Neuronal nitric oxide synthase gene polymorphism and IgE-mediated allergy in the Central European population // *Allergy.* 2004. V. 59. P. 548–552.
- Hopkin J. Molecular genetics of the high affinity IgE receptor // *Monogr. Allergy.* 1996. V. 33. P. 97–108.
- Hu X., O'Donnell R., Srivastava S.K. *et al.* Active site architecture of polymorphic forms of human glutathione S-transferase P1-1 accounts for their enantioselectivity and disparate activity in the glutathione conjugation of 7 $\beta$ ,8 $\alpha$ -dihydroxy-9 $\alpha$ ,10 $\alpha$ -oxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo(a)pyrene // *Biochem.*

- Biophys. Res. Commun. 1997. V. 235. P. 424–428.
- Kabesch M., Carr D., Weiland S.K., von Mutius E. *et al.* Association between polymorphisms in serine protease inhibitor, kazal type 5 and asthma phenotypes in a large German population sample // *Clin. Exp. Allergy*. 2004. V. 34. P. 340–345.
- Kruse S., Japha T., Tedner M. *et al.* The polymorphisms S503P and Q576R in the interleukin-4 receptor  $\alpha$  gene are associated with atopy and influence the signal transduction // *Immunology*. 1999. V. 96. P. 365–371.
- Kruse S., Mao X.Q., Heinzmann A. *et al.* The Ile198Thr and Ala379Val variants of plasmatic PAF-acetylhydrolase impair catalytical activities and are associated with atopy and asthma // *Am. J. Hum. Genet.* 2000. V. 66. P. 1522–1530.
- Laing I.A., Goldblatt J., Eber E. *et al.* A polymorphism of the CC16 gene is associated with an increased risk of asthma // *J. Med. Genet.* 1998. V. 35. P. 463–467.
- Lin S., Cicala C., Scharenberg A.M. *et al.* The Fc $\epsilon$ RI $\beta$  subunit functions as an amplifier of the Fc $\epsilon$ RI $\beta$ -mediated cell activation signals // *Cell*. 1996. V. 85. P. 985–995.
- Mitsuyasu H., Izuhara K., Mao X.-Q. *et al.* Ile50Val variants or IL4Ra upregulates IgE synthesis and associates with atopic asthma // *Nat. Genet.* 1998. V. 19. P. 119–120.
- Mitsuyasu H., Yanagihara Y., Mao X.-Q. *et al.* Dominant effect of Ile50Val variant of the human IL-4 receptor  $\alpha$ -chain in IgE synthesis // *J. Immunol.* 1999. V. 162. P. 1227–1231.
- Moffatt M.F., Cookson W.O.C.M. The genetics of specific allergy // *Monogr. Allergy*. 1996. V. 33. P. 71–96.
- Moffatt M.F., Cookson W.O.C.M. Tumor necrosis factor haplotypes and asthma // *Hum. Mol. Genet.* 1997. V. 6. P. 551–554.
- Moffatt M.F., Schou C., Faux J.A. *et al.* Germline TCR-A restriction of immunoglobulin E responses to allergen // *Immunogenetics*. 1998. V. 46. P. 226–230.
- Nickel R.G., Casolaro V., Wahn U. *et al.* Atopic dermatitis is associated with a functional mutation in the promoter of the C-C chemokine RANTES // *J. Immunol.* 2000. V. 164. P. 1612–1616.
- Nicolae D., Cox N.J., Lester L. *et al.* A fine mapping and positional candidate studies identify HLA-G as an asthma susceptibility gene on chromosome 6p21 // *Am. J. Hum. Genet.* 2005. V. 76. P. 349–357.
- Pykalainen M., Kinos R., Valkonen S. *et al.* Association analysis of common variants of STAT6, GATA3, and STAT4 to asthma and high serum IgE phenotypes // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2005. V. 115. P. 80–87.
- Ramsey C.D., Lazarus R., Camargo C.A. *et al.* Polymorphisms in the interleukin 17F gene (IL17F) and asthma // *Genes Immun.* 2005. doi:10.1038/sj.gene.6364170.
- Reihnsaus E., Innis M., MacIntyre N. *et al.* Mutations in gene encoding for the  $\beta$ 2-adrenergic receptor in normal and asthmatic subjects // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1993. V. 8. P. 334–339.
- Rosenwasser L.J., Klemm D.J., Dresback J.K. *et al.* Promoter polymorphisms in the chromosome 5 gene cluster in asthma and atopy // *Clin. Exp. Allergy*. 1995. V. 25. P. 74–78.
- Rottem M., Shoenfeld Y. Asthma as a paradigm for autoimmune disease // *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2003. V. 132. P. 210–214.
- Sandford A.J., Chagani T., Zhu S. Polymorphisms in the IL4, IL4RA, and FCERIB genes and asthma severity // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2000. V. 106. P. 135–140.
- Sandford A.J., Chan H.W., Wong G.W. Candidate genetic polymorphisms for asthma in Chinese schoolchildren from Hong Kong // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 2004. V. 5. P. 519–527.
- Senak M., Pierzchalska M.M., Bazan-Socha S. *et al.* Enhanced expression of the leukotriene C(4) synthase due to overactive transcription of an allelic variant associated with aspirin-intolerant asthma // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2000. V. 23. P. 290–296.
- Shirakawa T., Li A., Dubowitz M. Association between atopy and variants of the beta subunit of the high-affinity immunoglobulin E receptor // *Nat. Genet.* 1994. V. 7. P. 125–129.
- Shirakawa T., Mao X.-Q., Sasaki S. *et al.* Association between atopic asthma and a coding variant of Fc $\epsilon$ RI $\beta$  in a Japanese population // *Hum. Mol. Genet.* 1996. V. 5. P. 1129–1130.
- Tanaka K., Sugiura H., Uehara M. *et al.* Association between mast cell chymase genotype and atopic eczema: alone and those with atopic eczema and atopic respiratory disease // *Clin. Exp. Allergy*. 1999. V. 29. P. 800–803.
- van der Pouw Kraan T.C., van Veen A., Boeijs L.C. *et al.* An IL13 promoter polymorphism associated with increased risk of allergic asthma // *Genes Immun.* 1999. V. 1. P. 61–65.
- Van Eerdewegh P., Little R.D., Dupuis J. *et al.* Association of the ADAM33 gene with asthma and bronchial hyperresponsiveness // *Nature*. 2002. V. 418. P. 426–430.
- Yan L., Galinsky R.E., Bernstein J.A. *et al.* Histamine N-methyltransferase pharmacogenetics: association of a common functional polymorphism with asthma // *Pharmacogenetics*. 2000. V. 10. P. 261–266.
- Zhang Y., Lefort J., Kearsley V. *et al.* A genome-wide screen for asthma-associated quantitative trait loci in a mouse model of allergic asthma // *Hum. Mol. Genet.* 1999. V. 8. P. 601–605.
- Zou J., Young S., Zhu F. *et al.* Microarray profile of differently expressed genes in a monkey model of allergic asthma // *Genome Biol.* 2002. V. 3. Research0020.1-0020.13. Available at <http://genomebiology.com/2002/3/5/research/0020>.

## GENETICS OF ATOPY: CURRENT STATE

**M.B. Freidin<sup>1</sup>, E.Yu. Bragina<sup>1</sup>, L.M. Ogorodova<sup>2</sup>, V.P. Puzyrev<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> Medical Genetics Research Institute of Tomsk Scientific Center of Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk, Russia; <sup>2</sup> Siberian State Medical University, Tomsk, Russia,  
e-mail: valery.puzyrev@medgenetics.ru

### Summary

In the paper a review of current data on hereditary basis of atopy (susceptibility to hyperproduction of IgE) and allergic disorders (mainly, bronchial asthma) is presented. A summary of studies devoted to these conditions mapping is given, including results obtained by whole-genome screenings and positional cloning. Data on several candidate genes (*FCER1B*, *IL4*, *IL5*, *IL4RA*, *GST*, etc.) studies in different populations are presented.

## ГАПЛОТИПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНА *HFE* В ПОПУЛЯЦИИ РУССКИХ И СРЕДИ ПАЦИЕНТОВ С МУЛЬТИФАКТОРИАЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

С.В. Михайлова<sup>1</sup>, О.В. Онопченко<sup>2</sup>, А.В. Суханов<sup>3</sup>, В.Н. Максимов<sup>3</sup>,  
Т.К. Гаскина<sup>4</sup>, А.Г. Ромашенко<sup>1</sup>, М.И. Воевода<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: mikhail@bionet.nsc.ru;  
<sup>2</sup> Российская медицинская академия последипломного образования, Москва, Россия; Отделение  
эндокринологии областной больницы, Тамбов, Россия; <sup>3</sup> ГУ НИИ терапии СО РАМН,  
Новосибирск, Россия; <sup>4</sup> Государственный новосибирский областной клинический  
диагностический центр, Новосибирск, Россия

Ген *HFE* ассоциирован с наследственным гемохроматозом 1-го типа (НГ1) и рядом других хронических заболеваний человека. Нами было проведено генотипирование по полиморфным сайтам *C282Y*, *H63D* и *S65C* этого гена случайных выборок жителей Новосибирска, долгожителей и пациентов с хроническими диффузными заболеваниями печени, в том числе гемохроматозом и синдромом перегрузки железом, а также болезнью Альцгеймера и сахарным диабетом. В выборке НГ1 частота гомозигот *C282Y/C282Y* (около 30 %) оказалась сниженной по сравнению со средневропейской (50–100 %). Доля смешанных гетерозигот *C282Y/H63D* повышена: 15 % против 5–8 %. В выборке долгожителей не отмечено достоверного изменения частот аллелей с мутациями *C282Y* и *H63D*, это может свидетельствовать об отсутствии выраженного отбора против какого-либо из них. В выборках пациентов с НГ, болезнью Альцгеймера, сахарным диабетом и синдромом перегрузки железом повышена частота аллеля *H63D* по сравнению с популяционным контролем. Во всех контрольных выборках и выборках пациентов не было выявлено различий в частоте *S65C*. Гаплотипический анализ по интронным полиморфизмам *IVS2(+4) t/c*, *IVS4(-44) t/c* и *IVS5(-47) a/g* выявил только 4 из 8 их возможных сочетаний: TTG, TTA, СТА, ССА. Показано, что каждая из замен в кодирующей области сцеплена с определенным интронным гаплотипом: *C282Y* – с TTG, *H63D* – с СТА, *S65C* – с ССА. Это может служить доказательством монофилетического происхождения исследованных аллелей в российской популяции.

### Введение

Накопление избыточного количества железа в организме происходит в различных органах, в особенности в печени, сердце, поджелудочной железе и других эндокринных железах. Гемохроматозом называют все формы избыточного накопления железа. Те из них, которые развиваются вследствие прогрессирования других заболеваний (в основном неэффективного эритропоэза) относят ко вторичным гемохроматозам. Первичный гемохроматоз был впервые описан в конце XIX в., а в 1935 г. было выдвинуто предположение о его наследственной природе. В 1976 г. было показано, что

за развитие наследственного гемохроматоза (НГ) отвечает ген, сцепленный с локусом HLA (Simon *et al.*, 1976; Beutler, 2006). После этого предпринимались многочисленные попытки локализовать ген, отвечающий за развитие заболевания, но поиски осложнялись тем фактом, что в районе расположения локуса главного комплекса гистосовместимости (МНС) относительно низка частота кроссинговеров, и анализу необходимо было подвергнуть достаточно протяженный район 6-й хромосомы. В результате позиционного клонирования и секвенирования ДНК этого локуса 6-й хромосомы в 1996 г. был идентифицирован ген, названный первоначально *HLA-H*, а позже *HFE*, а также полиморфный



сайт, который обуславливал возникновение НГ (Feder *et al.*, 1996). Было установлено, что в 80–100 % случаев пациенты с НГ имели замену *G845A (C282Y)* в гомозиготном состоянии (Merryweather-Clarke *et al.*, 2000). Кроме того, до 7,5 % таких пациентов в некоторых этнических группах являлись смешанными гетерозиготами по заменам *G845A* и *C187G (H63D)* гена *HFE* (Feder *et al.*, 1996; Datz *et al.*, 1997; Cardoso *et al.*, 1998). В последние годы было обнаружено еще несколько белков, имеющих отношение к метаболизму железа, мутации в которых приводят к развитию НГ. Клиника этих заболеваний отлична от наблюдаемой при «классическом» НГ, поэтому была введена дополнительная классификация: НГ1 (сцепленный с *HFE*), НГ2 (сцепленный с *HJV*), НГ3 (сцепленный с *TfR2*) и НГ4 (сцепленный с *Fpn*) (Beutler, 2006). Белок *HFE* относится к МНС Ib типа. Основным структурным отличием белков МНС I является гетеродимерная структура, формируемая за счет нековалентного связывания Ig-подобного домена тяжелой цепи (например, *HFE*) с  $\beta$ 2-микроглобулином ( $\beta$ 2M). Ген *HFE* имеет по разным оценкам длину 12146–13658 нп (Feder *et al.*, 1996; Sanchez *et al.*, 2001). Он состоит из 7 экзонов, 6 из которых принимают участие в кодировании белка. *HFE* состоит из лидерного пептида,  $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2,  $\alpha$ 3 петель, трансмембранного и цитоплазматического доменов. Первый экзон гена *HFE* кодирует относительно небольшую 5'-нетранслируемую область и лидерный пептид (75 н.п.) (Muga *et al.*, 2004). Два последующих экзона содержат информацию об  $\alpha$ 1- и  $\alpha$ 2-доменах белка. У других белков МНС I они ответственны за презентацию антигенов, но у *HFE* их стерическое расположение не допускает такого взаимодействия. 4-й экзон кодирует иммуноглобулинподобный  $\alpha$ 3-домен, с которым нековалентно связывается  $\beta$ 2M. 5-й экзон – трансмембранный домен, а 6-й – как и у некоторых других МНС Ib, укороченный цитоплазматический хвост (12 ак) и 3'-UTR. В 7-м экзоне расположен 3'-UTR, длина которого у различных форм мРНК может отличаться. Было установлено, что *HFE* является регулятором взаимодействия трансферринового рецептора I-го типа (TfR1) с комплексом железа и трансферрина (Gross *et al.*, 1998; Lebron *et al.*, 1998; Lieu *et al.*, 2001; Waheed *et al.*, 2002). Замена *C282Y* находится в  $\alpha$ 3-до-

мене и полностью нарушает связывание белка с  $\beta$ 2M и выход его на клеточную поверхность. Замены *H63D* и менее распространенная *S65C (A193T)* находятся в  $\alpha$ 2-доме и не влияют на связывание *HFE* с  $\beta$ 2M.

Особенностью НГ1 является накопление избытка железа в паренхимальных клетках (гепатоциты и др.) и недостаток железа в ретикулоэндотелиальных клетках (клетки Купфера и др.) и энтероцитах. Эритроциты (главные потребители железа), а также другие клетки организма получают его в двух формах: в комплексе с трансферрином и в низкомолекулярной форме. Железо поступает в кровотоки из ретикулоэндотелиальных клеток после реутилизации «перезрелых» эритроцитов (до 80 % поступления железа), гепатоцитов и энтероцитов. При НГ1 энтероциты сорбируют железо, несмотря на уже существующую его избыточность в паренхимальных клетках. Таким образом, налицо нарушение регуляции взаимодействий между клетками, определяющими уровень железа в организме. Это обстоятельство стимулировало поиск новых функций *HFE*, тем более что присущие ему характерные структурные домены белка МНС не участвуют во взаимодействии с TfR1.

Были проведены многочисленные эксперименты на мышах и клеточных линиях человека с целью поиска дополнительных функций *HFE*. В результате этого было показано, что *HFE* регулирует независимое от TfR1 высвобождение железа из макрофагов (Montosi *et al.*, 2000; Drakesmith *et al.*, 2002; Davies, Enns, 2004). Для этой функции замена *H63D* оказалась более значима, чем *C282Y*. Рассматривается также прямое участие *HFE* в аллоактивации определенных типов Т-клеток мыши (Rohrlich *et al.*, 2005), а также воздействие на презентацию антигенов классическими белками МНС I (de Almeida *et al.*, 2005). Существует гипотеза, согласно которой *HFE* участвует в программировании криптических клеток эпителия кишечника на определенный уровень сорбции железа (Chorney *et al.*, 2003). Кроме того, показано, что он способен связываться с трансферриновым рецептором 2-го типа (TfR2), который также является одним из регуляторов метаболизма железа в клетках (Goswami, Andrews, 2006).

Носительство замен в гене *HFE* связывают с предрасположенностью к ряду других заболеваний помимо НГ1. Клинические данные, получаемые разными исследователями, часто противоречивы, так как проявления многих заболеваний этноспецифичны, они, по-видимому, зависят от вариабельности пока не изученных генов-модификаторов (Merryweather-Clarke *et al.*, 2003; Le Gac *et al.*, 2004), от уклада жизни и пищевых привычек. Тем не менее доказано, что частота замен *C282Y* и *H63D* в гене *HFE* повышена у пациентов с диабетом 2-го типа (Kwan *et al.*, 1998; Salonen *et al.*, 2000; Moczulski *et al.*, 2001; Malecki *et al.*, 2003), причем не только за счет недиагностированного НГ1, а также у пациентов с «неклассическим» гемохроматозом (Porto *et al.*, 1998; Mura *et al.*, 1999, 2000; Holmström *et al.*, 2002), синдромом перегрузки железом (Brandhagen *et al.*, 2000) и другими хроническими заболеваниями печени (Willis *et al.*, 2000; Cauza *et al.*, 2003; Hellerbrand *et al.*, 2003; Willis *et al.*, 2005). У пациентов с болезнью Альцгеймера, при которой железо накапливается в амилоидных бляшках, отмечено снижение возраста проявления поздней формы заболевания у носителей аллеля *H63D* (Sampietro *et al.*, 2001; Combarros *et al.*, 2003; Berlin *et al.*, 2004).

В связи с тем, что мутации гена *HFE* ассоциированы с большим количеством различных заболеваний, проявляющихся у человека в среднем возрасте, встает вопрос о причинах широкого распространения «вредных» аллелей в популяциях человека. Для оценки влияния полиморфизмов этого гена на продолжительность жизни в разных странах проводилось генотипирование выборок пожилых людей и долгожителей. Полученные в результате этого данные этноспецифичны по тем же причинам, что и данные о клинических проявлениях. Ряд исследователей не выявил отличий в частотах аллелей *C282Y* и *H63D* между популяцией и долгожителями в Англии и Нидерландах (van Aken *et al.*, 2002; Willis *et al.*, 2003). Тогда как L. Bathum с коллегами в 2001 г. в популяционной выборке датчан из 1784 человек от среднего возраста до долгожителей показали, что с возрастом падает частота гетерозигот по замене *C282Y*. Параллельно оценивались ситуации, в которых носительство замен в гене *HFE* могло

бы иметь адаптивную функцию, позволяющую аллелям *C282Y* и *H63D* существовать в популяциях человека с относительно высокими частотами. Для пожилых и долгожителей США показано, что носители замены *C282Y* и/или *H63D* имеют более высокие показатели осаждения трансферрина и большее содержание железа в организме (Garry *et al.*, 1997). Было предположено, что эти замены могут играть положительную роль для людей, проживающих в железодефицитных районах, предохраняя их от железодефицитной анемии. Для подтверждения этой гипотезы несколько исследователей изучали показатели содержания железа в крови у женщин репродуктивного возраста с различными генотипами по *HFE*. Было показано, что у австрийских женщин, носителей замены *C282Y*, достоверно выше уровень гемоглобина, сывороточного железа и показатели насыщения трансферрина (Datz *et al.*, 1998). На выборке из 23681 человека европеоидной расы из разных этнических групп Европы было обнаружено, что показатели насыщения трансферрина, сывороточного ферритина и гемоглобина существенно выше у носителей замен *C282Y* и *H63D*. При этом этнические группы различаются по средним показателям этих величин и по эффекту носительства замен на них (Beutler *et al.*, 2003).

Целью настоящего исследования были оценка влияния различных генотипов гена *HFE* на предрасположенность к развитию хронических заболеваний, часто сопровождающихся нарушением метаболизма железа и на продолжительность жизни в России. Для этого проводилось генотипирование случайной выборки жителей г. Новосибирска, случайных выборок пациентов с гемохроматозом, хроническими заболеваниями печени, сахарным диабетом, болезнью Альцгеймера, а также выборки долгожителей. Кроме того, был проведен анализ связи носительства определенных аллелей гена *HFE* с показателями железа крови у женщин. Помимо этого нами была проверена гипотеза о монофилиетичности происхождения полиморфизмов *C282Y*, *H63D* и *S65C* гена *HFE*, для этого было проведено дополнительное генотипирование по трем интронным полиморфизмам *IVS2(+4) t/c*, *IVS4(-44) t/c* и *IVS5(-47) a/g* всех носителей аллелей *C282Y* и *S65C* и гомозигот по *H63D*.

## Материалы и методы

Случайные выборки здоровых жителей Новосибирска (325 чел.), долгожителей (146 чел.), пациентов с хроническими заболеваниями печени (198 чел.), сахарным диабетом (148 чел.), болезнью Альцгеймера (222 чел.) генотипировали на наличие полиморфизмов *C282Y*, *H63D*, *S65C* гена *HFE*. Для 153 женщин из популяционной выборки были известны показатели насыщения трансферрина железом, для 173 – количество эритроцитов, для 143 – концентрация железа в сыворотке крови.

Структуру внутригенных гаплотипов по ранее описанным полиморфизмам *IVS2(+4) t/c*, *IVS4(-44) t/c* и *IVS5(-47) a/g* (Beutler, West, 1997) определяли у всех носителей аллелей *C282Y* и *S65C* и у гомозигот по *H63D* (122 чел.).

Для проведения генотипирования нами были разработаны методы, основанные на анализе полиморфизма длины рестрикционных фрагментов. Подбор праймеров осуществляли в соответствии с первичной структурой ДНК гена *HFE* человека Z92910 из GenBank. Условия амплификации приведены в табл. 1. Каждая тест-система содержала внутренний контроль полноты расщепления фрагмента рестриктазой для исключения возможности неоднозначного толкования результатов.

## Результаты

Результаты проведенного генотипирования образцов ДНК вышеупомянутых выборок приведены в табл. 2. Частоты аллелей *C282Y*, *H63D* и *S65C* гена *HFE* в популяционной выборке русских г. Новосибирска не отличаются от описанных в литературе для ряда стран Западной Европы (Merryweather-Clarke *et al.*, 2000). Среди долгожителей не отмечено достоверного снижения частоты какого-либо из аллелей по сравнению с популяционной выборкой. У пациентов с болезнью Альцгеймера (БА) наблюдается повышенная по сравнению с популяционной выборкой и выборкой долгожителей частота аллеля *H63D* (18,5 % против 13,1 % и 12,0 %,  $P < 0,05$ ). У пациентов с хроническими диффузными заболеваниями печени (ХДЗП) наблюдается недостоверное повышение частот аллелей *C282Y* (5 % против 3,4 %) и *H63D* (16,9 % против 13,1 %). При этом в выборке пациентов, у которых заболевание сопровождалось синдромом перегрузки железом (СПЖ), т. е. повышенными показателями сывороточного железа ( $> 28,3$  мкмоль/л для мужчин,  $> 26$  мкмоль/л для женщин) и сывороточного ферритина ( $> 250$  мкг/л для мужчин,  $> 120$  мкг/л для женщин), частота аллеля *H63D* составляла 21,8 % ( $P < 0,05$ ). У пациентов с НГ повышена

Таблица 1

Условия амплификации, позиции праймеров и рестриктазы, использованные в генотипировании

Полиморфный сайт	Температура отжига	Позиции праймеров	Эндонуклеаза рестрикции	Длины продуктов рестрикции
<i>H63D</i>	55 °C	4929–4907, 4717–4743	<i>Ksp22I</i>	H 171, 21, 20 D 192, 20
<i>S65C</i>	59 °C	4719–4742, 4876–4852	<i>HinfI</i>	S 70, 49, 32 C 119, 32
<i>C282Y</i>	59 °C	6668–6688, 6953–6933	<i>RsaI</i>	C 261, 25 Y 229, 32, 25
<i>IVS2(+4) t/c</i>	52 °C	4727–4750, 4993–4971	<i>RsaI</i>	T 246, 21 C 170, 76, 21
<i>IVS4(-44) t/c</i>	59 °C	6668–6688, 6953–6933	<i>BsuRI</i>	T 213, 73 C 142, 73, 71
<i>IVS5(-47) a/g</i>	52 °C	7848–7872, 8033–8010	<i>PspN4I</i>	A 150, 36 G 100, 50, 36

Таблица 2

Частоты генотипов и аллелей гена HFE в популяционных выборках и выборках пациентов с различными хроническими заболеваниями

Выборка	n	Возраст	Число носителей генотипа						Частоты аллелей				
			C282Y/WT	C282Y/H63D	C282Y/C282Y	H63D/WT	H63D/H63D	H63D/S65C	S65C/WT	WT/WT	C282Y	H63D	S65C
Русские, Новосибирск													
Мужчины	150		11	0	0	31	4	1	4	99	0,037 ± 0,002	0,133 ± 0,020	0,017 ± 0,007
Женщины	175	43	9	2	0	36	3	1	7	117	0,031 ± 0,009	0,129 ± 0,018	0,023 ± 0,008
В целом	325		20	2	0	67	7	2	11	216	0,034 ± 0,007	0,131 ± 0,013	0,020 ± 0,005
Долгожители													
Мужчины	36		1	0	0	7	0	0	1	27	0,014 ± 0,014	0,097 ± 0,035	0,014 ± 0,014
Женщины	110	92	4	0	0	20	4	0	2	81	0,018 ± 0,009	0,127 ± 0,022	0,009 ± 0,006
В целом	146		5	0	0	27	4	0	3	108	0,017 ± 0,008	0,120 ± 0,019	0,010 ± 0,006
Болезнь Альцгеймера													
	222	69	14	3	0	69	5	0	5	126	0,038 ± 0,009	0,185 ± 0,018	0,009 ± 0,004
ХДЗП в целом													
	198	45	9	3	4	52	6	0	7	117	0,050 ± 0,011	0,169 ± 0,019	0,018 ± 0,007
Гемохроматоз	13	51	2	2	4	3	1	0	0	0	0,461 ± 0,098	0,269 ± 0,087	0
СПЖ	55	46	3	0	0	20	2	0	3	27	0,027 ± 0,015	0,218 ± 0,039	0,027 ± 0,005
Диабет в целом													
	148	54	10	0	2	40	7	0	1	88	0,047 ± 0,012	0,182 ± 0,022	0,003 ± 0,003
Тяжелые осложнения	30	56	1	0	1	5	3	0	0	20	0,075 ± 0,034	0,183 ± 0,050	0
Невыраженные осложнения	53	58	7	0	0	15	2	0	1	28	0,066 ± 0,024	0,179 ± 0,037	0,009 ± 0,009
Без осложнений	65	51	2	0	1	20	2	0	0	40	0,031 ± 0,015	0,185 ± 0,034	0

Примечание. n – размер выборки, ХДЗП – хронические диффузные заболевания печени, СПЖ – синдром перегрузки железом.

частота гомозигот *C282Y/C282Y* и смешанных гетерозигот *C282Y/H63D*. У пациентов с сахарным диабетом (СД) повышена частота *H63D*: 18,2 % против 13,1 % ( $P < 0,05$ ). Причем в группе пациентов с тяжелыми осложнениями диабета, к которым относили выраженную нефропатию, пролиферативную ретинопатию, тяжелую нейропатию, ишемическую болезнь сердца с наличием стенокардии, перенесенный инсульт, количество носителей генотипа *H63D/H63D* в 3 раза выше ожидаемого. Большинство носителей аллеля *C282Y* попадает в группу пациентов с осложнениями СД.

Для оценки корреляции носительства генотипов, содержащих аллели *C282Y*, *H63D* и *S65C* гена *HFE*, с показателями железа крови нами была генотипирована популяционная выборка женщин Новосибирска с известными биохимическими показателями железа крови и количеством эритроцитов. Результаты приведены в табл. 3.

Обследованная выборка оказалась недостаточной по размеру для оценки влияния генотипов *HFE* на показатели железа. У носителей генотипа *C282Y/H63D*, имеющих предрасположенность к НГ1, величины сывороточного железа, НТЖ и количество эритроцитов мало отличались от таковых у носителей других обнаруженных генотипов. Это подтверждает полученные другими исследователями данные о невысокой клинической пенетрантности сложных гетерозигот по заменам *C282Y* и *H63D* (Beutler *et al.*, 2002).

С целью проверки предположения о монофилетичности происхождения замен *C282Y*,

*H63D* и *S65C* гена *HFE* было проведено генотипирование носителей аллелей *C282Y* и *S65C* и гомозигот *H63D/H63D* по трем широко распространенным интронным полиморфизмам *IVS2(+4) t/c*, *IVS4(-44) t/c* и *IVS5(-47) a/g*. Полученные результаты обобщены в табл. 4.

Таким образом, обнаружено только 4 из 8 возможных сочетаний интронных полиморфизмов: TTG, TTA, СТА, ССА. Видно, что каждая из замен в кодирующей области сцеплена с определенным интронным гаплотипом: *C282Y* – с TTG, *H63D* – с СТА, *S65C* – с ССА.

### Обсуждение

Как упоминалось выше, НГ1 наиболее распространен на севере и в центре Западной Европы и в странах, населенных выходцами из этого региона. В большинстве случаев пациенты являются гомозиготами *C282Y/C282Y* по гену *HFE*, однако в обследованной нами выборке количество носителей этого генотипа составляет около 30 %. Вклад смешанных гетерозигот *C282Y/H63D* в формирование НГ1 в этой выборке несколько выше полученного для Европы: 15 % против 5–8 % (Datz *et al.*, 1997; Cardoso *et al.*, 1998; Merryweather-Clarke *et al.*, 2000). Это свидетельствует о более существенном вкладе других генетических и средовых факторов в формирование данного заболевания в России.

Частота аллеля *H63D* повышена в выборках пациентов с НГ, БА, СД и СПЖ. Известно,

Таблица 3

Средние показатели содержания железа и количества эритроцитов в крови в популяционной выборке женщин с различными генотипами *HFE*

Показатели содержания железа, (количество носителей)	Генотипы <i>HFE</i>						
	<i>C282Y/WT</i>	<i>C282Y/H63D</i>	<i>H63D/WT</i>	<i>H63D/H63D</i>	<i>S65C/WT</i>	<i>H63D/S65C</i>	<i>WT/WT</i>
Сывороточное железо, мкмоль/л	15,86 + 4,03 (7)	16,45 + 3,61 (2)	16,38 + 4,76 (30)	14,23 + 2,33 (3)	15,35 + 2,72 (6)	нет	15,63 + 3,53 (95)
НТЖ, %	29,55 + 9,42 (8)	30,19 + 0,50 (2)	28,92 + 10,01 (33)	21,38 + 4,23 (3)	25,27 + 7,56 (6)	нет	25,28 + 7,57 (101)
Количество эритроцитов *10 <sup>12</sup> /л	3,96 + 0,37 (9)	4,63 + 0,23 (2)	4,14 + 0,34 (35)	4,17 + 0,33 (3)	4,08 + 0,38 (7)	3,72 (1)	4,19 + 0,42 (116)

Примечание. НТЖ – насыщение трансферрина железом.



Таблица 4

Избирательная сцепленность конкретных внутригенных гаплотипов по трем интронным полиморфным сайтам с аллелями гена *HFE*, содержащими одну из мажорных мутаций, *C282Y*, *H63D* и *S65C*

<i>HFE</i> генотип	Полиморфизм интронов			Гаплотип	n
	II	IV	V		
	<i>IVS2(+4)</i>	<i>IVS4(-44)</i>	<i>IVS5(-47)</i>		
<i>C282Y/C282Y</i>	T/T	T/T	G/G	<b>TTG/TTG</b>	4
<i>H63D/H63D</i>	C/C	T/T	A/A	<b>CTA/CTA</b>	29
<i>H63D/S65C</i>	C/C	T/C	A/A	<b>CTA/CCA</b>	2
<i>C282Y/H63D</i>	T/C	T/T	G/A	<i>TTG/CTA</i>	8
<i>C282Y/WT</i>	T/T	T/T	G/G	<b>TTG/TTG</b>	30
	T/C	T/T	G/A	<i>TTG/CTA</i>	10
	T/T	T/T	G/A	<b>TTG/TTA</b>	8
	T/C	T/C	G/A	<i>TTG/CCA</i>	5
<i>S65C/WT</i>	T/C	T/C	G/A	<i>TTG/CCA</i>	13
	T/C	T/C	A/A	<i>TTA/CCA</i>	6
	C/C	T/C	A/A	<b>CTA/CCA</b>	5
	C/C	C/C	A/A	<b>CCA/CCA</b>	2

Примечание. Жирный шрифт – однозначно определяемый гаплотип, курсив – наиболее вероятный гаплотип, n – количество носителей.

что эта замена не влияет на способность *HFE* связываться с  $\beta 2M$  и не сказывается на его взаимодействии с TfR1, поэтому можно предполагать, что этот белок влияет на развитие этих заболеваний иным способом. Кроме того, возможно, что аллель *H63D* сцеплен с некоторыми вариантами других генов HLA, способными воздействовать на течение этих заболеваний, что, однако, пока не нашло экспериментального подтверждения. Анализ выборки долгожителей не позволяет говорить о достоверном изменении частот в ней по сравнению с популяционной выборкой, но очевидно, что в целом в популяции не наблюдается заметного отбора против какого-либо из проанализированных аллелей. Это может говорить о том, что, несмотря на отрицательное влияние замен в гене *HFE* на течение некоторых патологических процессов, их наличие не является однозначно отрицательным генетическим фактором, влияющим на продолжительность жизни. Существует предположение, что помимо низкой пенетрантности вышеперечисленных замен гена *HFE* в клинике большинства сцепленных

с ним заболеваний в пострепродуктивный период, в популяции имеет место также «положительная» селекция по этим вариантам. Тот факт, что у носителей генотипа *C282Y/H63D* показатели железа крови несколько выше, чем у носителей других обнаруженных генотипов, можно рассматривать как довод в пользу этого предположения. Нами не обнаружено отличий в частоте аллеля *S65C* между обследованными выборками. Это может быть объяснено как незначительностью влияния данного полиморфизма на клинику вышеназванных заболеваний, так и недостаточностью объемов выборок.

Результаты проведенного гаплотипического анализа гена *HFE* по интронным полиморфизмам *IVS2(+4) t/c*, *IVS4(-44) t/c* и *IVS5(-47) a/g* и мажорным мутациям *C282Y*, *H63D* и *S65C*, а именно сцепленность каждой из них с определенным гаплотипом по трем полиморфным сайтам, доказывают монофилетичность происхождения вышеназванных мутаций и общие корни их распространения в Западной Европе и России.

Дальнейшее расширение обследуемых выборок позволит оценить как влияние носительства различных аллелей гена *HFE* на продолжительность жизни, так и роль железа во многих патологических процессах.

### Литература

- Bathum L., Christiansen L., Nybo H. *et al.* Association of the hemochromatosis gene with shorter life expectancy // *Arch. Intern. Med.* 2001. V. 161. P. 2441–2444.
- Berlin D., Chong G., Chertkow H. *et al.* Evaluation of HFE (hemochromatosis) mutations as genetic modifiers in sporadic AD and MCI // *Neurobiol. Aging.* 2004. V. 25. P. 465–474.
- Beutler E., West C. New diallelic markers in the HLA region of chromosome 6 // *Blood Cell. Mol. Dis.* 1997. V. 23. P. 219–229.
- Beutler E. Hemochromatosis: genetics and pathophysiology // *Annu. Rev. Med.* 2006. V. 57. P. 331–347.
- Beutler E., Felliti V., Gelbart T., Waalen J. Haematological effects of the C282Y HFE mutation in homozygous and heterozygous states among subjects of northern and southern European ancestry // *Br. J. Haematol.* 2003. V. 120. P. 887–893.
- Beutler E., Felitti V.J., Koziol J.A. *et al.* Penetrance of 845G→A(C282Y)HFE hereditary haemochromatosis mutation in the USA // *Lancet.* 2002. V. 359. P. 211–218.
- Brandhagen D.J., Fairbanks V.F., Baldus W.P. *et al.* Prevalence and clinical significance of HFE gene mutations in patients with iron overload // *Am. J. Gastroenterol.* 2000. V. 10. P. 2910–2914.
- Cardoso E.M., Stal P., Hagen K. *et al.* HFE mutations in patients with hereditary haemochromatosis in Sweden // *J. Intern. Med.* 1998. V. 243. P. 203–208.
- Cauza E., Peck-Radosavljevic M., Ulrich-Pur H. *et al.* Mutations of the HFE gene in patients with hepatocellular carcinoma // *Am. J. Gastroenterol.* 2003. V. 98. P. 442–447.
- Chorney M.J., Yoshida Y., Meyer P.N. *et al.* The enigmatic role of the hemochromatosis protein (HFE) in iron absorption // *Trends in Mol. Med.* 2003. V. 9. P. 118–125.
- Combarros O., Garcia-Roman M., Fontalda A. *et al.* Interaction of the H63D mutation in the hemochromatosis gene with the apolipoprotein E epsilon 4 allele modulates age at onset of Alzheimer's disease // *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 2003. V. 15. P. 151–154.
- Datz C., Haas T., Rinner H. *et al.* Heterozygosity for the C282Y mutation in the hemochromatosis gene is associated with increased serum iron, transferrin saturation, and hemoglobin in young women: a protective role against iron deficiency? // *Clin. Chem.* 1998. V. 12. P. 2429–2432.
- Datz C., Lalloz M.R., Vogel W. *et al.* Predominance of the HLA-H Cys282Tyr mutation in Austrian patients with genetic haemochromatosis // *J. Hepatol.* 1997. V. 27. P. 773–779.
- Davies P.S., Enns C.A. Expression of the hereditary hemochromatosis protein HFE increases ferritin levels by inhibiting iron export in HT29 cells // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. P. 25085–25092.
- de Almeida S.F., Carvalho I.F., Cardoso C.S. *et al.* HFE cross-talks with the MHC class I antigen presentation pathway // *Blood.* 2005. V. 106. P. 971–977.
- Drakesmith H., Sweetland E., Schimanski L. *et al.* The hemochromatosis protein HFE inhibits iron export from macrophages // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2002. V. 99. P. 15602–15607.
- Feder J.N., Gnirke A., Thomas W. *et al.* A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary hemochromatosis // *Nature Genet.* 1996. V. 13. P. 399–408.
- Garry P.J., Montoya G.D., Baumgartner R.N. *et al.* Impact of HLA-H mutations on iron stores in healthy elderly men and women // *Blood Cell. Mol. Dis.* 1997. V. 14. P. 277–287.
- Goswami T., Andrews N.C. Hereditary hemochromatosis protein, HFE, interaction with transferrin receptor 2 suggests a molecular mechanism for mammalian iron sensing // *J. Biol. Chem.* 2006. V. 281. P. 28494–28498.
- Gross C.N., Irrinki A., Feder J.N., Enns C.A. Co-trafficking of HFE, a nonclassical major histocompatibility complex class I protein, with the transferrin receptor implies a role in intracellular iron regulation // *J. Biol. Chem.* 1998. V. 273. P. 22068–22074.
- Hellerbrand C., Poppl A., Hartmann A. *et al.* HFE C282Y heterozygosity in hepatocellular carcinoma: evidence for an increased prevalence // *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2003. V. 1. P. 2779–284.
- Holmström P., Marmur J., Eggertsen G. *et al.* Mild iron overload in patients carrying the HFE S65C gene mutation: a retrospective study in patients with suspected iron overload and healthy controls // *Gut.* 2002. V. 51. P. 723–730.
- Kwan T., Leber B., Ahuja S. *et al.* Patients with type 2 diabetes have a high frequency of the C282Y mutation of the hemochromatosis gene // *Clin. Invest. Med.* 1998. V. 21. P. 251–257.
- Lebron J.A., Bennett M.J., Vaughn D.E. *et al.* Crystal structure of the hemochromatosis protein HFE and characterization of its interaction with transferrin receptor // *Cell.* 1998. V. 93. P. 111–123.
- Le Gac G., Scotet V., Ka P.C. *et al.* The recently identified type 2A Juvenile haemochromatosis gene (HJV), a second candidate modifier of the C282Y homozygous

- phenotype // *Hum. Mol. Genet.* 2004. V. 13. P. 1913–1918.
- Lieu P.T., Heiskala M., Peterson P.A., Yang Y. The roles of iron in health and disease // *Mol. Aspects Med.* 2001. V. 22. P. 1–87.
- Malecki M.T., Klupa T., Walus M. *et al.* A search for association between hereditary hemochromatosis gene mutations and type 2 diabetes in a Polish population // *Med. Sci. Monit.* 2003. V. 9. P. 91–95.
- Merryweather-Clarke A.T., Cadet E., Bomford E. *et al.* Digenic inheritance of mutations in HAMP and HFE results in different types of haemochromatosis // *Hum. Mol. Genet.* 2003. V. 12. P. 2241–2247.
- Merryweather-Clarke A.T., Pointon J.J., Jouanolle A.N. *et al.* Geography of HFE C282Y and H63D mutations // *Genet. Test.* 2000. V. 4. P. 183–198.
- Moczulski D.K., Grzeszczak W., Gawlik B. Role of hemochromatosis C282Y and H63D mutations in HFE gene in development of type 2 diabetes and diabetic nephropathy // *Diabetes Care.* 2001. V. 24. P. 1187–1191.
- Montosi G., Paglia P., Garuti C. *et al.* Wild-type HFE protein normalizes transferrin iron accumulation in macrophages from subjects with hereditary hemochromatosis // *Blood.* 2000. V. 96. P. 1125–1129.
- Mura C., Le Gac G., Jacolot S., Férec C. Transcriptional regulation of the human HFE gene indicates high liver expression and erythropoiesis coregulation // *The FASEB J.* 2004. V. 18. P. 1922–1924.
- Mura C., Le Gac G., Ragueneau O. *et al.* Relation between HFE mutations and mild iron-overload expression // *Mol. Genet. Metab.* 2000. V. 69. P. 295–301.
- Mura C., Ragueneau O., Férec C. HFE mutations analysis in 711 hemochromatosis probands: evidence for S65C implication in mild form of hemochromatosis // *Blood.* 1999. V. 93. P. 2502–2505.
- Porto G., Alves H., Rodrigues P. *et al.* Major histocompatibility complex class I associations in iron overload: evidence for a new link between the HFE H63D mutation, HLA-A29, and non-classical forms of hemochromatosis // *Immunogenetics.* 1998. V. 47. P. 404–410.
- Rohrlich P.S., Fazilleau N., Ginhoux F. *et al.* Direct recognition by  $\alpha\beta$  cytotoxic T cells of HFE, a MHC class Ib molecule without antigen-presenting function // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2005. V. 102. P. 12855–12860.
- Salonen J.T., Tuomainen T.-P., Kontula K. Role of C282Y mutation in haemochromatosis gene in development of type 2 diabetes in healthy men: prospective cohort study // *B.M.J.* 2000. V. 320. P. 1706–1707.
- Sampietro M., Caputo L., Casatta A. *et al.* The hemochromatosis gene affects the age of onset of sporadic Alzheimer's disease // *Neurobiol. Aging.* 2001. V. 22. P. 563–568.
- Sánchez M., Bruguera M., Rodés J., Oliva R. Complete characterization of the 3' region of the human and mouse hereditary hemochromatosis HFE gene and detection of novel splicing forms // *Blood Cells Mol. Dis.* 2001. V. 27. P. 35–43.
- Simon M., Bourel R., Fauchet R., Genetet B. Association of HLA-A3 and HLA-B14 antigens with idiopathic hemochromatosis // *Gut.* 1976. V. 17. P. 332–334.
- van Aken M.O., de Craen A.J.M., Gussekloo J. *et al.* No increase in mortality and morbidity among carriers of the C282Y mutation of the hereditary hemochromatosis gene in the oldest old: the Leiden 85-plus Study // *Eur. J. Clin. Invest.* 2002. V. 32. P. 750–754.
- Waheed A., Grubb J.H., Zhou X.Y. *et al.* Regulation of transferrin-mediated iron uptake by HFE, the protein defective in hereditary hemochromatosis // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2002. V. 99. P. 3117–3122.
- Willis G., Bardsley V., Fellows I.W. *et al.* Hepatocellular carcinoma and the penetrance of the HFE C282Y mutations: a cross sectional study // *B.M.C. Gastroenterol.* 2005. V. 5. P. 17.
- Willis G., Wimperis J.Z., Lonsdale R. *et al.* Incidence of liver disease in people with HFE mutations // *Gut.* 2000. V. 46. P. 401–404.
- Willis G., Wimperis J.Z., Smith K. *et al.* HFE mutations in the elderly // *Blood Cells Mol. Dis.* 2003. V. 2. P. 240–246.

## HAPLOTYPIC ANALYSIS FOR THE *HFE* GENE IN RUSSIAN POPULATIONS AND IN PATIENTS WITH COMMON DISEASES

S.V. Mikhailova<sup>1</sup>, O.V. Onopchenko<sup>2</sup>, A.V. Sukhanov<sup>3</sup>, V.N. Maksimov<sup>3</sup>, T.K. Gaskina<sup>4</sup>,  
A.G. Romaschenko<sup>1</sup>, M.I. Voevoda<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: mikhail@bionet.nsc.ru;

<sup>2</sup> Endocrinological Dep. of the Tambov Regional Hospital, Tambov, Russia;

<sup>3</sup> Institute of Internal Diseases, SB RAMS, Novosibirsk, Russia;

<sup>4</sup> Novosibirsk State Clinical Diagnostic Center, Novosibirsk, Russia

### Summary

The *HFE* gene is associated with the human hereditary hemochromatosis 1 type (HH1) and a number of other chronic diseases. We carried out a genotyping for the *C282Y*, *H63D* and *S65C* polymorphic sites of this gene in random cohorts of Novosibirsk inhabitants, elderly persons and patients with chronic liver diseases, including the HH1 and an iron overload syndrome, and also Alzheimer disease (AD) and a diabetes mellitus (DM). In the HH1 samples a *C282Y/C282Y* homozygote frequency (about 30 %) is reduced in comparison with the European cohorts (50–100 %). The share of *C282Y/H63D* compound heterozygotes is increased up to 15 % against 5–8 %. In the samples of the elderly there was not statistically significant change of the *C282Y*, *H63D* and *S65C* alleles frequencies. It allowed us to suppose the absence of an essential selection against any of these alleles. In samples of patients with HH1, AD, DM and an iron overload syndrome the *H63D* allele frequency was increased in comparison with a population's control. Distinctions in *S65C* frequency in all control samples and samples of patients have not been revealed. Haplotypic analysis of the *IVS2 (+4) t/c*, *IVS4 (-44) t/c* and *IVS5 (-47) a/g* intronic polymorphisms has revealed only 4 of 8 their possible combinations: TTG, TTA, CTA, CCA. It has been shown, that each of the mutations in a coding gene region is linked with the certain intron haplotype: *C282Y* – with TTG, *H63D* – with CTA, *S65C* – with CCA. It may be a proof of the monophyletic origin of the alleles in the Russian population.

## ЭКОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АСПЕКТ ПОЛИФАКТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

**В.В. Ляхович, В.А. Вавилин, С.И. Макарова, А.Ю. Гришанова**

Государственное учреждение научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики СО РАМН, Новосибирск, Россия, e-mail: lyakh@sogamn.ru

Основное внимание сосредоточено на полиморфизме генов, кодирующих белки метаболизма и транспорта чужеродных соединений. На литературных и собственных результатах показано, что данные признаки могут выступать в качестве генетических факторов риска полифакторных заболеваний. Рассмотрены эффекты индивидуальных генов, «ген–ген»- и «ген–среда»-взаимодействий. Будущие успехи экогенетических исследований полифакторных заболеваний авторы связывают с усилиями широкого круга специалистов.

Вслед за многими другими научными понятиями понятие «экогенетика» проникло в обиходное сознание еще до того, как было строго определено научной общественностью. В настоящее время еще не предложено его общепринятого определения. Часть исследователей считают, что экологическая генетика – это генетика популяций в природных условиях (Инге-Вечтомов, 1998; Nevo, 2001), и склонны относить к экогенетике любые биохимические взаимодействия – как между организмами (синэкологические, в том числе и биохимические отношения между паразитом и хозяином, или симбионтами), так и аутоэкологические. Другие ограничивают экогенетику аутоэкологическими отношениями – генетически обусловленными реакциями организма на факторы окружающей среды, в основном химические (Kalow, 1997; Пузырев, 1997; Ляхович, 2004). В этом понимании экогенетика есть фармакогенетика в широком смысле слова (Kalow, 1997), что вытекает из определения F. Vogel (1959) фармакогенетики как науки, исследующей роль генетики в лекарственном ответе. В данном определении слова «в лекарственном ответе» означают «в ответе на лекарственное воздействие». Основание для такого понимания дает то, что применение лекарств всегда хорошо учитывается, и поэтому природа воздействия и такие его параметры, как доза, частота, продолжительность, являются известными. «Воздействием» в экогенетике

является множество факторов окружающей среды, параметры воздействия менее охарактеризованы в сравнении с лекарственным. «Ответом», или «эффектом» в экогенетике в медицинском ее приложении в конечном итоге являются заболевания. Рабочей гипотезой экогенетики является предположение о том, что генетическая индивидуальность организма, порождая биохимическую индивидуальность, т. е. набор ферментов и белков в организме, определяет реакцию на любое внешнее воздействие (Пузырев, 1997). Из этой гипотезы естественным образом вытекают две задачи экогенетики в медицине: поиск факторов окружающей среды и условий их воздействия, способных вызвать заболевание у индивидуумов с соответствующей генетической конституцией, и выявление этой конституции, чувствительной к патогенным факторам.

История исследований причин различных заболеваний показывает, что эти задачи решались с помощью разных исследовательских подходов. Первый, генетический, захватывал редкие сильные аномальные ответы на обычные для подавляющей части популяции воздействия и с использованием близнецового метода и семейного анализа достаточно быстро показывал моногенный характер наследования. Во многих случаях находился дефектный белок. И сейчас на генетических картах хромосом человека обозначены локусы тех генов, мутации которых



лежат в основе подобных реакций, например, на хромосоме 3 – локусы постанестезической одышки, резистентности к тиреоидному гормону, непереносимости сахарозы. В рамках другого, клинико-эпидемиологического, подхода исследовались воздействия, эффекты которых были не столь быстрыми и сильными, и потому само наличие связи требовало доказательств. Эти доказательства связи получали в когортных исследованиях и исследованиях «случай–контроль». Методология классической эпидемиологии обеспечила идентификацию фактора риска, фиксируя связь между воздействием и заболеванием, и его количественную оценку. В таких работах доказано, что курение – фактор риска рака легкого, что рак легкого развивается у каждого десятого курильщика, и сила риска возрастает от дозы и длительности курения. Но эта методология не раскрывала последовательности событий от воздействия до развития заболевания. Для этого требовались лабораторные методы оценки, и клинико-эпидемиологические исследования постепенно трансформировались в молекулярно-эпидемиологические. Молекулярная эпидемиология сочетает методологию классической эпидемиологии с лабораторными оценками маркеров воздействия, или внутренней дозы (концентрации чужеродного соединения или его токсичного метаболита в биологических средах организма, маркеров эффекта, или биологически эффективной дозы (например изменение экспрессии гена) и маркеров индивидуальной предрасположенности (Stam, Binkova, 2000). Она способствовала раскрытию критических этапов в развитии заболеваний. Широкая межиндивидуальная вариабельность маркеров как воздействия, так и эффекта сделала очевидным наличие сложной наследственной составляющей распространенных заболеваний, которая не сводится к единственному локусу, а является полигенной.

Данные по структуре и эпидемиологии заболеваний показывают, что моногенные заболевания многочисленны (в настоящее время известно около 5 тысяч), но ими болеет незначительная часть населения, так как самые распространенные из них, такие, как муковисцидоз, фенилкетонурия, встречаются с частотами 1 на 2–10 тысяч новорожденных, а более редкие – 1 на 100–1000 тысяч (Горбунова, 1999). Большинство же людей

болеет немногочисленными полифакторными заболеваниями, такими, как сердечно-сосудистые (13–20 % общей заболеваемости среди взрослого населения и первое место по смертности) (Мезенцева, Кеббель, 2004), онкологические (250–400 случаев на 100 000 населения и второе место по смертности) (Аксель, 2002), атопические (30–50 % общей заболеваемости) (Кондюрина и др., 1998; Holgate, 1999). Из этого следует, что общественное здоровье преимущественно определяется именно этими заболеваниями и поэтому будет зависеть от экогенетических исследований в медицине, которые определяют прогресс в борьбе с ними.

1990-е годы ознаменовались обширными исследованиями генетических факторов предрасположенности к этим заболеваниям. Существенная часть исследований, особенно онкозаболеваний, была посвящена полиморфизму генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков (ФБК): *CYP1A1*, *CYP2D6*, *NAT2*, *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* и др. Это обусловлено, по нашему мнению, следующими причинами: 1) первые фармакогенетические примеры были получены именно для этой группы генов (ацетилирование изониазида, 4-гидроксилирование дебризохина и S-мефенитоина); 2) экспериментальные исследования свидетельствовали о возрастании токсичности многих ксенобиотиков в результате метаболизма; 3) накапливающиеся в молекулярно-эпидемиологических исследованиях факты указывали на роль этих ферментов на иницирующих этапах развития заболеваний; 4) высокой частотой многих полиморфизмов этих генов в популяциях.

Опыт десятилетних исследований связи полиморфизма генов ФБК с предрасположенностью к онкологическим заболеваниям показал, что имеет место противоречивость результатов разных авторов, и во многих исследованиях величины относительного риска для индивидуальных генов являются низкими, (это, впрочем, не принижало эпидемиологическое значение данного объекта исследований, поскольку высокие частоты встречаемости полиморфизмов обуславливали значительный атрибутивный риск). Гарт (Garte, 2001), анализируя итоги этого периода, сделал вывод о том, что противоречивость результатов во многом обусловлена ошибочной формулировкой во-

проса исследования: «является ли генетический вариант G\*N фактором риска такого-то типа рака?» Правильной постановкой задачи таких исследований является формулировка: «для кого, если вообще для кого-нибудь, вариант G\*N является фактором риска такого-то типа рака?», т. е. учет и выявление условий, поиск «суб-групп», в которых данные признаки обуславливают высокий риск заболевания. В работах с правильной постановкой задачи были получены высокие величины относительного риска: отношение шансов (ОШ) в пределах 3,4–14,2. Наши результаты исследований связи полиморфизма генов ФБК с предрасположенностью к аллергическим заболеваниям также свидетельствуют о продуктивности такого подхода. Например, при изучении C481T- и G590A-полиморфизма гена *NAT2* установлено, что двойная гетерозигота является маркером устойчивости к atopическому дерматиту (АД) и бронхиальной астме (БА). Субгруппой, в которой наиболее сильно проявляется защитный эффект данного генотипа, являются девочки, не подвергавшиеся воздействию табачного дыма в семьях: ОШ = 0,08,  $P < 0,05$  в исследовании АД (в то время как для всей группы больных – 0,43,  $P < 0,05$ ); а в исследовании БА для субгруппы ОШ = 0,09,  $P < 0,05$  (0,54 для всех). Нуль-генотип *GSTT1* является маркером предрасположенности к БА у детей: для всей группы ОШ = 2,69, а для не подвергавшейся воздействию табачного дыма субгруппы – 11,0;  $P < 0,01$  (Вавилин, 2000).

Исследования этого периода как онкологических, так и других заболеваний, показали, что комбинации генотипов часто обуславливают более высокий риск, чем индивидуальный ген, т. е. имеет место «ген–ген-взаимодействие». Полученные нами результаты также показывают наличие сильных ген–генных взаимодействий. Так, индивидуальные генотипы *GSTM1\*0/0*, *GSTT1\*0/0* и *GSTP1-Val<sub>105</sub>/Val<sub>105</sub>* ассоциированы с предрасположенностью к АД у детей с ОШ = 1,02; 2,67 и 3,22 соответственно, а их комбинация – с величиной ОШ = 9,43,  $P < 0,05$ .

Также было показано, что воздействие химического фактора, в метаболизме которого участвуют продукты исследуемых генов, имеет важное значение в проявлении эффекта гена («взаимодействие ген–среда»), причем это может быть наиболее заметно в области низких

доз. Многие примеры этого были получены для курения – универсального фактора риска всех распространенных заболеваний. В наших исследованиях аллергических заболеваний мы обнаружили, что с чувствительностью к фактору пассивного курения ассоциирован *GSTM1*. Так, без учета этого фактора для генотипа *GSTM1\*0/0* в оценке предрасположенности к БА ОШ = 1,46, с учетом 2,26,  $P < 0,1$ , а для случаев раннего развития астмы – 9,0,  $P < 0,05$ . Рисквая значимость генетических маркеров гена *NAT2* в отличие от *GSTM1* часто снижается в условиях активного или пассивного курения. Наши результаты для АД подтверждают этот феномен: гомозигота 590A/A гена *NAT2* в условиях отсутствия курения имеет ОШ = 9,0,  $P < 0,05$ , а при воздействии курения – 2,37. Генотип дикого типа 481C/C и 590G/G этого гена является фактором риска развития БА у детей в отсутствие курения (ОШ = 4,95;  $P < 0,05$ ), а в условиях воздействия пассивного курения ОШ падает до 1,78.

Почти все ФБК принимают участие в метаболизме эндогенных субстратов, и снижение рисковости значимости полиморфных вариантов этих генов под воздействием курения обусловлено, вероятно, сложностью этого фактора. В табачном дыме определено около 4 тыс. компонентов, и вклад гена, продукт которого метаболизирует лишь немногие из них, снижается. Такого рода наблюдения получены не только для человека, но и других видов. Спектр однонуклеотидных замен меняется в зависимости от условий существования видов микроорганизмов и насекомых (Nevo, 2001). Эти данные позволяют взглянуть на полиморфные варианты не как на поломки гена «дикого типа», а как на расширение адаптивных возможностей вида. Именно это, по-видимому, и отражает высокая частота полиморфизма генов ФБК.

Таким образом, имеется достаточно примеров связи полиморфизма генов ФБК с распространенными заболеваниями для того, чтобы сделать вывод об их существенном вкладе в эпидемиологию этих заболеваний. Это стимулирует расширение подобных исследований, прежде всего, в направлении более полного охвата признаков, важных для токсикокинетики и токсикодинамики ксенобиотиков в организме. Растет число работ по изучению транспортных

белков, хотя в сравнении с ФБК этот объект менее представлен в литературе.

Транспортеры вовлечены на уровне организма в абсорбцию, распределение и экскрецию ксенобиотиков, а на клеточном – в поступление и выброс ксенобиотика из клетки. Мембранные транспортные белки, принадлежащие к АТР-Binding Cassette семейству, удаляют различные гидрофобные соединения через плазматическую мембрану из клетки. Ген множественной лекарственной устойчивости *MDR1* – один из членов этого семейства – кодирует АТФ-зависимый мембранный транспортный белок Р-гликопротеин (Р-гр), который в физиологических условиях защищает клетки, предотвращая накопление в них токсических соединений (Schinkel, 1997).

В гене *MDR1* идентифицировано 29 однонуклеотидных замен (Kim *et al.*, 2001). Связь полиморфизма с измененной экспрессией или активностью Р-гр доказана пока только для мутации в 26 экзоне С3435Т и для мутаций в экзоне 21 G2677Т/А и экзоне 1b T129С. Исследования транспортеров как возможных факторов риска возникновения болезней сфокусированы на полиморфизме С3435Т гена *MDR1*. Показана защитная роль доминантного 3435С аллеля гена *MDR1* для пациентов с болезнью Паркинсона (Furuno *et al.*, 2002). Особенно выражена защитная роль этого аллеля у тех больных, которые контактировали с пестицидами – субстратами Р-гр (Drozdik *et al.*, 2003). Аллель 3435С снижает риск развития и других заболеваний (Jamroziak *et al.*, 2004). Выявлена предрасположенность к индуцированному лечением острому миелоидному лейкозу у носителей 3435ТТ генотипа (Ben-Yehuda *et al.*, 2002). Показано, что мутации в позиции 8 промотора *MDR1* – фактор предрасположенности для гематологических новообразований (Rund *et al.*, 1999). Носители мутантных аллелей более чувствительны к канцерогенам из-за низкой экспрессии Р-гр, и острый миелоидный лейкоз у них появляется раньше, чем у других индивидуумов (Illmer *et al.*, 2002).

Наши исследования ассоциации полиморфизмов *MDR1* в экзонах 12, 21 и 26 и интроне 6 с предрасположенностью к лимфопролиферативным заболеваниями (ЛПЗ) показали, что мутантные аллели Т6+139Т (интрон 6) и 1236Т (экзон 12) являются факторами устойчивости

к ЛПЗ. У носителей С6+139С генотипа риск возникновения ЛПЗ в 2,4 раза ( $P < 0,03$ ) выше, чем у носителей других генотипов (С6+139Т и Т6+139Т), а по сравнению с гомозиготами мутантного типа Т6+139Т – еще более высокий (ОШ = 3,75,  $P < 0,02$ ). Для гомозигот 1236С (экзон 12) риск возникновения заболевания выше в 2,3 раза ( $P < 0,06$ ), чем для носителей двух других генотипов. Наличие или отсутствие мутаций в позициях 2677 и 3435 не влияет на риск развития ЛПЗ.

Таким образом, данные о связи полиморфизма Р-гр с некоторыми полифакторными заболеваниями свидетельствуют, что вклад в эпидемиологию этих заболеваний вносят мутации не только в кодирующей и регуляторной областях гена, но и в некодирующей части, не связанные с заменой аминокислот. Исследование таких полиморфизмов генов поможет прояснить значение этих мутаций как для функции белка, так и для ассоциаций различных генотипов с риском определенных болезней и с их клиническими проявлениями.

Представляется уместным обратить внимание на то, что экогенетические молекулярно-эпидемиологические исследования предоставляют богатый материал для выдвижения новых гипотез о механизмах патогенеза заболеваний, но для этого необходимы точные количественные оценки проявлений клинического фенотипа. Например, нами показана корреляция числа нуль-аллелей *GSTM1* с выраженностью количественных показателей атопии у больных БА (Макарова и др., 2004), а в работе Brasch-Andersen и соавторов (2004) – связь силы ассоциации *GSTM1* и *GSTT1* с предрасположенностью к атопической БА с дозой гена. Эти данные указывают на важную роль в функционировании клеток иммунной системы наряду с цитокиновой сетью генов ФБК. Молекулярные механизмы, реализующие это участие, неизвестны. Их исследование может быть важным в развитии представлений о патогенезе атопических заболеваний и потенциально для поиска новых терапевтических мишеней.

В кратком заключении к изложенному материалу вспомним, что уже основатели фармакогенетики А. Motulski и F. Vogel прозорливо указывали на возможную роль нескольких генов в формировании лекарственного ответа.

Накопленные знания свидетельствуют о том, что в ответе на воздействие среды, которое всегда является более комплексным в сравнении с лекарственным воздействием, участвуют генные сети, включающие десятки и сотни генов (Колчанов, 2000). «Комплектование» и описание закономерностей взаимодействия этих множеств составляют экогенетическую основу полифакторных заболеваний. Данная область исследований требует усилий не только со стороны медиков, генетиков и биохимиков, но и математиков – специалистов по нейросетевому анализу, нечёткой логике, биоинформатике. Ожидаемое значение этих результатов трудно переоценить, особенно для профилактической медицины.

Результаты, использованные в статье, получены при частичной финансовой поддержке РФФИ, гранты «02-04-48328-а» и «05-04-48819-а».

### Литература

- Аксель Е.М., Давыдов М.И. Статистика заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований в 2000 году // Злокачественные новообразования в России и странах СНГ в 2000. М.: РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, 2002. С. 85–106.
- Вавилин В.А., Часовникова О.Б., Ляхович В.В. и др. Полиморфизм глутатион S-трансферазы M1 и T1 у детей, больных бронхиальной астмой // Вопр. мед. химии. 2000. Т. 46. Вып. 4. С. 388–397.
- Горбунова В.Н. Молекулярные основы медицинской генетики. СПб.: Интермедика, 1999. 212 с.
- Инге-Вечтомов С.Г. Экологическая генетика. Что это такое? // Соросовский образовательный журнал. 1998. № 2. С. 59–65.
- Колчанов Н.А., Ананько Е.А., Колпаков Ф.А. и др. Генные сети // Молекуляр. биология. 2000. Т. 34. № 4. С. 533–544.
- Кондюрина Е.Г., Елкина Т.Н., Филатова Т.А., Гавалов С.М. Возрастные аспекты эпидемиологии бронхиальной астмы у детей Новосибирска // Пульмонология. 1998. № 1. С. 38–43.
- Ляхович В.В., Вавилин В.А., Гришанова А.Ю. и др. Фармакогенетика и современная медицина // Вестник РАМН. 2004. № 10. С. 40–45.
- Макарова С.И., Сафронова О.Г., Вавилин В.А. и др. Показатели атопии у детей с бронхиальной астмой возрастают с накоплением нуль-аллелей глутатион S-трансферазы M1 // Бюл. эксперим. биол. медицины. 2004. Т. 138. № 11. С. 520–522.
- Мезенцева Н.Г., Кеббель И.А. Структура патологии сердечно-сосудистой системы на территории Новосибирской области // Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике / Под ред. А.Б. Масленникова. Вып. 6. Новосибирск: Альфа Виста, 2004. С. 3–8.
- Пузырев В.П. Медицинские аспекты экогенетики // Соросовский образовательный журнал. 1997. № 8. С. 20–26.
- Brasch-Andersen C., Christiansen L., Tan Q. *et al.* Possible gene dosage effect of glutathione-S transferases on atopic asthma: Using real-time PCR for quantification of GSTM1 and GSTT1 gene copy numbers // Hum. Mutat. 2004. V. 24. P. 208–214.
- Ben-Yehuda D., Krichevsky S., Shafran S. *et al.* Therapy-related leukemia: Clinical characteristics and analysis of new molecular risk factors in 96 patients // Blood. 2002. V. 100. P. 324a.
- Drozdziak M., Bialecka M., Mysliwiec K. *et al.* Polymorphism in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene: a possible link between environmental and genetic factors in Parkinson's disease // Pharmacogenetics. 2003. V. 13. № 5. P. 259–263.
- Furuno T., Landi M.T., Ceroni M. *et al.* Expression polymorphism of the blood-brain barrier component P-glycoprotein (MDR1) in relation to Parkinson's disease // Pharmacogenetics. 2002. V. 12. P. 529–534.
- Garte S. Metabolic susceptibility genes as cancer risk factors: time for a reassessment // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 2001. V. 10. № 12. P. 1233–1240.
- Holgate S. The epidemic of allergy and asthma // Nature. 1999. V. 402. Suppl. P. 2–4.
- Illmer T., Shuler U.S., Thiede C. *et al.* MDR gene polymorphisms affect therapy outcome in acute myeloid leukemia patients // Cancer Res. 2002. V. 62. P. 4955–4962.
- Jamroziak K., Mlynarski W., Balcerczak E. *et al.* Functional C3435T polymorphism of MDR1 gene: an impact on genetic susceptibility and clinical outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia // Eur. J. Haematol. 2004. V. 72. № 5. P. 314–321.
- Kalow W. Pharmacogenetics in biological perspective // Pharmacol. Rev. 1997. V. 49. № 4. P. 369–379.
- Kim R.B., Leake B.F., Choo E.F. *et al.* Identification of functionally variant MDR1 alleles among European Americans and African Americans // Clin. Pharmacol. Ther. 2001. V. 70. № 2. P. 189–199.
- Nevo E. Evolution of genome-phenome diversity under environmental stress // Proc. Natl Acad. Sci. 2001. V. 98. № 11. P. 6233–6240.
- Rund D., Azar I., Shperling O. A mutation in the promoter of the multidrug resistance gene (MDR1) in human hematological malignancies may contribute to the pathogenesis of resistant disease // Adv. Exp. Med. Biol. 1999. V. 457. P. 71–75.



Schinkel A.H. The physiological function of drug-transporting P-glycoprotein // *Semin. Cancer Biol.* 1997. V. 8. P. 161–170.

Sram R.J., Binkova B. Molecular epidemiology studies on occupational and environmental exposure to

mutagens and carcinogens, 1997–1999 // *Environ Health Perspect.* 2000. V. 108. Suppl. 1. P. 57–70.

Vogel F. Moderne Probleme der Humangenetik // *Ergeb. Inn. Med. Kinderheilk.* 1959. V. 12. P. 52–125.

## ECOGENETICS ASPECT OF MULTIFACTORIAL DISEASES

**V.V. Lyakhovich, V.A. Vavilin, S.I. Makarova, A.J. Grishanova**

Institute of Molecular Biology and Biophysics, SB RAMS, Novosibirsk, Russia,  
e-mail: lyakh@soramn.ru

### Summary

The main attention of paper is focused on gene polymorphisms of xenobiotic metabolizing and transport proteins. There are shown that polymorphisms can be genetic factors of susceptibility to multifactorial diseases on literature and own results. Effects of individual genes, «gene–gene» and «gene–environment» interactions are considered. Future success of ecogenetic studies of multifactorial diseases the authors connect with efforts of wide range specialists.



## ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ НЕСТАБИЛЬНОСТИ ЭМБРИОНАЛЬНОГО ГЕНОМА В РАЗВИТИИ ЧЕЛОВЕКА

И.Н. Лебедев, Т.В. Никитина, А.Г. Токарева, Н.Н. Суханова, С.А. Назаренко

ГУ Научно-исследовательский институт медицинской генетики  
Томского научного центра СО РАМН, Томск, Россия, e-mail: igorl@img.tsu.ru

Для онтогенеза человека характерна чрезвычайно высокая частота репродуктивных потерь, в значительной степени обусловленная геномными мутациями. Несмотря на интенсивные исследования структуры хромосомного дисбаланса, ассоциированного с патологией эмбриогенеза, многие вопросы о механизмах формирования высокого уровня нарушений кариотипа на самых ранних этапах индивидуального развития до сих пор остаются неясными. С развитием методов полногеномного молекулярно-цитогенетического анализа и вспомогательных репродуктивных технологий накапливаются данные о значительной доле мозаичных форм хромосомных аномалий в структуре геномных мутаций у зародышей человека. Наличие в организме двух или более клеточных клонов с разными хромосомными наборами свидетельствует о митотической нестабильности эмбрионального генома. Другим маркером нестабильности выступают соматические мутации микросателлитных локусов ДНК, частота которых, в отличие от мутаций гаметического происхождения, заметно повышена у внутриутробно погибших зародышей человека. По-видимому, нестабильность генома на разных уровнях его организации является одним из основных факторов пренатального отбора у человека. В обзоре рассмотрены данные о некоторых патогенетических эффектах геномной нестабильности в эмбриональном развитии организма. Обсуждается гипотеза о взаимосвязи высокого уровня мутационной изменчивости с нарушениями фундаментальных механизмов эпигенетической регуляции ранних этапов онтогенеза.

### Введение

Одним из наиболее значимых явлений в репродукции человека является высокая частота невынашивания беременности. Согласно некоторым оценкам, шансы наступления беременности, ее нормального протекания и рождения здорового ребенка у женщин в возрасте 20–30 лет составляют всего 21–28 % в течение одного менструального цикла (Bonde *et al.*, 1998). Около 60 % зигот элиминируется на пре- и ранних постимплантационных этапах развития, а 15–20 % клинически распознаваемых беременностей спонтанно прерываются в течение первого триместра (Macklon *et al.*, 2002). Очевидно, что исследование факторов, лежащих в основе такого мощного действия отбора, имеет высокую значимость.

В настоящее время уже не вызывает сомнений, что доминирующим фактором пренатального отбора у человека являются геном-

ные мутации (Griffin *et al.*, 1997). Согласно классическим представлениям, большинство aberrаций кариотипа составляют числовые аномалии хромосом, анеуплоидии и полиплоидии, формирующиеся вследствие ошибок гаметогенеза в половых клетках родителей или в результате нарушений оплодотворения. Однако, несмотря на интенсивные исследования механизмов формирования числовых хромосомных нарушений в гаметогенезе у человека, многие вопросы в этой области цитогенетики до сих пор остаются дискуссионными (Hassold, Hunt, 2001). В последнее время со стремительным развитием комбинации новых методов молекулярно-цитогенетического анализа и процедур вспомогательных репродуктивных технологий стали накапливаться сведения о высокой частоте мозаичных форм хромосомных нарушений на преимплантационных этапах развития человека (Los *et al.*, 2004). Формирование мозаичных вариантов хромосомных нарушений,

при которых организм имеет как минимум два клеточных клона с различным кариотипом, является результатом ошибок митотической сегрегации хромосом в соматических клетках развивающегося зародыша. Безусловно, данный феномен может вносить весьма заметный вклад в формирование общего пула хромосомных аномалий в пренатальном периоде развития человека. Однако этот вклад остается пока еще малоизученным. Существенный интерес с позиций анализа нестабильности эмбрионального генома могут представлять данные и о соматических мутациях микросателлитных локусов ДНК, частота которых в отличие от мутаций гаметического происхождения заметно повышена у внутриутробно погибших зародышей человека. В настоящем обзоре рассмотрены некоторые данные о патогенетической роли геномной нестабильности в раннем периоде онтогенеза человека, в том числе полученные в результате наших собственных исследований. Кроме того, обсуждены регуляторные эпигенетические механизмы, нарушения которых потенциально могут быть ассоциированы с потерей контроля за структурно-функциональной целостностью генома.

### **Маркеры геномной нестабильности при патологии эмбриогенеза**

Интенсивное развитие молекулярно-цитогенетических и эмбриологических технологий предоставило уникальную возможность получения новой информации о структуре геномных мутаций, ассоциированных с патологией эмбрионального развития человека. Наибольший прогресс в этом вопросе, безусловно, достигнут в области преимплантационной генетической диагностики. Исследования кариотипа отдельных бластомеров показали, что от 15 до 85 % зародышей имеют числовые аномалии хромосом (Munne *et al.*, 1994; Harper *et al.*, 1995; Magli *et al.*, 2000), причем существенная часть из них находится в мозаичном состоянии. По результатам флюоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) с центромероспецифичными ДНК-зондами даже на ограниченном числе хромосом было показано, что частота хромосомного мозаицизма заметно возрастает в период дробления бластомеров от

15–18 % на стадии 2–4 клеток до 50–68 % на стадии 5–8-клеточной морулы (Xu *et al.*, 2000; Bielanska *et al.*, 2002). В некоторых работах мозаичная хромосомная конституция бластоцист регистрировалась даже у 90–100 % обследованных зародышей (Bielanska *et al.*, 2002; Malmgren *et al.*, 2002). По результатам нескольких недавних исследований, в которых с помощью сравнительной геномной гибридизации (CGH) удалось впервые осуществить полногеномный скрининг хромосомных нарушений на уровне отдельных бластомеров, было показано, что частота хромосомного мозаицизма варьирует от 33 до 60 % (Voullaire *et al.*, 2000; Wells, Delhanty, 2000; Wilton *et al.*, 2003; Trussler *et al.*, 2004). От 16 до 51 % бластоцист обладают хаотичным кариотипом, т. е. несут в своем составе бластомеры с различными комбинациями хромосомных нарушений. Шансы на успешную имплантацию таких бластоцист являются минимальными.

На постимплантационных этапах развития хромосомный мозаицизм также выступает заметным фактором внутриутробного отбора. Особую теоретическую значимость для цитогенетики онтогенеза, а также серьезную проблему для пренатальной диагностики представляет ограниченный плацентарный мозаицизм (confined placental mosaicism, CPM). При CPM наблюдается локализация клеточных клонов с хромосомными аномалиями исключительно в экстраэмбриональных тканях, кариотип клеток зародыша является при этом нормальным. Частота CPM у нормально развивающихся эмбрионов и плодов составляет в среднем 1–2 % (Kalousek, 2000), тогда как у спонтанных абортусов I триместра беременности данный показатель достигает уже 20–25 % (Griffin *et al.*, 1997; Lebedev *et al.*, 2004).

Распределение мозаичных клеточных линий в различных тканях зародыша определяется множеством факторов и зависит от механизма возникновения первичного хромосомного нарушения (мейотическая мутация в гаметогенезе родителей или митотическая ошибка в делящихся клетках эмбриона); от стадии дифференцировки ткани, в которой появляется новая клеточная линия; от ее пролиферативных и миграционных свойств (Wolstenholme, 1996). Комбинация отмеченных факторов опреде-

ленным образом сказывается и на характере эмбрионального развития. В качестве примера можно привести полученные нами данные об особенностях фенотипического проявления мозаичных вариантов аутосомных моносомий в I триместре беременности (Лебедев, Назаренко, 2004). С помощью интерфазного FISH-анализа клеток 60 спонтанных абортусов с низкой пролиферативной активностью, недоступных для стандартного цитогенетического исследования, была обнаружена неожиданно высокая частота мозаичных моносомий по аутосомам 7, 15, 21 и 22, составившая 19 % от всех выявленных хромосомных нарушений. Аутосомные моносомии являются летальным нарушением кариотипа, несовместимым, как правило, с нормальной имплантацией бластоцисты, поэтому данный тип хромосомных аномалий практически не регистрируется в выборках спонтанно абортированных эмбрионов в I триместре беременности. Для объяснения возможных механизмов формирования мозаичных моносомий у эмбрионов на постимплантационных этапах развития нами было изучено распределение анеуплоидных клеточных линий в производных различных эмбриональных и внезародышевых листков. Клетки с моносомиями по хромосомам 7 и 15, ранее не описанным у спонтанных абортусов I триместра, оказались ограниченными цитотрофобластом плацентарных тканей и отсутствовали в экстраэмбриональной мезодерме. Внезародышевая мезодерма является производной эпибласта, обособляющегося из клеток внутренней клеточной массы бластоцисты после имплантации. Наблюдаемый вариант межтканевого распределения анеуплоидных клеток мог сформироваться в результате митотического нерасхождения хромосом в части клеток цитотрофобласта уже после обособления эмбриональных и внезародышевых листков, т. е. после этапа имплантации. По всей видимости, клетки имплантирующейся бластоцисты имели нормальный кариотип.

Другой вариант распределения клеточных линий наблюдался для моносомий по хромосомам 21 и 22. Анеуплоидные клетки в мозаичном состоянии с нормальной клеточной линией обнаруживались как в цитотрофобласте, так и в экстраэмбриональной мезодерме. Такое распределение может свидетельствовать о достаточно

раннем возникновении хромосомного нарушения, вероятно, еще до имплантации. Возможно, что присутствие клеток с моносомиями 21 и 22 в бластоцисте не является существенным препятствием для прохождения имплантации. Более того, в единичных случаях моносомии 21 и 22 регистрировались у спонтанных абортусов (Hassold *et al.*, 1980; Dejmek *et al.*, 1992), а моносомия 21 была описана даже у новорожденных (Pellisier *et al.*, 1987, Garzicic *et al.*, 1988).

Интересно отметить, что степень тяжести нарушения эмбрионального развития также оказалась связанной с особенностями межтканевого распределения клеточных линий с аутосомными моносомиями. Если анеуплоидные клетки оказывались ограниченными цитотрофобластом (моносомии 7 и 15) или преобладали в нем по сравнению с экстраэмбриональной мезодермой (один из случаев моносомии 22), то такие ситуации приводили к остановке эмбриогенеза на 7–8-й неделях развития и заканчивались неразвивающимися беременностями. В тех же случаях, когда клетки с моносомиями преобладали в экстраэмбриональной мезодерме (моносомия 22) или обнаруживались с одинаковой частотой в цитотрофобласте и в мезодерме, эмбриональное развитие останавливалось достаточно рано, вероятно, еще на этапе дифференцировки внутренней клеточной массы, поскольку все абортированные зародыши были представлены пустыми плодовыми мешками. Возможно, что преобладание мозаичной аутосомной моносомии, по крайней мере, по хромосомам 21 и 22 в производных эпибласта может являться критическим фактором, несовместимым с нормальным морфогенезом эмбриональных структур. Таким образом, эти данные указывают на то, что тканеспецифичная локализация анеуплоидных клеток, определяемая стадией специфичными аномалиями митоза в онтогенезе, может оказывать определенное влияние на характер нарушений развития зародыша.

Дополнительным подтверждением этого тезиса являются результаты исследования, в котором было проанализировано влияние хромосомного мозаицизма в плацентарных тканях на развитие плодов с трисомиями по хромосомам 13 и 18 (Kalousek *et al.*, 1989). Цитогенетический анализ плацент 14 новорожденных и мертворожденных с чистой формой

трисомии 13 или 18 в тканях плода показал наличие диплоидно-анеуплоидного мозаицизма в цитотрофобласте (с частотой нормальных клеток 12–100 %), но не в строме ворсин хориона (экстраэмбриональная мезодерма) или амнионе. Вероятно, что присутствие в цитотрофобласте клеток с нормальным кариотипом, возникших вследствие механизма «коррекции трисомии», может поддерживать относительно нормальное внутриутробное развитие таких зародышей в течение III триместра.

Интересно отметить, что хромосомный мозаицизм является не единственным маркером нестабильности эмбрионального генома на ранних этапах онтогенеза. Особый интерес в этом отношении могут представлять мутации микросателлитных локусов ДНК. Микросателлиты (МС) – короткие tandemно повторяющиеся последовательности ДНК с длиной повторяющегося мотива от 2 до 6 нуклеотидов, формирующие более или менее однородные тракты протяженностью до сотен нуклеотидов. Особенностью данного класса повторов ДНК является высокая частота спонтанных мутаций (Brinkmann *et al.*, 1998), которая значительно возрастает при некоторых патологических состояниях. Повышенная частота мутаций МС локусов, так называемая микросателлитная нестабильность, выявляется при онкологических заболеваниях и является индикатором дефектов генов системы мисматч-репарации ДНК (Thibodeau *et al.*, 1993).

В 1998 г. появилось первое сообщение о повышенной частоте гаметических мутаций МС у спонтанных абортусов, а также о статистически значимой связи между наличием гаметических мутаций и невынашиванием беременности (Spandidos *et al.*, 1998). В этом исследовании 23 % спонтанных абортусов продемонстрировали наличие мутаций МС локусов, возникших в половых клетках родителей. Учитывая тот факт, что генетические причины гибели около половины зародышей, имеющих нормальный кариотип, как правило, остаются не выявленными, предположение о существовании связи между повышенной частотой МС мутаций и невынашиванием беременности требовало дополнительного экспериментального подтверждения.

В наших исследованиях на семейном материале (55 супружеских пар с невынашиванием

беременности) также была обнаружена высокая частота мутаций тетра-нуклеотидных локусов в целом как гаметического, так и соматического происхождения (Никитина, Назаренко, 2000). У 8 из 55 обследованных эмбрионов (14,5 %) были зарегистрированы мутации МС. В среднем частота мутаций исследованной панели 21 тетра-нуклеотидного маркера ( $9,8 \times 10^{-3}$  на locus на гамету на поколение) практически в 5 раз превысила спонтанный уровень мутирования МС данного типа. Однако наиболее интересные данные были получены в результате дифференциального анализа частоты гаметических и соматических мутаций МС в семьях со здоровыми детьми и в супружеских парах с невынашиванием беременности. В семьях, имевших спонтанный аборт с нормальным кариотипом, частота гаметических мутаций МС оказалась более высокой, чем в семьях с нормальной репродуктивной функцией:  $4,36 \times 10^{-3}$  и  $2,32 \times 10^{-3}$  на locus на гамету на поколение соответственно, однако это различие оказалось статистически недостоверным ( $P = 0,25$ ). В то же время при исследовании сегрегации 10 МС локусов ДНК у 4 из 95 спонтанных абортусов с нормальным кариотипом (4,2 %) было обнаружено наличие дополнительных аллелей, отсутствующих у обоих родителей. Такая ситуация свидетельствует о мутационном событии в соматических клетках зародыша. В контрольной выборке из 51 медицинского абортуса не было выявлено ни одной мутации по исследованным локусам, что позволило исключить гипермутабильность МС маркеров как причину повышенной частоты мутаций некоторых из них в группе спонтанных абортусов. В среднем частота мутаций всего комплекса МС маркеров в группе спонтанных абортусов с нормальным кариотипом составила  $8,8 \times 10^{-3}$  и статистически значимо ( $P = 0,01$ ) превысила скорость спонтанного мутирования исследованных тетра-нуклеотидных МС. Полученные данные дают основание предполагать, что нестабильность генома, выявляемая на уровне повторяющихся последовательностей ДНК, может затрагивать не только генетически нейтральные локусы, но, возможно, и участки генома, играющие важную регуляторную роль в раннем развитии и жизнеспособности зародыша. Принципиально отметить, что, как и в случае хромосомного мозаицизма, гибель



части зародышей человека на ранних этапах онтогенеза оказывается ассоциированной с нестабильностью эмбрионального генома, проявляющейся в форме соматических мутаций МС локусов ДНК.

### Эпигенетические факторы нестабильности генома в эмбриогенезе

Какие факторы могут определять высокий уровень наблюдаемой нестабильности генома в раннем периоде эмбриогенеза? В целом этот вопрос лежит в области фундаментальной проблемы современной биологии развития, связанной с познанием закономерностей функционирования генома и реализации наследственной информации в онтогенезе. Представляется очевидным, что нестабильность генома может определяться дисбалансом особых регуляторных систем, контролирующих его структурно-функциональную целостность в течение индивидуального развития организма. С одной стороны, это могут быть контрольные системы клеточного цикла (cell cycle checkpoints) или механизмы репарации ДНК. С другой стороны, целостность генома может находиться под контролем эпигенетических систем регуляции генной экспрессии.

Под «эпигенетикой» принято понимать наследуемые изменения функции гена, не связанные с изменениями его первичной нуклеотидной последовательности (Bird, 2002). Материальную основу эпигенетической регуляции составляют обратимые ковалентные модификации ДНК (метилирование цитозинового основания) и гистонов (ацетилирование, фосфорилирование, метилирование, убиквитинилирование). С позиций возможности наследуемости эпигенетического статуса клетки в ряду поколений только метилирование ДНК в настоящее время рассматривается как истинная эпигенетическая модификация генома. Функциональное значение метилирования ДНК заключается в транскрипционной инактивации хроматина, обусловленной надмолекулярными изменениями его компактизации. В нормальных соматических клетках метилирование ДНК ответственно за поддержание и реализацию таких фундаментальных биологических процессов, как инактивация X-хромосомы, геномный

импринтинг, регуляция тканеспецифичной экспрессии генов, репрессия ретротранспозонов в геноме и, что представляет существенный интерес в рамках настоящего обзора, контроль геномной стабильности (Costello, Plass, 2001). По-видимому, закономерно, что вслед за завершением проекта «Геном человека» начинаются исследования «метилома» – совокупности метилированных последовательностей ДНК в клетке (Feinberg, 2001) и уже объявлено о формировании консорциума «Эпигеном человека» (HEP – Human Epigenome Project) (Novik *et al.*, 2002).

Изменение статуса метилирования отдельных локусов или всего генома в целом драматическим образом сказывается на судьбе клеток. Наиболее отчетливо это проявляется при канцерогенезе, где на фоне чрезвычайно высокой нестабильности генома регистрируются его глобальное гипометилирование и гиперметилирование CpG-островков промоторных областей регуляторных генов. Прогрессивно растущий список генов с установленными формами эпигенетической инактивации при онкологических процессах включает в себя гены, ответственные за реализацию ключевых процессов клеточной физиологии, таких, как клеточный цикл, апоптоз, дифференцировка, репарация ДНК, передача внутри- и межклеточных сигналов, регуляция факторов транскрипции (Plass, Soloway, 2002; Strathdee, Brown, 2002). Очевидно, что нарушение этих процессов несовместимо с нормальным функционированием как отдельной клетки, так и всего организма в целом.

Одним из наиболее значимых в последние годы открытий в области регуляции генной экспрессии в раннем периоде онтогенеза млекопитающих явилось установление феномена эпигенетического перепрограммирования генома (Li, 2002). На стадии дробления от зиготы до бластоцисты отмечается практически тотальное деметилирование генома (за исключением импринтированных локусов). В период имплантации, когда происходит обособление зародышевых и экстраэмбриональных листков, запускается процесс установления тканеспецифичного метилирования. При этом уровень метилирования ДНК в стволовой линии экстраэмбриональных тканей – трофобласте – возрастает незначительно, в то время как геном



клеток – производных внутренней клеточной массы, дающих начало эмбриональным структурам, подвергается существенному метилированию. Предполагается, что подобные эпигенетические преобразования генома существенны для обеспечения тотипотентности зиготы с последующим сужением морфогенетического статуса клеток по мере установления тканеспецифичного характера генной экспрессии в процессе клеточной дифференцировки (Dean *et al.*, 2003; Kang *et al.*, 2003).

Возвращаясь к феномену хромосомного мозаицизма на преимплантационных этапах развития, можно заметить, что накопление частоты мозаичных нарушений хромосом при дроблении бластомеров протекает на фоне глобального гипометилирования генома, так же, как и при онкологических процессах. Кроме того, дополнительным фактором может выступать инактивация контрольных точек клеточного цикла на этапах дробления (Harrison *et al.*, 2000). Активация экспрессии эмбрионального генома запускается только лишь со стадии 4–8 бластомеров (Braude *et al.*, 1988). Прямые экспериментальные доказательства взаимосвязи эпигенетического статуса преимплантационных зародышей человека с хромосомными аномалиями и нарушениями эмбрионального развития пока еще не получены. Вместе с тем возрастающий уровень хромосомного дисбаланса на фоне гипометилирования генома недавно был отмечен при исследовании преимплантационных зародышей различных видов млекопитающих (Shi *et al.*, 2004), а также при клонировании (Slimane-Bureau *et al.*, 2003). Отмечается, что корректное эпигенетическое перепрограммирование генома дифференцированной соматической клетки с целью восстановления ее тотипотентности и сохранения при этом нормального кариотипа остается главным лимитирующим фактором успешного клонирования.

Вполне вероятно, что нарушение тонких механизмов индукции экспрессии эмбрионального генома при накоплении в нем к моменту активации высокого уровня хромосомных aberrаций может отразиться на эпигенетическом статусе дифференцирующихся клеток и в дальнейшем негативным образом сказаться на ходе всего эмбриогенеза. Особого внимания в этом отношении заслуживает информация об

особенностях межклеточной локализации хромосомных нарушений у спонтанных абортусов. Обобщение результатов цитогенетических исследований внутриутробно погибших зародышей с этих позиций указывает на значительное преобладание мозаичных хромосомных аномалий в клетках цитотрофобласта хориона (Лебедев, Назаренко, 2001). Эта ткань является производным трофобласта, который избегает основной волны метилирования *de novo* при перепрограммировании эмбрионального генома. То есть и в данном случае возникновение мозаичного хромосомного нарушения протекает на фоне гипометилированного состояния ДНК.

Влияние гипометилирования ДНК на индукцию нестабильности генома прослеживается во многих модельных системах (Ehrlich, 2000). Так, например, показано, что в дифференцированных соматических клетках перичентромерные гетерохроматиновые районы хромосом 1 и 16, содержащие фракцию сателлитной ДНК *sat2*, гиперметилированы. При аденокарциноме груди, опухолях яичников и спорадических опухолях Вильмса эти районы гипометилированы и нестабильны. Нестабильность проявляется в различных типах хромосомных aberrаций, таких, как изохромосомы, транслокации с разрывами в околоцентромерных областях, делеции целых хромосомных плеч (Costello, Plass, 2001). Подобные изменения наблюдаются и при искусственном ингибировании ДНК-метилтрансферазы I типа (DNMT1), ответственной за поддержание статуса метилирования при репликации ДНК (Hernandez *et al.*, 1997). Мутации другого гена – *DNMT3B*, кодирующего синтез ДНК-метилтрансферазы 3В, вовлеченной в метилирование ДНК *de novo*, определяют развитие синдрома ICF, сопровождающегося центромерной нестабильностью, иммунодефицитом и лицевыми аномалиями (Robertson, Wolffe, 2000). Интересно отметить, что ранее в нашей лаборатории было описано существенное увеличение размеров С-гетерохроматиновых районов хромосом 1 и 16, содержащих сателлит II, в экстраэмбриональных тканях спонтанных абортусов по сравнению с эмбриональными тканями (Назаренко, Карагеоргий, 1995). По хромосоме 9, содержащей сателлит III, и по хромосоме Y, содержащей 4 разных типа сателлитной ДНК, отличия оказались недостоверными.

Это позволило высказать предположение, что причина наблюдаемых отличий по величине С-сегментов хромосом заключается в изменении их надмолекулярной компактизации, обусловленной тканеспецифичным характером метилирования ДНК гетерохроматина. При этом сателлит II является, по-видимому, наиболее чувствительной мишенью, отвечающей большей степенью декомпактизации при гипометилировании цитозиновых оснований ДНК. Позднее данное предположение нашло экспериментальное подтверждение в других исследованиях. Так, гипометилирование прицентромерного гетерохроматина хромосом 1, 9 и 16 обнаружено в экстраэмбриональных тканях на ранних этапах (5–8 недель) нормального развития зародышей человека, но не в клетках эмбрионального происхождения (Пендина и др., 2001). Очевидно, что эти наблюдения отражают общую закономерность установления дифференциального характера метилирования ДНК в производных разных зародышевых и экстраэмбриональных листков в раннем эмбриогенезе млекопитающих (Li, 2002).

Как уже отмечалось выше, наряду с глобальным гипометилированием генома, гиперметилирование промоторных областей генов также может вносить определенный вклад в формирование геномной нестабильности. В ряду генов с известными формами такой эпигенетической инактивации особого внимания в связи с митотической нестабильностью генома, безусловно, заслуживают гены контроля клеточного цикла: *p14<sup>ARF</sup>*, *p15<sup>INK4b</sup>*, *p16<sup>INK4a</sup>*, *p27<sup>KIP1</sup>*, *p57<sup>KIP2</sup>*, *14-3-3σ*, *RB1* (Costello, Plass, 2001; Strathdee, Brown, 2002). Так, продукты генов *p14<sup>ARF</sup>*, *p15<sup>INK4b</sup>*, *p16<sup>INK4a</sup>*, *RB1* вовлечены в Rb- и p53-метаболические пути регуляции клеточного цикла на этапе G1/S и определяют возможность прохождения клеткой «точки рестрикции» и вступления в митоз (Roncalli *et al.*, 2002). Инактивация этих генов, в том числе и через эпигенетические механизмы, обеспечивает возможность пролиферации клеток с нестабильным хромосомным набором, приводит к возрастанию уровня и спектра хромосомных аномалий, автокаталитической клональной эволюции кариотипа и, как следствие, к прогрессии злокачественного процесса (Xing *et al.*, 1999). Гены *p27<sup>KIP1</sup>* и *p57<sup>KIP2</sup>* – ингибиторы циклин-за-

висимых киназ – вовлечены в контроль завершения S-фазы клеточного цикла и ответственны за невозможность повторных раундов репликации ДНК без полного окончания клеточного деления. Инактивация этих генов рассматривается в качестве одного из возможных молекулярных механизмов эндомитоза (Edgar, Orr-Weaver, 2001), что представляет особый интерес для исследования закономерностей формирования полиплоидных клеток. Продукт гена стратифина (*SFN*) 14-3-3σ принадлежит к семейству белков, ответственных за контроль вступления клетки в митоз на этапе G<sub>2</sub>/M, и ингибирует клеточное деление при повреждениях ДНК через p53-зависимую деградацию цитоплазматического комплекса «CDC2 – циклин B1», участвующего в инициации митоза (Hermeking *et al.*, 1997). При воздействии γ-облучения было отмечено более высокое накопление хромосомных aberrаций в клеточных линиях рака груди, не экспрессирующих 14-3-3σ (Ferguson *et al.*, 2000). Таким образом, индукция хромосомной нестабильности в клетках вполне может быть обусловлена инактивацией контрольных точек клеточного цикла вследствие гиперметилирования промоторных регионов некоторых регуляторных генов.

Гиперметилирование промоторов генов *hMLH1*, *BRCA1*, *MGMT*, продукты которых вовлечены в процессы репарации ДНК, также может драматическим образом сказываться на стабильности генома. В частности, потеря функции *hMLH1* при колоректальном раке приводит практически к 100-кратному повышению частоты мутаций MC локусов (Ionov *et al.*, 1993). Эпигенетическая инактивация гена *hMLH1* описана при спорадических формах рака эндометрия, а также при наследственном колоректальном раке и раке желудка (Costello, Plass, 2001). Эксперименты по реактивации экспрессии *hMLH1* с использованием ингибиторов ДНК-метилтрансфераз показали возможность восстановления нормального фенотипа клеток, способных к мисматч репарации ДНК. Можно предположить, что aberrантная эпигенетическая инактивация генов мисматч репарации ДНК в раннем эмбриогенезе также может лежать в основе нестабильности эмбрионального генома, выявляемой на уровне микросателлитных локусов.

Таким образом, в настоящее время сформирована совокупность фактов, позволяющая рассматривать глобальные или локальные нарушения эпигенетической системы регуляции целостности генома в качестве одного из потенциальных индуцирующих факторов его нестабильности на разных структурно-функциональных уровнях организации. Аберрантные эпигенетические изменения в ходе раннего эмбриогенеза человека, являясь, по всей видимости, неспецифичными по отношению к тем или иным локусам генома, могут в конечном итоге выступать существенным фактором пренатального отбора. Однако важно подчеркнуть, что причинно-следственные отношения между нарушениями эпигенетических систем регуляции целостности генома и его нестабильностью, проявляющейся в форме мозаичных нарушений кариотипа и соматических мутаций микросателлитных локусов ДНК, во многом еще не ясны (Matzke *et al.*, 2003). Скорее всего, в основе нарушений генетических механизмов, приводящих к патологии эмбриогенеза, лежат еще неизученные феномены эпигенетического контроля индивидуального развития.

### Литература

- Лебедев И.Н., Назаренко С.А. Тканеспецифичный плацентарный мозаицизм по аутосомным трисомиям у спонтанных абортусов человека: механизмы формирования и фенотипические эффекты // Генетика. 2001. Т. 37. № 11. С. 1459–1474.
- Лебедев И.Н., Назаренко С.А. Особенности фенотипической экспрессии аутосомных моносомий при патологии постимплантационного развития человека // Онтогенез. 2004. Т. 35. № 1. С. 53–60.
- Назаренко С.А., Карагеоргий Н.М. Межтканевые различия С-полиморфных районов хромосом и эмбрионов человека: возможная роль метилирования ДНК // Генетика. 1995. Т. 31. № 11. С. 1578–1581.
- Никитина Т.В., Назаренко С.А. Мутации в микросателлитных повторах ДНК и эмбриональная гибель человека // Генетика. 2000. Т. 36. № 7. С. 965–971.
- Пендина А.А., Кузнецова Т.В., Логинова Ю.А., Баранов В.С. Особенности метилирования прицентромерного гетерохроматина хромосом 1, 9 и 16 у эмбрионов человека // Цитология. 2001. Т. 43. № 8. С. 772–776.
- Bielanska M., Tan S.L., Ao A. Chromosomal mosaicism throughout human preimplantation development *in vitro*: incidence, type and relevance to embryo outcome // Human Reproduction. 2002. V. 17. № 2. P. 413–419.
- Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory // Genes and Development. 2002. V. 16. P. 6–21.
- Bonde J.P.E., Ernst E., Jenson T.K. *et al.* Relation between semen quality and fertility: a population based study of 430 first-pregnancy planners // Lancet. 1998. V. 352. P. 1172–1177.
- Braude P., Bolton V., Moore S. Human gene expression first occurs between the four- and eight-cell stages of preimplantation development // Nature. 1988. V. 332. P. 459–461.
- Brinkmann B., Klintschar M., Neuhuber F. *et al.* Mutation rate in human microsatellites: influence of the structure and length of the tandem repeat // Am. J. Hum. Genet. 1998. V. 62. P. 1408–1415.
- Costello J.F., Plass C. Methylation matters // J. Med. Genet. 2001. V. 38. P. 285–303.
- Dean W., Santos F., Reik W. Epigenetic reprogramming in early mammalian development and following somatic nuclear transfer // Seminars in Cell and Developmental Biol. 2003. V. 14. P. 93–100.
- Dejmek J., Vojtassak J., Malova J. Cytogenetic analysis of 1508 spontaneous abortions originating from south Slovakia // Eur. J. Obstetrics Gynecol. Reprod. Biol. 1992. V. 46. P. 129–136.
- Edgar B.A., Orr-Weaver T.L. Endoreplication cell cycles: more for less // Cell. 2001. V. 105. P. 297–306.
- Ehrlich M. DNA methylation: normal development, inherited diseases and cancer // J. Clin. Ligand Assay. 2000. V. 23. P. 144–146.
- Feinberg A. Methylation meets genomics // Nature Genet. 2001. V. 27. P. 9–10.
- Ferguson A.T., Evron E., Umbricht C.B. *et al.* High frequency of hypermethylation at the 14-3-3 sigma locus leads to gene silencing in breast cancer // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2000. V. 97. P. 6049–6054.
- Garzicic B., Guc-Scekic M., Pilic-Radivojevic G. *et al.* A case of monosomy 21 // Annales de Genetique. 1988. V. 31. № 4. P. 247–249.
- Griffin D.K., Millie E.A., Redline R.W. *et al.* Cytogenetic analysis of spontaneous abortions: Comparison of techniques and assessment of the incidence of confined placental mosaicism // Am. J. of Med. Genet. 1997. V. 72. P. 297–301.
- Harper J.C., Coonen E., Handyside A.H. *et al.* Mosaicism of autosomes and sex chromosomes in morphologically normal, monospermic preimplantation human embryos // Prenatal Diagnosis. 1995. V. 15. № 1. P. 41–49.
- Harrison R.H., Kuo H.C., Scriven P.N. *et al.* Lack of cell cycle checkpoints in human cleavage stage embryos revealed by a clonal pattern of chromosomal

- mosaicism analysed by sequential multicolour FISH // *Zygote*. 2000. V. 8. P. 217–224.
- Hassold T., Chen N., Funkhouser J. *et al.* A cytogenetic study of 1000 spontaneous abortions // *Ann. Hum. Genet.* 1980. V. 44. № 2. P. 151–178.
- Hassold T., Hunt P. To err (meiotically) is human: the genesis of human aneuploidy // *Nat. Rev. Genet.* 2001. V. 2. P. 280–291.
- Hermeking H., Lengauer C., Polyak K. *et al.* 14-3-3 sigma is a p53-regulated inhibitor of G2/M progression // *Mol. Cell*. 1997. V. 1. P. 3–11.
- Hernandez R., Frady A., Zhang X.Y. *et al.* Preferential induction of chromosome 1 multibranching figures and whole-arm deletions in a human pro-B cell line treated with 5-azacytidine or 5-azadeoxycytidine // *Cytogenet. Cell Genet.* 1997. V. 76. P. 196–201.
- Ionov Y., Peinado M.A., Malkhosyan S. *et al.* Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis // *Nature*. 1993. V. 363. P. 558–561.
- Kalousek D.K., Barrett I.J., McGillivray B.C. Placental mosaicism and intrauterine survival of trisomies 13 and 18 // *Am. J. Hum. Genet.* 1989. V. 44. № 3. P. 338–343.
- Kalousek D.K. Pathogenesis of chromosomal mosaicism and its effect on early human development // *Am. J. Med. Genet.* 2000. V. 91. P. 39–45.
- Kang Y.K., Lee K.K., Han Y.M. Reprogramming DNA methylation in the preimplantation stage: peeping with Dolly's eyes // *Curr. Opin. Cell Biol.* 2003. V. 15. № 3. P. 290–295.
- Lebedev I.N., Ostroverkhova N.V., Nikitina T.V. *et al.* Features of chromosomal abnormalities in spontaneous abortion cell culture failures detected by interphase FISH analysis // *Eur. J. Hum. Genet.* 2004. V. 12. № 7. P. 513–520.
- Li E. Chromatin modification and epigenetic reprogramming in mammalian development // *Nat. Rev. Genet.* 2002. V. 3. P. 662–673.
- Los F.J., van Opstal D., van den Berg C. The development of cytogenetically normal, abnormal and mosaic embryos: a theoretical model // *Hum. Reprod. Update*. 2004. V. 10. № 1. P. 79–94.
- Macklon N.S., Geraedts J.P., Fauser B.C. Conception to ongoing pregnancy: the «black box» of early pregnancy loss // *Hum. Reprod. Update*. 2002. V. 8. P. 333–343.
- Magli M.C., Jones G.M., Gras L. *et al.* Chromosome mosaicism in day 3 aneuploid embryos that develop to morphologically normal blastocysts *in vitro* // *Hum. Reprod.* 2000. V. 15. № 8. P. 1781–1786.
- Malmgren H., Sahlen S., Inzunza J. *et al.* Single cell CGH analysis reveals a high degree of mosaicism in human embryos from patients with balanced structural chromosome aberrations // *Mol. Hum. Reprod.* 2002. V. 8. № 5. P. 502–510.
- Matzke M.A., Mette M.F., Kanno T., Matzke A.J. Does the intrinsic instability of aneuploid genomes have a causal role in cancer? // *Trends Genet.* 2003. V. 19. P. 253–256.
- Munne S., Weier H.U., Grifo J., Cohen J. Chromosome mosaicism in human embryos // *Biol. Reprod.* 1994. V. 51. P. 373–379.
- Novik K.L., Nimmrich I., Genç B. *et al.* Epigenomics: Genome-wide study of methylation phenomena // *Curr. Issues Mol. Biol.* 2002. V. 4. P. 111–128.
- Pellisier M.C., Philip N., Voelckel-Baeteman M.A. *et al.* Monosomy 21: a new case confirmed by *in situ* hybridization // *Hum. Genet.* 1987. V. 75. № 1. P. 95–96.
- Plass C., Soloway P.D. DNA methylation, imprinting and cancer // *Eur. J. Hum. Genet.* 2002. V. 10. P. 6–16.
- Robertson K.D., Wolffe A.P. DNA methylation in health and disease // *Nat. Rev. Genet.* 2000. V. 1. P. 11–19.
- Roncalli M., Bianchi P., Bruni B. *et al.* Methylation framework of cell cycle inhibitors in cirrhosis and associated hepatocellular carcinoma // *Hepatology*. 2002. V. 36. P. 427–432.
- Shi W., Dirim F., Wolf E. *et al.* Methylation reprogramming and chromosomal aneuploidy in *in vivo* fertilized and cloned rabbit preimplantation embryos // *Biol. Reprod.* 2004. V. 71. P. 340–347.
- Slimane-Bureau W., Bordignon V., Leveille C. *et al.* Assessment of chromosomal abnormalities in bovine nuclear transfer embryos and in their donor cells // *Cloning Stem Cells*. 2003. V. 5. P. 123–132.
- Spandidos D.A., Koumantakis E., Sifakis S., Sourvinos G. Microsatellite mutations in spontaneous aborted embryos // *Fertility Sterility*. 1998. V. 70. № 5. P. 892–895.
- Strathdee G., Brown R. Aberrant DNA methylation in cancer: potential clinical interventions // *Expert Rev. Mol. Med.* 2002. 4 March. Available at <http://www-ermm.cbccu.cam.ac.uk/02004222h.htm>.
- Thibodeau S.N., Bren G., Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon // *Lancet*. 1993. V. 260. P. 816–819.
- Trussler J.S., Pickering S.J., Ogilvie C.M. Investigation of chromosomal imbalance in human embryos using comparative genomic hybridization // *Reprod. Biomed. Online*. 2004. V. 8. № 6. P. 701–711.
- Voullaire L., Slater H., Williamson R., Wilton L. Chromosome analysis of blastomeres from human embryos by using comparative genomic hybridization // *Hum. Genet.* 2000. V. 106. P. 210–217.
- Wells D., Delhanty J.D.A. Comprehensive chromosomal analysis of human preimplantation embryos using whole genome amplification and single cell comparative genomic hybridization // *Mol. Hum. Reprod.* 2002. V. 8. № 5. P. 502–510.



- Reprod. 2000. V. 6. № 11. P. 1055–1062.
- Wilton L., Voullaire L., Sargeant P. *et al.* Preimplantation aneuploidy screening using comparative genomic hybridization or fluorescence *in situ* hybridization of embryos from patients with recurrent implantation failure // *Fertility Sterility*. 2003. V. 80. № 4. P. 860–868.
- Wolstenholme J. Confined placental mosaicism for trisomies 2, 3, 7, 8, 9, 16 and 22: their incidence, likely origins and mechanisms for cell lineage compartmentalization // *Prenatal Diagnosis*. 1996. V. 16. P. 511–524.
- Xing E.P., Nie Y., Song Y. *et al.* Mechanisms of inactivation of *p14<sup>ARF</sup>*, *p15<sup>INK4b</sup>*, and *p16<sup>INK4a</sup>* genes in human esophageal squamous cell carcinoma // *Clin. Cancer Res*. 1999. V. 5. P. 2704–2713.
- Xu Y., Zhuang G., Shu Y. Preliminary analysis of chromosome mosaicism in preimplantation embryos // *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 2000. V. 35. P. 456–458.

## PATHOGENESIS OF EMBRYONIC GENOME INSTABILITY IN HUMAN DEVELOPMENT

I.N. Lebedev, T.V. Nikitina, A.G. Tokareva, N.N. Sukhanova, S.A. Nazarenko

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk Scientific Center, RAMS, Tomsk, Russia,  
e-mail: igorl@img.tsu.ru

### Summary

Human reproduction is associated with extremely high rate of pregnancy wastages owing to chromosomal abnormalities. Numerous cytogenetic studies of spontaneous abortions have been performed; however, there are still many questions about origin of chromosomal aberrations in early stage of human ontogenesis. Recently new data about high frequency of mosaic aneuploidies has come from assisted reproductive technologies and new molecular cytogenetic techniques. Mosaic chromosomal constitution with two or more cell lines with different karyotypes is the result of mitotic instability of embryo genome. Somatic mutations of microsatellites DNA repeats are another marker of genome instability. A high frequency of somatic mutations of tetranucleotide microsatellites in spontaneous abortions was found also. It seems that instability of embryonic genome may be considered as a substantial factor of prenatal selection in human. Data about pathogenesis of genomic instability during early stages of human development are presented in this review. The hypothesis that loss of genome integrity may be caused by disturbances of epigenetic control of embryo development is discussed.



## БИОЛОГИЧЕСКАЯ ИНДИКАЦИЯ МУТАГЕННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ И ГЕНЕТИЧЕСКОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ У ЧЕЛОВЕКА ПУТЕМ УЧЕТА ЧИСЛОВЫХ ХРОМОСОМНЫХ НАРУШЕНИЙ

В.А. Тимошевский, С.А. Назаренко

ГУ НИИ медицинской генетики Томского научного центра СО РАМН, Томск, Россия,  
e-mail: timv@img.tsu.ru

Рассматриваются современное состояние, возможности и перспективы использования интерфазной цитогенетики в оценке геномных мутаций в соматических клетках человека и животных для целей генетической токсикологии и анализа генетической нестабильности. Обсуждаются возможные механизмы действия мутагенов, вызывающих числовые хромосомные нарушения, а также эндогенные причины повышения уровня анеуплоидии в клетках человека.

### Введение

Изменение численного состава хромосом, характерных для клеток биологического вида, относят к разряду геномных мутаций. Это особый класс мутаций, который подразделяется на изменение числа отдельных хромосом – анеуплоидию и варианты избыточной представленности в клетке основного (гаплоидного) набора хромосом – полиплоидию. Анеуплоидия (АЕ) играет существенную роль в патологии, являясь одной из основных причин врожденных пороков развития и эмбриональной смертности. Несовместимость АЕ гаметического происхождения с нормальным онтогенезом связана, очевидно, с дисбалансом дозы генов, ответственных за ключевые этапы эмбриогенеза и органогенеза. Это в свою очередь подразумевает совместимость с живорождением и даже с постнатальным развитием анеуплоидий по тем хромосомам, которые не несут ключевых генов жизнеобеспечения клетки в контексте ее тканевого окружения и на уровне организма. Полиплоидия, являясь крайним проявлением дисбаланса хромосом, у человека приводит к остановке онтогенеза на ранних этапах. Таким образом, значимость АЕ, возникающей в гаметах и приводящей к появлению зигот с числовыми хромосомными нарушениями, не вызывает принципиальных вопросов в отношении аномалий развития,

которые обуславливаются изменением числа хромосом. Это утверждение с поправкой на глубину патологических эффектов может быть отнесено и к соматическим мутациям в раннем онтогенезе, которые приводят к мозаичным вариантам той или иной АЕ. Что же можно сказать в отношении появления анеуплоидных клеток под действием эндогенных или экзогенных причин среди соматических клеток взрослого организма? Патологическая значимость таких изменений остается неясной. Однако, экстраполируя наблюдаемые в раннем онтогенезе эффекты АЕ в область соматических мутаций, индуцируемых уже в постнатальном периоде, можно предположить, что числовые хромосомные нарушения могут оказаться более значимыми для развития патологических состояний человека, чем, скажем, индуцируемые генные мутации или структурные хромосомные аберрации. Следует также отметить, что события, которые могут привести к АЕ, отличаются большим разнообразием, чем индуцирующие клас-тогенные и генные нарушения. По этой причине спектр агентов, способных вызвать числовые хромосомные нарушения, будет отличаться от известного набора мутагенов, действие которых заключается в способности повреждать цепь ДНК. Так сложилось, что именно последний класс агентов вызывал наибольший интерес исследователей, и токсикологические тесты

были в большинстве своем сосредоточены на выявлении ДНК-повреждающих эффектов исследуемых физических, химических и биологических агентов. В последнее время ситуация изменилась и внимание многих исследовательских групп сосредоточено на изучении механизмов, которые определяют поддержание сбалансированного набора хромосом в клетках, а также причин разной этиологии, способных вызвать нарушение этого баланса (Kirsch-Volders *et al.*, 2002). Скорее всего, к факторам, приводящим к числовым хромосомным нарушениям помимо мутагенных агентов внешней среды следует отнести и эндогенные причины, а именно: статус генов, от работы которых зависит распределение хромосом в ходе митоза. Чем обусловлен резко возросший интерес к числовым хромосомным нарушениям? Прежде всего, следует отметить, что появились молекулярно-цитогенетические методы исследований, которые отличаются довольно высокой чувствительностью в отношении детекции числовых хромосомных нарушений. По этой причине стало возможным исследовать агенты, вызывающие АЕ, которые и получили соответствующее название – анеугены или анеуплоидогены. Это большой класс преимущественно химических мутагенов, которые могут и не вызывать генных мутаций и структурных хромосомных aberrаций, а действуют в иной манере, затрагивая различные компоненты аппарата сегрегации хромосом. Кроме того, с развитием молекулярно-цитогенетических технологий появилась возможность исследовать большое количество солидных опухолей, это в свою очередь показало, что АЕ является основным цитогенетическим нарушением, характерным для опухолевых клеток и играющим ключевую роль в клональной эволюции (Sen, 2000; Rajagopalan, Lengauer, 2004). В последнее время рядом ученых активно развивается гипотеза, в соответствии с которой рак рассматривается как многоступенчатый процесс анеуплоидизации (Duesberg, Li, 2003). Предполагаемой движущей силой этого процесса является автокаталитическое развитие генетической нестабильности в результате дисбаланса сотен и тысяч нормальных генов, который возникает при АЕ (Duesberg *et al.*, 1998, 2000; Duesberg, Rasnick, 2000). С этой точки зрения АЕ можно считать геномным

нарушением, достаточным как для инициализации, так и для прогрессии рака. Другими словами, АЕ может являться не только следствием генетической нестабильности, которая возникает в результате генной соматической мутации (протоонкогенов или опухолесупрессоров), а и непосредственной ее причиной. С другой стороны, к генетической нестабильности могут predispose мутации, приводящие к аномальной экспрессии генов, ответственных за протекание ключевых событий клеточного цикла: сверхочных точек клеточного цикла, генов кинетохорных и центросомных белков, митотических киназ и ферментов репарации ДНК (Cahill *et al.*, 1998; Rajagopalan, Lengauer, 2004). Как бы ни решился в будущем вопрос о причине возникновения и прогрессии новообразований, явно представляется нежелательным игнорирование анеугенных свойств мутагенных агентов. В пользу этого свидетельствует и то, что многие вещества с выраженным канцерогенным действием являются анеугенами, не обладая при этом генотоксичными свойствами. Ввиду этого стоит внимательно рассмотреть механизмы возникновения АЕ, а также возможности и ограничения технологий детекции АЕ в соматических клетках как в организме человека, так и в модельных системах.

#### **Анеугены и механизмы индукции геномных мутаций**

Как известно, АЕ возникает в результате неправильной сегрегации удвоенных хроматид при делении клетки. Распределение наследственного материала по дочерним клеткам обеспечивается целым рядом клеточных структур и контролируется сложными биохимическими путями, следовательно, не существует единого механизма возникновения ошибок сегрегации хроматид. Причиной возникновения числовых хромосомных нарушений может быть любое нарушение нормального протекания стадий клеточного цикла, особенно М-фазы. Основной клеточной структурой, отвечающей за сегрегацию хромосом, является аппарат веретена деления. Его главными структурно-функциональными компонентами являются микротрубочки (МТ), центросомы и кинетохоры. Нормальное функционирование веретена деления обеспе-

чивают его мембранное окружение, ферменты киназы, осуществляющие фосфорилирование белков, участвующих в расхождении хромосом, а также ионы кальция. Нарушение функций любого из перечисленных компонентов может приводить к нерасхождению или «отставанию» хромосом в анафазе.

Рассматривая агенты, обладающие явной анеугенной способностью, в первую очередь следует обратить внимание на соединения, влияющие на полимеризацию/деполимеризацию цитоплазматического глобулярного белка тубулина, входящего в состав МТ. Тубулин может специфически связываться с производными некоторых алкалоидов (винкристина, винбластин, колхицина и его аналогов – колцемида и подофиллотоксина). Связывание анеугенов с тубулином может приводить к нескольким событиям, наиболее значимым из которых является ингибирование его полимеризации, в результате чего происходит нарушение формирования МТ (колхицин, карбендазим). Винбластин связывается с участками тубулина, отличающимися от сайтов связывания колхицина, и вызывает его кристаллизацию (Wilson, Morse, 1978). Противоопухольевый препарат таксол, связываясь с тубулином, усиливает степень его полимеризации, что приводит к остановке митоза и, возможно, к АЕ через нарушение динамики формирования МТ (Schiff *et al.*, 1979). АЕ могут вызвать агенты, взаимодействующие с тубулин-ассоциированными белками, например, фунгицид гризеофульвин блокирует соединение МТ с соответствующими белками, играющими важную роль в функции «скольжения» МТ, что нарушает анафазное движение хромосом в ходе клеточного деления (Oshimura, Barrett, 1986). Индуцировать АЕ могут также агенты, модифицирующие ключевые белки митоза, в частности, р-флуорофенилаланин (р-FPA), а также ртуть-содержащие соединения. Органические соединения ртути, такие, как тимерозал (мертиолят), применяемый в малых концентрациях в качестве дезинфицирующего средства, обладают способностью связывать сульфгидрильные группы в белках и таким образом препятствуют сборке МТ (Aardema *et al.*, 1998). Рентгеновское и гамма-облучение могут индуцировать образование свободных радикалов, разрушающих дисульфидные

связи в белках, важных для сборки МТ. Так, установлено, что при высоких дозах облучения радиационный лизис белков, содержащих SH- и S-S-группы, приводит к фрагментации пептидных цепей (Schuessler, Schilling, 1984). По-видимому, подобный механизм способен индуцировать АЕ и при более низких дозах облучения (Touil *et al.*, 2000).

Важную роль в нормальном функционировании аппарата веретена деления играют центриоли, которые могут повреждаться некоторыми химическими соединениями. Установлено, например, что диазепам, применяемый в качестве транквилизатора, способен ингибировать деление центриолей, в результате чего клетки останавливаются на стадии метафазы (Lafi *et al.*, 1987). Некоторые химические агенты способны нарушать специфические внутриклеточные процессы и структуры, способствуя, таким образом, возникновению АЕ. Так, противоопухольевый антибиотик митомицин С может повреждать кинетохоры, интеркалирующие агенты; митомицин D – увеличивать сцепление или повреждение хроматид; закись азота – нарушать выравнивание хромосом в экваториальной плоскости метафазной пластинки, а этанол и дезоксихолат натрия – повреждать клеточную или ядерную мембрану (Aardema *et al.*, 1998).

Полиплоидия, с одной стороны, может рассматриваться как крайняя степень проявления повреждений аппарата сегрегации хромосом, поэтому механизмы возникновения АЕ имеют прямое отношение и к индукции полиплоидных клеток. С другой стороны, полиплоидия может быть следствием специфических событий, приводящих к кратному увеличению гаплоидного набора хромосом. Причинами возникновения полиплоидии могут быть блокирование цитокинеза или эндоредупликация. В последнем случае в клетке осуществляются два цикла синтеза ДНК без ее последующего деления. Вызывают полиплоидию также соединения, блокирующие клетки в постсинтетической фазе, например, некоторые ингибиторы топоизомераз, мышьяк, митомицин С и актиномицин С (Aardema *et al.*, 1998; Cortes *et al.*, 2003).

До настоящего времени остается неясным характер зависимости «доза–эффект» в отношении индукции числовых хромосомных нарушений, а также наличие порога в ответ на

воздействие анеугенов. В отношении индукции числовых хромосомных нарушений активно разрабатывается концепция нелинейной пороговой зависимости анеугенного эффекта от дозы мутагенного агента (Lovell, 2000). Вероятно, она окажется справедливой для большинства известных химических соединений, вызывающих числовые хромосомные нарушения. Это связано с тем обстоятельством, что влияние анеугенов проявляется в виде «многоударного» механизма, т. е. их эффект чаще проявляется не путем прямого воздействия на хромосому, а посредством взаимодействия со множеством мишеней, прямо или косвенно контролирующих сегрегацию хромосом. Следствием таких событий является отсутствие видимого эффекта при концентрации агента ниже пороговой, а превышение порога приводит к нелинейному нарастанию частоты числовых хромосомных нарушений с увеличением концентрации анеугена (Elhajouji *et al.*, 1997; Bentley *et al.*, 2000; Henderson *et al.*, 2000). Возможными механизмами, определяющими пороговый анеугенный эффект действия генотоксических химических соединений, могут являться: 1) нарушения деления клетки и сегрегации хромосом, связанные с повреждением клеточных структур, таких, как веретено деления, кинетохоры и клеточные мембраны; 2) ингибирование синтеза ДНК; 3) изменение клеточного метаболизма в результате подавления функции ферментов топоизомераз или дисбаланса нуклеотидного пула; 4) истощение резервов гомеостатической защиты клетки, например, антиоксидантных защитных механизмов и др. (Henderson *et al.*, 2000). Логично объяснить наличие порогового анеугенного эффекта может нарушение сегрегации хромосом в клетках в результате действия соединений, взаимодействующих с МТ веретена. Для проявления видимого анеугенного эффекта необходимо взаимодействие этих агентов со многими молекулами тубулина. Наличие порога в этом случае ожидаемо с теоретической точки зрения и хорошо подтверждается экспериментальными данными (Parry *et al.*, 2000).

Вопрос об индукции АЕ в соматических клетках стоит в тесной взаимосвязи с вопросом о канцерогенных свойствах анеуплоидогенов. До недавнего времени были известны всего три анеугена, для которых показана канцероген-

ность, – это асбест, кадмий и его соединения, а также диэтилстильбэстрол (Aardema *et al.*, 1998). Однако благодаря применению в исследованиях молекулярно-цитогенетических технологий список агентов с анеугенными свойствами быстро пополняется за счет известных канцерогенов (Duesberg, Rasnick, 2000). Прежде всего, в него вошли полициклические ароматические углеводороды – очень сильные канцерогены и эффективные анеугены, но обладающие слабым мутагенным эффектом на генном уровне (Duesberg *et al.*, 2001). Действие полициклических углеводородов, как правило, основано на их способности связываться с белками и вызывать их коагуляцию. Применительно к индукции АЕ мишенями «канцерогенов-анеугенов» могут быть моторные и регуляторные белки митоза. Дальнейшие исследования генетических эффектов хромосомного дисбаланса, вероятно, помогут углубить наше понимание кинетики канцерогенеза, что может дать основание для разработки терапевтических стратегий борьбы с онкологическими заболеваниями.

Поскольку индукция некоторых анеусомий может привести к злокачественной трансформации, а фенотип опухоли определяется специфичностью характерных для нее геномных нарушений (Fabarius *et al.*, 2002), то очень интригующим является вопрос о возможности избирательного действия химических агентов на отдельные хромосомы набора. Некоторыми авторами было показано существование предпочтительного вовлечения определенных хромосом набора в процессы анеугенеза при внешнем воздействии химическими мутагенами. Такая тенденция была показана для хромосомы 7 при исследовании микроядер (МЯ), индуцированных колхицином (Wuttke *et al.*, 1997). Более подверженной к нерасхождению при воздействии беномила и карбендазима в культивированных лимфоцитах человека оказалась X-хромосома (Bentley *et al.*, 2000). Интересно, что X-хромосома чаще теряется в культивированных женских клетках, что, вероятно, связано с ее инактивацией, а это каким-то образом предрасполагает ее к формированию МЯ (Surralles *et al.*, 1996). Метаболиты 1,3-бутиадиена вызывают дозозависимое повышение частоты гиперплоидии хромосом 12 и X, однако при этом не оказывают эффекта на хромосомы



7 и 8 (Xi *et al.*, 1997). Метаболиты бензола индуцируют хромосомоспецифические числовые и структурные aberrации, затрагивающие хромосомы 5, 7, 8 и 21 в культурах лимфоцитов человека (Chung, Kim, 2002). Пока трудно судить о достоверности существования феномена специфического воздействия анеугенов на отдельные хромосомы набора. Возможно, здесь имеет место селективное преимущество клеток с анеусомиями, хотя вряд ли это каким-либо образом может оказаться справедливым в отношении краткосрочных культур клеток. С другой стороны, хромосомоспецифическое действие анеугенов может объясняться особенностями конденсации хроматина отдельных хромосом и их преимущественным вовлечением в процессы индукции АЕ. В одном из последних исследований было показано, что к потере чаще подвержены хромосомы X, 17 и аутосомы, несущие крупные гетерохроматиновые блоки, – 1, 16, 9 (Leach *et al.*, 2001). Архитектура конденсированных хромосом действительно способна повлиять на выход числовых нарушений по тем или иным хромосомам. Так, было показано, что при дефиците фолатов в среде для культивирования наблюдается значимое возрастание частоты АЕ по хромосомам 17 и 21 в лимфоцитах периферической крови (Wang *et al.*, 2004). Причина такой индукции АЕ – гипометилирование ДНК, которое приводит к структурным дефектам центромерного окружения, что может вызвать ошибки сегрегации реплицированных хромосом в ходе клеточного деления. В этой связи следует подчеркнуть, что индуцировать АЕ могут не только воздействия мутагенных агентов, но и эндогенные причины, в частности, дефицит фолатов. Возможно, к этой же категории следует отнести способность некоторых гормонов влиять на повышение уровня АЕ (Shuler *et al.*, 1998). К эндогенным причинам также может быть отнесено возраст-зависимое увеличение уровня АЕ по хромосомам (Guttenbach *et al.*, 1995; Shi *et al.*, 2000), причем можно провести параллель между репликативным старением клеток *in vitro* и возрастными изменениями, происходящими в отношении индукции АЕ в организме (Назаренко, Тимошевский, 2005). В этой связи примечательно, что была обнаружена достоверная корреляция между частотой

потери отдельной хромосомы и длиной ее теломеры, т. е. чем меньше был теломерный блок, тем чаще эта хромосома терялась (Leach *et al.*, 2001). Таким образом, вопрос о прямой корреляции частоты АЕ с возрастом индивида (или длительностью культивирования клеток) все больше проясняется.

### Использование FISH-анализа для оценки уровня анеуплоидии

Мнения многих исследователей по вопросу использования интерфазного анализа для детекции АЕ сходятся в том, что данный подход является полезным инструментом, применимым для изучения воздействий мутагенных факторов среды и производственных факторов на наследственный аппарат клеток. Следует, однако, иметь в виду, что на оценку АЕ с помощью интерфазного FISH-анализа могут повлиять особенности архитектуры хроматина ядра и гибридизационные артефакты, в силу которых полученные результаты могут быть неправильно интерпретированы (Eastmond *et al.*, 1995). Однако эти ограничения носят в основном технический характер. При оптимизации условий гибридизации, а также при использовании качественных ДНК-зондов и цитологических препаратов большую часть артефактов можно избежать. В ходе FISH-анализа прежде всего следует учитывать морфологию сигналов, выявляемых при гибридизации ДНК-зондов с хроматином трехмерного клеточного ядра, поскольку она напрямую связана с точностью оценки результатов гибридизации. При выборе критериев анализа гибридизационных сигналов следует помнить о возможности перекрытия районов гибридизации разных гомологичных хромосом, что может приводить к искусственному завышению уровня детектируемой гипоплоидии (Rupa *et al.*, 1997). При использовании строгого подхода к анализу гибридизационных сигналов можно обеспечить более точную оценку результатов гибридизации (Тимошевский, Назаренко, 2005).

Повысить точность интерфазного FISH-анализа за счет уменьшения вероятности ложнопозитивной детекции гипоплоидии позволяет учет МЯ с наличием в них центромерных сигналов, что свидетельствует об отставании данных хро-



мосом в анафазе и является показателем уровня гипоплоидии в исследуемой ткани. Сходным подходом для оценки уровня хромосомных потерь является анализ МЯ, несущих кинетохоры, которые выявляются с помощью иммуноцитохимических методов (Caria *et al.*, 1995). Однако сам по себе микроядерный тест не способен выявлять АЕ, возникшую в результате нерасхождения хромосом, поскольку в этом случае МЯ вообще не появляются. Наиболее перспективным подходом к анализу анеугенного действия мутагенов является определение нерасхождения и анафазного «отставания» хромосом с помощью FISH-техники в двуядерных клетках, цитокинез в которых блокирован с помощью цитохалазина В – токсина из плесневых грибов, обладающего способностью блокировать сборку белковых микрофиламентов, формирующих цитоскелет клетки. Вероятность ошибки в таких исследованиях очень низка, так как события, приводящие к потере или приобретению хромосом в двуядерных клетках, регистрируются достаточно просто. В случае нерасхождения исследуемой хромосомы в одном из ядер присутствует один сигнал, а в другом – три. Потеря хромосомы в результате анафазного «отставания» приводит к появлению в цитоплазме двуядерной клетки МЯ с FISH-сигналом (центромеропозитивное МЯ), отсутствующим в одном из ядер. Для блокирования цитокинеза должны применяться низкие концентрации цитохалазина В, так как этот агент сам способен индуцировать появление клеток с АЕ. Для культур цельной крови концентрация цитохалазина В не должна превышать 6 мкг/мл, а для культур изолированных лимфоцитов 3–6 мкг/мл (Bentley *et al.*, 2000). Наряду с МЯ, содержащими центромеры, при анализе двуядерных клеток могут встречаться МЯ без центромерного сигнала, которые являются результатом кластогенной активности исследуемого соединения (Pargy *et al.*, 2002).

Одновременный анализ гипоплоидии и кластогенного эффекта исследуемых агентов можно осуществить с помощью анализа МЯ в клетках с заблокированным цитокинезом и идентификацией хромосомного происхождения ДНК в составе МЯ в результате одно- или многоцветного окрашивания индивидуальных хромосом при использовании хромосомоспе-

цифичных ДНК-библиотек, меченных разными флуорохромами (Wuttke *et al.*, 1997; Fauth *et al.*, 1998; Fauth, Zankl, 1999). Очевидно, чем больше хромосом вовлекается в анализ, тем выше информативность такого подхода для определения хромосомного происхождения ДНК в МЯ. Расширение возможностей идентификации хромосомного материала в МЯ для всех хромосом набора было реализовано сочетанием спектрального кариотипирования (SKY) и FISH с панцентромерными ДНК-пробами (Leach, Jackson-Cook, 2001). Однако если принять во внимание высокую стоимость и малую доступность таких методов, то последний подход можно отнести к разряду экзотических и малопригодных для широкого применения. В настоящее время для оценки комплексного анеугенного и кластогенного действия мутагенных факторов различной природы получает все более широкое применение технология, основанная на сочетании анализа двуядерных клеток с заблокированным цитокинезом и менее дорогих способов молекулярно-цитогенетической идентификации хромосомного материала в ядрах и МЯ.

Если действие анеугенного агента проявляется в результате «многоударного» механизма, то возникает вопрос о чувствительности интерфазного FISH-анализа для определения порога безопасной в отношении индукции АЕ концентрации того или иного химического соединения. Для этой цели вполне подходит метод анализа нерасхождения хромосом в двуядерных клетках с заблокированным цитокинезом. С помощью данного подхода были установлены пороговые концентрации для нерасхождения хромосом при воздействии на лимфоциты человека двух ингибиторов веретена деления – бенонила и его активного метаболита карбендазима, которые для большинства изученных хромосом составили 1100 и 800 нг/мл соответственно. Более низкие концентрации анеугенов не вызвали заметного эффекта (Bentley *et al.*, 2000). Авторы данной работы также показали, что оценка нерасхождения хромосом оказывается более чувствительной для определения порога действия изученных анеугенов, чем оценка их отставания, поскольку при более низких концентрациях этих соединений частота нерасхождения хромосом (распределение сигналов в

двух ядрах в соотношении 3 : 1) была заметно выше, чем частота центромеропозитивных МЯ. Этот факт свидетельствует о том, что сам по себе микроядерный тест не является достаточно чувствительным методом выявления анеугенного эффекта. Для такого утверждения имеются, по крайней мере, две причины: во-первых, невозможность регистрации с помощью микроядерного теста событий нерасхождения хромосом, которая является основной причиной возникновения АЕ, во-вторых, в результате того, что часть МЯ возникает в результате клас-тогенной активности соединений. Кроме того, регистрация анафазного отставания хромосом, выявляемого с помощью подсчета МЯ, несущих центромеры, является менее чувствительным методом для определения порогового эффекта анеугенов, поскольку число повреждаемых мишеней для возникновения потери хромосомы является более высоким, чем для индукции нерасхождения (Elhajouji *et al.*, 1997).

Таким образом, при изучении действия анеугенов как *in vitro*, так и *in vivo* следует принимать во внимание механизм их действия и строить методологию исследования в соответствии с предполагаемой моделью зависимости «доза–эффект». Кроме того, следует учитывать, какое именно событие, приводящее к АЕ, – нерасхождение или отставание хромосом (или оба события вместе) – изучает исследователь в конкретном эксперименте. Следует также принимать во внимание и другой немаловажный факт – эффект анеугена проявляется только в пролиферирующих клетках. Это было показано при исследовании действия препаратов растительного происхождения (противокашлевого – носкапина и противоопухолевых – винкристина и винбластина) на лимфоциты и гепатоциты крыс *in vitro* и *in vivo* (Balakrishnan *et al.*, 2002). Повышение частоты гиперплоидии отмечалось только в делящихся клетках с включенным бромдезоксисуридином, в то время как подобный эффект отсутствует в клетках, находящихся в стадии G<sub>0</sub>. Нами также было обнаружено, что эффект повреждающих агентов проявляется только после прохождения клетками хотя бы одного цикла деления. При исследовании влияния на организм человека факторов ядерно-химического производства мы показали, что значимое возрастание уровня АЕ по шести ис-

следованным хромосомам (7, 11, 12, 17, X и Y) проявляется только в культивированных лимфоцитах, что говорит об экспрессии накопленных повреждений аппарата сегрегации хромосом после прохождения клетками митотического деления (Назаренко, Тимошевский, 2005).

### Оценка анеугенного эффекта вредных производственных факторов

В последнее время изучение анеугенного эффекта соединений, загрязняющих окружающую среду, и производственных факторов вызывает вполне закономерный интерес. Исследования индукции числовых хромосомных нарушений при вредных внешних воздействиях с помощью технологии интерфазной цитогенетики проводятся на различных контингентах лиц, подверженных тем или иным внешнесредовым воздействиям. Так, интерфазный FISH-анализ с центромероспецифичными ДНК-зондами на хромосомы 7, 11, 18 и X был использован для детекции гиперплоидии и анализа МЯ у обслуживающего персонала бензолаправочных станций в Италии (Carere *et al.*, 1998). Работники бензоколонок не имели повышенного уровня гиперплоидии и формирования МЯ по сравнению с контрольной группой, однако, авторы обнаружили положительную корреляцию между выходом числовых нарушений хромосом и возрастом индивидов. Кроме того, они обнаружили сильную межиндивидуальную вариабельность частоты анеуплоидных клеток как в экспериментальной группе, так и в контроле, которая, возможно, и не позволила выявить анеугенный эффект.

В другом исследовании авторы оценивали влияние бензола на частоту разрывов хромосом в сегменте 1q12 и уровень гиперплоидных клеток по хромосомам 1 и 9 у работников нефтехимического производства (Marson *et al.*, 1999). В некультивированных клетках крови (гранулоциты на стадии G<sub>0</sub>) рабочих не было обнаружено заметных отличий от соответствующих показателей контрольной группы лиц. Однако после 48 часов культивирования клеток в экспериментальной группе отмечалось увеличение повреждений хромосом в сегменте 1q12 по сравнению с контролем, а уровень гиперплоидии в обеих группах оказался сходным,

хотя авторы отметили тенденцию к повышению гиперплоидии в группе работников, подвергающихся воздействию бензола. Отсутствие различий могло быть обусловлено небольшой выборкой (16 работников), большими различиями дозы воздействия (стаж работников от 8 месяцев до 19 лет) и возраста индивидов (19–54 года). Учитывая пороговый эффект действия анеугенов и возрастную изменчивость частоты числовых хромосомных нарушений, не удивительно, что авторы не нашли различий по частоте гиперплоидных клеток между контрольной и опытной группами, в то время как кластогенный эффект, проявляющий линейную беспороговую зависимость от дозы воздействия, был отчетливо выражен. Справедливость этого предположения поддерживается результатами исследования действия бензола *in vivo*, в котором статистически значимое увеличение частоты гиперплоидии по хромосоме 9 было обнаружено только для группы рабочих с высокой экспозицией указанным агентом (Zhang *et al.*, 1996). Авторы отметили наличие положительной корреляции между частотой гиперплоидии по хромосоме 9 и уровнем фенола в моче и высказали мнение о существовании причинной зависимости между анеугенным действием бензола и возникновением бензол-индуцированной лейкемии. Повышение уровня хромосомных нарушений, в том числе и частоты МЯ, несущих центромеры (наличие которых свидетельствует о потерях хромосом), было отмечено в лимфоцитах периферической крови алкоголиков (Maffei, 2000).

Особенности действия анеугенов как мутагенов с пороговым эффектом и недостаточно чувствительные методы их детекции могут быть причиной невыявленного анеугенного воздействия вредных для здоровья соединений. С другой стороны, повышение частоты МЯ в периферической крови некоторых контингентов людей, которые в процессе своей профессиональной деятельности подвергаются воздействию вредных химических или физических агентов, не всегда может свидетельствовать о наличии анеугенного влияния вредных факторов производства. Так, в группе рентгенологов были выявлены повышение частоты только центромерно-негативных МЯ и отсутствие статистических различий по уровню

центромерно-позитивных МЯ по сравнению с контрольной группой (Sari-Minodier *et al.*, 2002). Такой результат вполне ожидаем, так как ионизирующее излучение, прежде всего, обладает кластогенным эффектом и в меньшей степени анеугенным. По результатам исследований, в которых ведется мониторинг профессиональных вредных воздействий с использованием простого микроядерного теста, без комбинации с FISH, очень трудно сделать заключение о дифференциальном анеугенном и кластогенном влиянии тестируемых факторов среды.

В заключение следует отметить, что в настоящее время имеются все основания для цитогенетического исследования мутагенов не только на кластогенную активность, но и на анеугенный эффект. Современные методы молекулярной цитогенетики позволяют проводить подобные исследования как в экспериментальных системах, так и при воздействии производственных и средовых факторов на организм человека. Детекция АЕ расширяет список биомаркеров для оценки мутагенных эффектов и существенно увеличивает возможности генотоксикологических исследований с целью объективной оценки генетического риска различных ксенобиотиков и загрязнителей окружающей среды в отношении их мутагенной и канцерогенной активности.

## Литература

- Тимошевский В.А., Назаренко С.А. Критерии оценки частоты анеуплоидии в интерфазных ядрах клеток с помощью FISH-анализа // Цитология. 2005. Т. 47. № 6. С. 526–532.
- Назаренко С.А., Тимошевский В.А. Сравнительный анализ частоты анеуплоидии в покоящихся и делящихся клетках человека при воздействии вредных внешнесредовых факторов // Генетика. 2005. Т. 41. № 3. С. 391–395.
- Aardema M.J., Albertini S., Arni P. *et al.* Aneuploidy: a report of an ECETOC task force // Mutat. Res. 1998. V. 410. P. 3–79.
- Balakrishnan S., Payawal J., Schuler M.J. *et al.* Enhancing the *in vitro* and *in vivo* detection of aneuploidy by fluorescence *in situ* hybridization with the use of bromodeoxyuridine as a proliferation marker // Mutat. Res. 2002. V. 521. P. 81–89.
- Bentley K.S., Kirkland D., Murphy M., Marshall R. Evaluation of thresholds for benomyl- and carben-dazim-induced aneuploidy in cultured

- human lymphocytes using fluorescence *in situ* hybridization // *Mutat. Res.* 2000. V. 464. P. 41–51.
- Cahill D.P., Lengauer C., Yu J. *et al.* Mutations of mitotic checkpoint genes in human cancers // *Nature.* 1998. V. 392. P. 300–303.
- Carere A., Antoccia A., Cimini D. *et al.* Genetic effects of petroleum fuels: II. Analysis of chromosome loss and hyperploidy in peripheral lymphocytes of gasoline station attendants // *Environ. Mol. Mutagen.* 1998. V. 32. P. 130–138.
- Caria H., Chaveca T., Laires A., Rueff J. Genotoxicity of quercetin in the micronucleus assay in mouse bone marrow erythrocytes, human lymphocytes, V79 cell line and identification of kinetochore-containing (CREST staining) micronuclei in human lymphocytes // *Mutat. Res.* 1995. V. 343. P. 85–94.
- Chung H.W., Kim S.Y. Detection of chromosome-specific aneusomy and translocation by benzene metabolites in human lymphocytes using fluorescence *in situ* hybridization with DNA probes for chromosomes 5, 7, 8, and 21 // *J. Toxicol. Environ. Health.* 2002. V. 65. P. 365–372.
- Cortes F., Pastor N., Mateos S., Domingues I. Role of DNA topoisomerases in chromosome segregation and mitosis // *Mutat. Res.* 2003. V. 543. P. 59–66.
- Duesberg P., Li R. Multistep carcinogenesis a chain reaction of aneuploidizations // *Cell Cycle.* 2003. V. 2. № 3. P. 202–210.
- Duesberg P., Rasnick D. Aneuploidy, the somatic mutation that makes cancer a species of its own // *Cell Motility and Cytoskeleton.* 2000. V. 47. P. 81–107.
- Duesberg P., Rausch C., Rasnick D., Hehlmann R. Genetic instability of cancer cells is proportional to degree of aneuploidy // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1998. V. 95. P. 13692–13697.
- Duesberg P., Li R., Rasnick D. *et al.* Aneuploidy precedes and segregates with chemical carcinogenesis // *Cancer Genet. Cytogenet.* 2000. V. 119. P. 83–93.
- Duesberg P., Stindl R., Li R. *et al.* Aneuploidy versus gene mutation as cause of cancer // *Current Sci.* 2001. V. 81. P. 490–500.
- Eastmond D.A., Shuler M., Rupa D.S. Advantages and limitation of using fluorescence *in situ* hybridization for the detection of aneuploidy in interphase human cells // *Mutat. Res.* 1995. V. 348. P. 153–162.
- Elhajouji A., Tibaldi F., Kirsch-Volders M. Indication for thresholds of chromosome non-disjunction versus chromosome lagging induced by spindle inhibitors *in vitro* in human lymphocytes // *Mutagenesis.* 1997. V. 12. P. 133–140.
- Fabarius A., Willer A., Yerganian G. *et al.* Specific aneusomies in Chinese hamster cells at different stages of neoplastic transformation, initiated by nitrosomethylurea // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2002. V. 99. P. 6778–6783.
- Fauth E., Scherthan H., Zankl H. Frequencies of occurrence of all human chromosomes in micronuclei from normal and 5-azacytidine-treated lymphocytes as revealed by chromosome painting // *Mutagenesis.* 1998. V. 13. P. 235–241.
- Fauth E., Zankl H. Comparison of spontaneous and idoxuridine-induced micronuclei by chromosome painting // *Mutat. Res.* 1999. V. 440. P. 147–156.
- Guttenbach M., Koschorz B., Bernthaler U. *et al.* Sex chromosome loss and aging: *in situ* hybridization studies on human interphase nuclei // *Am. J. Hum. Genet.* 1995. V. 57. P. 1143–1150.
- Henderson L., Albertini S., Aardema M. Thresholds in genotoxicity responses // *Mutat. Res.* 2000. V. 464. P. 123–128.
- Kirsch-Volders M., Vanhauwaert A., De Boeck T.S.M., Decordier I. Importance of detecting numerical versus structural chromosome aberrations // *Mutat. Res.* 2002. V. 504. P. 137–148.
- Lafi A., Parry E.M., Parry J.M. The effects of benzodiazepines upon the fidelity of mitotic cell division in cultured Chinese hamster cells // *Mutat. Res.* 1987. V. 189. P. 319–332.
- Leach N.T., Jackson-Cook C. The application of spectral karyotyping (SKY) and fluorescent *in situ* hybridization (FISH) technology to determine the chromosomal content(s) of micronuclei // *Mutat. Res.* 2001. V. 495. P. 11–19.
- Lovell D.P. Dose-response and threshold-mediated mechanisms in mutagenesis: statistical models and study design // *Mutat. Res.* 2000. V. 464. P. 87–95.
- Maffei F., Fimognari C., Castelli E. *et al.* Increased cytogenetic damage detected by FISH analysis on micronuclei in peripheral lymphocytes from alcoholics // *Mutagenesis.* 2000. V. 15. P. 517–523.
- Marcon F., Zijno A., Crebelli R. *et al.* Chromosome damage and aneuploidy detected by interphase multicolour FISH in benzene-exposed shale oil workers // *Mutat. Res.* 1999. V. 445. P. 155–166.
- Oshimura M., Barrett J.C. Chemically-induced aneuploidy in mammalian cells: mechanisms of biological significance in cancer // *Environ. Mol. Mutagen.* 1986. V. 8. P. 129–159.
- Parry E.M., Parry J.M., Corso C. *et al.* Detection and characterization of mechanisms of action aneugenic chemicals // *Mutagenesis.* 2002. V. 17. P. 509–521.
- Parry J.M., Jenkins G.J., Haddad F. *et al.* *In vitro* and *in vivo* extrapolations of genotoxin exposures: consideration of factors which influence dose-response thresholds // *Mutat. Res.* 2000. V. 464. P. 53–63.
- Rajagopalan H., Lengauer C. Aneuploidy and cancer // *Nature.* 2004. V. 432. P. 338–341.
- Rupa D.S., Shuler M., Eastmond D.A. Detection of hyperploidy and breakage affecting the 1cen-1q12



- region of cultured interphase human lymphocytes treated with various genotoxic agents // *Environ. Mol. Mutagen.* 1997. V. 29. P. 161–167.
- Sari-Minodier I., Orsière T., Bellon L. *et al.* Cytogenetic monitoring of industrial radiographers using the micronucleus assay // *Mutat. Res.* 2002. V. 521. P. 37–46.
- Schiff P.B., Fant J., Horwitz S.B. Promotion of microtubule assembly *in vitro* by taxol // *Nature.* 1979. V. 22. P. 665–667.
- Schuessler H., Schilling K. Oxygen effect in the radiolysis of proteins. II. BSA // *Int. J. Radiat. Biol.* 1984. V. 45. P. 267–281.
- Sen S. Aneuploidy and cancer // *Curr. Opinion Oncology.* 2000. V. 12. P. 82–88.
- Shi Q., Chen J., Adler I.-D. *et al.* Increased non-disjunction of chromosome 21 with age in human peripheral lymphocytes // *Mutat. Res.* 2000. V. 452. P. 27–36.
- Shuler M., Hasegawa L., Parks R. *et al.* Dose-response studies of the induction of hyperdiploidy and polyploidy by diethylstilbestrol and 17 $\beta$ -estradiol in cultured human lymphocytes using multicolor fluorescence *in situ* hybridization // *Environ. Mol. Mutagen.* 1998. V. 31. P. 263–273.
- Surralles J., Falck G., Norppa H. *In vivo* cytogenetic damage revealed by FISH analysis of micronuclei in uncultured human T lymphocytes // *Cytogen. Cell. Genet.* 1996. V. 75. P. 151–154.
- Touil N., Elhajouji A., Thierens H., Kirsch-Volders M. Analysis of chromosome loss and chromosome segregation in cytokinesis-blocked human lymphocytes: non-disjunction is the prevalent mistake in chromosome segregation produced by low dose exposure to ionizing radiation // *Mutagenesis.* 2000. V. 15. P. 1–7.
- Wang X., Thomas Ph., Xue J., Fenech M. Folate deficiency induces aneuploidy in human lymphocytes *in vitro* – evidence using cytokinesis-blocked cells and probes specific for chromosomes 17 and 21 // *Mutat. Res.* 2004. V. 551. P. 167–180.
- Wilson L., Morse A.N.C. Characterization of acetyl-3H-labeled vinblastine binding to vinblastine–tubulin crystals // *J. Mol. Biol.* 1978. V. 121. P. 255–268.
- Wuttke K., Streffer C., Muller W.-U. Detection of chromosome 2 and chromosome 7 within X-ray- or colchicine-induced micronuclei by fluorescence *in situ* hybridization // *Mutagenesis.* 1997. V. 12. P. 55–59.
- Xi L., Zhang L., Wang Y., Smith M.T. Induction of chromosome-specific aneuploidy and micronuclei in human lymphocytes by metabolites of 1,3-butadiene // *Carcinogenesis.* 1997. V. 18. P. 1687–1693.
- Zhang L., Rothman N., Wang Y. *et al.* Interphase cytogenetics of workers exposed to benzene // *Environ. Health. Perspect.* 1996. V. 104. Suppl. 6. P. 1325–1329.

## BIOLOGICAL INDICATION OF THE MUTAGENIC INFLUENCES AND GENETIC INSTABILITY IN HUMAN USING EVALUATION OF NUMERICAL CHROMOSOME ABERRATIONS

V.A. Timoshevsky, S.A. Nazarenko

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk Scientific Center, SB RAMS, Tomsk, Russia,  
e-mail: timv@img.tsu.ru

### Summary

The review considers the current state, possibilities, and perspectives of using interphase cytogenetic analysis in the estimation of genomic mutations in human and animal somatic cells for aims of genetic toxicology and genetic instability analysis. Possible mechanisms underlying action of mutagens causing numeric chromosome aberrations and endogenous factors causing increase aneuploidy level in human cells are discussed.



## ГЕНОМНЫЕ ОСНОВЫ ПОДВЕРЖЕННОСТИ К ИНФЕКЦИОННЫМ ЗАБОЛЕВАНИЯМ

**И.А. Гончарова<sup>1</sup>, М.Б. Фрейдин<sup>1</sup>, А.А. Рудко<sup>1</sup>, О.В. Напалкова<sup>1</sup>, О.В. Колоколова<sup>2</sup>,  
Э.А. Ондар<sup>3</sup>, Л.Е. Дунаева<sup>4</sup>, Е.В. Белобородова<sup>4</sup>, В.П. Пузырев<sup>1,4</sup>**

<sup>1</sup> ГУ НИИ медицинской генетики Томского научного центра СО РАМН, Томск, Россия, e-mail: valery.puzurev@medgenetics.ru; <sup>2</sup> Томский военно-медицинский институт, Томск, Россия;

<sup>3</sup> Многопрофильная научная лаборатория по медико-биологическим проблемам при Министерстве здравоохранения Республики Тыва, Кызыл;

<sup>4</sup> Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия

В статье представлено обобщение современных знаний о наследственных основах подверженности к таким инфекционным заболеваниям, как туберкулез, сальмонеллез, клещевой энцефалит, болезнь Лайма, вирусные гепатиты. На материале результатов собственных исследований и данных литературы показана важная роль изменчивости генома человека в формировании в популяциях групп лиц, подверженных и устойчивых к инфекционным заболеваниям. Высказывается точка зрения об общей наследственной основе предрасположенности к разным инфекционным патологиям, обусловленной общностью механизмов противоинфекционного иммунитета. Обсуждаются теоретические и практические перспективы исследований геномных основ подверженности к инфекционным болезням.

Общепризнано, что инфекционные агенты являются одним из главных факторов естественного отбора у человека. Впервые мысль об этом высказал Дж. Б.С. Холдейн в 1949 г., предположивший, что изменчивость глобиновых генов человека может быть следствием селекции на устойчивость к малярии (Haldane, 1949). Эта точка зрения была поддержана многочисленными близнецовыми, эпидемиологическими и современными молекулярно-генетическими исследованиями, показавшими, что не только малярия, но и многие другие распространенные инфекционные болезни являются важнейшим фактором повышения разнообразия генофонда человеческих популяций.

Сегодня не вызывает сомнений, что развитие инфекционного процесса определяется не только свойствами возбудителя (вирулентность, контагиозность, лекарственная устойчивость и т. д.), но и индивидуальными особенностями макроорганизма-хозяина (прежде всего способность давать адекватный иммунный ответ), которые являются отражением его генетической структуры (Frodsham, Hill, 2004).

Наследственная подверженность к инфек-

ционным агентам связана с двумя факторами: относительно редкие генетические дефекты, приводящие к иммунодефицитам, а также (более распространенный вариант) сочетание у индивида «нормальных» аллелей генов, по отдельности имеющих слабый эффект, но совокупность которых приводит к формированию особенностей иммунитета, предрасполагающих к развитию инфекционного заболевания (Casanova, Abel, 2002).

Благодаря достижениям современной генетики человека, познание наследственной основы подверженности к инфекционным болезням у человека идет нарастающими темпами. Картированы многие локусы, в которых расположены гены подверженности к инфекционным заболеваниям, изучен полиморфизм и особенности экспрессии многих генов-кандидатов, разработаны модельные объекты. Поток публикаций по генетике подверженности к СПИДу, туберкулезу, малярии, кори, вирусным гепатитам, лейшманиозу и другим инфекционным заболеваниям имеет лавинообразный характер, увеличиваясь с каждым годом.

На протяжении последних пяти лет в ГУ

НИИ медицинской генетики ТНЦ СО РАМН ведутся работы по изучению наследственных основ подверженности к распространенным инфекционным заболеваниям. По-видимому, мы первые в России приступили к активной разработке этой проблематики с анализом не HLA-генов (Пузырев и др., 2002а–г). В статье представлена информация об успехах генетики инфекционных заболеваний, прежде всего тех, которые исследованы в нашем институте: туберкулез, сальмонеллез, вирусные гепатиты, клещевой энцефалит, иксодовый клещевой боррелиоз (болезнь Лайма).

### Туберкулез и другие микобактериальные инфекции

Род *Mycobacterium* включает более 85 видов грам-положительных, в основном сапрофитных бактерий, живущих в почве, воде и других субстратах (Collins *et al.*, 1984). Для человека патогенными являются только три вида *M. tuberculosis*, *M. leprae* и *M. ulcerans*. Кроме того, ряд микобактерий, например, *M. microti*, *M. bovis* BCG, *M. avium* вызывают инфекционные заболевания у животных.

Наибольшее значение для человека среди микобактериальных заболеваний имеет туберкулез. Считается, что не менее 1/3 населения земного шара инфицировано *M. tuberculosis* (Bloom, Small, 1998). Большинство инфицированных не имеют симптомов клинического заболевания, однако каждый год в мире регистрируется не менее 8 млн новых случаев туберкулеза и 2 млн человек умирает от этой болезни. Родственное туберкулезу заболевание лепра (проказа), вызываемое *M. leprae*, поражает до 700 тыс. человек в год (Frodsham, Hill, 2004), в основном это в странах с тропическим климатом. *M. ulcerans* вызывает хронические кожные язвы. Это единственный вид паразитирующих микобактерий, растущий внеклеточно, и патогенез вызываемого им заболевания, видимо, связан с выделяемым токсином (van der Werf *et al.*, 1999).

Как *M. tuberculosis*, так и *M. leprae* являются внутриклеточными паразитами, заселяя шванновские клетки (*M. leprae*) и тканевые макрофаги (*M. leprae*, *M. tuberculosis*). Патогенез обоих заболеваний связан с клеточным им-

мунитетом, экспансией Т-лимфоцитов хелперов 1 типа, секрецией интерлейкина-12 (ИЛ-12) и интерферона- $\gamma$  (ИФН- $\gamma$ ). В целом микобактериальные болезни являются мультифакторными (полигенными); в основе предрасположенности к ним лежит неблагоприятное сочетание «нормальных» аллельных вариантов генов. Однако относительно недавно были описаны наследственные дефекты факторов противомикробного иммунитета, которые приводят к нетипичным моногенным формам микобактериальной и сальмонеллезной инфекции у человека, когда развивается заболевание на такие в норме непатогенные или слабопатогенные бактерии, как *M. bovis* BCG, *M. marinum*, *M. smegmatis*, *M. avium*, *Salmonella enterica* и другие. Сегодня в мире известно чуть более 150 случаев таких инфекций и все они связаны с дефектами синтеза и сигнальной функции ИФН- $\gamma$  (van de Vosse *et al.*, 2004). Эти нарушения обусловлены точечными мутациями в генах *IL12B*, *IL12RB1*, *IFNGR1*, *IFNGR2*, *STAT1*. Описано более 50 таких мутаций, они проявляются по аутосомному типу с полной или частичной пенетрантностью (Ottenhoff *et al.*, 2005). Как правило, люди с этими генетическими дефектами заболевают тяжелой формой нетипичной бактериальной или вирусной инфекции и умирают в раннем возрасте.

На сегодняшний день в разных популяциях мира показаны ассоциации туберкулеза и лепры более чем с 20 генами (табл. 1) и проведено 8 исследований по анализу сцепления, в том числе 4 полногеномных скрининга (табл. 2), показавших десяток хромосомных регионов, несущих гены подверженности к микобактериальным болезням.

Среди генов-кандидатов туберкулеза очень привлекателен *SLC11A1* (ранее *NRAMP1*), впервые открытый и исследованный при анализе чувствительных и устойчивых к микобактериальной инфекции линий мышей. Лocus этого гена получил у животных три альтернативных названия: *Bcg*, *Ity* или *Lsh*, а сам ген обозначен *Nramp1* (Natural resistance associated macrophage protein 1) (Gros *et al.*, 1981; Vidal *et al.*, 1995). Установлено, что у мышей предрасположенность к развитию туберкулеза может быть связана с единственным вариантом этого гена. Вскоре на хромосоме 2q35 у человека был открыт ортоло-

Таблица 1

Гены, для которых показана ассоциация с туберкулезом или лепрой  
(по: Frodsham, Hill, 2004; Ottenhoff *et al.*, 2005)

Ген (белковый продукт)	Заболевание
<i>HLA-DQ/DR</i> (лейкоцитарные антигены II класса)	Туберкулез, лепра
<i>VDR</i> (рецептор к витамину D)	Туберкулез, лепра
<i>IFNG</i> (ИФН- $\gamma$ )	Туберкулез, лепра
<i>SLC11A1</i> (NRAMP1, катионный транспортер)	Туберкулез, лепра
<i>IL10</i> (ИЛ-10)	Туберкулез, лепра
<i>TAP</i> (транспортер, ассоциированный с процессингом антигенов)	Туберкулез, лепра
<i>TLR2</i> (Toll-like рецептор 2)	Туберкулез, лепра
<i>TNFA</i> (фактор некроза опухолей)	Туберкулез, лепра
<i>IL8</i> (ИЛ-8)	Туберкулез
<i>MBL</i> (манноза-связывающий лектин)	Туберкулез
<i>IL1RA</i> (рецепторный антагонист ИЛ-1)	Туберкулез
<i>IL1B</i> (ИЛ-1 $\beta$ )	Туберкулез
<i>P2RX7</i> (P2 $\times$ 7 рецептор)	Туберкулез
<i>IL12RB1</i> ( $\beta$ 1-субъединица рецептора к ИЛ-12)	Туберкулез
<i>IL12B</i> (p40 субъединица ИЛ-12)	Туберкулез
<i>CYP2E1</i> (цитохром P450)	Туберкулез
<i>TRGC2</i> (C $\gamma$ 2 рецептор Т-клеток)	Лепра
<i>HSP70-1</i> (белок теплового шока 70-1)	Лепра
<i>LAMA2</i> (ламелин- $\alpha$ 2)	Лепра
<i>PARK2</i> (паркин 2)	Лепра
<i>PACRG</i> (паркин-корректор)	Лепра

гичный ген, NRAMP1, названный впоследствии *SLC11A1* (Cellier *et al.*, 1994). Кодированный им белок принадлежит к семейству транспортеров катионов металлов. Он экспрессируется на мембранах фаголизосом и, регулируя ионный гомеостаз, определяет выживаемость микобактерий внутри макрофагов (Gruenheid *et al.*, 1997).

Интересно, что у микобактерий существует гомологичный ген, *Mramp1*, продукт которого противодействует NRAMP1, выкачивая ионы металлов из фаголизосом (Arganoff *et al.*, 1999). Есть гипотеза, что вероятность микобактерии выжить в макрофаге обусловлена балансом ионов, определяемым совместной работой белков NRAMP1 и *Mramp1*.

Ген *SLC11A1* высоко изменчив, найдено около десятка его однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), активно изучаемых в разных популяциях на предмет ассоциаций с туберкуле-

зом и лепрой (Liu *et al.*, 1995). Результаты этих исследований противоречивы. Так, показана ассоциация SNP гена *SLC11A1* с туберкулезом в Гамбии, Гвинее-Конакри, Корее, Японии и других странах (Bellamy *et al.*, 1998; Cervino *et al.*, 2000; Ryu *et al.*, 2000; Shirakawa, Kishi, 2000), но не в Марокко и Дании (Soborg *et al.*, 2002; Baghdadi *et al.*, 2003).

Активно исследуют в связи с туберкулезом гены *VDR* и *MBL*, кодирующие соответственно рецептор к витамину D и маннозосвязывающий лектин. Продукты обоих генов включены в патогенез микобактериальных заболеваний и для их полиморфизмов в ряде популяций показана ассоциация с туберкулезом и лепрой (Bellamy *et al.*, 1999; Hoal-Van Helden *et al.*, 1999; Wilkinson *et al.*, 2000; El Sahly *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2004). Согласованность результатов исследования этих генов довольно велика и, по-видимому,

Таблица 2

Характеристика опубликованных анализов сцепления для туберкулеза и лепры у человека

Болезнь	Выборка	Тестируемый хромосомный участок	Показано сцепление	Ссылка
Туберкулез	92 семьи (Гамбия)	Полногеномное исследование	15q, Xq	Bellamy <i>et al.</i> , 2000
	1 расширенная родословная (86 аборигенов Канады)	2q35, 6p21	2q35, эффект главного гена для региона	Greenwood <i>et al.</i> , 2000
	92 семьи (Гамбия)	15q11-13	15q11-13	Cervino <i>et al.</i> , 2002
	92 семьи (Гамбия)	17q11-q21	17q11-q21	Jamieson <i>et al.</i> , 2004
	38 семей (Бразилия)	Полногеномное исследование	10q26.13, 11q12.3, 20p12.1	Miller <i>et al.</i> , 2004
Лепра	224 семьи (Индия)	Полногеномное исследование	10p13	Siddiqui <i>et al.</i> , 2001
	86 и 208 семей (Вьетнам)	Полногеномное исследование	6q25, 10p13	Mira <i>et al.</i> , 2003
	72 семьи (Бразилия)	17q11-q21	17q11-q21	Jamieson <i>et al.</i> , 2004
	71 семья (Бразилия)	Полногеномное исследование	6p21.32, 17q22, 20p13	Miller <i>et al.</i> , 2004

можно говорить о том, что они действительно являются генами подверженности к туберкулезу и лепре.

Другие гены-кандидаты микобактериальных заболеваний изучены не столь систематически и в небольшом количестве этнических групп. По-видимому, в ближайшем будущем стоит ожидать «взрыва» ассоциативных исследований этих и других генов с микобактериальными заболеваниями.

Интересно отметить положительный результат анализа ассоциаций SNP генов *IL12RB1* и *IL12B* с туберкулезом в Японии и Китае (Akahoshi *et al.*, 2003; Tso *et al.*, 2004). Для этих генов известно большое число мутаций, приводящих к моногенным формам нетипичной микобактериальной инфекции. То есть одни и те же гены оказываются включены в формирование менделирующих и полигенных форм микобактериальных заболеваний.

Исследования наследственной основы подверженности к туберкулезу в НИИ медицинской генетики были сосредоточены на анализе SNP генов *SLC11A1* (*NRAMP1*), *VDR*, *IL1B*, *IL1RA* и *IL12B* в популяциях тувинцев и русских (Пузырев и др., 2002в, г; Рудко и др., 2004).

Был использован дизайн «случай–контроль» и проанализирована связь полиморфизма генов с заболеванием, тяжестью его течения и вариацией клинически и патогенетически значимых количественных и качественных признаков. Как у русских, так и у тувинцев не показано ассоциации этих генов с туберкулезом, однако установлена связь изученных SNP с тяжестью течения заболевания, рентгенологическими показателями (количественные и качественные характеристики поражения легких), цитологическими и биохимическими параметрами крови. Эти данные говорят о том, что полиморфизм генов *SLC11A1*, *VDR*, *IL1B*, *IL1RA* и *IL12B* у тувинцев и русских, видимо, не вносит существенного вклада в развитие туберкулеза как такового, но может определять особенности течения заболевания, его эндофенотипы.

### Сальмонеллез

Сальмонеллез, так же, как и туберкулез, – внутриклеточная инфекция. Это заболевание вызывается бактериями рода *Salmonella* и является одной из наиболее распространенных в мире форм кишечной инфекции.

Генетический контроль сальмонеллезной инфекции также полигенный в общей популяции, хотя и описаны редкие моногенные формы заболевания у человека и известны линии экспериментальных животных с менделирующей подверженностью к сальмонеллезу.

У мышей и других животных предрасположенность к сальмонеллезной инфекции определяется вариантами генов *Nramp1*, *Tlr4*, *Nos2*, *Tnf*, *Ifng*, *Il12* и некоторых других (Roy, Malo, 2002), в том числе недавно открытого гена *Sall* (Wigley, 2004). Белковые продукты этих генов включены в иммунитет против внутриклеточных бактерий. Систематических исследований подверженности к сальмонеллезу у человека пока не проведено. В литературе найдено единственное исследование по анализу ассоциации SNP гена *SLC11A1* (*NRAMP1*) с предрасположенностью к брюшному тифу, вызываемому *Salmonella*, в южной части Вьетнама (Dunstan *et al.*, 2001). Ассоциации генной изменчивости с заболеванием в этом исследовании не показаны.

Нами впервые в России проведено изучение ассоциации SNP генов *SLC11A1* и *IL12B* с сальмонеллезом у русских жителей г. Томска (Рудко и др., 2002, 2003). Так же, как и в исследовании вьетнамской популяции, не показано связи изменчивости гена *SLC11A1* с заболеванием, однако установлена статистически значимая связь полиморфизма 1188A/C гена *IL12B* с сальмонеллезом: «мутантный» аллель 1188С чаще встречался у больных ( $P < 0,05$ ). На сегодняшний день, по-видимому, это единственная известная ассоциация генетического полиморфизма с инфекцией, вызываемой *Salmonella* у человека. По-видимому, дальнейшие работы по выяснению генетической основы сальмонеллеза, включающие позиционное и кандидатное картирование и ассоциативные исследования, в ближайшем будущем прольют свет на наследственную природу этого заболевания. Учитывая сходную основу патогенеза туберкулеза и сальмонеллеза, следует ожидать перекрытие генетических основ обоих заболеваний. Об этом свидетельствует также то, что у модельных животных с сальмонеллезной инфекцией связаны гены, которые ассоциированы с микобактериальными болезнями.

### Клещевой энцефалит и болезнь Лайма

Значительная группа инфекционных заболеваний человека имеет природные резервуары – они заселяют внутренние органы животных и насекомых и передаются человеку через укусы. Такие заболевания называют трансмиссивными, природно-очаговыми. Клещевой энцефалит (КЭ) и болезнь Лайма (БЛ) являются яркими примерами трансмиссивных заболеваний. В России природным резервуаром вируса КЭ и спирохеты *Borellia burgdorferi*, вызывающей БЛ, являются иксодовые клещи. Ареал этих животных в России охватывает Сибирь и Дальний Восток, однако в последние годы сообщается о значительном расширении географической области расселения иксодовых клещей на европейскую часть России (Матущенко, Ястребов, 1998).

Биологическая природа КЭ и БЛ различна, первое заболевание вызывается вирусом, второе – бактерией. Однако ввиду наличия для этих микроорганизмов общего резервуара (клеща), зачастую КЭ и БЛ поражают одного человека одновременно, вызывая микст-инфекцию. На территории России практически все очаги БЛ и КЭ являются сопряженными.

Патогенез КЭ и БЛ основан на реализации клеточного и гуморального иммунитета с вовлечением CD8+ и CD4+ Т-лимфоцитов, а также В-клеток, секретирующих антитела. В развитии обоих заболеваний, по-видимому, большую роль играют такие факторы, как ИЛ-2, ИЛ-6, ИФН- $\gamma$ , ФНО- $\alpha$ . Исходя из этого, можно предположить, что в формировании наследственной предрасположенности КЭ и БЛ могут принимать участие гены, кодирующие эти цитокины, а также их рецепторы.

Систематических исследований наследственной составляющей подверженности к КЭ в мире пока не проведено, хотя показаны ассоциации заболевания с некоторыми антигенами HLA. В частности у больных КЭ по сравнению со здоровыми существенно чаще встречаются антигены HLA-A2, A3, A28, B16, B18 и реже – антигены A1, A9, Bw19, B22, B27, B35 (Коненков, 1999). В отличие от России КЭ не является актуальной медицинской проблемой в западных странах и США, поэтому масштабных генетических исследований по картированию



генов подверженности к этому заболеванию и анализу ассоциаций генетических маркеров с КЭ и особенностями его течения нет.

Пожалуй, первые современные работы по изучению наследственной составляющей подверженности к КЭ у человека, в которых проанализированы не HLA-гены, проведены в НИИ медицинской генетики ТНЦ СО РАМН: изучена ассоциация трех SNP гена *SLC11A1*, полиморфизма 1188A/C гена *IL12B* и вариантов генов *IL1B* и *IL1RA* с заболеванием у 101 больного КЭ и 117 здоровых русских жителей г. Томска. Сравнение частоты аллелей и генотипов в этих группах не показали сколько-нибудь заметной связи изученных генных вариантов с заболеванием. Однако установлена ассоциация SNP генов *SLC11A1*, *IL1B* и *IL1RA* с уровнем антигенной нагрузки вируса КЭ, нарастанием титра IgM и IgG. Эти данные свидетельствуют, что исследованные гены сами по себе не определяют подверженность к КЭ, но участвуют в формировании особенностей гуморального иммунитета, которые детерминируют клинический фенотип заболевания, его тяжесть.

В отличие от КЭ известен ряд современных генетических исследований по выяснению наследственных основ БЛ. Эти работы выполнены в основном на модельных животных и посвящены главным образом изучению хронического Лайм-артрита. Так, показано, что центральным регулятором патогенеза экспериментального артрита у мышей может быть ген *Rag* (рекомбиназа-активирующий ген) (Brown *et al.*, 1999). Установлен возможный вклад изменчивости генов цитокинов *Il10*, *Il11* и *Il12* в формирование тяжести течения Лайм-артрита, степени повреждения суставов и воспалительного процесса (Brown *et al.*, 1999; Anguita *et al.*, 1999). Идентифицировано несколько локусов количественного признака (QTL), где расположены гены, управляющие тяжестью течения артрита и особенностями гуморального иммунного ответа при БЛ у мышей: увеличение размеров суставов связано с локусами на 4-й и 5-й хромосомах, степень поражения тканей связана с регионами на 5-й и 11-й хромосомах, уровень циркулирующих иммуноглобулинов при боррелиозной инфекции связан с генами на 6-, 9-, 11-, 12- и 17-й хромосомах (Weis *et al.*, 1999; Popper *et al.*, 2001). Наконец, у мыши идентифицирован ген

остеопонтина, *Opn*, расположенный на 5-й хромосоме, регулирующий тяжесть Лайм-артрита (Potter *et al.*, 2002). Этот ген интересен тем, что включает процесс ремоделирования суставной ткани при воспалении и регулирует продукцию ИЛ-10 и ИЛ-12.

За исключением работ, проведенных в нашем институте, генетические исследования БЛ у человека пока не известны. Нами изучен полиморфизм *SLC11A1*, *IL12B*, *IL1B* и *IL1RA* у 117 больных БЛ в сравнении со 117 здоровыми индивидами. Как и в случае КЭ, не показано связи изученных генных вариантов с заболеванием как таковым, однако отмечена их ассоциация с рядом клинических количественных фенотипов у больных. Так, полиморфизм D543N гена *SLC11A1* связан с уровнем амилазы, 469+14G/C – с уровнем моноцитов, 1465-85G/A – с титром боррелиозного антигена и титром IgG. Полиморфизм +3953A1/A2 гена *IL1B* также связан с уровнем IgG, а трансверсия 1188A/C гена *IL12B* и VNTR полиморфизма гена *IL1RA* – с уровнем лейкоцитов у больных. Эти данные свидетельствуют, что исследованные гены, как и при КЭ, играют существенную роль в формировании клинических особенностей течения БЛ, но не связаны с заболеванием *per se*.

Таким образом, уже сейчас можно говорить о важности генетических факторов в детерминации особенностей КЭ и БЛ, однако, учитывая ограниченность наших собственных исследований, а также недостаток данных литературы, трудно сказать, какие именно гены имеют здесь наибольшее значение.

## Вирусные гепатиты

Вирусные гепатиты (ВГ), особенно формы, вызываемые вирусами гепатита В и С (HBV и HCV соответственно), являются распространенными и тяжелыми инфекционными заболеваниями. В России за последние три года зарегистрировано более 1,1 миллиона вновь заболевших гепатитами В и С (Ивашкин и др., 2004), так что для нашей страны, да и во всем мире эти болезни представляют большую социальную и медицинскую проблему. В ходе многочисленных исследований накоплен значительный объем данных о патогенезе и клинических проявлениях ВГ, об особенностях

возбудителей, строения их геномов, функции их генов, стратегиях обхода иммунного надзора макроорганизма-хозяина (Taylor *et al.*, 2000). Кроме того, накапливаются данные и роли генетических факторов организма человека в развитии ВГ.

В настоящее время изучена ассоциация полиморфизма примерно 20 генов-кандидатов с ВГ, особенностями течения этих заболеваний и их осложнениями (табл. 3). Среди них гены цитокинов (*TNFA*, *IL1B*, *IL6*, *IL10*, *TGFB*, *IFNA*, *IFNG*, *CCR5*, *RANTES*), противои инфекционного

иммунитета (*NRAMP1*, *MBL*) и другие. Наибольшее количество воспроизводимых ассоциаций в этих исследованиях получено для генов *IL10* и *TNFA*, которые также связаны с туберкулезом и другими инфекционными болезнями.

Заслуживает внимания масштабное исследование по анализу экспрессии 6000 генов у больных гепатоцеллюлярной карциномой, вызванной гепатитами В и С (Iizuka *et al.*, 2002). Было выявлено около 30 генов, экспрессия которых значительно выше у больных гепатоцеллюлярной карциномой при гепатите В по

Таблица 3

Гены, для которых показана связь с вирусными гепатитами В и С (ВГ-В, ВГ-С соответственно) и ассоциированными клиническими фенотипами

Ген (белковый продукт)	Патология или фенотип	Ссылка
<i>TNFA</i> (ФНО- $\alpha$ )	ВГ-В, ВГ-С	Powell <i>et al.</i> , 2000; Wang, 2003
<i>TNFB</i> (ФНО- $\beta$ )	ВГ-С	Goyal <i>et al.</i> , 2004
<i>IL1B</i> (ИЛ-1 $\beta$ )	ВГ-С	Bahr <i>et al.</i> , 2003
<i>IL1RA</i> (рецепторный антагонист ИЛ-1)	Прогрессия до цирроза при ВГ-С	Bahr <i>et al.</i> , 2003
<i>IL6</i> (ИЛ-6)	ВГ-С, персистенция вируса, тяжесть течения	Barrett, 2003
<i>IL10</i> (ИЛ-10)	ВГ-С, ответ на терапию, исход заболевания	Vidigal <i>et al.</i> , 2002; Lio <i>et al.</i> , 2003; Knapp <i>et al.</i> , 2003; Wang <i>et al.</i> , 2003
<i>MBL</i> (манноза-связывающий лектин)	ВГ-В, персистенция вируса	Wang <i>et al.</i> , 2003
<i>MPO</i> (миелопероксидаза)	ВГ-С, фиброз печени	Reynolds <i>et al.</i> , 2002
<i>MXA</i> (ген устойчивости к миксовирусам)	Ответ на терапию при ВГ-В; исход ВГ-С	Knapp <i>et al.</i> , 2003
<i>OAS1</i> (2, 5-олиго-аденилатсинтетаза)	Исход ВГ-С	Knapp <i>et al.</i> , 2003
<i>PKR</i> (РНК-зависимая протеинкиназа)	Исход ВГ-С	Knapp <i>et al.</i> , 2003
<i>APOE</i> (аполипо-протеин Е)	Исход ВГ-С	Toniutto <i>et al.</i> , 2004
<i>NRAMP1</i> (катионный транспортер)	ВГ-С, прогрессия фиброза печени	Romero-Gomez <i>et al.</i> , 2004
<i>RANTES</i> (хемокин)	Воспаление печени при ВГ	Promrat <i>et al.</i> , 2003
<i>CCR5</i> (хемокиновый рецептор 5)	ВГ-С, ответ на терапию	Promrat <i>et al.</i> , 2003
<i>TGFB</i> (трансформирующий фактор роста-1 $\beta$ )	ВГ-С, персистенция вируса, тяжесть фиброза печени	Tambur <i>et al.</i> , 2001
<i>IFNG</i> (ИФН- $\gamma$ )	ВГ-В, ВГ-С	Tambur <i>et al.</i> , 2001
<i>IFNA</i> (ИФН- $\alpha$ ) 9p22	ВГ-В, ответ на терапию	King <i>et al.</i> , 2002
<i>AT</i> (ангиотензиноген)	ВГ-С, тяжесть фиброза печени	Powell <i>et al.</i> , 2000
<i>HFE</i> (Протеин наследственного гемохроматоза)	ВГ-С, тяжесть фиброза печени	Martinelli <i>et al.</i> , 1999

сравнению с гепатитом С. Среди них были гены импринтинга (*H19* и *IGF2*) и транскрипционных регуляторов (*MAP2K4*, *MAP2K5*, *SF1*, *SIAHBP1*, *MYOG*), а также гены, вовлеченные в процесс метастазирования (*MMP9*, *VEGF*). 52 гена показали повышенную экспрессию у больных гепатоцеллюлярной карциномой при гепатите С, включая целый кластер генов детоксикации ксенобиотиков (*MT1E*, *MT1H*, *ADH1B*, *ADH4*, *CYP2A7*, *CYP2E*) и многие гены иммунного ответа (*CIS*, *IFI27*, *C6*, *ISG15*, *SAA4*, *PIGR* и т. д.) Поскольку клетки здоровой печени также показывают высокий уровень мРНК генов детоксикации ксенобиотиков, вероятно, что при гепатите В, когда экспрессия этих генов низкая, печень более восприимчива к различного рода ксенобиотикам и канцерогенам. Повышенная экспрессия генов иммунного ответа, особенно генов рецепторов натуральных киллеров и генов, активируемых интерфероном (*IFI27*, *OAS1*, *ISG15*, *IFIT4*), у больных гепатоцеллюлярной карциномой при гепатите С показывает, что этот тип заболевания непосредственно связан с хроническим воспалением. Эти данные свидетельствуют о сложности генетической структуры подверженности к ВГ у человека, а также о том, что несмотря на сходство патогенеза, разные формы этих заболеваний имеют разную генетическую основу.

Исследования наследственных основ подверженности к ВГ в НИИ медицинской генетики ТНЦ СО РАМН сосредоточены на генах *IL4*, *IL4RA*, *IL12B* и *SLC11A1* (*NRAMP1*). Интерес к этим генам в связи с ВГ обусловлен тем, что они принимают активное участие в процессах воспаления, а также играют важную роль в клеточном и гуморальном иммунитете, в том числе при инфекционной патологии. Нами проведено сравнение частоты аллелей и генотипов по SNP этих генов у 61 больного ВГ (ВГ-С – у 43 человек, ВГ-В – у 12 человека, сочетанное инфицирование – у 6 человек) и у 128 здоровых лиц. В результате исследования показана ассоциация с ВГ полиморфизмов генов *IL4* (-589С/Т) и *SLC11A1* (D543N): у больных частота «мутантных» аллелей -589С и 543N была статистически значимо выше, чем у здоровых ( $P = 0,002$  и  $0,050$  соответственно).

Кроме того, установлена связь полиморфизма Ile50Val гена *IL4RA* с вариантами ос-

ложнения ВГ – фиброза печени: отмечено статистически значимое накопление гетерозигот 50Ple/Val по мере увеличения тяжести фиброза от 7,1 % в группе с отсутствием фиброза до 47,6 % в группе с начальной стадией фиброза и 56 % у больных с умеренной и тяжелой стадией фиброза) ( $P = 0,035$  и  $P = 0,004$  соответственно) (Гончарова и др., 2005). Причем эта ассоциация не зависела от этиологии ВГ (В или С), генотипических особенностей вирусов и длительности заболевания. На основании этих данных можно предположить, что при заболевании ВГ носители гетерозиготного генотипа по маркеру гена *IL4RA* будут иметь повышенный риск развития фиброза печени.

Таким образом, как собственные исследования, так и данные литературы свидетельствуют, что подверженность к ВГ у человека генетически детерминирована. По-видимому, важную роль в этом играют гены иммунного ответа и воспаления. Кроме того, генотип человека имеет существенное значение в формировании осложнений при ВГ, таких, как фиброз печени и гепатоцеллюлярная карцинома. И здесь важными оказываются как гены воспаления, так и гены, кодирующие ферменты биотрансформации ксенобиотиков, и другие факторы.

### Заключение

Безусловно, в одном, даже большом, обзоре трудно всесторонне осветить столь обширную тему, как генетика инфекционных заболеваний. Это очень значительная область современных исследований. В частности, огромное количество публикаций посвящено таким, не отмеченным в этой статье, заболеваниям, как СПИД и малярия. Эти болезни являются социально значимыми, поскольку поражают огромное количество людей во всем мире, и интерес исследователей к ним особенно велик. Однако накапливаются генетические работы и по таким менее распространенным заболеваниям, как лейшманиоз, шистосомоз и другие паразитарные и глистные инвазии, стафилококковые инфекции, вирусные заболевания дыхательных путей и т. д.

Несмотря на филогенетическое разнообразие инфекционных агентов, вызывающих эти болезни, генетические исследования показы-

вают значительную общность наследственной основы подверженности к ним. По-видимому, в развитии большинства инфекционных заболеваний существенную роль играют гены, кодирующие факторы иммунной системы: цитокины, их рецепторы, транспортеры антигенов, молекулы антигенного распознавания и т. д. Это вполне объяснимо, учитывая, что, по-видимому, иммунная система во многом сформировалась как система защиты против инфекционных агентов (Ройт и др., 2000).

Механизмы, определяющие связь генотипа или аллеля и фенотипа инфекционных болезней, во многих случаях не ясны и их расшифровка требует технических и идейных усилий. Значительные успехи в понимании этих механизмов достигнуты в связи с завершением проекта «Геном человека», в рамках которого картированы и секвенированы большинство генов *Homo sapiens*, в том числе и те, которые ответственны за противоинфекционный иммунитет. Возможно, лучшее понимание проблемы гено-фенотипических взаимосвязей применительно к инфекционным болезням появится по мере развития новых направлений исследований: транскриптомики, протеомики, феномики.

Инфекционные болезни с точки зрения фундаментальной генетики представляют огромный интерес прежде всего потому, что для них всегда известен внешний фактор (этиологический агент), детерминирующий развитие фенотипа на фоне определенного генотипа. Поэтому инфекционные заболевания являются удобной моделью для изучения гено-фенотипических взаимодействий в детерминации сложных мультифакторных признаков у человека. Это направление исследований (корреляция генотипа с фенотипом *in vivo*) известный американский генетик Нил Риш (Neil Risch) назвал в числе приоритетных областей генетики мультифакторных заболеваний и генетики человека в целом, которые будут наиболее активно разрабатываться в ближайшем будущем (Risch, 2005).

Кроме того, ясно, что общетеоретический аспект в изучении генетических основ подверженности к распространенным инфекционным заболеваниям тесно пересекается с практическим, медицинским. Во-первых, эти

исследования способствуют лучшему пониманию патогенеза инфекционных болезней, что в свою очередь открывает новые перспективы в поиске высокоэффективных лекарственных препаратов для их лечения, действие которых направлено на ключевые звенья инфекционного процесса. Во-вторых, определение «структуры» наследственной подверженности к инфекционным заболеваниям в терминах генетического полиморфизма, генотипического и аллельного набора у отдельного индивида может стать основой предиктивного молекулярного тестирования индивидуальной предрасположенности к отдельным инфекциям.

В заключение хотелось бы отметить вклад российских исследований в генетику инфекционных заболеваний у человека. Кроме нашего института, активные работы в этом направлении ведут в Институте биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН (Уфа), в НИИ клинической иммунологии СО РАМН (Новосибирск), а также в Медико-генетическом научном центре РАМН (Москва).

Уфимские коллеги сосредоточили свое внимание на изучении вклада генной изменчивости в развитие туберкулеза. В частности ими показана ассоциация полиморфизма генов *TNFA*, *CYP2E1* и *NRAMP1* с инфильтративной формой заболевания (Бикмаева и др., 2002, 2004; Имангулова и др., 2004). Исследователями из НИИ клинической иммунологии опубликован ряд работ, посвященных анализу связи полиморфизма генов цитокинов (*IL2*, *IL4*, *IL10*, *TNFA*) с подверженностью к таким инфекциям, как ВИЧ и вирусные гепатиты (Коненков, Смольникова, 2002; Авдошина, Коненков, 2004). Особо следует отметить работы, выполняемые в Медико-генетическом научном центре. Эти исследования сосредоточены на оценке связи полиморфизма биохимических маркеров крови (*HP*, *GC*, *TF*, *PI* и др.) с риском развития туберкулеза, а также на попытках оценить их прогностический потенциал в отношении диагностики заболевания и эффективности его лечения (Сергеев и др., 2003). Установлено, что использование указанных полиморфных маркеров позволяет с высокой вероятностью (до 76 %) дискриминировать больных туберкулезом по эффективности лечения, а также прогнозировать риск развития заболевания с вероятностью до 67 %.



Вероятно, эти работы являются единственным пока примером приложения генетических данных к клинике инфекционных заболеваний.

Таким образом, несмотря на объективные и субъективные трудности развития российской науки, исследования генетики подверженности к инфекционным заболеваниям в нашей стране ведутся на достаточно высоком уровне. Хочется надеяться, что в ближайшем будущем к разработке этой интересной проблематики подключатся и другие исследовательские коллективы России.

### Литература

- Авдошина В.В., Коненков В.И. Аллельный полиморфизм генов цитокинов при хроническом вирусном гепатите С // Система цитокинов: теоретические и клинические аспекты / Под ред. В.А. Козлова, С.В. Сенникова. Новосибирск: Наука, 2004. С. 38–42.
- Бикмаева А.Р., Сибиряк С.В., Валиахметова Д.Х., Хуснутдинова Э.К. Полиморфизм гена фактора некроза опухолей- $\alpha$  у больных инфильтративным туберкулезом легких и в популяциях Башкортостана // Молекуляр. биология. 2002. Т. 36. № 5. С. 784–787.
- Бикмаева А.Р., Сибиряк С.В., Хуснутдинова Э.К. Инсерционный полиморфизм гена *CYP2E1* у больных инфильтративным туберкулезом легких и в популяциях Республики Башкортостан // Молекуляр. биология. 2004. Т. 38. № 2. С. 239–243.
- Гончарова И.А., Фрейдин М.Б., Дунаева Л.Е. и др. Анализ связи полиморфизма *Ile50Val* гена рецептора интерлейкина-4 (IL4RA) с хроническим вирусным гепатитом // Молекуляр. биология. 2005. Т. 39. № 3. С. 379–383.
- Ивашкин В.Т., Буеверов А.О., Грязин А.Е. Механизмы устойчивости вируса гепатита С к противовирусным препаратам // Мол. медицина. 2004. № 2. С. 18–23.
- Имангулова М.М., Бикмаева А.Р., Хуснутдинова Э.К. Исследование полиморфных локусов D543N и 3'-UTR гена *NRAMP1* у больных инфильтративным туберкулезом легких в Башкортостане // Мед. генетика. 2004. Т. 4. № 8. С. 376–379.
- Коненков В.И. Медицинская и экологическая иммуногенетика. Новосибирск: Изд-во СО РАМН, 1999. 250 с.
- Коненков В.И., Смольникова М.В. Полиморфизм промоторных регионов генов интерлейкинов 4 и 10 и фактора некроза опухолей-альфа у ВИЧ-инфицированных // Бюл. эксперим. биол. медицины. 2002. Т. 133. № 4. С. 449–421.
- Матушенко А.А., Ястребов В.К. Эпидемиологическая ситуация по природноочаговым инфекциям в Российской Федерации // Тез. докл. Всероссийской научно-практической конференции «Природноочаговые инфекции в России: современная эпидемиология, диагностика, тактика защиты населения». Омск, 1998. С. 3–6.
- Пузырев В.П., Никитин Д.Ю., Напалкова О.В. Ген *NRAMP1*: структура, функция и инфекционные болезни человека // Мол. генет. микробиол. вирусол. 2002а. № 3. С. 34–40.
- Пузырев В.П., Стрелис А.К., Фрейдин М.Б. и др. Анализ взаимосвязи полиморфизмов генов *NRAMP1* и *IL12 p40* с клиническим туберкулезом // Сб. науч. трудов научно-практической конференции с международным участием «Новые технологии во фтизиатрии» (г. Томск, 28–29 января 2002 г.) Томск, 2002б. С. 86–88.
- Пузырев В.П., Фрейдин М.Б., Рудко А.А. и др. Анализ взаимосвязи полиморфных маркеров генов *NRAMP1* и *IL12 p40* и туберкулеза // Мед. генетика. 2002в. Т. 1. № 1. С. 44–46.
- Пузырев В.П., Фрейдин М.Б., Рудко А.А. и др. Полиморфизм генов-кандидатов подверженности к туберкулезу у славянского населения Сибири: пилотное исследование // Молекуляр. биология. 2002. Т. 36. № 5. С. 788–791.
- Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология. М.: Мир, 2000. 592 с.
- Рудко А.А., Никитин Д.Ю., Фрейдин М.Б. и др. Полиморфизм генов *NRAMP1* и *IL12B* при туберкулезе и сальмонеллезе у жителей г. Томска // Генетика человека и патология: Сб. науч. трудов / Под ред. В.П. Пузырева. Вып. 6. Томск: Печатная мануфактура, 2002. С. 165–169.
- Рудко А.А., Ондар Э.А., Фрейдин М.Б., Пузырев В.П. Генетика подверженности к туберкулезу у тувинцев // Вестн. этнич. медицины. 2004. Т. 1. № 1. С. 17–21.
- Рудко А.А., Фрейдин М.Б., Никитин Д.Ю. и др. Исследование полиморфизма генов *NRAMP1* и *IL12B* при туберкулезе и сальмонеллезе у жителей г. Томска // Мед. генетика. 2003. Т. 2. № 1. С. 32–34.
- Сергеев А.С., Агапова Р.К., Богадельникова И.В., Перельман М.И. Использование дискретных признаков в дискриминантном анализе при диагностике туберкулеза легких и при классификации больных с различной эффективностью лечения по распределению полиморфизмов в девяти кодоминантных локусах – *HP*, *GC*, *TF*, *PI*, *PGM1*, *GLO1*, *C3*, *ACP1* и *ESD* // Генетика. 2003. Т. 39. № 7. С. 996–1002.
- Akahoshi M., Nakashima H., Miyake K. *et al.* Influence of interleukin-12 receptor beta1 polymorphisms



- on tuberculosis // *Hum. Genet.* 2003. V. 112. P. 237–243.
- Anguita J., Barthold S.W., Samanta S. *et al.* Selective anti-inflammatory action of interleukin-11 in murine Lyme diseases: arthritis decreases while carditis persists // *J. Infect. Dis.* 1999. V. 179. P. 734–737.
- Arganoff D., Monahan I.M., Mangan J.A. *et al.* Mycobacterium tuberculosis expresses a novel pH-dependent divalent cation transporter belonging to the Nramp family // *J. Exptl. Med.* 1999. V. 190. P. 717–724.
- Baghdadi J. El., Remus N., Benslimane A. *et al.* Variants of the human *NRAMP1* gene and susceptibility to tuberculosis in Morocco // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 2003. V. 7. P. 599–602.
- Bahr M.J., Menuawy M., Boeker K.H. *et al.* Cytokine gene polymorphisms and the susceptibility to liver cirrhosis in patients with chronic hepatitis C // *Liver Int.* 2003. V. 23. P. 420–425.
- Barrett S., Collins M., Kenny C. *et al.* Polymorphisms in tumour necrosis factor-alpha, transforming growth factor-beta, interleukin-10, interleukin-6, interferon-gamma, and outcome of hepatitis C virus infection // *J. Med. Virol.* 2003. V. 71. P. 212–218.
- Bellamy R., Beyers N., McAdam K.P.W.J. *et al.* Genetic susceptibility to tuberculosis in Africans: a genome-wide scan // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2000. V. 97. P. 8005–8009.
- Bellamy R., Ruwende C., Corrah T. *et al.* Variations in the *NRAMP1* gene and susceptibility to tuberculosis in West Africans // *New Engl. J. Med.* 1998. V. 338. P. 640–644.
- Bellamy R., Ruwende C., Corrah T. *et al.* Tuberculosis and chronic hepatitis B virus infection in Africans and variation in the vitamin D receptor gene // *J. Infect. Dis.* 1999. V. 179. P. 721–724.
- Bloom B.R., Small P.M. The evolving relation between humans and *Mycobacterium tuberculosis* // *New Engl. J. Med.* 1998. V. 338. P. 677–678.
- Brown J.P., Zachary J.F., Teuscher C. *et al.* Dual role of Interleukin-10 in murine Lyme diseases: regulation of arthritis severity and host defense // *Infect. Immunity.* 1999. V. 67. P. 5142–5150.
- Casanova J.-L., Abel L. Genetics dissection of immunity to mycobacteria: the human model // *Ann. Rev. Immunol.* 2002. V. 20. P. 581–620.
- Cellier M., Govoni G., Vidal S. *et al.* Human natural resistance-associated macrophage protein: cDNA cloning, chromosomal mapping, genomic organization and tissue-specific expression // *J. Exptl. Med.* 1994. V. 180. P. 1741–1752.
- Cervino A.C.L., Lakiss S., Sow O., Hill A.V.S. Allelic association between the *NRAMP1* gene and susceptibility to tuberculosis in Guinea-Conakry // *Ann. Hum. Genet.* 2000. V. 64. P. 507–512.
- Cervino A.C.L., Lakiss S., Sow O. *et al.* Fine mapping of a putative tuberculosis-susceptibility locus on chromosome 15q11-13 in Africans families // *Hum. Mol. Genet.* 2002. V. 11. P. 1599–1603.
- Collins C.H., Grange J.M., Yates M.D. Mycobacteria in water // *J. Appl. Bacteriol.* 1984. V. 57. P. 193–211.
- Dunstan S.J., Ho V.A., Duc C.M. *et al.* Typhoid fever and genetic polymorphisms at the natural resistance-associated macrophage protein 1 // *J. Infect. Dis.* 2001. V. 183. P. 1156–1160.
- El Sahly H.M., Reich R.A., Dou S.J. *et al.* The effect of mannose binding lectin gene polymorphisms on susceptibility to tuberculosis in different ethnic groups // *Scand. J. Infect. Dis.* 2004. V. 36. P. 106–108.
- Frodsham A.J., Hill A.V.S. Genetics of infectious disease // *Hum. Mol. Genet.* 2004. V. 13. Rev. Issue 2. R187–R194.
- Goyal A., Kazim S.N., Sakhuja P. *et al.* Association of TNF-beta polymorphism with disease severity among patients infected with hepatitis C virus // *J. Med. Virol.* 2004. V. 72. P. 60–65.
- Greenwood C.M., Fujiwara T.M., Boothroyd L.J. *et al.* Linkage of tuberculosis to chromosome 2q35 loci, including *NRAMP1*, in a large Canadian family // *Am. J. Hum. Genet.* 2000. V. 67. P. 405–416.
- Gros P., Scamene E., Forget A. Genetic control of natural resistance to *Mycobacterium bovis* (BCG) in mice // *J. Immunol.* 1981. V. 127. P. 2417–2421.
- Gruenheid S., Pinner E., Desjardins M., Gros P. Natural resistance to infection with intracellular pathogens: the Nramp1 protein is recruited to the membrane of the phagosome // *J. Exptl. Med.* 1997. V. 185. P. 717–730.
- Haldane J.B.S. Disease and evolution // *Ricerca. Sci.* 1949. V. 19 (suppl.). P. 68–76.
- Hoal-Van Helden E.G., Epstein J., Victor T.C. *et al.* Mannose-binding protein B allele confers protection against tuberculous meningitis // *Pediatr. Res.* 1999. V. 45. P. 459–464.
- Iizuka N., Oka M., Yamada-Okabe H. *et al.* Comparison of gene expression profiles between hepatitis B virus- and hepatitis C virus-infected hepatocellular carcinoma by oligonucleotide microarray data on the basis of a supervised learning method // *Cancer Res.* 2002. V. 62. P. 3939–3944.
- Jamieson S.E., Miller E.N., Black G.F. *et al.* Evidence for a cluster of genes on chromosome 17q11-q21 controlling susceptibility to tuberculosis and leprosy in Brazilians // *Genes Immun.* 2004. V. 5. P. 46–57.
- King J.K., Yeh S.H., Lin M.W. *et al.* Genetic polymorphisms in interferon pathway and response to interferon treatment in hepatitis B patients: A pilot study // *Hepatology.* 2002. V. 36. P. 1416–1424.
- Knapp S., Yee L.J., Frodsham A.J. *et al.* Polymorphisms

- in interferon-induced genes and the outcome of hepatitis C virus infection: roles of *MxA*, *OAS-1* and *PKR* // *Genes Immun.* 2003. V. 4. P. 411–419.
- Lio D., Caruso C., Di Stefano R. et al. IL-10 and TNF-alpha polymorphisms and the recovery from HCV infection // *Hum. Immunol.* 2003. V. 64. P. 674–680.
- Liu J., Fujiwara T.M., Buu N.T. et al. Identification of polymorphisms and sequence variants in the human homologue of the mouse natural resistance-associated macrophage protein gene // *Am. J. Hum. Genet.* 1995. V. 56. P. 845–853.
- Liu W., Cao W.C., Zhang C.Y. et al. *VDR* and *NRAMP1* gene polymorphisms in susceptibility to pulmonary tuberculosis among Chinese Han population: a case-control study // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 2004. V. 8. P. 428–434.
- Martinelli A.L., Franco R.F., Villanova V.G. et al. Are haemochromatosis mutations related to the severity of liver disease in hepatitis C virus infection? // *Acta Haematol.* 1999. V. 102. P.152–156.
- Miller E.N., Jemieson S.E., Joberty C. et al. Genome-wide scan for leprosy and tuberculosis susceptibility genes in Brazilians // *Genes Immun.* 2004. V. 5. P. 63–67.
- Mira M.T., Alcasis A., Thuc N.V. et al. Chromosome 6q25 is linked to susceptibility to leprosy in a Vietnamese population // *Nature Genet.* 2003. V. 33. P. 412–415.
- Ottenhoff T.H.M., Verreck F.A.W., Hoeve M.A., van der Vosse E. Control of human host immunity to mycobacteria // *Tuberculosis.* 2005. V. 85. P. 53–64.
- Poper R.J., Weis J.J., McCracken B.A. et al. Genetic control of susceptibility Lyme is polygenic and exhibits consistent to multiple loci on chromosome 5 in four independent mouse crosses // *Genes Immun.* 2001. V. 2. P. 388–397.
- Potter M.R., Rittling S.R. et al. Role of Osteopontin in murine Lyme arthritis and host defense against *Borrelia burgdorferi* // *Infect. Immunity.* 2002. V. 70. P. 1372–1381.
- Powell E.E., Edwards-Smith C.J., Hay J.L. et al. Host genetic factors influence disease progression in chronic hepatitis C // *Hepatology.* 2000. V. 31. P. 828–833.
- Promrat K., McDermott D.H., Gonzalez C.M. et al. Associations of chemokine system polymorphisms with clinical outcomes and treatment responses of chronic hepatitis C // *Gastroenterol.* 2003. V. 124. P. 352–360.
- Reynolds W.F., Patel K., Pianko S. et al. A genotypic association implicates myeloperoxidase in the progression of hepatic fibrosis in chronic hepatitis C virus infection // *Genes Immun.* 2002. V. 3. P. 345–349.
- Risch N. The SNPendgame: a multidisciplinary approach // *Am. J. Hum. Genet.* 2005. V. 76. P. 221–226.
- Romero-Gómez M., Montes-Cano M.A., Otero-Fernández M.A. et al. *SLC11A1* promoter gene polymorphisms and fibrosis progression in chronic hepatitis C // *Gut.* 2004. V. 53. P. 446–450.
- Roy M.-F., Malo D. Genetic regulation of host responses to Salmonella infection in mice // *Genes Immun.* 2002. V. 3. P. 381–393.
- Roy S., McGuire W., Mascie-Taylor C.G.N. et al. Tumor necrosis factor polymorphism and susceptibility to lepromatous leprosy // *J. Infect. Dis.* 1997. V. 176. P. 530–532.
- Ryu S., Park Y.K., Bai G.H. et al. 3'-UTR polymorphisms in the *NRAMP1* gene are associated with susceptibility to tuberculosis in Koreans // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 2000. V. 4. P. 577–580.
- Shirakawa T., Kishi F. Genetic variants of *NRAMP1* and active tuberculosis in Japanese populations // *Clin. Genet.* 2000. V. 58. P. 74–76.
- Siddiqui M.R., Meisner S., Tosh K. et al. A major susceptibility locus for leprosy in India maps to chromosome 10p13 // *Nature Genet.* 2001. V. 27. P. 439–441.
- Soborg C., Andersen A.B., Madsen H.O. et al. Natural resistance-associated macrophage protein 1 are associated with microscopy-positive tuberculosis // *J. Infect. Dis.* 2002. V. 186. P. 517–521.
- Tambur A.R., Ortelgel J.W., Ben-Ari Z. et al. Role of cytokine gene polymorphism in hepatitis C recurrence and allograft rejection among liver transplant recipients // *Transplantation.* 2001. V. 27. P. 1475–1480.
- Taylor D.R., Shi S.T., Lai M.C. Hepatitis C virus and interferon resistance // *Microbes Infect.* 2000. V. 2. P. 1743–1756.
- Toniutto P., Fabris C., Fumo E. et al. Carriage of the apolipoprotein E-epsilon4 allele and histological outcome of recurrent hepatitis C after antiviral treatment // *Am. J. Clin. Pathol.* 2004. V. 122. P. 428–433.
- Tso H.W., Lau Y.L., Tam C.M. et al. Associations between IL12B polymorphisms and tuberculosis in the Hong Kong Chinese population // *J. Infect. Dis.* 2004. V. 190. P. 913–929.
- van der Vosse E., Hoeve M.A., Ottenhoff T.H.M. Human genetics of intracellular infectious disease: molecular and cellular immunity against mycobacteria and salmonellae // *Lancet Infect. Dis.* 2004. V. 4. P. 739–749.
- van der Werf T.S., van der Graaf W.T., Tappero J.W., Asiedu K. *Mycobacterium ulcerans* infection // *Lancet.* 1999. V. 354. P. 1013–1018.
- Vidal S., Tremblay M.L., Govoni G. et al. The Ity/Lsh/Bcg locus: natural resistance to infection with

- intracellular parasites is abrogated by disruption of the *Nramp1* gene // *J. Exptl. Med.* 1995. V. 182. P. 655–666.
- Vidigal P.G., Germer J.J., Zein N.N. Polymorphisms in the interleukin-10, tumor necrosis factor-alpha, and transforming growth factor-beta1 genes in chronic hepatitis C patients treated with interferon and ribavirin // *J. Hepatol.* 2002. V. 36. P. 271–277.
- Wang F.-S. Current status and prospects of studies on human genetic alleles associated with hepatitis B virus infection // *World J. Gastroenterol.* 2003. V. 9. P. 641–644.
- Weis J.J., McCracken B.A., Ma Y. *et al.* Identification of Quantitative Trait Loci governing arthritis severity and humoral responses in murine model of Lyme diseases // *J. Immunol.* 1999. V. 162. P. 948–956.
- Wigley P. Genetic resistance to Salmonella infection in domestic animals // *Res. Vet. Sci.* 2004. V. 76. P. 165–169.
- Wilkinson R.J., Llewelyn M., Toossi Z. *et al.* Influence of vitamin D deficiency and vitamin D receptor polymorphisms on tuberculosis among Gujarati Asians in West London: a case-control study // *Lancet.* 2000. V. 355. P. 618–621.

## GENOMIC BASIS OF SUSCEPTIBILITY TO INFECTIOUS DISEASES

I.A. Gonchiarova<sup>1</sup>, M.B. Freidin<sup>1</sup>, A.A. Rudko<sup>1</sup>, O.V. Napalkova<sup>1</sup>, O.V. Kolokolova<sup>2</sup>,  
E.A. Ondar<sup>3</sup>, L.E. Dunaeva<sup>4</sup>, E.V. Beloborodova<sup>3</sup>, V.P. Puzyrev<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Medical Genetics Research Institute of Tomsk Scientific Center of RAMS, Tomsk, Russia, e-mail: valery.puzyrev@medgenetics.ru; <sup>2</sup> Tomsk Army Medical Institute, Tomsk, Russia;

<sup>3</sup> Multifield Scientific Laboratory for Medical-Biological Problems of Health Ministry of Tuva Republic, Kizil, Russia; <sup>4</sup> Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

### Summary

In the paper, a summary of data on hereditary basis of susceptibility to such infectious diseases as tuberculosis, salmonellosis, tick-borne encephalitis, Lyme borelliosis, virus hepatitis is presented. Based on our own and literature data, an important role of human genome variability in formation of groups of people susceptible and resistant to infectious diseases is shown. A point of view is stated that there is a common basis for susceptibility to different infectious diseases, conditioned to commonality of anti-infectious immunity mechanisms. Theoretical and practical prospects of the nearest genomic investigations of susceptibility to infectious diseases in humans are discussed.

## МЕМБРАННЫЕ РЕЦЕПТОРЫ ТРОМБОЦИТОВ: ФУНКЦИИ И ПОЛИМОРФИЗМ

Е.Н. Воронина<sup>1</sup>, М.Л. Филипенко<sup>1</sup>, Д.С. Сергеевичев<sup>1</sup>, И.В. Пикалов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,  
Новосибирск, Россия, e-mail: max@niboch.nsc.ru;

<sup>2</sup> Новосибирская государственная медицинская академия,  
кафедра клинической лабораторной диагностики, Новосибирск, Россия

Изучение молекулярно-биологических аспектов функционирования как клетки, так и систем организма человека привело к открытию новых ингибиторов каскада свертывания, нового семейства рецепторов, активируемых факторами свертывания крови, новых функций известных адгезивных белков и развитию новых представлений о механизмах гемостаза и тромбообразования. В данном сообщении кратко описывается роль мембранных рецепторов тромбоцитов в процессе образования тромба, рассматриваются полиморфные варианты их генов и их возможная роль в патологиях, связанных с нарушением агрегации тромбоцитов.

### Молекулярные механизмы адгезии и агрегации тромбоцитов при тромбообразовании

В соответствии с имеющимися представлениями тромбоциты циркулируют в крови в относительно неактивном состоянии и не взаимодействуют с интактным эндотелием, выстилающим кровеносные сосуды. Повреждение стенки сосуда запускает каскад процессов, ведущих к образованию тромба из тромбоцитов и фибрина, для остановки кровотечения из поврежденного сосуда (рис. 1). Процесс агрегации тромбоцитов и образования тромба сложен и может быть разбит на три стадии.

**Узнавание поврежденной стенки кровеносного сосуда.** Первой стадией свертывания крови является «случайное» прилипание тромбоцитов к субэндотелиальному матриксу или активированному эндотелию. Данный процесс инициируется при повреждении стенки сосуда и дисфункциях эндотелия, вызываемых острой гипертензией, продуктами курения, свободными радикалами, бактериальными токсинами, вирусной инфекцией, цитокинами (TNF, IL-1 и др.), окисленными липопротеинами, иммунными комплексами и др. (Струкова, 2002). При этом из эндотелиальных клеток в кровь

и экстраклеточный матрикс высвобождается содержимое телец Вейбла-Палада, которые представляют собой мультимеры фактора фон Виллибранда (ФВ) и Р-селектина (Schmugge *et al.*, 2003).

ФВ имеет две основные функции. Первая – связывание и стабилизация VIII фактора *in vivo* и *in vitro* (защита VIII фактора от инактивации протеином С и Ха-фактором). Вторая – обеспечение связей между тромбоцитами и сосудистой стенкой (адгезия тромбоцитов) и тромбоцитами (агрегация тромбоцитов) (Meug, Girma, 1993). Р-селектин обеспечивает агрегацию лейкоцитов к месту повреждения кровеносного сосуда.

Первичное прилипание требует специфического связывания ФВ и мембранного комплекса гликопротеинов тромбоцитов GPIb/IX/V. ФВ служит мостиком между коллагеном и тромбоцитами и является необходимым для адгезии тромбоцитов к коллагену при высокой скорости тока крови (Fitzgerald, Philips, 1987). Данная связь является достаточно слабой, однако приводит к замедлению движения тромбоцита через тромбогенную коллаген-богатую поверхность, что делает возможным взаимодействие других рецепторов тромбоцитов с коллагеном. Эта связь является критичной для нормального функционирования тромбоцитов при прекра-

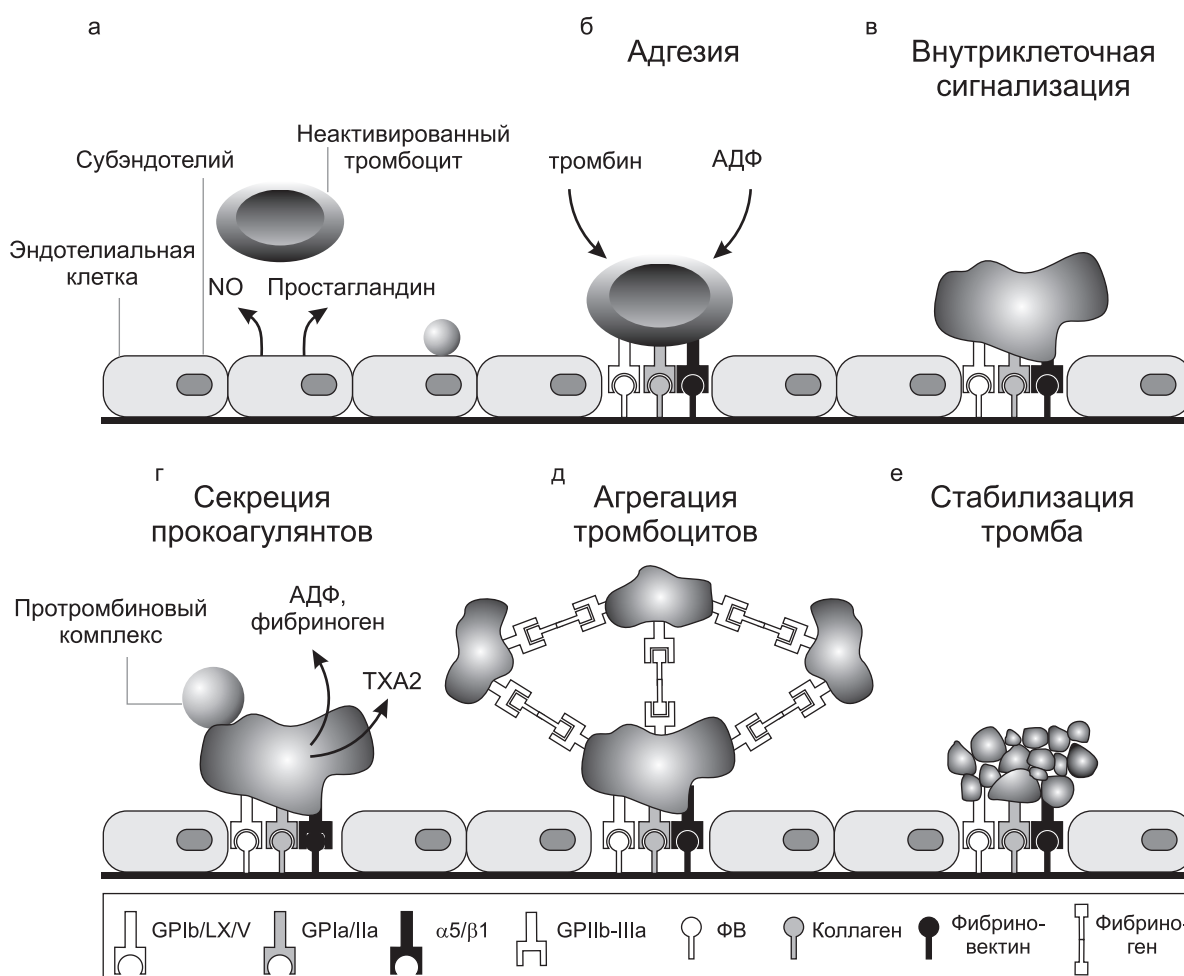


Рис. 1. Схема формирования тромба при повреждении стенки кровеносного сосуда (Bhatt, Topol, 2003).

щении кровотечения, а также является важным шагом при адгезии тромбоцитов к экспонированным тромбогенным материалам при повреждении атеросклеротической бляшки.

**Адгезия тромбоцитов.** На второй стадии тромбоциты формируют более стабильный монослой над тромбогенной поверхностью. Данный процесс обеспечивается различными рецепторами в зависимости от природы экстраклеточного матрикса и присутствующих адгезивных молекул. В области повреждения кровеносных сосудов обычно присутствует большой избыток коллагена, и в действие в первую очередь вступают коллагенные рецепторы, такие, как GPIIb/IIIa (другое название – интегрин  $\alpha_2/\beta_1$ ) и GPVI. Комплекс GPIIb/IIIa главным образом поддерживает связь тромбоцита с коллагеном, в то время как рецептор GPVI проводит сигнал через мембрану внутрь

клетки для дальнейшей активации тромбоцита. Данный сигнал служит началом третьей стадии процесса тромбообразования.

**Агрегация тромбоцитов.** Третьей стадией является агрегация тромбоцитов, в процессе которой множество тромбоцитов связываются между собой с помощью фибриногена или ФВ через активированные рецепторы тромбоцитов GPIIb-IIIa. Эта стадия является общей для большинства путей активации тромбоцитов. Таким образом, независимо от пускового сигнала процесс агрегации заканчивается конформационным изменением, испытываемым комплексом поверхностного гликопротеина GPIIb-IIIa, который преобразует его в рецептор для фибриногена. После связывания с этим рецептором фибриноген действует как мостик между прилегающими тромбоцитами. Управляемая тромбином трансформация фибриногена в



фибрин стабилизирует этот агрегат тромбоцитов и формирует тромб.

Активация тромбоцитов через рецепторы GPIb/IX/V и GPVI также приводит к запуску так называемого арахидонового каскада, вследствие чего образуется тромбоксан A<sub>2</sub>, который в свою очередь ведет к высвобождению содержимого запасящихся α-гранул тромбоцитов и дополнительной секреции ФВ, Р-селектина и других активных веществ (АДФ, тромбин, тромбоксан A<sub>2</sub>, фактор активации тромбоцитов, серотонин, норадреналин) (Lefkovits *et al.*, 1995). АДФ, тромбин и другие соединения в свою очередь через рецепторы, связанные с G-белком, дополнительно активируют GPIb-IIIa-зависимую агрегацию тромбоцитов. Р-селектин также может связываться с тромбоцитарным рецептором GPIb/IX/V и лейкоцитарным рецептором PSGL-1, что, например, способствует привлечению провоспалительных лейкоцитов в места атеросклеротических бляшек.

Конгломерат тромбоцитов постоянно увеличивается за счет выброса новых порций АДФ из вовлекаемых в процесс интактных тромбоцитов. Этот процесс мог бы продолжать распространяться по кровотоку, если бы не был ограничен простагландином ПГИ<sub>2</sub>. В ответ на выделение из агрегирующих тромбоцитов АДФ и тромбоцитарного фактора 3, стимулирующего «внутренний путь» образования тромбина, в неповрежденных эндотелиоцитах включается арахидоновый каскад, в результате действия которого образуется простагландин ПГИ<sub>2</sub>, который препятствует дальнейшей агрегации тромбоцитов, чем и ограничивает размер агрегата тромбоцитов пределами поврежденного участка сосуда.

### Структура мембранных рецепторов тромбоцитов

Рецепторы тромбоцитов представляют собой гликопротеины мембраны, большинство из которых относятся к семейству так называемых интегринов – семейству рецепторов, имеющих близкую структуру и ответственных за взаимодействия между клетками, а также между клетками и белками (Hynes, 1987; Smyth *et al.*, 1993). Интегрины находятся на поверхностях практически всех типов клеток, они участву-

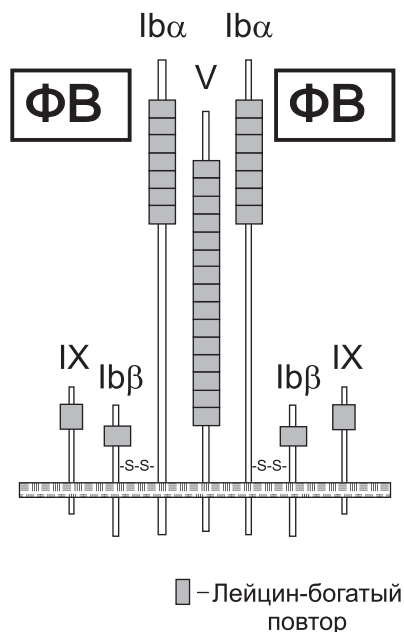
ют во многих физиологических процессах. Большинство рецепторных белков относятся к группе интегринов.

С использованием иммунохимических методов на поверхности тромбоцитов было обнаружено несколько гликопротеинов, часть из которых специфична только для тромбоцитов. За процесс адгезии тромбоцитов ответственны несколько рецепторов мембраны тромбоцитов, среди которых есть представители семейства интегринов и неинтегринов. В частности, к семейству интегринов относится комплекс GPIa/IIa, связывающийся с коллагеном.

**Комплекс GPIb/IX/V.** Гликопротеиновый комплекс GPIb/IX/V является продуктом четырех генов. Ген *GPIba*, локализованный на коротком плече хромосомы 17, кодирует полипептид с массой 143 кД. Ген *GPIbβ*, расположенный на длинном плече хромосомы 22, кодирует полипептид меньшего размера – 22 кД. Гены, кодирующие GPIX и GPV, находятся на хромосоме 3 и кодируют полипептиды с массой 20 и 83 кД соответственно. Полипептиды GPIbβ и GPIba ковалентно связаны дисульфидной связью. Комплекс GPIb/IX/V является гептамером, состоящим из одной молекулы GPV и нековалентно ассоциированными с ней двумя молекулами GPIb и двумя молекулами GPIX (рис. 1). Основной характерной чертой всех субъединиц данного комплекса является наличие лейцин-богатых повторов (Modderman *et al.*, 1992).

Комплекс GPIb/IX/V является основным тромбоцитарным рецептором для ФВ, а его плотность составляет около 25 тысяч молекул на тромбоцит. Данный рецептор обеспечивает прикрепление тромбоцитов к субэндотелию за счет взаимодействия ФВ с N-концевым доменом (1-282) GPIba (рис. 2) (Ruggeri *et al.*, 1992). Также в этом районе расположены частично перекрывающиеся, но не идентичные сайты связывания лейкоцитарного интегрин αMβ<sub>2</sub>, α-тромбина и Р-селектина, экспрессирующихся на активированных эндотелиальных клетках.

К настоящему времени описаны полиморфные варианты гена в двух локусах, имеющие разные аминокислотные последовательности в «тяжелой» цепи комплекса (GPIba). Замена С на Т в положении 3550 гена *GPIba* приводит к замене треонина на метионин в позиции 145



**Рис. 2.** Схема гликопротеинового комплекса GPIb/IX/V (Bussel *et al.*, 2000).

(Thr145Met) (Kuijpers *et al.*, 1992). Следует заметить, что диморфизм треонин/метионин обуславливает и антигенные различия тромбоцитов по системе HPA-2a/2b (табл. 1). Замена Thr145Met приводит к конформационным изменениям в области, примыкающей к месту связывания фактора фон Виллебранда с GPIba, хотя *in vitro* до настоящего времени каких-либо изменений в связывании лиганда с рецептором не было обнаружено.

Другим полиморфным локусом является tandemный повтор размером 39 п.н., кодирующий 13 аминокислот в гликопептидной части молекулы GPIba (Mogoi *et al.*, 1984). В европейской популяции обнаружено 4 аллеля данного VNTR-повтора: изоформа *D* содержит один повтор, изоформа *C* – 2 повтора, *B* – 3 повтора и *A* – 4 повтора. Данный повтор богат пролином, серином и треонином, которые являются потенциальными сайтами гликозилирования. Каждая единица добавляет 3,2 нм к длине внеклеточного домена (Lopez *et al.*, 1992), что может приводить к увеличению доступности сайта связывания ФВ и тромбина. Известно 5 гаплотипов вышеописанных полиморфных локусов гена *GPIba*, причем более длинные аллели *A* и *B* сцеплены с аллелем *145Met* (табл. 1).

Исследование частот встречаемости аллелей

и генотипов *VNTR*-локуса гена *GPIba* в исследуемой популяции г. Новосибирска показало увеличение частоты встречаемости аллеля *D* и снижение частоты встречаемости аллеля *B* по сравнению с европейскими популяциями (табл. 2). Наиболее близкое распределение частот встречаемости аллелей наблюдается у белых жителей США, что может отражать смешение генофондов разных рас, активно происходящее как в США, так и в Новосибирской области.

Также обнаружен еще один полиморфный локус гена *GPIba*, расположенный в 5'-нетранслируемой области – замена Т на С в положении -5 (от AUG-кодона) (Afshar-Khargan *et al.*, 1998). Данная замена приводит к нарушению регуляторной последовательности (элемент Козак), что оказывает влияние на эффективность трансляции. Наличие аллеля *C* увеличивает количество комплекса GPIb, обнаруживаемое на мембранах тромбоцитов (относительный уровень: *T/T* = 1,0, *C/T* = 1,3, *C/C* = 1,5).

Функциональная оценка влияния полиморфных вариантов гена *GPIba* на скорость тромбообразования проводилась только в нескольких

**Таблица 1**  
Аллели мембранных гликопротеинов тромбоцитов

Ген	Аллели	Частота встречаемости*	HPA-антигены
<i>GPIba</i>	<i>145Thr-VNTR C</i>	0,82	2a
	<i>145Thr-VNTR D</i>	0,11	2a
	<i>145Met-VNTR B</i>	0,07	2b
	<i>145Met-VNTR C</i>	<0,01	2b
	<i>145Met-VNTR A</i>	<0,01	2b
	<i>-5T</i>	0,85	
	<i>-5C</i>	0,15	
<i>GPIIb</i>	<i>837Val-843Ile</i>	0,61	3a
	<i>837Val-843Ser</i>	0,36	3b
	<i>837Met-843Ser</i>	0,03	3b
<i>GPIIIa</i>	<i>33Leu</i>	0,85	1a
	<i>33Pro</i>	0,15	1b
<i>GPIa</i>	<i>Lys505-807C</i>	0,09	5a
	<i>505Glu-807C</i>	0,52	5b
	<i>505Glu-807T</i>	0,39	5b

\* Частоты встречаемости приведены для европеоидной популяции.

Таблица 2

Частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфного *VNTR*-локуса гена *GPIIb* в различных популяциях

Популяция	Частоты встречаемости									
	Алелли				Генотипы					
	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>	<i>D</i>	<i>B/B</i>	<i>B/C</i>	<i>B/D</i>	<i>C/C</i>	<i>C/D</i>	<i>D/D</i>
Польша	0	0,22	0,73	0,04						
Германия	0	0,1	0,82	0,08	0,01	0,19	0,02	0,67	0,1	0,005
США (белые)	0,01	0,07	0,82	0,11						
Новосибирск	0	0,01	0,86	0,13	0	0,01	0	0,78	0,16	0,05

небольших исследованиях и показала, в частности, что аллели *C* и *D* *VNTR*-локуса и *-5C* связаны с увеличением скорости формирования тромбов при повышении скорости тока крови (Jilma-Stohlawetz *et al.*, 2003). Существуют и другие данные о связи аллеля *-5C* с увеличением скорости формирования тромбов при нормальной скорости тока крови и отсутствии такой ассоциации при ее увеличении (Cadroy *et al.*, 2001). Однако стоит учесть, что это исследование проводилось на выборке из 40 человек.

«Легкая» цепь комплекса *Ib* (*GPIIb*) представлена двумя аллельными вариантами. Замена *Gly15Glu* формирует два антигенных варианта тромбоцитов по системе *HPA-11aw/11bw* (табл. 1). Однако частота встречаемости аллеля *15Glu* в европейской популяции очень низка – менее 1 % (Kiefel *et al.*, 1995).

**Комплекс *GPIa/IIa*.** Комплекс *GPIa/IIa* (другое название – интегрин  $\alpha_2/\beta_1$ ) играет основную роль при адгезии тромбоцитов как к фибриллярному (тип I или III), так и к нефибриллярному (тип II или IV) коллагену (рис. 3). *GPIa* является  $\alpha_2$ -цепью с массой 165 кД, а *GPIIa* –  $\beta_1$  – цепью с массой 145 кД. Плотность этого рецептора на внешней мембране тромбоцитов по сравнению с другими низка и составляет от 800 до 3000 молекул на тромбоцит. Однако даже в норме количество гетеродимера на мембране тромбоцитов может сильно варьировать, что коррелирует со способностью тромбоцитов связываться с коллагеном (Kunicki *et al.*, 1993).

Выявлено несколько полиморфных вариантов этого комплекса, обусловленных вариативностью гена *GPIa* (в том числе и антигенный полиморфизм *HPA5a/5b* – *A1648G* (*Lys505Glu*)).

Нуклеотидная замена *C* на *T* в позиции 807, не приводящая к замене аминокислоты, влияет на количество экспрессируемого *GPIa*. Оказалось, что *807T* вариант гена *GPIa* ассоциирован с повышением плотности рецептора на тромбоците и увеличением индуцируемой коллагеном агрегации тромбоцитов. Механизм этой ассоциации остается пока неясным. Возможно, что аллель *807T* находится в неравновесном сцеплении с другими функциональными полиморфизмами в гене *GPIa*. Следует отметить, что *HPA-5b*-вариант может соответствовать как аллелю *807C* (низкая плотность *GPIa* – гаплотип *505Glu-807T*), так и аллелю *807T* (высокая плотность *GPIa* – гаплотип *505Glu-807C*), в то время как наличие *HPA-5a* однозначно определяет низкую плотность рецепторного комплекса *GPIa/IIa* (гаплотип *Lys505-807C*) (Kritzik *et al.*, 1998).

В промоторной области гена *GPIa* также обнаружены полиморфные локусы *C-52T* и *C-92G*. Присутствие аллеля *-52T* (частота встречаемости 0,35) или *-92G* (частота встречаемости 0,15) приводит к уменьшению плотности комплекса *GPIa/IIa* на мембране тромбоцитов.

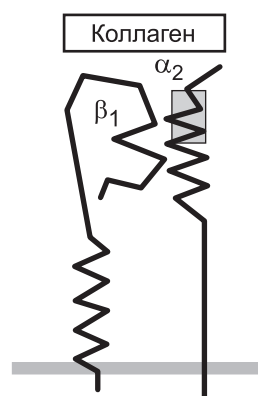


Рис. 3. Схема гликопротеинового комплекса *GPIa/IIa* (Bussel *et al.*, 2000).

Данные замены оказывают независимое отрицательное влияние на транскрипцию гена и, как было показано в опытах по трансфекции мегакариоцитов, имеют кумулятивный эффект. Таким образом, наличие значительной вариабельности плотности GPIa/IIa-рецептора на мембранах тромбоцитов у нормальных людей можно объяснить суммарным эффектом всех полиморфных вариантов, а также влиянием дополнительных несцепленных генетических факторов (Jacquelin *et al.*, 2001).

**Гликопротеин GPVI.** Гликопротеин GPVI является мембранным рецептором тромбоцитов к коллагену, который распознает аминокислотную последовательность глицил-пролил-оксипролил (Gly-Pro-Hyp) (Knight *et al.*, 1999). При взаимодействии лиганда с GPVI происходит активация тромбоцитов через механизм, подобный проведению сигнала через рецепторы иммуноглобулинов. Так, связанный с лигандом GPVI образует комплекс GPVI-Fc $\gamma$ , что приводит к фосфорилированию FcR $\gamma$  и далее к активации PLC $\gamma$ 2 и высвобождению содержимого гранул и агрегации тромбоцитов (Andrews, Berndt, 2004).

Гликопротеин GPVI состоит из 319 аминокислот, из которых 19 аминокислот относятся к трансмембранному домену. GPVI принадлежит к суперсемейству иммуноглобулинов, его последовательность имеет высокий процент гомологии с Fc $\alpha$ R и рецепторами NK-клеток. Однако цитоплазматический домен, состоящий из 51 аминокислоты, имеет нехарактерное для данного семейства строение (Jandrot-Perrus *et al.*, 2000).

В нормальной популяции обнаружена значительная гетерогенность как по плотности гликопротеина GPVI на мембране тромбоцитов, так и по его способности связывать лиганд. Эти данные позволяют предположить наличие полиморфных вариантов гена, влияющих на экспрессию и строение данного рецептора, однако до сих пор таких нуклеотидных замен не обнаружено (Furihata *et al.*, 2002).

**Комплекс GPIIb/IIIa.** Гетеродимер GPIIb/IIIa (другое название – интегрин  $\alpha_{IIb}/\beta_3$ ) является поверхностным рецептором тромбоцитов, который активируется в результате передачи сигнала от рецепторов адгезии GPVI и GPIb/IX/V, рецепторов, связанных с G-белком (на

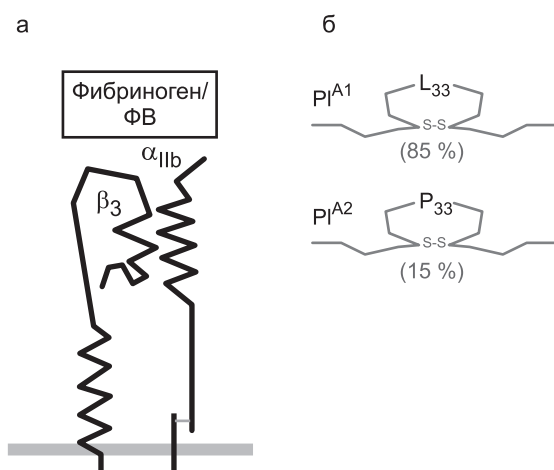
пример, рецепторы тромбина PAR-1 и PAR-4), и рецепторов АДФ (P2Y<sub>1</sub> и P2Y<sub>12</sub>). В процессе Ca<sup>2+</sup>-зависимой активации комплекс претерпевает ряд конформационных изменений, которые обеспечивают возможность связывания тромбоцита с фибриногеном.

Механизм функционирования IIb/IIIa-рецептора заключается в его способности узнавать две характерные аминокислотные последовательности. Первая состоит из аминокислот Арг-Гли-Асп, она обнаружена в фибронектине, факторе Виллебранда, витронектине, а также и в  $\alpha$ -цепях молекул фибриногена, причем на каждую половину молекулы фибриногена приходится по две ключевых последовательности Арг-Гли-Асп (Pierschbacher, Ruoslahti, 1984). Следует подчеркнуть, что «ключевая» последовательность Арг-Гли-Асп узнаваема большинством представителей семейства интегринов. Детальные механизмы взаимодействия IIb/IIIa рецепторов с адгезивными молекулами до конца не изучены, но очевидно, что пептиды или мелкие молекулы, содержащие ключевую последовательность аминокислот Арг-Гли-Асп, могут являться потенциальными ингибиторами взаимодействия IIb/IIIa рецепторов тромбоцитов с фибриногеном.

Вторая последовательность аминокислот, узнаваемая IIb/IIIa рецепторами тромбоцитов, представляет собой Лиз-Глн-Ала-Гли-Асп-Вал, она находится в карбоксильном конце  $\gamma$ -цепей фибриногена. В отличие от Арг-Гли-Асп, последовательность Лиз-Глн-Ала-Гли-Асп-Вал обнаружили только в молекуле фибриногена, и, вероятно, именно в этом месте фибриноген связывается с IIb/IIIa-рецепторами тромбоцитов (Farrell *et al.*, 1992; Weisel *et al.*, 1992).

GPIIb состоит из находящейся на поверхности тромбоцита тяжелой цепи с массой 116 кД, ковалентно связанной одной дисульфидной связью с легкой (22 кД) цепью, которая является трансмембранным белком. GPIIa-субъединица – гликозилированный полипептид с массой 90 кД, который состоит из трех доменов – большого внеклеточного региона на N-конце, трансмембранного домена и короткого цитоплазматического сегмента на C-конце (рис. 4). Гены, кодирующие GPIIb/IIIa, локализованы на длинном плече хромосомы 17 внутри сегмента размером 260 т.п.н.





**Рис. 4.** Схема гликопротеинового комплекса GPIIb/IIIa (а). Аллельные варианты белка GPIIb (Bussel *et al.*, 2000) (б).

На одном тромбоците обнаруживается от 50 до 80 тыс. молекул этого комплекса. Врожденная недостаточность гликопротеина IIb или IIIa (известно около 18 мутаций) сопровождается нарушением всех видов агрегации тромбоцитов, что наблюдается при тромбастении Гланцмана (Lane, Grant, 2000).

К настоящему времени описан ряд мутаций, приводящих к полиморфизму гетеродимера GPIIb/IIIa. Для *GPIIb* известно 2 полиморфных локуса: Val837Met и Ile843Ser, сочетания которых образуют 3 гаплотипа (табл. 1). Замена Ile843Ser расположена недалеко от центра связывания лиганда рецепторным комплексом GP IIb/IIIa, что, соответственно, может влиять на активность рецептора. Однако экспериментальных данных на этот счет пока еще нет.

Ген *GPIIIa* встречается в европейской популяции в 8 вариантах, которые различаются в 6 позициях аминокислотной последовательности (Newman *et al.*, 1989; Lyman *et al.*, 1990; Noris *et al.*, 1995). 5 аминокислотных замен являются очень редкими, наибольший интерес представляет только точечная мутация, приводящая к замене лейцина на пролин в 33-м положении белка GPIIIa. Данная замена приводит к конформационному изменению N-терминальной дисульфидной петли GPIIIa, относящейся к сайту связывания фибриногена. Замещение лейцина пролином обусловлено заменой Т на С в экзоне 2 гена *GPIIIa* в положении 1565.

Аллель *Leu33* является более распространенным в европейской популяции, тогда как аллель *Pro33* встречается с частотой 10–15 % (Newman, 1997). В африканской популяции частота встречаемости данного аллеля снижается до 5–8 % и, наконец, он практически отсутствует в азиатской популяции. В современной литературе используют две номенклатуры для их обозначения. Согласно более старой (но, тем не менее, используемой и в настоящее время), аллель *Leu33* (*1565T*) обозначают *PLA1*, а аллель *Pro33* (*1565C*) – *PLA2*. Когда выяснили, что эта же нуклеотидная замена обуславливает и иммунологическую вариабельность одного из тромбоцитарных антигенов, а именно HPA-1, было предложено обозначать аллель *PLA1* как *HPA-1a*, а *PLA2* – как *HPA-1b* (табл. 1).

Эксперименты *in vitro* не дали ясного ответа на вопрос о функциональной значимости данного полиморфизма. Тромбоциты, несущие GPIIIa с пролином в 33-м положении, имеют более низкий порог активации, а также более чувствительны к действию некоторых анти-тромботических агентов (например, аспирина) (Michelson *et al.*, 2000). Однако другие авторы не обнаружили достоверных отличий в способности связывать лиганды у разных аллелей *GPIIIa* (Bennett *et al.*, 2001). Таким образом, вопрос о связи данного полиморфного локуса с предрасположенностью к развитию тромботических осложнений остается открытым.

#### Полиморфизм генов гликопротеиновых рецепторов тромбоцитов и риск развития тромболитических заболеваний

Гликопротеиновые рецепторы тромбоцитов играют значительную роль в адгезии и агрегации тромбоцитов при образовании тромба, что позволяет рассматривать их как гены-кандидаты для исследований по ассоциации с острым коронарным синдромом и другими заболеваниями сердечно-сосудистой системы.

**Ген *GPIIIa*.** Основным изучаемым полиморфным локусом гена *GPIIIa* является аминокислотная замена Leu33Pro (аллель *Leu33* (*1565T*) = *PLA1*, аллель *Pro33* (*1565C*) = *PLA2*). Так, согласно результатам (Weiss *et al.*, 1996), относительный риск возникновения инфаркта миокарда (ИМ) у носителей аллеля *Pro33* равен



2,8, а в группе лиц моложе 60 лет он возрастает до 6,2. Затем появилось сообщение, что у олимпийского чемпиона по фигурному катанию, умершего внезапно на тренировке от ишемической болезни сердца (ИБС), найден гомозиготный генотип по аллелю *Pro33* (Goldschmidt-Clermont *et al.*, 1996). Однако в последующие 2–3 года исследования не выявляли связи данного полиморфного локуса ни с наличием, ни с тяжестью развития острого коронарного синдрома (ОКС) (Herrmann *et al.*, 1997; Marian *et al.*, 1997; Ridker *et al.*, 1997; Samani, Lodwick, 1996; Gardeman *et al.*, 1998). Особенно следует отметить результаты больших исследований US Physicians Health Study (374 человека с ИМ и 704 – контроль) и ЕСТИМ (620 человека с ИМ и 700 – контроль). Разбиение на субгруппы по возрасту также не подтвердило наличие ассоциации аллеля *Pro33* с ИМ (Herrmann *et al.*, 1997; Ridker *et al.*, 1997). Показана значительная ассоциация аллеля *Leu33* с тяжелым коронарным атеросклерозом (Gruchala *et al.*, 2003). В то же время была выявлена ассоциация данного аллеля с ИМ в группе из 200 человек моложе 45 лет (OR = 1,8), которая резко возрастала у курильщиков (OR = 13,7) (Carter *et al.*, 1996).

В четырех больших исследованиях (суммарно 1140 больных и 1612 здоровых) не было выявлено увеличения частоты встречаемости *Pro33*-аллеля среди больных с ишемическим инсультом (Carlsson *et al.*, 1997; Ridker *et al.*, 1997). Однако при выделении субгруппы больных инсультом определенного генеза (Large-Vessel Disease stroke) обнаружили, что относительный риск развития данного заболевания увеличился в 2,5 раза у носителей *Pro33*-аллеля (Slowik *et al.*, 2004). Также было показано, что данный аллель значительно чаще встречается в группе людей, перенесших инсульт в возрасте до 47 лет (Carter *et al.*, 1997).

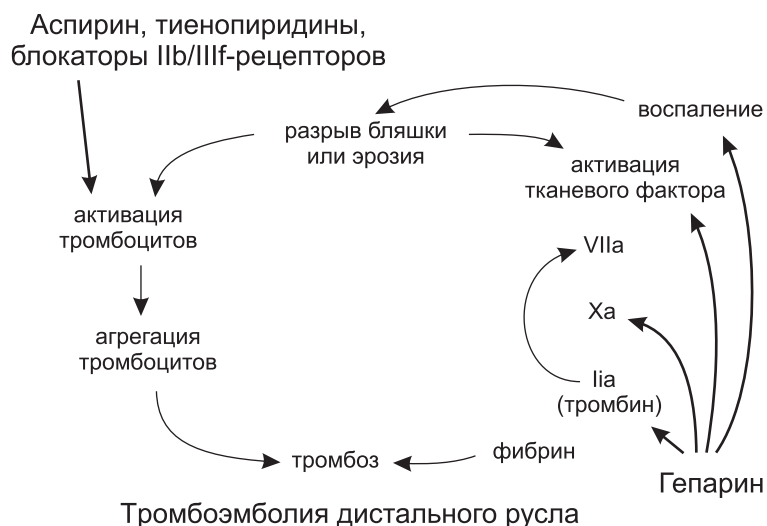
Таким образом, влияние данного полиморфного локуса на развитие тромботических осложнений выявляется в основном при исследовании определенных субгрупп больных ОКС (курение, молодой возраст). То есть сам по себе аллель *Pro33* вносит незначительный вклад в развитие ОКС.

**Ген *GPIIb*.** Данные об ассоциации аллелей гена *GPIIb* с ОКС и атеросклерозом касаются только замены Ile843Ser, с которой связана

антигенность тромбоцитов по системе HPA-3. Так, большинство исследований не показало наличие связи какого-либо из аллелей с увеличением риска возникновения инсульта или ИМ (Carlsson *et al.*, 1997; Bottiger *et al.*, 2000). В то же время относительный риск смертности после инсульта оказался выше у носителей аллеля *Ile843* (Carter *et al.*, 1999). Также данный аллель достоверно чаще встречался в группе молодых людей, перенесших ИМ (Park *et al.*, 2004).

**Ген *GPIa*.** Молчащая нуклеотидная замена С807Т оказывает влияние на число копий комплекса GPIa/IIa на мембране тромбоцита, что предполагает наличие ассоциаций аллелей данного полиморфного локуса с ОКС. В обширном исследовании, охватившем 2237 немецких мужчин, было установлено преобладание *807T*-аллеля у лиц, перенесших ИМ, по сравнению с контрольной группой (OR = 1,57). В группе мужчин моложе 49 лет OR возрастал до 4,92 (Santoso *et al.*, 1999). *807T*-аллель ассоциирует и с 2–3-кратным повышением риска ишемического инсульта у мужчин моложе 50 лет и женщин в возрасте до 45 лет (Moshfegh *et al.*, 1999). Таким образом, эти данные позволяют рассматривать *807T*-аллель как генетический фактор риска ранних артериальных тромбозов. Однако, как и в случае других полиморфных локусов, существуют ряд исследований, в которых не было обнаружено ассоциаций данного аллеля с ИМ или атеросклерозом (Croft *et al.*, 1999; von Beckerath *et al.*, 2000; Park *et al.*, 2004).

**Ген *GPIba*.** Наличие трех полиморфных локусов в данном гене, два из которых затрагивают структуру белка (HPA-2 и VNTR), а третий (С-5Т) влияет на его количество на мембране тромбоцитов, делает его наиболее привлекательным в плане изучения генетической ассоциации с ОКС. Всего на данный момент известно 10 гаплотипов гена *GPIba*. В исследовании 101 пациента с ОКС, 104 – с нарушением мозгового кровообращения и 94 – с венозным тромбозом была выявлена ассоциация C/B(VNTR)-генотипа и аллеля *145 Met* с нарушением артериального кровообращения (OR = 2,84) (Gonzalez-Conejero *et al.*, 1998; Murata *et al.*, 1997). Аллель *-5C* чаще встречается в группе больных ИМ (возраст менее 50 лет), чем в контроле (Afshar-Kharghan *et al.*, 1998). Однако также есть работы, в которых



**Рис. 5.** Патогенез острых коронарных синдромов. Точки приложения антитромбоцитарных препаратов и гепаринов (Пархоменко, 2002).

не показана связь данных полиморфных локусов с ОКС (Corral *et al.*, 1998; Ishida *et al.*, 2000).

По-видимому, как и для большей части описанных генетических дефектов, риск носительства «протромботического» варианта в значительной степени модифицируется целым рядом иных факторов. В результате при исследованиях различных гетерогенных групп пациентов получают противоречивые результаты. Видимо, в данном случае необходимо изучать ассоциацию не с заболеванием как таковым, а с определенными характеристиками тромбообразования у пациентов. Вероятно, оценка 1–2 полиморфных локусов не имеет ясного клинического значения в патогенезе такого сложного заболевания, как ОКС. Также не исключается отличающаяся роль некоторых факторов в разных популяциях.

#### **Полиморфизм генов гликопротеиновых рецепторов тромбоцитов и чувствительность к лечению антагонистами гликопротеинового рецептора**

Блокаторы IIb/IIIa-рецепторов тромбоцитов являются самой молодой группой из всего класса антитромботических препаратов, используемых в кардиологии. Механизм действия средств этой группы заключается в торможении общего конечного этапа агрегации тромбоцитов – процесса построения тромбоцитарного тромба посредством образования мостиков между соседними активированными тромбоцитами из

молекул фибриногена (рис. 5). Препараты из группы блокаторов IIb/IIIa рецепторов тромбоцитов к настоящему времени прошли серьезную проверку эффективности во многих клинических исследованиях. Применение средств этой группы в качестве дополнения к стандартным методикам антитромботической терапии при инвазивной тактике ведения больного с острым коронарным синдромом приводит к существенному достоверному улучшению исходов заболевания.

Известно, что у гомозиготных носителей *PLA2*-аллеля гена тромбоцитарного гликопротеина IIb/IIIa наблюдается резистентность к аспирину. В то же время показано, что у носителей *PLA2* аллеля при приеме блокатора рецептора тромбоцитов IIb/IIIa (орбофибан) не развивается такое осложнение, как кровотечение (O'Connor *et al.*, 2001). В связи с этим в клинической практике при лечении больных ОКС для выбора той или иной группы антитромботических препаратов было бы полезным знание генотипа гена тромбоцитарного гликопротеина IIb/IIIa.

#### **Литература**

- Струкова С.М. Современные представления о механизмах свертывания крови // Тромбы, кровоточивость и болезни сосудов. 2002. № 1. (<http://trombos.narod.ru/journal/002.htm>.)
- Пархоменко А.Н. Патофизиология острого тромбоза в венечных артериях сердца: представления о патогенезе острого коронарного синдрома // Украинский кардиологический журнал. 2002. № 3.

- ([http://rql.net.ua/cardio\\_j/2002/D3/parkhomenko.htm](http://rql.net.ua/cardio_j/2002/D3/parkhomenko.htm))
- Afshar-Khargan V., Khoshnevis-A.M., Hopkins P., Lopez J.A. Polymorphism of the platelet glycoprotein (GP) Ib alpha Kozak sequence determines the surface level of the GP Ib-IX-V complex and risk for early myocardial infarction // *Blood*. 1998. V. 92. P. 702–712.
- Andrews R.K., Berndt M.C. Platelet physiology and thrombosis // *Thrombosis Res*. 2004. V. 114. P. 447–453.
- Bennett J.S., Catella-Lawson F., Rut A.R. *et al.* Effect of the P1A2 alloantigen on the function of  $\beta_3$ -integrins in platelets // *Blood*. 2001. V. 97. P. 3093–3099.
- Bhatt D.L., Topol E.J. Scientific and therapeutic advances in antiplatelet therapy // *Nature Reviews Drug Discovery*. 2003. V. 2. P. 15–28. available at <http://mglinets.narod.ru/syndroms/therapy/thrombos.htm>
- Bottiger C., Kastrati A., Koch W. *et al.* HPA-1 and HPA-3 polymorphism of the platelet fibrinogen receptor and coronary artery disease and myocardial infarction // *Thromb. Haemost.* 2000. V. 83. P. 559–562.
- Bussel J.B., Kunicki T.J., Michelson A.D. Platelets: new understanding of platelet glycoproteins and their role in disease // *Hematology (Am. Soc. Hematol. Educ. Program)*. 2000. P. 222–240.
- Cadroy Y., Sakariassen K.S., Charlet J.P. *et al.* Role of 4 platelet membrane glycoprotein polymorphisms on experimental arterial thrombus formation in men // *Blood*. 2001. V. 98. P. 3159–3161.
- Carlsson L.E., Greinacher A., Spitzer C. *et al.* Polymorphisms of the human platelet antigens HPA-1, HPA-2, HPA-3 and HPA-5 on the platelet receptors for fibrinogen (GPIIb/IIIa), von Willebrand factor (GPIb/IX) and collagen (GPIa/IIa) are not correlated with an increased risk for stroke // *Stroke*. 1997. V. 28. P. 1392–1395.
- Carter A.M., Catto A.J., Bamford J.M., Grant P.J. Association of the platelet glycoprotein IIb HPA-3 polymorphism with survival after ischemic stroke // *Stroke*. 1999. V. 30. P. 2606–2611.
- Carter A.M., Ossei-Gerning N., Grant P.J. Platelet glycoprotein IIIa P1A polymorphism in young men with myocardial infarction // *Lancet*. 1996. V. 348. P. 485–486.
- Carter A.M., Ossei-Gerning N., Wilson I.J., Grant P.J. Association of the platelet P1(A) polymorphism of glycoprotein IIb/IIIa and the fibrinogen Bb448 polymorphism with myocardial infarction and extent of coronary artery disease // *Circulation*. 1997. V. 96. P. 1424–1431.
- Corral J., Gonzalez-Conejero R., Lozano M.L. *et al.* New alleles of the platelet glycoprotein Iba gene // *British J. Haematol.* 1998. V. 103. P. 997–1003.
- Croft S.A., Hampton K.K., Sorrell J.A. *et al.* The GpIa C807T dimorphism associated with platelet collagen receptor density is not a risk factor for myocardial infarction // *British J. Haematol.* 1999. V. 106. P. 771–776.
- Farrell D.H., Thiagarajan P., Chung D.W., Davie E.W. Role of fibrinogen alpha and gamma chain sites in platelet aggregation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1992. V. 89. P. 10729–10732.
- Fitzgerald L.A., Philips D.R. Platelet membrane glycoproteins // *Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice* / Ed. R.W. Colman, J. Hirsh, V.J. Marder, E.W. Saizman. JB Lippincott, Philadelphia, 2nd ed., 1987. P. 572–593.
- Furihata K., Nugent D.J., Kunicki T.J. Influence of platelet collagen receptor polymorphisms on risk for arterial thrombosis // *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2002. V. 126. P. 305–309.
- Gardeman A., Humme J., Stricker J. *et al.* Association of the platelet glycoprotein IIIa P1A1/A2 gene polymorphism to coronary artery disease but not to nonfatal myocardial infarction in low risk patients // *Thromb. Haemost.* 1998. V. 80. P. 214–217.
- Goldschmidt-Clermont P.J., Shear W.S., Shwartzberg J. *et al.* Clues to the death of an Olympic champion // *Lancet*. 1996. V. 348. P. 485–486.
- Gonzalez-Conejero R., Lozano M.L., Rivera J. *et al.* Polymorphisms of platelet membrane glycoprotein Iba associated with arterial thrombotic disease // *Blood*. 1998. V. 92. P. 2771–2776.
- Gruchala M., Cieciewicz D., Ochman K. *et al.* Association between the P1 platelet glycoprotein GPIIIa polymorphism and extent of coronary artery disease // *Intern. J. Cardiol.* 2003. V. 88. P. 229–237.
- Herrmann S.M., Poirier O., Marques-Vidal P. *et al.* The Leu 33/Pro polymorphism (P1A1/P1A2) of the glycoprotein IIIa (GPIIIa) receptor is not related to myocardial infarction in the ECTIM Study // *Thromb. Haemost.* 1997. V. 77. P. 1179–1181.
- Hynes R.O. Integrins: a family of cell surface receptors // *Cells*. 1987. V. 48. P. 549–554.
- Ishida F., Ito T., Takei M. *et al.* Genetic linkage of Kozak sequence polymorphism of the platelet glycoprotein Iba with human platelet antigen-2 and variable number of tandem repeats polymorphism, and its relationship with coronary artery disease // *British J. Haematol.* 2000. V. 111. P. 1247–1249.
- Jacquelin B., Tarantino M., Kritzik M. *et al.* Allele-dependent transcriptional regulation of the human integrin  $\alpha_2$  gene // *Blood*. 2001. V. 97. P. 1721–1726.
- Jandrot-Perrus M., Busfield S., Lagrue A.H. *et al.* Cloning, characterization, and functional studies of human and mouse glycoprotein VI: a platelet-specific collagen receptor from the immunoglobulin superfamily // *Blood*. 2000. V. 96. P. 1798–1807.
- Jilma-Stohlawetz P., Homoncik M., Jilma B. *et al.* Glycoprotein Ib polymorphisms influence platelet plug formation under high shear rates // *British J.*

- Haematol. 2003. V. 120. P. 652–655.
- Kiefel V., Vicariot M., Giovangrandi Y. *et al.* Alloimmunization against Iy, a low-frequency antigen on platelet glycoprotein Ib/IX as a cause of severe neonatal alloimmune thrombocytopenic purpura // *Vox Sang.* 1995. V. 69. P. 250–254.
- Knight C.G., Morton L.F., Onley D.J. *et al.* Collagen-platelet interaction: Gly-Pro-Hyp is uniquely specific for platelet GpVI and mediates platelet activation by collagen // *Cardiovasc. Res.* 1999. V. 41. P. 450–457.
- Kritzik M., Savage B., Nugent D.J. *et al.* Nucleotide polymorphisms in the alpha 2 gene define multiple alleles which are associated with differences in platelet alpha 2 beta 1 // *Blood.* 1998. V. 92. P. 2382–2388.
- Kuijpers R.W.A.M., Faber N.M., Cuypers H.T.M. *et al.* NH2-terminal globular domain of human platelet glycoprotein Iba has a methionine145/threonine145 amino acid polymorphism, which is associated with the HPA-2 (Ko) alloantigens // *J. Clin. Invest.* 1992. V. 89. P. 381–384.
- Kunicki T.J., Orzechowski R., Annis D., Honda Y. Variability of integrin alpha 2 beta 1 activity on human platelets // *Blood.* 1993. V. 82. P. 2693–2703.
- Lane D.A., Grant P.J. Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombotic disease // *Blood.* 2000. V. 95. P. 1517–1532.
- Lefkovits J., Plow E.F., Topol E.J. Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptors in cardiovascular medicine // *N. Engl. J. Med.* 1995. V. 332. P. 1553–1559.
- Lopez J.A., Ludwig E.H., McCarthy B.J. Polymorphism of human glycoprotein Iba results from a variable number of tandem repeats of a 13-amino acid sequence in the mucin-like macroglycopeptide region // *J. Biol. Chem.* 1992. V. 267. P. 10055–10061.
- Lyman S., Aster R.H., Visentin G.P., Newman P.J. Polymorphism of human platelet membrane glycoprotein IIb associated with the Baka/Bakb alloantigen system // *Blood.* 1990. V. 75. P. 2343–2348.
- Marian A.J., Brugada R., Kleiman N.S. Platelet glycoprotein IIIa P1A polymorphism and myocardial infarction // *N. Engl. J. Med.* 1996. V. 335. P. 1071.
- Meyr D., Girma J.P. von Willebrand factor: structure and function // *Thromb. Haemost.* 1993. V. 70. № 1. P. 99–104.
- Michelson A.D., Furman M.I., Goldschmidt-Clermont P. *et al.* Platelet GP IIIa P1A polymorphisms display different sensitivities to agonists // *Circulation.* 2000. V. 101. P. 1013–1018.
- Modderman P.W., Admiraal L.G., Sonnenberg A., Von dem Borne A.E.G.K. Glycoproteins V and Ib-IX form a noncovalent complex in the platelet membrane // *J. Biol. Chem.* 1992. V. 267. P. 364–369.
- Moroi M., Jung S.M., Yoshida N. Genetic polymorphism of platelet glycoprotein Ib // *Blood.* 1984. V. 64. P. 622–629.
- Moshfegh K., Wuillemin W.A., Redondo M. *et al.* Association of two silent polymorphisms of platelet glycoprotein Ia/IIa receptor with risk of myocardial infarction: a case-control study // *Lancet.* 1999. V. 353. P. 351–354.
- Murata M., Matsubara Y., Kawano K. *et al.* Coronary artery disease and polymorphisms in a receptor mediating shear stress-dependent platelet activation // *Circulation.* 1997. V. 96. P. 3281–3286.
- Newman P.J. Platelet alloantigens: cardiovascular as well as immunological risk factors // *Lancet.* 1997. V. 349. P. 370–384.
- Newman P.J., Derbes R.S., Aster R.H. The human platelet alloantigens, PLA1 and PLA2, are associated with a leucine33/proline33 amino acid polymorphism in membrane glycoprotein IIIa, and are distinguishable by DNA typing // *J. Clin. Invest.* 1989. V. 83. P. 1778–1781.
- Noris P., Simsek S., de Bruijne-Admiraal L.G. *et al.* Maxa, a new low-frequency platelet-specific antigen localized on glycoprotein IIb, is associated with neonatal alloimmune thrombocytopenia // *Blood.* 1995. V. 86. P. 1019–1026.
- O'Connor F.F., Shields D.C., Fitzgerald A. *et al.* Genetic variation in glycoprotein IIb/IIIa (GPIIb/IIIa) as a determinant of the responses to an oral GPIIb/IIIa antagonist in patients with unstable coronary syndromes // *Blood.* 2001. V. 98. P. 3256–3260.
- Park S., Park H.Y., Park C. *et al.* Association of the gene polymorphisms of platelet glycoprotein Ia and IIb/IIIa with myocardial infarction and extent of coronary artery disease in Korean population // *Yonsei Medical J.* 2004. V. 45. № 3. P. 428–434.
- Pierschbacher M.D., Ruoslahti E. Cell attachment activity of fibronectin can be duplicated by small synthetic fragments of the molecule // *Nature.* 1984. V. 309. P. 30–33.
- Ridker P.M., Hennekens C.H., Schmitz C. *et al.* P1A1/A2 polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risks of myocardial infarction, stroke and venous thrombosis // *Lancet.* 1997. V. 349. P. 385–388.
- Ruggeri Z.M., Zimmerman T.S., Russell S. *et al.* Von Willebrand factor binding to platelet glycoprotein Ib complex // *Methods Enzymol.* 1992. V. 215. P. 263–275.
- Samani N.J., Lodwick D. Glycoprotein IIIa polymorphism and risk of myocardial infarction // *Cardiovasc. Res.* 1997. V. 33. P. 693–697.
- Santoso S., Kunicki T.J., Kroll H. *et al.* Association of the platelet glycoprotein Ia C807T gene polymorphism with nonfatal myocardial infarction in younger patients // *Blood.* 1999. V. 93. P. 2449–2453.
- Schmugge M., Margaret L., Rand J.F. Platelets and von



- Willebrand factor // *Transfusion and Apheresis Sci.* 2003. V. 28. P. 269–277.
- Slowik A., Dziedzic T., Turaj W. *et al.* A2 allele of GpIIIa gene is a risk factor for stroke caused by large-vessel disease in males // *Stroke.* 2004. V. 35. P. 1589–1593.
- Smyth S.S., Joneckis C.C., Parise L.V. Regulation of vascular integrins // *Blood.* 1993. V. 81. P. 2827–2843.
- von Beckerath N., Koch W., Mehilli J., Bottiger C. *et al.* Glycoprotein Ia gene C807T polymorphism and risk for major adverse cardiac events within the first 30 days after coronary artery stenting // *Blood.* 2000. V. 95. P. 3297–3301.
- Weisel J.W., Nagaswami C., Vilaire G., Bennett J.S. Examination of the platelet membrane glycoprotein IIb-IIIa complex and its interaction with fibrinogen and other ligands by electron microscopy // *J. Biol. Chem.* 1992. V. 267. P. 16637–16643.
- Weiss E.J., Bray P.F., Tayback M. *et al.* A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis // *N. Engl. J. Med.* 1996. V. 334. P. 1090–1094.

## PLATELET MEMBRANE GLYCOPROTEIN RECEPTORS: FUNCTIONS AND POLYMORPHISM

E.N. Voronina<sup>1</sup>, M.L. Filipenko<sup>1</sup>, D.S. Sergeevichev<sup>1</sup>, I.V. Pikalov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, SB RAS, Novosibirsk, Russia,  
e-mail: max@niboch.nsc.ru; <sup>2</sup> Novosibirsk Government Medical Academy,  
Clinical Diagnostics Department

### Summary

Studying of molecular-biological aspects of human cells and physiological systems has led to opening of new blood coagulation inhibitors, new family of the receptors activated by clotting factors, new functions of known adhesive proteins and to development of new knowledge about mechanisms of a hemostasis and clotting. In the given paper the role membrane receptors of platelet in formation of a blood clot is briefly described, of their genes and their possible role in pathologies connected with infringement of platelets aggregation are considered.



## ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОЙ СВЯЗИ ПОЛИМОРФИЗМОВ ИНТЕРФЕРОН-ИНДУЦИРУЕМЫХ ГЕНОВ ЧЕЛОВЕКА *OAS1*, *OAS3*, *EIF2AK2* И *RNASEL* С ОСОБЕННОСТЯМИ ТЕЧЕНИЯ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

А.В. Бархаш<sup>1</sup>, В.Ф. Кобзев<sup>1</sup>, П.И. Пилипенко<sup>2</sup>, Ю.О. Богданова<sup>3</sup>, О.В. Морозова<sup>4</sup>,  
А.Г. Ромашенко<sup>1</sup>, М.И. Воевода<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup> Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: barkhash@rambler.ru;

<sup>2</sup> Новосибирская государственная медицинская академия, Новосибирск, Россия;

<sup>3</sup> Городская клиническая больница № 25, Новосибирск, Россия; <sup>4</sup> Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия; <sup>5</sup> ГУ НИИ терапии СО РАМН, Новосибирск, Россия

Данная работа посвящена поиску генов и их полиморфизмов, предопределяющих восприимчивость или устойчивость человека к клещевому энцефалиту (КЭ). У неиммунизированных больных различными клиническими формами КЭ и у русских жителей г. Новосибирска (популяционный контроль) были определены частоты генотипов и аллелей по однонуклеотидным полиморфизмам (ОНП) четырех генов-кандидатов, индуцируемых интерферонами. Были изучены ОНП С1314Т (Сс438Ile) в 6-м экзоне гена *OAS3* (rs2285932), IVS7(-1)A/G в сайте альтернативного сплайсинга гена *OAS1* (rs10774671), G1385A (Arg462Gln) в 1-м экзоне гена *RNASEL* (rs486907) и IVS3(+244)A/G во 2-м интроне гена *EIF2AK2* (*PKR*). Обнаружено статистически достоверное увеличение частоты гомозигот Т/Т по ОНП гена *OAS3* у больных с поражением центральной нервной системы (ЦНС) (12,9 %) и особенно тяжелыми формами (менингоэнцефалитическая и др.) (15,4 %) по сравнению с больными лихорадочной формой (0,0 %) ( $P = 0,029$  и  $P = 0,018$  соответственно). Это позволяет рассматривать изученный ОНП гена *OAS3* как один из генетических маркеров индивидуальной восприимчивости к вирусу клещевого энцефалита у русских.

### Введение

Весенне-летний клещевой энцефалит (КЭ) – трансмиссивное природно-очаговое заболевание человека, вызывается нейротропным РНК-содержащим вирусом рода *Flavivirus* семейства *Flaviviridae*; этот род также включает такие опасные для человека вирусы, как вирусы лихорадки Западного Нила, японского энцефалита, лихорадки Денге, желтой лихорадки. Ежегодно наблюдается около 11000 случаев заболевания КЭ в России (от Дальнего Востока до европейской части страны) и около 3000 – на остальной территории Европы (Gritsun *et al.*, 2003). КЭ может протекать в виде различных по тяжести и степени поражения центральной нервной системы (ЦНС) клинических форм – от стертой и легкой лихорадочной до

тяжелых форм с поражением структур спинного и головного мозга (Злобин, Горин, 1996; Иерусалимский, 2001).

Известно, что проявления и исход вирусной инфекции в значительной степени зависят от генетически закрепленных характеристик как вируса, так и инфицируемого организма. В частности, было показано, что специфическая восприимчивость (или устойчивость) определенных линий мышей к вирусам рода *Flavivirus* предопределяется различными вариантами гена *Oas1b* из семейства генов, кодирующих 2'-5'-олигоденилатсинтетазы (2-5OAS). У восприимчивых линий мышей по сравнению с родственными им устойчивыми образуется укороченный на 30 % белок из-за мутации С820Т в 4-м экзоне гена *Oas1b*, приводящей к образованию терминирующего кодона (Mashimo *et al.*,

2002; Perelygin *et al.*, 2002; Brinton, Perelygin, 2003). Не исключено, что аналогичный или сходный механизм формирования наследственной восприимчивости/устойчивости к флавивирусам может существовать и у человека.

У человека известно 4 гена, кодирующие 2-5OAS, – *OAS1*, *OAS2* и *OAS3*, расположенные кластером на участке q24 хромосомы 12, и *OASL* (OAS-like), также локализованный на 12-й хромосоме. Продукты *OAS*-генов выполняют важные функции в каскадах запускаемых интерферонами событий при формировании внутриклеточной защитной реакции организма против вирусной инфекции (Stark *et al.*, 1998; Goodbourn *et al.*, 2000; Samuel, 2001). Интерфероны индуцируют экспрессию не только *OAS*-генов, но и ряда других, например, *EIF2AK2* (*PKR*), *MX1*, *ADAR1*, участвующих в ограничении распространения вируса по организму и локализации инфекции. 2-5OAS, активируемые двухцепочечной РНК, в том числе вирусного происхождения, используют в качестве субстрата АТФ и катализируют полимеризацию АМФ с образованием 2'-5'-олигоденилатов, которые взаимодействуют с латентной эндорибонуклеазой L (*RNASEL*) и вызывают ее димеризацию и активацию. Действие последней приводит к деградации как клеточной, так и вирусной РНК и, как следствие, к подавлению размножения вируса (Novnanian *et al.*, 1998; Justesen *et al.*, 2000). Другим важным звеном действия интерферонов является индукция транскрипции гена, кодирующего зависимую от двухцепочечной РНК серин/треониновую протеинкиназу (ген *EIF2AK2*), одной из функций которой является фосфорилирование  $\alpha$ -субъединицы эукариотического фактора инициации трансляции EIF2S1, вследствие чего ингибируются последующие раунды инициации трансляции РНК, в том числе вирусной (Clemens, Elia, 1997).

Таким образом, индуцируемые интерфероном гены можно рассматривать в качестве вероятных генов-кандидатов, потенциально участвующих в формировании механизмов предрасположенности человека и к КЭ. Работы, посвященные выявлению генетических основ устойчивости человека к вирусам рода *Flavivirus*, до настоящего времени немногочисленны. Так, ранее была показана связь восприимчивости/устойчивости к КЭ с группами

крови системы АВ0 и антигенами системы HLA (Иерусалимский, 2001). Делеция 32 п.н. в кодирующей части гена хемокинового рецептора CCR5 увеличивала риск симптоматической инфекции вирусом лихорадки Западного Нила у европеоидного населения Северной Америки (Glass *et al.*, 2006). Синонимичный ОНП гена *OASL* также играет роль в предрасположенности человека к этому вирусу (Yakub *et al.*, 2005). Кроме того, у европеоидов показана ассоциация ОНП в 3'-нетранслируемой области гена *OAS1* с исходом вирусного гепатита С, вызываемого другим структурно сходным вирусом из семейства *Flaviviridae* (Knapp *et al.*, 2003).

Данная работа посвящена изучению возможной связи выбранных ОНП: rs2285932 (6 экзон, C1314T, Ile438Ile) гена *OAS3*, rs10774671 (IVS7(-1)A/G) гена *OAS1*, rs2287350 (2 интрон, IVS3(+244)A/G) гена *EIF2AK2* и rs486907 (1 экзон, G1385A, Arg462Gln) гена *RNASEL* с особенностями течения КЭ у человека.

### Материалы и методы

Были исследованы образцы ДНК, выделенные из крови больных КЭ, которые проходили лечение в стационарах г. Новосибирска (преимущественно в 2003–2005 гг.). Все лица, включенные в выборку, имели окончательно поставленный диагноз согласно общепринятым критериям (на основе клинических симптомов, сезонности, факта укуса клещом, иммунологической диагностики). Всего было изучено 96 образцов ДНК пациентов, перенесших КЭ, из которых 34 человека – перенесшие лихорадочную форму (ЛФ) КЭ, 36 человек – менингеальную форму (МФ), 26 человек – тяжелые формы КЭ (ТФ), включая менингоэнцефалитическую, полиоэнцефалитическую и менинго-энцефало-полиомиелитическую. В выборку были включены только лица, не подвергавшиеся иммунизации до начала заболевания (профилактической вакцинации и/или введению гамма-глобулина сразу после укуса клещом). В качестве популяционного контроля была использована выборка русских жителей г. Новосибирска, обследованная в рамках программы ВОЗ «MONICA» (164 человека).

Выделение ДНК проводили с помощью депротеинизации фенолом и хлороформом как описано ранее (Маниатис и др., 1984;

Chomczynski, Sacchi, 1987). Для массового генотипирования образцов по выбранным ОНП были разработаны методики на основе анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) или аллель-специфической полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для первичного подтверждения существования выбранных ОНП в популяции русских и для выборочной проверки результатов массового генотипирования использовали автоматическое секвенирование соответствующих геномных фрагментов ДНК на автоматическом анализаторе ДНК ABI Prism 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США) в Межинститутском центре секвенирования ДНК СО РАН.

Генотипирование образцов по ОНП rs2285932 гена *OAS3* и rs2287350 гена *EIF2AK2* (*PKR*) проводили по методике, описанной ранее (Бархаш и др., 2005).

ОНП rs10774671 гена *OAS1* анализировали с помощью аллель-специфической ПЦР с использованием трех праймеров: общего и двух аллель-специфических, у которых нуклеотиды на 3'-конце различаются и комплементарны нуклеотидам соответствующих аллелей по исследуемому ОНП. Для повышения специфичности ПЦР в структуре праймеров были заменены вторые с 3'-конца нуклеотиды, некомплементарные матрице (Патрушев и др., 1998). Реакция с каждой парой праймеров (общий и один из аллель-специфических) проводится отдельно, и ПЦР-продукт образуется только в случае комплементарного соответствия 3'-концов праймеров к ДНК исследуемых аллелей. С использованием программ Oligo ([www.oligo.net](http://www.oligo.net)) и Vector NTI 5.2 (<http://www.invitrogen.com/content.cfm?pageID=10352>) были выбраны следующие праймеры: 5'-cactggagcccttcccc-3' (общий), 5'-atcatgtgtctcacccttctga-3' (соответствует аллелю А) и 5'-gatcatgtgtctcacccttctg-3' (соответствует аллелю G). Смесь для амплификации объемом 10 мкл содержала: 67 мМ Трис-НСl (рН 8,8), 10 мМ β-меркаптоэтанол, 0,01 % Tween-20, 0,5 мкг тотальной ДНК, по 0,7 мМ каждого из соответствующих праймеров, 0,2 мМ каждого из dNTP, 2,5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 4 % глицерин и 0,6 ед. акт. Таq-ДНК-полимеразы («Сибэнзим», г. Новосибирск). Режим амплификации: денатурация при 95 °С (3 мин), затем 29 циклов, включающих денатурацию при

95 °С (42 сек), отжиг при 63 °С (42 сек) и элонгацию при 72 °С (48 сек). Гомозиготные (А/А и G/G) или гетерозиготный (А/G) генотипы для данного образца определяли по наличию или отсутствию на дорожке 4 % полиакриламидного геля (ПААГ) продукта амплификации размером 221 п.н. (для аллеля А) или 222 п.н. (для аллеля G) (различия в длине продуктов связаны с удлинением на 1 п.н. на 5'-конце праймера, используемого для идентификации аллеля G). Генотип А/А определяли по наличию ПЦР-продукта с праймером, который соответствует аллелю А, и по отсутствию ПЦР-продукта с праймером, соответствующим аллелю G. Аналогично определяли генотип G/G. Гетерозиготы А/G идентифицировали при наличии продукта амплификации на обеих дорожках геля.

Генотипирование по ОНП rs486907 гена *RNASEL* проводили с помощью метода, описанного ранее (Neff *et al.*, 2002), который целесообразно применять в случае, когда исследуемый ОНП не приводит к изменению сайта узнавания доступной рестриктазой. При этом методе ПЦР осуществляется при помощи двух праймеров, в один из которых (граничащий с 3'-конца с исследуемым ОНП) вводится один или несколько некомплементарных нуклеотидных остатков (несовпадений) вблизи его 3'-конца. Это приводит к последующему изменению последовательности матрицы в процессе ее амплификации и тем самым к созданию новых сайтов рестрикции, наличие/отсутствие которых зависит от того или иного варианта по изучаемому ОНП. Подбор структуры праймера с несовпадениями проводится с помощью компьютерной программы dCAPS Finder 2.0. (<http://helix.wustl.edu/dcaps/dcaps.html>). Для ПЦР-фрагмента гена *RNASEL* (152 п.н.) были подобраны следующие праймеры: 5'-aacatgaggaagatgaatttgctc-3' (с заменой с/т во второй от 3'-конца позиции) и 5'-tttctaagagagaattggggattg-3'. Смесь для ПЦР (10 мкл) содержала: 75 мМ Трис-НСl (рН 8,8), 20 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,01 % Tween-20, 0,5 мкг тотальной ДНК, по 1 мМ каждого из праймеров, 0,2 мМ каждого из dNTP, 2,5 мМ MgCl<sub>2</sub> и 0,6 ед. акт. Таq-ДНК-полимеразы («Сибэнзим», г. Новосибирск). Режим амплификации: денатурация при 95 °С (3 мин), затем 35 циклов, включающих денатурацию при 95 °С (48 сек), отжиг при 60 °С (48 сек) и элонгацию при

72 °С (48 сек). Затем добавляли 5 ед. акт. рестриктазы TaqI («Сибэнзим», г. Новосибирск) и инкубировали в течение 12 час. при 65 °С. В случае гомозигот G/G на дорожках 4 % ПААГ наблюдали фрагмент размером 128 п.н. (второй фрагмент размером 24 п.н. не выявляли), гомозигот A/A – фрагмент размером 152 п.н., в случае гетерозигот G/A – два фрагмента размерами 152 и 128 п.н.

Сравнение частот генотипов и аллелей между выборками проводили по критерию  $\chi^2$  с помощью программы SPSS 11.0 (<http://www.spss.com/>). Различия считали достоверными при уровне значимости  $P < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Поиск генетических (врожденных) факторов, предопределяющих восприимчивость человека к КЭ, проводили при минимизации влияния внешних факторов на фенотипические проявления (клиническая форма) у конкретного пациента. В этой связи были использованы образцы ДНК только тех лиц, которые не подвергались профилактической вакцинации до начала заболевания или введению гамма-глобулина после укуса клещом.

Частоты генотипов и аллелей по исследуемым ОНП генов *OAS3*, *OAS1*, *RNASEL* и *EIF2AK2* у больных ЛФ, МФ и ТФ КЭ, объединенной группы больных с поражением ЦНС и в контрольной группе представлены в табл. 1. Было обнаружено статистически достоверное увеличение частоты гомозигот Т/Т по ОНП гена *OAS3* у больных с поражением ЦНС (12,9 %) и особенно ТФ (15,4 %) по сравнению с больными ЛФ (0,0 %) ( $P = 0,029$  и  $P = 0,018$  соответственно). Кроме того, по ОНП гена *EIF2AK2* выявлены достоверные различия по частоте гетерозигот А/Г между больными МФ (52,8 %) и ЛФ (29,4 %) ( $P = 0,047$ ). Статистически значимых различий по ОНП генов *OAS1* и *RNASEL* между больными с различными клиническими формами КЭ обнаружено не было. Тем не менее выявлены тенденции, во-первых, к увеличению частоты гомозигот G/G по ОНП гена *OAS1* у больных с поражением ЦНС (13,3 %) и отдельно ТФ (15,4 %) по сравнению с больными ЛФ (3,2 %), а также к уменьшению частоты гетерозигот G/A по ОНП гена *RNASEL* у боль-

ных МФ (30,6 %) по сравнению с больными ЛФ (50,0 %).

Описанные выше различия между больными с разными формами КЭ по частотам гомозигот Т/Т ОНП гена *OAS3* подтверждают полученные нами ранее результаты исследования, выполненного на меньшей выборке образцов больных с различными формами КЭ (Бархаш и др., 2005). Воспроизведение результата на увеличенной выборке может свидетельствовать о том, что ОНП С1314Т (Ile438Ile) гена *OAS3*, вероятно, действительно является одним из генетических факторов, вносящих вклад в предрасположенность человека к КЭ. При этом вопрос о возможном функциональном значении ОНП в 6-м экзоне гена *OAS3*, не приводящем к замене аминокислотного остатка в белке, требует дальнейшего изучения. Не исключено, что существует дополнительный функционально значимый ОНП в кластере *OAS*-генов человека, находящийся в неравновесии по сцеплению с данным ОНП. В результате увеличения выборки различия между группами больных КЭ по ОНП гена *EIF2AK2* уменьшились и находятся на грани статистической достоверности, поэтому вопрос об участии данного ОНП в формировании предрасположенности человека к КЭ остается открытым.

Статистически достоверных различий между группами больных определенными формами КЭ и контрольной популяционной выборкой ни по одному из изученных ОНП обнаружено не было. Не исключено, что это связано с тем, что данный контроль является «среднестатистической» выборкой популяции г. Новосибирска, так как не известна реакция ее представителей на вирус КЭ. В перспективе представляется необходимым формирование и анализ выборки образцов ДНК «устойчивого» контроля, т. е. неиммунизированных лиц, укушенных зараженным вирусом КЭ клещом, но не проявлявших клинические признаки заболевания.

Поскольку все исследованные пациенты не были иммунизированы, то перенесших формы с поражением ЦНС можно рассматривать как относительно генетически восприимчивых к КЭ, а легкую ЛФ после поражения нейротропным вирусом КЭ – как относительно генетически устойчивых. Поэтому полученные данные могут свидетельствовать об участии изученного ОНП



Таблица 1

Частоты генотипов и аллелей по ОНП генов *OAS3*, *OAS1*, *EIF2AK2* и *RNaseL*  
у больных различными формами клещевого энцефалита  
и в контрольной группе русских г. Новосибирска

Ген ОНП		Контроль	Больные клещевым энцефалитом					
			Всего	ЛФ	ФЦНС	ФЦНС		
						МФ	ТФ	
N, %		153	96	34	62	36	26	
<i>OAS3</i> C1314T (Пе438Ile)	Частота генотипа	C/C	56,2	45,8	44,1	46,8	50,0	42,3
		C/T	37,3	45,8	55,9	40,3	38,9	42,3
		T/T	6,5	8,4	0,0	12,9	11,1	15,4
	Частота аллеля	C	74,8	68,8	72,1	66,9	69,4	63,5
T		25,2	31,2	27,9	33,1	30,6	36,5	
N, %		144	91	31	60	34	26	
<i>OAS1</i> IVS7(-1)A/G	Частота генотипа	A/A	50,0	45,1	45,2	45,0	47,0	42,3
		A/G	42,4	45,1	51,6	41,7	41,2	42,3
		G/G	7,6	9,8	3,2	13,3	11,8	15,4
	Частота аллеля	A	71,2	67,6	71,0	65,8	67,6	63,5
G		28,8	32,4	29,0	34,2	32,4	36,5	
N, %		160	96	34	62	36	26	
<i>EIF2AK2</i> IVS3(+244)	Частота генотипа	A/A	51,9	53,1	61,8	48,4	44,4	53,8
		A/G	39,4	40,6	29,4	46,8	52,8	38,5
		G/G	8,7	6,3	8,8	4,8	2,8	7,7
	Частота аллеля	A	71,6	73,4	76,5	71,8	70,8	73,1
G		28,4	26,6	23,5	28,2	29,2	26,9	
N, %		164	96	34	62	36	26	
<i>RNASEL</i> G1385A Arg462Gln	Частота генотипа	G/G	36,6	38,5	35,3	40,3	44,4	34,6
		G/A	46,9	41,7	50,0	37,1	30,6	46,2
		A/A	16,5	19,8	14,7	22,6	25,0	19,2
	Частота аллеля	G	60,1	59,4	60,3	58,9	59,7	57,7
A		39,9	40,6	39,7	41,1	40,3	42,3	

Примечание. N – размер выборки; КЭ – клещевой энцефалит; ЛФ – лихорадочная форма КЭ; ФЦНС – формы КЭ с поражением центральной нервной системы; МФ – менингеальная форма КЭ; ТФ – тяжелые (менингоэнцефалитическая и др.) формы КЭ.

гена *OAS3* в формировании индивидуальной восприимчивости к вирусу клещевого энцефалита у русских жителей г. Новосибирска.

Авторы выражают благодарность А.А. Перельгину за полезное обсуждение работы, а также Н.П. Бежетской, Р.А. Злобиной, Т.И. Кольченко и А.В. Молдовановой за синтез олигонуклеотидов – праймеров для ПЦР, использованных в работе.

## Литература

- Бархаш А.В., Сивкова Е.П., Кобзев В.Ф. и др. Связь полиморфизмов генов *OAS3* и *PKR* с восприимчивостью человека к заболеваниям, вызываемым вирусами семейства *Flaviviridae* // Мед. генетика. 2005. Т. 4. № 9. С. 415–419.
- Иерусалимский А.П. Клещевой энцефалит (Руководство для врачей). Новосибирск: Гос. мед. академия МЗ РФ, 2001. 360 с.
- Злобин В.И., Горин О.З. Клещевой энцефалит



- (Этиология, эпидемиология и профилактика в Сибири). Новосибирск: Наука. Сиб. издат. фирма РАН, 1996. 177 с.
- Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование: Пер. с англ. М.: Мир, 1984. 480 с.
- Патрушев Л.И., Зыкова Е.С., Каюшин А.Л. и др. Новая система ДНК-диагностики, позволяющая обнаруживать и идентифицировать гомозиготные и гетерозиготные точковые мутации // Биоорганическая химия. 1998. Т. 24. № 3. С. 194–200.
- Brinton M.A., Perelygin A.A. Genetic resistance to flaviviruses // *Adv. Virus Res.* 2003. V. 60. P. 43–85.
- Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction // *Anal. Biochem.* 1987. V. 162. № 1. P. 156–159.
- Clemens M.J., Elia A. The double-stranded RNA-dependent protein kinase PKR: structure and function // *J. Interferon Cytokine Res.* 1997. V. 17. № 9. P. 503–524.
- Glass W.G., McDermott D.H., Lim J.K. *et al.* CCR5 deficiency increases risk of symptomatic West Nile virus infection // *J. Exptl Med.* 2006. V. 203. № 1. P. 35–40.
- Goodbourn S., Didcock L., Randall R.E. Interferons: cell signalling, immune modulation, antiviral responses and virus countermeasures // *J. Gen. Virol.* 2000. V. 81. № 10. P. 2341–2364.
- Gritsun T.S., Lashkevich V.A., Gould E.A. Tick-borne encephalitis // *Antiviral Res.* 2003. V. 57. № 1/2. P. 129–146.
- Hovnanian A., Rebouillat D., Mattei M.G. *et al.* The human 2',5'-oligoadenylate synthetase locus is composed of three distinct genes clustered on chromosome 12q24.2 encoding the 100-, 69- and 40-kDa forms // *Genomics.* 1998. V. 52. № 3. P. 267–277.
- Justesen J., Hartmann R., Kjeldgaard N.O. Gene structure and function of the 2'-5'-oligoadenylate synthetase family // *Cell. and Mol. Life Sci.* 2000. V. 57. № 11. P. 1593–1612.
- Knapp S., Yee L.J., Frodsham A.J. *et al.* Polymorphisms in interferon-induced genes and the outcome of hepatitis C virus infection: roles of MxA, OAS-1 and PKR // *Genes and Immunity.* 2003. V. 4. № 6. P. 411–419.
- Mashimo T., Lucas M., Simon-Chazottes D. *et al.* A nonsense mutation in the gene encoding 2'-5'-oligoadenylate synthetase/L1 isoform is associated with West Nile virus susceptibility in laboratory mice // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2002. V. 99. № 18. P. 11555–11557.
- Neff M.M., Turk E., Kalishman M. Web-based primer design for single nucleotide polymorphism analysis // *Trends Genet.* 2002. V. 18. № 12. P. 613–615.
- Perelygin A.A., Scherbik S.V., Zhulin I.B. *et al.* Positional cloning of the murine flavivirus resistance gene // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2002. V. 99. № 14. P. 9322–9327.
- Samuel C.E. Antiviral actions of interferons // *Clin. Microbiol. Rev.* 2001. V. 14. № 4. P. 778–809.
- Stark G.R., Kerr I.M., Williams B.R.G. *et al.* How cells respond to interferons // *Annu. Rev. Biochem.* 1998. V. 67. P. 227–264.
- Yakub I., Lillibridge K.M., Moran A. *et al.* Single nucleotide polymorphisms in genes for 2'-5'-oligoadenylate synthetase and RNase L in patients hospitalized with West Nile virus infection // *J. Inf. Diseases.* 2005. V. 192. № 10. P. 1741–1748.

**POSSIBLE ASSOCIATION OF POLYMORPHISMS  
IN INTERFERON-INDUCED *OAS1*, *OAS3*, *EIF2AK2* AND *RNASEL* GENES  
WITH SEVERITY OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS IN HUMANS**

**A.V. Barkhash<sup>1</sup>, V.F. Kobzev<sup>1</sup>, P.I. Pilipenko<sup>2</sup>, Yu.O. Bogdanova<sup>3</sup>, O.V. Morozova<sup>4</sup>,  
A.G. Romaschenko<sup>1</sup>, M.I. Voevoda<sup>1,5</sup>**

<sup>1</sup> Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: barkhash@rambler.ru;

<sup>2</sup> Novosibirsk State Medical Academy, Novosibirsk, Russia; <sup>3</sup> Novosibirsk Hospital № 25, Novosibirsk, Russia; <sup>4</sup> Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, SB RAS, Novosibirsk, Russia; <sup>5</sup> Institute of Internal Medicine, SB RAMS, Novosibirsk, Russia

### Summary

This study is devoted to search of polymorphisms in human genes predetermining susceptibility or resistance to tick-borne encephalitis. Genotypic and allelic frequencies for single nucleotide polymorphisms (SNPs) of four candidate interferon-induced genes were estimated in both samples of nonimmunized tick-borne encephalitis patients with different clinical manifestations of the disease and of Russian population from Novosibirsk city. Four SNPs were studied including C1314T (Ile438Ile) located in exon 6 of *OAS3* gene (rs2285932), IVS7(-1)A/G located in alternative splicing site of *OAS1* gene (rs10774671), G1385A (Arg462Gln) located in exon 1 of *RNASEL* gene (rs486907) and IVS3(+244)A/G located in intron 2 of *EIF2AK2 (PKR)* gene. Statistically significant increasing of T/T homozygote frequencies for studied *OAS3* gene SNP in patients with a central nervous system (CNS) damage (12.9%), especially with severe forms of the disease (meningo-encephalitis etc.) (15.4%), compared to patients with fever (0.0%) ( $P = 0.029$  and  $P = 0.018$ , respectively) were detected. We suggest that *OAS3* gene SNP rs2285932 is a genetic marker of individual susceptibility to tick-borne encephalitis virus in Russians.

## ОЧАГИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЗЛАКОВ В ДРЕВНОСТИ НА ТЕРРИТОРИИ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ ПО ПАЛЕОБОТАНИЧЕСКИМ ДАННЫМ

Н.Е. Рябогина

Институт проблем освоения Севера СО РАН, Тюмень, Россия, e-mail: ryabogina@rambler.ru

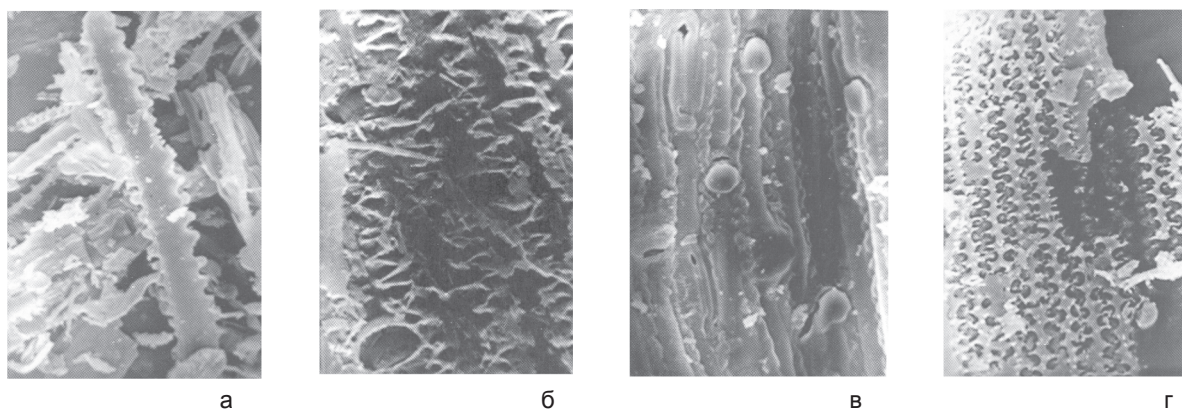
В работе анализируются возможности применения трех палеонтологических методов – биоморфного, карпологического и палинологического для реконструкции очагов древнего земледелия по археологическим материалам. Особое внимание уделено возможности исследования пыльцы культурных злаков. Представлена палеоботаническая информация о раннеземледельческих областях на территории Русской равнины и Западной Сибири в древности, уточнен состав культивируемых там растений.

Предположения о времени возникновения земледелия на той или иной территории, как правило, строятся на находках археологами земледельческих орудий (например, серпов) или орудий, используемых для переработки зерна (зернотерок). Однако, по мнению М.Ф. Косарева (1981), судить о наличии земледелия в древности по инвентарю очень трудно, так как собирательские и раннеземледельческие орудия практически невозможно дифференцировать. Кроме того, по их хронологии и частоте встречаемости сложно выделить определенный этап в древней истории Западной Сибири, когда земледелие появилось, очертить очаги раннеземледельческих областей и определить состав культивируемых растений. Существенным дополнением «косвенных» археологических аргументов являются палеоботанические находки, к числу которых можно отнести палинологические, карпологические и, предположительно, фитолинические данные из культурных слоев различных эпох.

Обнаружение зерен культурных злаков или семян других культурных растений на археологических памятниках – редкое явление (Кривцова-Гракова, 1948; Заднепровский, 1962; Мартынов, 1979), они сохраняются, как правило, при специфических условиях фоссилизации (обугливание, расположение около медных изделий, консервирование в золе, ямах с глиняной обмазкой и т. д.). Значительно чаще встречаются отпечатки семян, частей растений или даже целых колосков

на обломках посуды, случайно или намеренно вклеенных в керамическое тесто. После обжига органика обугливается, но остается возможность определить растительные остатки по негативу отпечатков. В большинстве случаев они принадлежат диким растениям, но неоднократно отмечались и отпечатки зерен культурных злаков. К сожалению, случайные находки отпечатков, как правило, не определяются карпологами, что не позволяет археологам предположить или опровергнуть их культурное происхождение. Карпологические материалы даже в случае их идентификации не всегда свидетельствуют о земледелии – зерно могло быть предметом импорта и производиться в другом регионе.

Сравнительно молодой и мало известный биоморфный метод пока не опробован для целей обнаружения следов земледелия, однако его активное внедрение в практику археологических исследований (Гольева, 2000) и возможность определения фитолинов культурных злаков (рис. 1) в захоронениях или культурных слоях позволяют ожидать положительные результаты. Микроскопические кремнеземистые тела со сравнительно правильными формами (фитолины) формируются в тканях растений и хорошо сохраняются, особенно от травянистых форм. К сожалению, идентификации именно культурных растений по фитолинам в современных исследованиях не уделено достаточного внимания, хотя существуют предпосылки выделения особых



**Рис. 1.** Фитолиты семенных чешуй культурных злаков (из А.А. Гольевой (2001)).

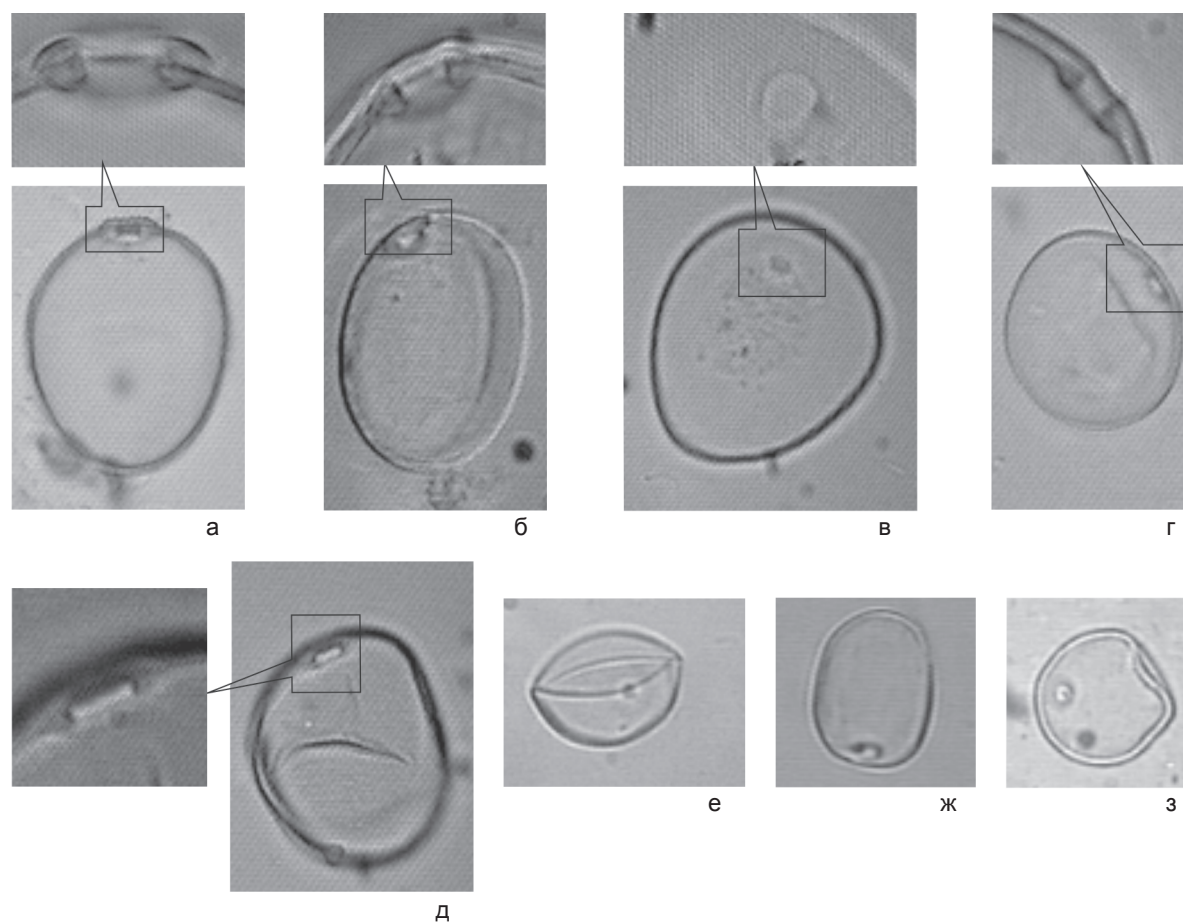
а – овес *Avena sativa* L., б – пшеница *Triticum aestivum* L., в – рожь *Secale cereale* L., г – ячмень *Hordeum vulgare* L.

типов пахотного и огородного биоморфного комплекса (Гольева, 2003). Недостатком метода является четкая локализация фитолитов в месте произрастания или захоронения растения, что существенно ограничивает его использование пределами конкретных участков на археологических памятниках.

Очень перспективным направлением для восстановления времени возникновения земледелия в тех районах, где интенсивно проявлялась деятельность человека, являются применение спорово-пыльцевого анализа и изучение ископаемой пыльцы культурных злаков в спектрах голоценовых отложений. Методические предпосылки для развития этого направления и введения в практику пыльцевого анализа заложены Р.В. Федоровой (1959а, б; 1965). Принципиальным отличием палинологических данных от карпологических или фитолитических является возможность обнаружения культурных растений на территории их непосредственного произрастания, т. е. установить факт земледелия, а не только факт использования зерна в хозяйстве. Благодаря специфичности спорово-пыльцевого анализа признаки земледелия могут быть обнаружены там, где не сохранились соответствующие орудия труда, и даже в археологически «стерильных» слоях, например, в торфяниках, озерных или пойменных отложениях. В таких случаях датирование находок пыльцы культурных растений проводится с применением радиоуглеродных и стратиграфических методов.

Несмотря на однообразное строение пыльцы злаков, основным морфологическим признаком пыльцы культурных видов считается ее размер – он заметно больше, чем у дикорастущих представителей (рис. 2). Кроме величины пыльцы в качестве диагностического признака могут быть использованы форма, расположение и размер пор (Федорова, 1959а). По данным Фирбаса (Firbas, 1937), изучившего пыльцу 215 видов современных злаков, величина в 38  $\mu$  может быть принята за грань между культурными и дикорастущими злаками. Однако встречаются и культурные злаки, величина пыльцевых зерен которых ближе к дикорастущим. В частности пыльца чумизы (*Setaria italica* L.) и пшеницы-однозернянки (*Triticum monococcum* L.) по своим размерам 32–35  $\mu$  будет весьма трудно определима в ископаемом состоянии. Несмотря на многочисленные морфометрические исследования пыльцы злаков, ее размеры сильно варьируют в исследованиях разных авторов (Федорова, 1959а), что не позволяет ориентироваться на величины диаметра пыльцы при проведении более детальных определений с точностью до вида или даже рода. Размер пыльцевых зерен изменяется в зависимости от различий в способах предварительной химической обработки, а также от того, в какой части пыльника они сформировались, в каких колосьях созревает пыльца (основного побега или подгона) и от расположения тычинки в цветке (Федорова, 1959а).





**Рис. 2.** Пыльца культурных и дикорастущих злаков (эталонная коллекция ИПОС СО РАН).

а – пшеница *Triticum aestivum* L., б – рожь *Secale cereale* L., в – ячмень *Hordeum vulgare* L., г – просо *Panicum milliaecum* L., д – овес *Avena sativa* L., е – тростник *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud., ж – овсяница *Festuca pratensis* Huds., з – мятлик *Poa pratensis* L.

На возможность различать пыльцу культурных злаков по форме и положению проростковой поры указывает Л.А. Куприянова (1948). По ее данным только для культурных злаков характерны яйцевидная, реже эллиптическая, форма пыльцевого зерна и крупная проростковая пора, расположенная на широком конце зерна или немного сдвинутая (рис. 2).

К группе злаков с характерными морфологическими особенностями пыльцы культурных злаков относятся: рожь (*Secale cereale* L.), пшеница (*T. aestivum* L.), ячмень (*Hordeum* sp.), кукуруза (*Zea mays* L.), просо (*Panicum* sp.), сорго (*Sorghum* sp.), рис (*Oryza sativa* L.) и овес (*Avena sativa* L.) (Федорова, 1959а). В Западной Сибири, на Урале и Русской равнине из перечисленных культур в древности не могла возделываться кукуруза (Центральноамериканский

центр происхождения), также мало вероятно из-за специфики агроклиматических условий выращивания риса и сорго.

В практике спорово-пыльцевого анализа наиболее явным диагностическим признаком наличия земледелия считается присутствие в отложениях не только крупных по размерам пыльцевых зерен культурных злаков, но и повышенное содержание сопутствующих им пыльцевых зерен сорняков (Алешинская, Спиридонова, 2001). Работы по выявлению антропогенных индикаторов в спорово-пыльцевых спектрах ведутся более 30 лет (Федорова, 1965; Крупенина, 1973; Сафарова, 1973; Федорова, 1976; Гуман, 1978; Александровский и др., 1991). В настоящее время антропогенные сорняки подразделяются условно на три группы (Александровский и др., 1991):



**I. Сегетальная** (сорная) растительность распахиваемых полей, расселяющаяся на парах, залежах. В лесостепном Зауралье ее основными представителями являются: василек – *Centaurea cyanus* L., щирица – *Amaranthus retroflexus* L., сурепка – *Barbarea arcuata* (Opiz ex J. et C. Presl) Reichenb., овсюг – *Avena fatua* L., марь – *Chenopodium album* L., конопля – *Cannabis sativa* L., реже встречается осот – *Sonchus arvensis* L., гречиха – *Fallopia dumetorum* L., *F. convolvulis* L., капусты – *Brassica campestris* L., горчица сарептская – *B. juncea* L., горчицы – *Sinapis alba* L., *S. arvensis* L., редька полевая – *Raphanus raphanistrum* L.

**II. Пасквальная** – сорная растительность на выгонах, стравливаемых скоту, или покосах, как правило, определяющая скотоводство.

**III. Рудеральная** – «мусорная» растительность, произрастающая вблизи жилья и у дорог.

Наиболее ранние находки пыльцы возделываемых злаков и сегетальных сорняков обнаружены на Западной Украине около 6300 лет назад (Александровский и др., 1991), позднее в Среднерусской лесостепи 5500–5400 лет назад и в Молдавии 5200–5500 лет назад (Александровский и др., 1991), в начале III тыс. до н.э. на поселении Вита Литовская в центральной Украине выращивали ячмень (отпечатки зерен), пшеницу и рожь (пыльца) (Федорова, 1959а). Первые свидетельства земледелия на Южном Урале также относятся к неолитическому культурному слою поселения Кага, в котором обнаружена пыльца ржи (Александровский и др., 1991). Позднее, в суббореальное время (4500–2500 лет назад), на спорово-пыльцевых диаграммах Русской равнины пыльца культурных злаков и сопутствующих сорняков встречается постоянно. Подобные находки, относящиеся к эпохе бронзы, обнаружены в Литве, Западной Украине, Полесье (Александровский и др., 1991), Центральной Мещере (Абрамова, 2001) и других районах. С середины субатлантического периода (1500 лет назад) земледелие играет существенную роль в экономике лесной зоны Восточной Европы, однако в большинстве лесостепных и степных районов в хозяйстве господствовало скотоводческое направление. Пыльца культурных злаков встречается в первой половине суббореала единично, со второй его половины и в субатлантике

стабильно составляет 4 % от суммы пыльцы травянистых растений, оставаясь на таком уровне во всей верхней части голоценовых осадков (Абрамова, 2001).

Первые предположения о заимствовании земледелия в Западной Сибири связаны с находками орудий сбора и переработки зерна на памятниках черкаскульской и еловской культур поздней бронзы, а также с общим оседлым характером их жизни (Косарев, 1981; Сидоров, 1986; Эпоха бронзы..., 1987). Единственным подтверждающим палеоботаническим источником являются обнаруженные отпечатки двух зерен ячменя и пшеницы на коллекции керамики черкаскульского типа из поселения Ольховка в Приисетье (определения О.М. Короны (Матвеев, 1999)), однако в спорово-пыльцевых материалах из отложений этого времени Южного Зауралья пыльцы культурных злаков и сегетальных сорняков не встречено. Интересно, что время обитания черкаскульцев (середина-конец II тыс. до н.э.) в Южном Зауралье приходится на наиболее аридные климатические условия середины суббореального периода голоцена и связанное с ними значительное остепнение ландшафтов. Кроме общей ландшафтно-климатической ситуации, развитие земледелия, вероятно, блокировалось узкоспециализированным животноводческим направлением хозяйства черкаскульской общины, унаследовавшей традиции ранних андроновцев.

Более приемлемыми для развития земледелия становятся природные условия в конце суббореального периода голоцена Западной Сибири (2900–2700 л.н.), когда постепенно улучшаются условия увлажнения, сухие степи становятся более мезофитными (Рябогина, 2004). Именно к рубежу II-I и началу I тыс. до н.э. относятся более частые палеоботанические находки, подтверждающие земледелие. В это время почти синхронно в южных районах Западной Сибири существовали бархатовская культура на юго-западе, сузгунская на севере, ирменская на востоке, алексеевско-саргаринская на юге.

Среди отпечатков растений на коллекции керамики поселения ирменской культуры Милованово-3 (лесостепное Приобье) обнаружены отпечатки голозерной гексаплоидной пшеницы *T. antiquorum* Nees ex Udacz. (определения

Р.А. Удачина (Сидоров, 1986)). Это достаточно архаичный вид пшеницы, предшествовавший не только современной мягкой пшенице *T. aestivum* L., но и карликовой голозерной пшенице *T. compactum* Host, которая, по мнению Р.А. Удачина, на территории Средней Азии формирует свой ареал уже в эпоху бронзы. Существование выявленного вида пшеницы объясняется очень ранним проникновением земледелия на территории Западной Сибири (Сидоров, 1986).

На керамике бархатовского комплекса Коловского городища в Приисетье обнаружен один отпечаток зерна пшеницы (*Triticum* sp.) (Матвеева и др., 2003). Целенаправленный поиск подобных отпечатков на керамике других бархатовских памятников не дал положительных результатов, в палинологических материалах бархатовского культурного слоя поселения Щетково-2 пыльцы культурных злаков также не обнаружено (Рябогина и др., 2001).

Возможно, происхождение этого отпечатка в южном Зауралье объясняется контактами бархатовцев с населением Казахстана. Находки обгорелых зерен пшеницы (точное определение отсутствует) на жертвенном месте у Алексеевского поселения алексеевско-саргаринской культуры в Северном Казахстане (Кривцова-Гракова, 1948) свидетельствуют о том, что этот злак был известен, и, вероятно, выращивался в Казахстане. На территории Северного, Центрального и Восточного Казахстана с поздней бронзы были широко распространены ирригационные сооружения, при раскопках встречаются «зернотерки», мотыги и бронзовые серпы (Моргулан, 1979).

Чрезвычайно интересными представляются регулярные находки пыльцы культурных злаков (овса *Avena* sp., реге ржи *Secale* sp. и пшеницы *Triticum* sp.) в южных районах Тоболо-Ишимья, причем в слоях, не содержащих культурных остатков. Сопоставление радиоуглеродных и палинотрадиографических данных позволяет считать, что эти слои сформировались в интервале от 2900 до 2500 лет назад, т. е. в переходное время от бронзового к раннему железному веку (Рябогина, 2004). Позднее пыльца культурных злаков появляется только в приповерхностных пробах и связана с современным земледелием. Несмотря на то, что в слоях IX–VI вв. до н.э. отмечены только единичные зерна этой пыльцы,

обнаруженная с ними пыльца сеgetальных сорняков (*Chenopodium album*, *Centaurea cyanus*, *Sonchus* sp.) позволяет аргументировать элементы земледелия в хозяйстве культур переходного времени южного Зауралья.

Позднее, в первой половине субатлантического периода голоцена, по археологической шкале, соответствующей раннему железному веку, наличие земледелия в Западной Сибири можно предполагать только в юго-восточных районах. В могильнике тагарской культуры Серебряковский в Томско-Енисейском междуречье (Мартынов, 1979) обнаружены сохранившиеся зерновки ячменя (*Hordeum* sp.) и проса (*Panicum* sp.). Многие орудия тагорцев могут быть отнесены к земледельческим, в том числе и уникальные находки 200 серпов в Красноярском крае (Черников, 1960).

Для более поздних – раннесакского, сакского и хуннского – периодов с доминированием кочевого и полукочевого скотоводства наличие земледелия в юго-восточной части Западной Сибири спорно. Однако во время распада хуннской и сянбинской держав в северных предгорьях Алтая у населения майминской культуры (начало I тыс. до н.э.) земледельческая традиция возрождается. Найдены на поселениях Майма 1 и Ушлеп 5 россыпи зерен проса и ячменя, а также мотыги, зернотерки и серпы, свидетельствующие о мотыжном уровне его развития в это время (Абдулганеев, 1997). Позднее в хозяйстве народов этого региона черты земледелия исчезают, вероятно, из-за усиления влияния кыргызов, киманов и других кочевников. Благоприятные военно-политические условия для его возобновления появляются только в средневековье около XIII–XIV вв. Находки россыпей зерна ячменя и проса, а также наконечники железных мотыг (и, возможно, лемех) обнаружены на сrostкинских памятниках – городище Елбанка, могильнике Иня 1 и Телеутский Взвоз 1. Симптоматично, что керамический комплекс городища Елбанка близок керамике поселения Ушлеп 5, жители этих поселений выращивали одни и те же культуры, что позволяет предполагать некую преемственность. Однако, в отличие от майминцев, носители сrostкинской культуры, вероятно, были знакомы с простейшим плугом, поэтому их земледелие можно трактовать как мотыжное и пашенное (Абдулганеев, 1997).

Палеоботанические данные о земледелии в средние века известны также в юго-восточном Казахстане и таежном Причудлымье. При промывке культурного слоя на городище VIII–XIII вв. Талгур (предгорья Заилийского Алатау) и городище Каялык (Джунгарское Алатау) (Баштанник, 2000) обнаружены карбонизированные зерновки пшеницы мягкой *T. aestivum*, гаоляна *Sorghum chinense* и большое количество колосковых чешуек проса *Panicum milliacum*. Одновременно с просом найдено множество семян мари городской *Chenopodium urbicum* L. – основного сорняка старопахотных земель в этих районах.

В одном из погребений Зырянского могильника XVI–XVII вв. (Причудлымье, Томская область) среди растительных остатков обнаружен целый комплекс пищевых и сорных растений (определения Е.А. Пономаревой (Беликова, 2003)). Среди них особый интерес представляет овес *A. sativa* L. и сеgetальный сорняк, сопутствующий его посевам – куколь обыкновенный *Agrostemma githago* L. Растительные остатки овса принадлежат культурной, но примитивной форме, предназначенной, вероятно, для фуражных целей.

Таким образом, в отличие от Русской равнины в Западной Сибири сложно выделить какой-то этап в древней и средневековой истории, когда земледелие стало основным видом деятельности в жизнеобеспечении людей. Немногочисленные очаги культивирования пшеницы, возможно, возникали только в конце бронзового века в южном Зауралье. Однако и здесь редкая встречаемость «земледельческих орудий» и отпечатков зерен указывают либо на вспомогательный характер земледелия, либо на импортное происхождение зерна наравне с металлом. Уверенно можно говорить о начале земледелия в лесостепной и степной зоне Западной Сибири в переходное время от бронзового к раннему железному веку (2900–2500 лет назад). Практически одновременно в западных, центральных и восточных районах на археологических памятниках начала I тыс. до н.э. обнаружены зерна, отпечатки и пыльца, принадлежащие преимущественно пшенице. В западных районах набор культурных злаков дополняет овес, ячмень и рожь, выращиваемые в При-

уралье и на Русской равнине. В предгорьях Алтая вместе с пшеницей выращивали просо – древнейшую культуру Китая, Дальнего Востока и Центральной Азии. Позднее, в раннем железном веке, земледелие в южных районах Западной Сибири и Казахстане было блокировано скотоводческими племенами и фиксировалось в разных районах в относительно короткие периоды истории только при ослаблении влияния кочевников и переориентации экономики на комплексное хозяйство.

## Литература

- Абдулганеев М.Т. О наличии земледелия у населения лесостепного и предгорного Алтая в эпоху железа // Социально-экономические структуры древних обществ Западной Сибири. Матер. Всерос. науч. конференции. Барнаул: Изд-во Алтайского гос. ун-та, 1997. С. 138–141.
- Абрамова Т.А. Палинологические и археологические характеристики природной среды центральной Мещеры в позднем голоцене // Матер. I Междунар. семинара «Пыльца как индикатор состояния окружающей среды и палеоэкологических реконструкций». Санкт-Петербург: ВНИГРИ, 2001. С. 11–13.
- Александровский А.Л., Анненков В.В., Глушко Е.В. и др. Антропогенные индикаторы в пыльцевых спектрах голоценовых отложений // Источники и методы исторических реконструкций изменений окружающей среды. Сер. геогр. Т. 8. М.: АН СССР, 1991. С. 7–18.
- Алешинская А.С., Спиридонова Е.А. Особенности природной среды Волго-Окского междуречья в железном веке и средневековье // Отчет лаборатории естественнонаучных методов Института археологии РАН, 2001. Архив Ин-та археологии РАН.
- Баштанник С.В. Новые данные о раннем земледелии Семиречья // Сохранение и изучение культурного наследия Алтая: Сб. науч. статей. Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2000. Вып. XI. С. 242–245.
- Беликова О.Б. Комплекс с палеорастительными остатками из таежного Причудлымья // Экология древних и современных обществ: Докл. конференции. Тюмень: Изд-во ИПОС СО РАН, 2003. Вып. 2. С. 104–109.
- Гольева А.А. Взаимодействие человека и природы в северо-западном Прикаспии в эпоху бронзы // Сезонный экономический цикл населения северо-западного Прикаспия в бронзовом веке. Труды государственного исторического музея. М., 2000. С. 10–29.

- Гольева А.А. Информационные возможности биоморфного анализа для реконструкции природной среды древних обществ // Экология древних и современных обществ. Докл. конференции. Тюмень: ИПОС СО РАН, 2003. Вып. 2. С. 21–24.
- Гольева А.А. Фитолиты и их информационная роль в изучении природных и археологических объектов. М: Ин-т географии РАН, 2001. Табл. LXXVI-LXXXII.
- Гуман М.А. Антропогенные изменения растительности юга Псковской области в голоцене (по палинологическим данным) // Ботан. журнал. 1978. Т. 63. № 10. С. 34–46.
- Заднепровский Ю.А. Древнеземледельческая культура Ферганы. М.; Л.: МИА, 1962. С. 75.
- Косарев М.Ф. Бронзовый век Западной Сибири. М: Наука, 1981. С. 206–214.
- Кривцова-Гракова О.А. Алексеевское поселение и могильник. М.: Тр. ГИМ, 1948. Вып. 17. С. 114.
- Крупенина Л.А. Признаки антропогенного влияния на растительный покров Среднерусской возвышенности в голоцене // Палинология голоцена и маринопалинология. М., 1973. С. 91–97.
- Куприянова Л.А. Морфология пыльцы однодольных // Флора и систематика высших растений. М.; Л.: АН СССР, 1948. Вып. 7.
- Мартынов А.И. Лесостепная тагарская культура. Новосибирск: Наука, 1979. С. 100.
- Матвеев А.В. Новые данные о системе жизнеобеспечения черкаскульского населения Приисетья // Вестник археологии, антропологии и этнографии. Тюмень: ИПОС СО РАН, 1999. Вып. 2. С. 123.
- Матвеева Н.П., Волков Е.Н., Рябогина Н.Е. Древности Ингальской Долины. Новосибирск: Наука, 2003. С. 150.
- Моргулан А.Х. Бегазы-дандыбаевская культура Центрального Казахстана. Алма-Ата: Наука, 1979. С. 263.
- Рябогина Н.Е., Семочкина Т.Г., Иванов С.Н. Реконструкция условий обитания населения Нижнего Приисетья в позднем бронзовом и раннем железном веках // Проблемы взаимодействия человека и природной среды. Тюмень: Изд-во ИПОС СО РАН, 2001. Вып. 2. С. 33–39.
- Рябогина Н.Е. Стратиграфия голоцена Южного Зауралья, изменения ландшафтно-климатических условий обитания древнего человека: Автореф. дис. ... канд. г.-м. наук. Тюмень: ИПОС СО РАН, 2004. 17 с.
- Сафарова С.А. Восстановление ландшафтных условий обитания древнего человека // Палинология голоцена и маринопалинология. М., 1973. С. 100–105.
- Сидоров Е.А. О земледелии ирменской культуры (по материалам лесостепного Приобья) // Палеоэкономика Сибири. Новосибирск: Наука, 1986. С. 54–66.
- Федорова Р.В. Некоторые особенности морфологии пыльцы культурных злаков // Труды института географии АН СССР: Матер. по геоморфологии и палеогеографии. Работы по спорово-пыльцевому анализу. 1959а. Вып. 77. С. 166–186.
- Федорова Р.В. Рассеивание воздушным путем пыльцы злаков // Труды института географии АН СССР: Матер. по геоморфологии и палеогеографии. Работы по спорово-пыльцевому анализу. 1959б. Вып. 77. С. 187–195.
- Федорова Р.В. Применение спорово-пыльцевого анализа в изучении археологических объектов лесостепной и степной зон // Советская археология. 1965. Вып. 2. С. 121–131.
- Федорова Р.В. Природные ландшафты голоцена и их изменение под влиянием деятельности человека (по палинологическим данным археологических памятников с. Костенок Воронежской области) // История биогеоценозов СССР в голоцене. М., 1976. С. 132–149.
- Черников С.С. Восточный Казахстан в эпоху бронзы. МИА, № 88. М.; Л.: Наука, 1960. С. 232, табл. 37.
- Эпоха бронзы лесной полосы СССР. М: Наука, 1987. С. 213.
- Firbas F. Der pollenanalytische Nachweis des Getriedebaus // Z. Botan. 1937. Bd. 31. H. 9/10.

**SPOT AREAS OF CEREAL CULTIVATION IN THE ANCIENT TIMES  
ON THE TERRITORY OF WEST SIBERIA  
ACCORDING TO PALEOBOTANIC DATA**

**N.E. Ryabogina**

Institute of the Northern Development, SB RAS, Tyumen, Russia, e-mail: ryabogina@rambler.ru

**Summary**

The possibilities of applying three peletonological methods – biomorphic, carpological and palenological – for reconstruction of ancient land-farming spot areas on archeological data are analysed in the research. The possibility of studying cultivated cereals pollen is specially focused on. Paleobotanic data on earlier land-farming spot areas over the territories of the Russian plain and West Siberia are presented, and their cultivated plant composition is specified.



## ИЗОГЕННЫЕ ЛИНИИ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ПО ГЕНАМ КОНТРОЛЯ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЯРОВИЗАЦИИ

В.И. Файт

Селекционно-генетический институт – Национальный центр семеноведения и сортоизучения,  
Одесса, Украина, e-mail: fayt@paco.net

Созданы изогенные линии по двум главным генам, *Vrd1* и *Vrd2*, контролирующим реакцию на продолжительность яровизации озимых сортов Мироновская 808 и Эритроспермум 604. Линии сорта Мироновская 808 характеризуются сильной (64–66 дней), а линии сорта Эритроспермум 604 – средней чувствительностью к продолжительности дня (35–40 дней). Введение доминантных генов *Vrd1* и *Vrd2* в генотип сортов Эритроспермум 604 и Мироновская 808 приводит к снижению потребности в яровизации изогенных линий до 20–35 и 40–45 дней соответственно. Фенотипическое проявление генов *Vrd* модифицируется различиями по фотопериодической чувствительности, контролируемой генами системы *Ppd*.

Потребность в воздействии низкой положительной температуры (яровизации) – один из наиболее важных адаптивных механизмов, обеспечивающих воспроизводство вида в разнообразных климатических условиях. Сорта озимой пшеницы существенно различаются по продолжительности яровизации – от 15 до 60 и более дней (Долгушин, 1935; Gotoh, 1975). У гибридов F<sub>1</sub> отмечено доминирование меньшей продолжительности яровизации над более длительным ее периодом. Большинство авторов указывают на наличие двух доминантных генов с неодинаковой экспрессивностью, контролирующих различия озимой пшеницы по продолжительности яровизации (Gotoh, 1980; Булавка, 1984, 1989; Стельмах, Золотова, 1993). Отмечается наличие минорных генов, ответственных за сортовые различия по продолжительности яровизации (Gotoh, 1980; Стельмах, Золотова, 1993).

После предварительных консультаций с R.A. McIntosh для обозначения данных генов был предложен символ *Vrd* (Vernalization requirement duration) (Stelmakh *et al.*, 2005). Гены получили обозначения *Vrd1* и *Vrd2*. Ген *Vrd1* был локализован на хромосоме 4A, ген *Vrd2* – на 5D. Возможно наличие третьего гена, участвующего в контроле различий по продолжительности яровизации озимой пшеницы, с

локализацией на одной из хромосом: 1A, 6A, или 4B (Файт и др. В печати).

По гипотезе Стельмаха (1986) значительная часть различий по продолжительности яровизации сортов озимой пшеницы контролируется разнообразием генетической системы *Ppd*. Выявлено три главных гена в контроле различий по реакции на продолжительность освещения, которые локализованы на хромосомах второй гомеологичной группы (McIntosh *et al.*, 2003). Согласно новой генной номенклатуре (Snape *et al.*, 1998) данные гены обозначены: *Ppd-A1* (хромосома 2A), *Ppd-B1* (хромосома 2B), *Ppd-D1* (хромосома 2D). При этом доминантные и рецессивные аллели обозначаются *Ppd-X1a* и *Ppd-X1b* соответственно, где X = A-, B- или D-геном. Снижение чувствительности к продолжительности дня обусловлено доминантными аллелями генов *Ppd*, а сильная реакция на фотопериод характерна для генотипов с наличием только рецессивных аллелей всех трех генов (Гончаров, 1986).

Для использования разнообразия по продолжительности яровизации в селекции озимой пшеницы необходимо детальное изучение эффектов *Vrd*-генов по конкретным признакам на специально созданном генетически идентифицированном материале (Law, Worland, 1990). Наиболее подходящими для этих целей

являются наборы изогенных линий.

Цель данной работы заключалась в идентификации и характеристике по реакции на яровизацию и фотопериод изогенных линий по генам *Vrd*.

### Материал и методы

В качестве исходного материала использовали озимые сорта Norin 1, Ольвия, Чайка, Мироновская 808, Эритроспермум 604, а также изогенные линии по генам *Vrd1* и *Vrd2* сортов Мироновская 808 (далее Мироновская 808-*Vrd1* и Мироновская 808-*Vrd2* соответственно) и сорта Эритроспермум 604 (Эритроспермум 604-*Vrd1* и Эритроспермум 604-*Vrd2* соответственно).

**Создание изогенных линий.** В беккроссной программе в качестве донора доминантного гена *Vrd1* был использован скороспелый японский сорт Norin 1 с 20-дневной потребностью в яровизации и слабой чувствительностью к продолжительности дня (Stelmakh *et al.*, 2005). Донором доминантного гена *Vrd2* был позднеспелый сорт Чайка селекции СГИ (Одесса, Украина), который сильно чувствителен к продолжительности дня, и для перехода к генеративному развитию требует не менее 30 дней яровизации (Stelmakh *et al.*, 2005). Сорта Мироновская 808 и Эритроспермум 604 с рецессивными аллелями *vrd1* и *vrd2* были использованы в качестве рекуррентных родителей. Сорт Мироновская 808 сильночувствителен к короткому дню, имеет генотип *Ppd-A1b Ppd-B1b Ppd-D1b* (Файт и др., 2006), а сорт Эритроспермум 604 среднечувствителен к продолжительности дня и отличается от первого сорта наличием доминантного аллеля *Ppd-D1a* (Файт, Федорова, 2006).

При создании изогенных линий и последующем генетическом анализе разделение популяций  $BC_n$ ,  $BC_nI_1$  и гибридов  $F_2$  на классы с высокой и низкой потребностью в яровизации проводили на фоне 40-дневной предварительной яровизации, позволяющей выколоситься гетерозиготным генотипам по любому из двух генов *Vrd*, тогда как растения с рецессивными аллелями не могли переходить к колошению.

**Тестирование изогенных линий.** Для проверки аллельных взаимоотношений доминантных генов *Vrd1* и *Vrd2* проводили скрещивание линий Мироновская 808-*Vrd1* и Миронов-

ская 808-*Vrd2* с сортом Мироновская 808 по неполной диаллельной схеме, а также указанных трех генотипов с сортами Norin 1 (донор гена *Vrd1*), Чайка (донор гена *Vrd2*), Ольвия (*Vrd1Vrd1 vrd2vrd2*), Эритроспермум 604 (*vrd1vrd1 vrd2vrd2*) и линиями Эритроспермум 604-*Vrd1*, Эритроспермум 604-*Vrd2*. Пятидневные проростки  $F_2$  гибридов и исходных родительских форм подвергали яровизации в течение 40 дней. После окончания яровизации по 25–35 проростков родительских форм и по 24–379  $F_2$  гибридов одновременно высаживали в поле 21 апреля 2001 г. с размещением проростков на делянках длиной 1 м и площадью питания  $30 \times 5$  см<sup>2</sup>. После 90 дней вегетации растений в полевых условиях учитывали количество выколосившихся и невыколосившихся растений, поскольку к этому сроку отмечали начало фазы «выход в трубку» у единичных растений сорта Мироновская 808 после 40-дневной яровизации.

**Темпоральная яровизация.** Для определения продолжительности яровизации пятидневные проростки линий Мироновская 808-*Vrd1*, Мироновская 808-*Vrd2*, Эритроспермум 604-*Vrd1*, Эритроспермум 604-*Vrd2* и сортов Мироновская, Эритроспермум 604 подвергали дробной яровизации от 20 до 55 дней с интервалом в 5 дней. После окончания яровизации проростки (по 50 штук каждого генотипа в одном варианте яровизации) высаживали в поле 19 апреля 2002 г. на двухрядковых делянках длиной 1 м с размещением растений, аналогичным таковому в предыдущем опыте.

**Реакция на фотопериод.** При изучении реакции на фотопериод пятидневные проростки сортов Norin 1, Чайка и изогенных линий подвергали 40-дневной яровизации. Рекуррентные родители озимые сорта Мироновская 808 и Эритроспермум 604 были подвергнуты 60-дневной яровизации, поскольку 40-дневная яровизация недостаточна для перехода данных сортов к генеративному развитию (Stelmakh *et al.*, 2005). В первом эксперименте изучали сорта Norin 1, Чайка и изогенные линии сорта Мироновская 808, пятидневные проростки которых после окончания яровизации высаживали (по 20 штук каждого генотипа в каждом варианте опыта) в оранжерее фитотрона и выращивали до 142 дней в условиях удлиненного (18

часов день + 6 часов ночь) и укороченного (12 часов день + 12 часов ночь) дня и температуре днем +21...+23 °С / ночью +15...+17 °С. Во втором эксперименте высаживали проростки сорта Чайка, изогенных линий сорта Эритроспермум 604 и Мироновская 808-*Vrd2*. Их выращивали в условиях удлиненного и укороченного дня, как и в первом эксперименте, но при температурах днем +18...+21 °С / ночью +13...+16 °С.

Во всех экспериментах для проведения яровизации зерновки изучаемых генотипов замачивали в песке, проращивали при комнатной температуре и пятидневные проростки подвергали яровизации в камере КНТ-1 при температуре +2 °С и круглосуточном освещении 5 тыс. люкс. Во время вегетации колошение каждого растения отмечали пергаментной этикеткой на стебле главного побега. Статистическую обработку данных проводили по общепринятым методикам.

### Результаты исследований и обсуждение

**Создание изогенных линий.** Наличие сортов озимой пшеницы с известным генетическим контролем продолжительности яровизации (Стельмах, Золотова, 1993) позволило приступить к созданию изогенных линий по системе генов *Vrd*. Поскольку при скрещивании различающихся по продолжительности яровизации сортов озимой пшеницы доминирует меньшая потребность в яровизации (Gotoh, 1980) и присутствие доминантных генов *Vrd1* и *Vrd2* тестируется в гетерозиготном состоянии по колошению растений, то при создании изогенных линий мы использовали непрерывное беккроссирование. На первом этапе сорта со слабой потребностью в яровизации Norin 1 (*Vrd1*) и Чайка (*Vrd2*) скрещивали с сортами с продолжительной (55–60 дней) потребностью в яровизации Мироновская 808 и Эритроспермум 604 (у обоих генотип *vrđ1vrđ1 vrđ2vrđ2*). Растения F<sub>1</sub> гибридов и гетерозиготные растения последующих поколений беккроссировали рекуррентными родителями. При этом в процессе создания изогенных линий по генам *Vrd1* и *Vrd2* разделение популяций BC<sub>n</sub>, BC<sub>n</sub>I<sub>1</sub> на классы с сильной (рецессивы) и слабой (гетерозиготы) потребностью в яровизации проводили на фоне 40-дневной предварительной яровизации, поз-

воляющей выколоситься гетерозиготам, тогда как рецессивные «выщепенцы» не переходили к колошению. Для последующего беккросса отбирали более рано колосящиеся растения и опыляли пыльцой рекуррентного родителя. У каждого растения с беккроссированным колосом часть колосьев оставляли для самоопыления с целью последующего контроля наличия доминантного гена *Vrd* путем анализа расщепления в BC<sub>n</sub>I<sub>1</sub>. При использовании такой схемы был завершен процесс беккроссирования и получено поколение BC<sub>9</sub> при создании изогенных линий по гену *Vrd1* (донор сорт Norin 1) и гену *Vrd2* (донор сорт Чайка) сорта Мироновская 808. У сорта Эритроспермум 604 получено поколение BC<sub>8</sub> по гену *Vrd1* и поколение BC<sub>7</sub> по гену *Vrd2*. Теоретически в поколении BC<sub>9</sub>I<sub>1</sub> для обеих изогенных линий сорта Мироновская 808, BC<sub>8</sub>I<sub>1</sub> линии Эритроспермум 604-*Vrd1* и BC<sub>7</sub>I<sub>1</sub> линии Эритроспермум 604-*Vrd2* после 40-дневной яровизации должно наблюдаться расщепление по фенотипу в отношении 3 выколосившихся растения к 1 невыколосившемуся, свидетельствующее о наличии одного доминантного гена, снижающего продолжительность яровизации каждой из созданных линий по сравнению с рекуррентным родителем. Фактически полученное расщепление на выколосившиеся и невыколосившиеся растения в комбинациях скрещивания Мироновская 808 × Norin 1, Мироновская 808 × Чайка, Эритроспермум 604 × Norin 1, Эритроспермум 604 × Чайка соответствовало моногенному (табл. 1). Критерий соответствия  $\chi^2$  во всех четырех случаях достоверно меньше табличного значения  $\chi^2 = 3,84$  при  $P = 0,05$  для  $df = 1$ . Следовательно, каждая из четырех изогенных линий отличается от рекуррентного родителя наличием одного доминантного гена *Vrd1* или *Vrd2*. В последующих поколениях BC<sub>n</sub>I<sub>2</sub> и BC<sub>n</sub>I<sub>3</sub> у каждой изогенной линии осуществляли отбор нерасщепляющихся потомков, несущих доминантный ген *Vrd1* или *Vrd2* в гомозиготном состоянии. По одному растению из таких потомств каждой из четырех комбинаций стали родоначальником соответствующей изогенной линии.

**Тестирование изогенных линий.** После 40-дневной яровизации все растения сортов носителей гена *Vrd1* – Norin 1, Ольвия и *Vrd2* – Чайка, а также линий Миронов-

Таблица 1

Расщепление на выколосившиеся: невыколосившиеся растения в поколении  $Vc_nI_1$  после 40-суточной яровизации (Одесса, 1999)

Комбинация скрещивания	Поколение	Фактически получено	Теоретически ожидаемое	$\chi^2$ 3:1
Мироновская 808 / Norin 1	$Vc_9I_1$	51 : 16	52,8 : 14,2	0,04
Мироновская 808 / Чайка	$Vc_9I_1$	37 : 11	36,0 : 12,0	0,11
Эритроспермум 604 / Norin 1	$Vc_8I_1$	15 : 7	16,5 : 5,5	0,55
Эритроспермум 604 / Чайка	$Vc_7I_1$	46 : 14	45,0 : 15,0	0,09

Таблица 2

Расщепления на выколосившиеся: невыколосившиеся растения  $F_2$  гибридов от скрещивания сортов и линий озимой пшеницы после 40-суточной яровизации

Материнский генотип	Отцовский генотип		
	Мироновская 808	Мироновская 808- <i>Vrd1</i>	Мироновская 808- <i>Vrd2</i>
Мироновская 808	—	140 : 38*	129 : 49*
Мироновская 808- <i>Vrd1</i>	82 : 19*	—	354 : 25**
Мироновская 808- <i>Vrd2</i>	125 : 42*	354 : 25**	—
Norin 1	51 : 9*	79 : 0	147 : 13**
Ольвия	69 : 14*	112 : 0	251 : 20**
Чайка	35 : 9*	129 : 9**	117 : 0
Эритроспермум 604	0 : 40	76 : 20*	25 : 8*
Эритроспермум 604- <i>Vrd1</i>	82 : 20*	209 : 0	164 : 15**
Эритроспермум 604- <i>Vrd2</i>	19 : 5*	133 : 13**	156 : 0

Примечание. \*  $\chi^2$  3:1 < 3,84, при df = 1; \*\*  $\chi^2$  15:1 < 3,84, при df = 1.

ская 808-*Vrd1*, Эритроспермум 604-*Vrd1*, Мироновская 808-*Vrd2*, Эритроспермум 604-*Vrd2* выколосились ранее, чем за 90 дней вегетации. Растения рекуррентных родителей Мироновской 808 и Эритроспермум 604 до 90 дней вегетации не вышли в трубку и находились в фазе кушения. Все растения  $F_2$  гибридов Мироновская 808 × Эритроспермум 604, родительские формы которой являются носителями только рецессивных аллелей обоих генов (Stelmakh *et al.*, 2005), до 90 суток выращивания также не вышли в трубку и находились в фазе кушения (табл. 2). Расщепление в  $F_2$  гибридов от скрещивания сортов Ольвия (*Vrd1Vrd1 vrd2vrd2*), Norin 1 (донор доминантного гена *Vrd1*), Чайка (донор доминантного гена *Vrd2*) и линий Мироновская 808-*Vrd1*, Мироновская 808-*Vrd2*, Эритроспермум 604-*Vrd1*, Эритроспермум 604-*Vrd2* с сортом

Мироновская 808, а также сорта Эритроспермум 604 с линиями Мироновская 808-*Vrd1* и Мироновская 808-*Vrd2* на выколосившиеся и невыколосившиеся растения на 90-й день выращивания соответствовало моногенному.

Следовательно, озимые сорта Ольвия, Norin 1, Чайка и линии Мироновская 808-*Vrd1*, Мироновская 808-*Vrd2* Эритроспермум 604-*Vrd1*, Эритроспермум 604-*Vrd2* имеют по одному доминантному гену *Vrd*. Причем ген *Vrd1* изогенной линии Мироновская 808-*Vrd1* аллелен таковым сорта-донора Norin 1, изогенной линии Эритроспермум 604-*Vrd1* и сорта Ольвия, о чем свидетельствует отсутствие расщепления в соответствующих комбинациях скрещивания (все растения выколосились). Ген *Vrd2* изогенной линии Мироновская 808-*Vrd2* аллелен таковому сорта донора Чайка и линии

Эритроспермум 604-*Vrd2*, поскольку все растения  $F_2$  гибридов от скрещивания указанных генотипов выколосились за 90 суток вегетации. В то же время выявлены достоверные дигенные различия в комбинациях скрещивания Мироновская 808-*Vrd1* × Мироновская 808-*Vrd2*, Ольвия × Мироновская 808-*Vrd2*, Norin 1 × Мироновская 808-*Vrd2*, Чайка × Мироновская 808-*Vrd1*, Эритроспермум 604-*Vrd1* × Мироновская 808-*Vrd2*, Эритроспермум 604-*Vrd2* × Мироновская 808-*Vrd1* (см. табл. 2). Эти данные свидетельствуют о неаллельности доминантных генов *Vrd*, ингибирующих продолжительность яровизации у сортов-доноров Norin 1 и Чайка, и созданных на их основе изогенных по генам *Vrd1* и *Vrd2* линий озимых сортов Мироновская 808 и Эритроспермум 604.

В конечном итоге по каждому из двух сортов были получены три из четырех теоретически возможных линий (при различиях по двум генам и наличии двух аллелей по каждому из них): линия с *Vrd1*, линия с *Vrd2* и исходный сорт *vrd1vrd2*, рецессив по анализируемой системе генов. Для получения недостающей линии с двумя доминантными генами *Vrd* (*Vrd1Vrd1 Vrd2Vrd2*) провели скрещивание линии Мироновская 808-*Vrd1* с линией Мироновская 808-*Vrd2* и линии Эритроспермум 604-*Vrd1* с линией Эритроспермум 604-*Vrd2*. Из  $F_2$ -гибридов указанных двух комбинаций скрещивания на фоне неполной (40 дней) яровизации проростков отобрали наиболее рано колосающиеся растения (предположительно *Vrd1Vrd1 Vrd2Vrd2*). К настоящему времени полу-

чены константные линии  $F_6$ , которые вовлечены в генетический анализ.

**Темпоральная яровизация.** Исходные озимые сорта Мироновская 808 и Эритроспермум 604, которые являются носителями только рецессивных аллелей генов *Vrd1* и *Vrd2*, выколашивались при минимальной продолжительности яровизации 50 дней (табл. 3). Различия двух изученных сортов по реакции на продолжительность дня на фоне рецессивных аллелей генов *Vrd* не сказываются на различиях по продолжительности яровизации сортов Мироновская 808 и Эритроспермум 604.

Введение в генотип сильночувствительного к продолжительности дня сорта Мироновская 808 доминантного гена *Vrd1* приводило к сокращению минимальной потребности в яровизации у линии Мироновская 808-*Vrd1* до 35 суток. Аналогичная линия среднечувствительного к продолжительности дня сорта Эритроспермум 604 выколашивалась уже после 20 суток яровизации. Эффект гена *Vrd2* по сокращению потребности в яровизации изогенных линий был несколько меньшим по сравнению с таковым гена *Vrd1* независимо от реакции на продолжительность дня генотипа исходного сорта. Однако минимальная продолжительность яровизации, при которой наблюдали колошение растений у линии Мироновская 808-*Vrd2*, составила 45 суток, а линии Эритроспермум 604-*Vrd2* – 40 суток. Следовательно, эффект генов *Vrd* модифицируется различиями по реакции на продолжительность дня рекуррентных родителей.

Таблица 3

Продолжительность периода «высадка–колошение» изогенных по генам *Vrd* линий после темпоральной яровизации (дни)

Генотип	Продолжительность яровизации, дни							
	55	50	45	40	35	30	25	20
Мироновская 808	66 ± 0,7	68 ± 0,7	—*	—	—	—	—	—
Мироновская 808- <i>Vrd1</i>	56 ± 0,4	60 ± 1,1	60 ± 1,0	64 ± 1,0	69 ± 1,0	—	—	—
Мироновская 808- <i>Vrd2</i>	55 ± 1,1	58 ± 0,9	71 ± 0,6	—	—	—	—	—
Эритроспермум 604	65 ± 0,8	64 ± 0,9	—	—	—	—	—	—
Эритроспермум 604- <i>Vrd1</i>	58 ± 0,8	59 ± 1,0	59 ± 0,6	61 ± 1,2	58 ± 0,8	58 ± 0,9	59 ± 0,9	61 ± 0,9
Эритроспермум 604- <i>Vrd2</i>	61 ± 1,3	62 ± 1,1	64 ± 0,4	66 ± 0,7	—	—	—	—

\* Не выколосились в течение 3 месяцев после высадки.



**Реакция на фотопериод.** По реакции на продолжительность дня, выражаемой разницей ( $d$ ) количества суток до колошения между вариантами укороченного дня (КД) и удлиненного дня (ДД), изучаемые генотипы можно разделить на две группы (табл. 4). С одной стороны, это сорт Чайка и линии Мироновская 808-*Vrd1* и Мироновская 808-*Vrd2*, а с другой – линии Эритроспермум 604-*Vrd1*, Эритроспермум 604-*Vrd2* и сорта Norin 1, Эритроспермум 604. По реакции на продолжительность дня линии Мироновская 808-*Vrd1* и Мироновская 808-*Vrd2* достоверно не различались между собой ( $d = 66$  и  $64$  дня соответственно).

К сожалению, у сорта Мироновская 808, который характеризуется сильной чувствительностью к продолжительности дня (Файт и др., 2006), к моменту завершения эксперимента (142 суток выращивания) в условиях КД наблюдали колошение лишь единичных растений. Большинство растений находилось еще в фазе «выход в трубку», что не позволяло сопоставить реакцию на продолжительность дня изогенных линий и рекуррентного родителя. Однако обе изогенные линии, Мироновская 808-*Vrd1* и Мироновская 808-*Vrd2*, по реакции на продолжительность дня достоверно не отличались от сильночувствительного к продолжительности дня сорта Чайка ( $d = 69$  дней).

Следовательно, обе линии, Мироновская 808-*Vrd1* и Мироновская 808-*Vrd2*, могут быть охарактеризованы как сильночувствительные к продолжительности дня генотипы. В то же время сорт Чайка и линии Мироновская 808-*Vrd1*, Мироновская 808-*Vrd2* характеризовались значительно большей чувствительностью к продолжительности дня по сравнению со слабочувствительным к продолжительности дня сортом Norin 1 ( $d = 27$  дней).

Изогенные линии Эритроспермум 604-*Vrd1* и Эритроспермум 604-*Vrd2* по показателю  $d$  (35 и 40 суток соответственно) также не различались между собой. Обе линии были сходны по данному показателю с рекуррентным сортом Эритроспермум 604 ( $d = 39$  дней), свидетельствуя об аналогичной чувствительности к продолжительности дня всех трех указанных генотипов. Кроме того, реакция на продолжительность дня линий Эритроспермум 604-*Vrd1*, Эритроспермум 604-*Vrd2* и сорта Эритроспермум 604 была существенно меньше таковой величины сильночувствительного к продолжительности дня сорта Чайка и линии Мироновская 808-*Vrd2*. Следовательно, линии Эритроспермум 604-*Vrd1* и Эритроспермум 604-*Vrd2*, как и исходный сорт Эритроспермум 604, могут быть охарактеризованы как среднечувствительные к продолжительности дня.

Таблица 4

Продолжительность периода до колошения (сутки) изогенных линий, сортов-доноров и рекуррентных родителей в условиях удлиненного (ДД) и укороченного дней (КД)

Линия, сорт	1-й эксперимент			2-й эксперимент		
	ДД	КД	$d$	ДД	КД	$d$
Мироновская 808	87	> 142		–*	–	–
Мироновская 808- <i>Vrd1</i>	69	135	66	–*	–	–
Мироновская 808- <i>Vrd2</i>	77	141	64	87	146	59
Эритроспермум 604	–	–	–	80	119	39
Эритроспермум 604- <i>Vrd1</i>	–	–	–	60	95	35
Эритроспермум 604- <i>Vrd2</i>	–	–	–	77	117	40
Norin 1	55	82	27	–	–	–
Чайка	72	141	69	95	146	51
HCP <sub>0,05</sub>	7	6	11	5	11	10

\* Не изучались.

### Выводы

Созданы изогенные по генам *Vrd1* и *Vrd2* линии сортов Мироновская 808 и Эритроспермум 604. Линии Мироновская 808-*Vrd1* и Мироновская 808-*Vrd2* характеризуются сильной, а линии Эритроспермум 604-*Vrd1* и Эритроспермум 604-*Vrd2* средней чувствительностью к изменению продолжительности дня. Введение генов *Vrd1* и *Vrd2* в генотип сортов Мироновская 808 и Эритроспермум 604 приводит к снижению продолжительности яровизации изогенных линий. Доминантный ген *Vrd1* обладает большим фенотипическим эффектом по сокращению продолжительности яровизации (до 20–35 суток), а ген *Vrd2* – значительно меньшим (40–45 суток). На уровень фенотипического проявления генов *Vrd* оказывает модифицирующее влияние различие рекуррентных родителей по системе генов *Ppd*.

### Литература

- Булавка Н.В. Наследование различной потребности в яровизации при скрещивании озимых сортов мягкой пшеницы // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1984. Т. 85. С. 37–42.
- Булавка Н.К. Наследование длительности периода яровизации у различных сортов озимой мягкой пшеницы // Цитология и генетика. 1989. Т. 23. № 6. С. 37–40.
- Гончаров Н.П. Генетический контроль фотопериодической реакции у мягкой пшеницы // С.-х. биология. 1986. № 11. С. 84–90.
- Долгушин Д.А. Мировая коллекция пшениц на фоне яровизации. М.: Сельхозгиз, 1935. 110 с.
- Стельмах А.Ф. Генетическая связь яровизационной чувствительности с фотопериодической отзывчивостью у озимых мягких пшениц // НТБ ВСГИ. 1986. № 4. С. 20–24.
- Стельмах А.Ф., Золотова Н.А. Генетические различия по продолжительности яровизационной по-требности у озимой мягкой пшеницы // Цитология и генетика. 1993. Т. 27. № 3. С. 3–7.
- Файт В.И., Федорова В.Р. Генетичний контроль фотоперіодичної чутливості сортів озимої м'якої пшениці // Збірник наукових праць СГІ – НАЦ НАІС. Одеса, 2006. Вип. 9 (49). С. 9–18.
- Файт В.И., Федорова В.Р., Балашова И.А., Стельмах А.Ф. Продолжительность периода до колошения и тест на аллелизм *Ppd* линий различного происхождения // Цитология и генетика. 2006. Т. 40. № 1. С. 27–36.
- Файт В.И., Симоненко Л.К., Мокану Н.В., Попова Н.В. Хромосомная локализация генов *Vrd*, сокращающих продолжительность яровизации озимой мягкой пшеницы // Генетика (в печати).
- Gotoh T. Variation in the vernalization requirements in winter wheat cultivars // Proc. of the 2nd Internat. Winter Wheat Conference. Zagreb. 1975. P. 292–297.
- Gotoh T. Gene analysis of the degree of vernalization requirement in winter wheat // Japan J. Breed. 1980. V. 30. № 1. P. 1–10.
- Law C.N., Worland A.J. Wheat adoption – its genetic control and future manipulation // Savrem. Poljopr. 1990. V. 38. № 1/2. P. 231–237.
- McIntosh R.A., Yamazaki Y., Devos K.M. et al. Catalogue of gene symbols for wheat // Proc. of the 10th Internat. Wheat Genetics Symposium. Paestum (Italy). 2003. <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/top/top.jsp>
- Snape J.W., Laurie D.A., Worland A.J. Understanding the genetics of abiotic stress response in cereals and possible strategies for their amelioration // Aspects of Applied Biol. 1998. № 50. P. 9–14.
- Stelmakh A., Zolotova N., Fayt V. Genetic analysis of differences in duration vernalization requirement of winter bread wheat // Cereal Res. Comm. 2005. V. 33. № 4. P. 713–718.

## NEAR-ISOGENIC LINES ON THE GENES CONTROLLING DIFFERENCES IN DURATION OF VERNALIZATION IN WINTER COMMON WHEAT

**V.I. Fayt**

Plant Breeding and Genetics Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigation,  
Odessa, Ukraine, e-mail: fayt@paco.net

### **Summary**

Near-isogenic lines were created on two major non-allelic *Vrd1* and *Vrd2* genes in the backgrounds of cultivars Mironovskaya 808 and Erythrosperrum 604. The lines of cultivars Mironovskaya 808 were characterized with high photoperiod sensitivity (64–66 days) while the lines of Erythrosperrum 604 do with medium one (35–40 days). The substitutions of recessive *vrđ* alleles for the dominant *Vrd1* and *Vrd2* ones led to shortening of vernalization requirements upto 20–35 and 40–45 days, respectively. The expression of *Vrd* genes was modified by the differences in *Ppd* genes.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ПРИЗНАКА «КРАСНАЯ ПИГМЕНТАЦИЯ ЛИСТА» У САХАРНОЙ СВЕКЛЫ

А.В. Мглинец, З.А. Осипова

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: mglin@bionet.nsc.ru

Выполнено генетическое изучение признака окраски, характерной для сахарной свеклы сорта Rotblatt, и названного признака «красная пигментация листа». Показано, что данный признак наследуется по моногенной схеме. Ген, его определяющий, находится в первой группе сцепления на расстоянии  $19,8 \% \pm 5,3 \%$  кроссинговера от гена *B*, контролирующего одно-двулетний тип развития. На основании данных литературы и сведений о происхождении сорта Rotblatt делается вывод, что геном, определяющим красную пигментацию листа у данного сорта, является ген *Cl*, впервые описанный в 1942 г. На основании литературных и экспериментальных данных сделан вывод, что признак «окраска верхушек цветоносных побегов» также определяется геном *Cl*.

### Введение

У культурной свеклы (*Beta vulgaris* ssp. *vulgaris*), к которой относятся: свекла сахарная, столовая, кормовая и листовая, выделяют окраску гипокотыля или подсемядольного колена, окраску корня и окраску надземной части растения (листа и стебля) (Letschert, 1993; Lange *et al.*, 1999). За развитие окраски отвечают два основных гена, *R* и *Y*, с серией аллелей в каждом (Keller, 1936; Wolyn, Gabelman, 1989). Комбинация рецессивных и доминантных аллелей по этим двум локусам приводит к разнообразным окраскам гипокотыля, корня и надземной части растения свеклы. Гены *R* и *Y* расположены в одной группе сцепления и, по разным данным, находятся на расстоянии от 6,3 до 7,5 % кроссинговера друг от друга (Keller, 1936; Linde-Laursen, 1972). Кроме двух этих генов получены экспериментальные данные о влиянии на окраску мякоти корня ряда других локусов (Linde-Laursen, 1972; Goldman, Austin, 2000).

Наличие доминантного аллеля в гене *R* является необходимым условием проявления окраски в надземной части растения. Описано несколько генов, определяющих различную окраску листа: *Cl* – ген окраски листа, *Cv* – вызывает окраску жилок листа, *Tr* – вызывает

пятнистую окраску листа (Owen, Ryser, 1942). Также описаны гены, определяющие окраску стебля (*Stc*) и окраску верхушек цветоносных побегов (*Tc*) (Коновалов, 1992; Мглинец, Осипова, 2006). Для генов *Cl*, *Cv* и *Tr* известно, что они находятся в первой группе сцепления на расстоянии 12 % кроссинговера от гена *B*, определяющего одно-двулетний тип развития (Owen, Ryser, 1942). В этой же группе сцепления на расстоянии 17,5 % кроссинговера от гена *B* локализован ген *Stc* (Мглинец, Осипова, 2006).

Целью данной работы было установление генетического контроля признака «красная пигментация листа», характерного для сорта сахарной свеклы Rotblatt.

### Материал и методы

Растения сахарной свеклы сорта Rotblatt (вр.к-1469, каталог мировой коллекции ВИР) первого года имеют красный гипокотиль, белую мякоть корня и частично или полностью краснопигментированные листья (Каталог мировой коллекции ВИР, 1985). С внутренней стороны листа окраска видна гораздо лучше, чем с внешней. При этом жилки листа остаются неокрашенными. В сорте встречаются растения с несимметричной листовой пластинкой, с листо-

вой пластинкой, загнутой по краю. У растений второго года помимо различной степени пигментации листьев также может быть полная или частичная пигментация прицветных листьев, что обуславливает красную окраску концов цветоносных побегов. Данный фенотип получил название «окраска верхушек цветоносных побегов» (top color, tc) (Коновалов, 1992). Под окраской, характерной для сорта Rotblatt, будем подразумевать частичную или полную красную пигментацию листьев у растений, находящихся в вегетативной или генеративной стадиях развития. В дальнейшем данный фенотип будем называть «красная пигментация листа». А под фенотипом «окраска верхушек цветоносных побегов» – красную окраску концов цветоносных побегов у растений, находящихся в генеративной стадии развития.

**Происхождение краснолистной свеклы.** Одно растение линии сахарной свеклы СОАН-22, полученной в лаборатории популяционной генетики растений (бывшая лаборатория полиплоидии) Института цитологии и генетики СО РАН, было опылено несколькими растениями сорта Rotblatt. Второе гибридное поколение было получено путем самоопыления одного растения. Из этого гибридного поколения растение, имеющее «красную пигментацию листа», вновь было самоопылено. Полученная таким образом инбредная популяция состояла как из растений с обычными зелеными листьями (растения без окраски), так и растений с различной степенью пигментации листьев и концов цветоносных побегов. Растения с хорошо выраженным признаком «красная пигментация листа», характерным для сорта Rotblatt, были использованы в данной работе.

**Источник признака «однолетний тип развития».** Источником признака «однолетний тип развития» послужило одно растение из популяции  $F_2$ , мономорфной по красной окраске гипокотила, но расщепляющейся по типу развития. Самоопыление данного растения показало, что оно гетерозиготно по гену  $B$ , определяющему одно-двулетний тип развития, поскольку его потомство состояло из однолетних и двулетних растений.

**Гибридизация.** Гибридизация растений проводилась путем контролируемых скрещиваний. Для этого 10–15 нераскрывшихся цветков

кастрировали и изолировали с помощью пергаментных изоляторов. Опыление проводили свежесобранной пылью через 3–4 дня. Изолятор вновь надевали и оставляли на растении до полного созревания клубочков. Гибридное поколение  $F_2$  получали путем принудительного самоопыления растений  $F_1$  также с использованием пергаментных изоляторов.

Выращивание растений проводили на опытных полях Селекционно-генетического комплекса Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск, Россия) при естественном освещении. К однолетним относили растения, которые начинали цвести через 2,5–3 месяца после посева семян. Растения, которые не дали цветоносы, относили к двулетним.

Наблюдение за окраской гипокотила проводили на всех этапах генетического анализа, с тем чтобы исключить влияние полиморфизма по гену  $R$  на расщепление по признакам «красная пигментация листа» и «окраска верхушек цветоносных побегов».

Для сравнения соответствия экспериментальных данных теоретически ожидаемым использовался статистический критерий  $\chi^2$ . Для расчета коэффициента рекомбинации и его ошибки был использован метод максимального правдоподобия, предложенный Фишером (Fisher, Balmukand, 1928).

## Результаты

### Изучение наследования признака «красная пигментация листа»

Для изучения наследования признака «красная пигментация листа», характерного для сорта Rotblatt, три растения сахарной свеклы, выступающие в качестве материнской формы и происходящие из различных популяций, были опылены краснолистной свеклой. Первое гибридное поколение насчитывало 17 растений. У трех из них отсутствовало какое-либо проявление пигментации листьев и цветоносных побегов. У двух растений отсутствовал признак «красная пигментация листа», но был четко выражен признак «окраска верхушек цветоносных побегов», у оставшихся 12 растений наблюдались как «красная пигментация листа», так и «окраска верхушек цветоносных побегов».



Для получения второго гибридного поколения были выбраны четыре растения, имеющие различные проявления окраски. Три гибридных популяции  $F_2$  (табл. 1) были получены самоопылением растений, имеющих признаки: «красная пигментация листа» и «окраска верхушек цветonoсных побегов». Одна гибридная популяция (табл. 1) была получена путем самоопыления растения, у которого присутствовал признак «окраска верхушек цветonoсных побегов», но листья не имели красной пигментации. Как видно из табл. 1, его потомство в основном представлено растениями, имеющими как краснопигментированные листья, так и красноокрашенные концы цветonoсных побегов. Аналогичная картина наблюдается и в потомстве растений, имевших красную пигментацию листьев и верхушек цветonoсных побегов. Такое поведение разных признаков позволяет предположить, что красная пигментация листьев и верхушек цветonoсных побегов является разным проявлением одних и тех же ядерных факторов.

Во всех четырех гибридных популяциях  $F_2$  (табл. 1) рассмотрим расщепление на два фенотипических класса: растения окрашенные и без окраски. В класс окрашенных отнесем растения, имеющие как «красную пигментацию листьев» и «окраску верхушек цветonoсных побегов», так и растения, которые имеют или только окрас-

ку листьев или только окрашенные верхушки цветonoсных побегов. В класс неокрашенных отнесем растения, у которых красная окраска листьев и цветonoсных побегов отсутствует.

Как видно из табл. 1, во втором гибридном поколении в трех гибридных популяциях расщепление по признаку «наличие–отсутствие окраски» очень хорошо соответствует моногенной схеме наследования. Рассчитанные значения критерия  $\chi^2$  меньше его табличного значения при 5 % уровне значимости. Для одной популяции экспериментально полученные данные значимо отличаются от теоретически ожидаемых из-за значительного избытка зеленых растений.

Полученные данные, а именно наследование окраски, характерной для сорта Rotblatt, в первом гибридном поколении, а также характер расщепления на фенотипические классы во втором позволяют заключить, что признак «красная пигментация листа», характерный для сорта Rotblatt, является доминантным и, скорее всего, контролируется одним ядерным геном. Только рецессивные гомозиготы по данному гену не имеют окраски, у остальных же генотипов чаще всего наблюдается пигментация листа и цветonoсных побегов одновременно, гораздо реже эти два признака встречаются по отдельности.

Таблица 1

Расщепление по признакам «красная пигментация листа» и «окрашенные концы цветonoсных побегов» в разных гибридных поколениях

Фенотип материнского растения	Поколение	Число растений				$\chi^2$ (3 : 1) окр. : без окр.
		окрашенные			без окраски	
		лист и концы веток	лист	концы веток		
	$F_1$	12	–	2	3	–
Окрашенные концы веток	$F_2$	39	3	1	15	0,02
Окрашенные лист и концы веток	$F_2$	81	16	–	53	8,54*
Окрашенные лист и концы веток	$F_2$	52	–	–	18	0,02
Окрашенные лист и концы веток	$F_2$	25	2	–	9	0

\* Экспериментально полученные данные значимо отличаются от теоретически ожидаемых  $\chi^2$  0,05 (d.f. = 1) = 3,84;  $\chi^2$  0,01 (d.f. = 1) = 6,63.

### **Изучение совместного наследования признаков «одно-двулетний тип развития» и «красная пигментация листа»**

Для изучения совместного наследования признаков окраски листа и типа развития в качестве материнской формы было использовано одно двулетнее растение из второго гибридного поколения, расщепляющегося в соотношении 27 окрашенных и 9 неокрашенных растений (табл. 1). Данное растение, с двулетним типом развития имело краснопигментированные листья и окрашенные верхушки цветоносных побегов. В качестве опылителя было использовано растение с однолетним типом развития, не имеющее красной пигментации листа и концов цветоносных побегов. Поскольку растение-опылитель было гетерозиготно по гену *B*, то, как и следовало ожидать, в первом гибридном поколении наблюдалось расщепление по признаку одно-двулетности. Среди 18 растений 9 имели однолетний тип развития, а остальные 9 – двулетний. По признаку окраски листа и цветоносных побегов у гибридов наблюдалась следующая картина: все растения с двулетним типом развития имели краснопигментированную листовую пластинку, однако степень пигментации варьировала от хорошо выраженной до очень слабой. У растений с однолетним типом развития также наблюдалось варьирование в степени выраженности как данного признака, так и признака «окраска верхушек цветоносных побегов».

Три растения с однолетним типом развития и различным проявлением признаков окраски листа и концов цветоносных побегов были использованы для получения гибридов второго поколения. Два растения обладали хорошо выраженными признаками «красная пигментация листа» и «окраска верхушек цветоносных побегов». Одно растение не имело краснопигментированных листьев, а верхушки цветоносных побегов были слабо окрашены.

Во втором гибридном поколении, как и ожидалось, наблюдалось расщепление как по признаку одно-двулетности, так и по признакам «красная пигментация листа» и «окраска верхушек цветоносных побегов». Все растения, которые классифицировались как двулетние и зеленые, после яровизации не имели никаких признаков окраски. Двулетние растения, ко-

торые имели признак «красная пигментация листа», после яровизации во время цветения по-прежнему имели данный признак, а также окрашенные верхушки цветоносных побегов.

В потомстве растений, имевших краснопигментированные листья и верхушки цветоносных побегов, все растения с окраской имели и окрашенные листья, и окрашенные верхушки цветоносных побегов. Потомство растения, имевшего только окрашенные верхушки цветоносных побегов, в основном было представлено растениями с окрашенными листьями и цветоносными побегами. Только три растения не имели красной пигментации листа, но имели окрашенные верхушки цветоносных побегов. Эти три растения в середине цветения были обрезаны, с тем чтобы определить их фенотип при повторном отрастании. Оказалось, что вновь появившиеся листья и цветоносные побеги имеют хорошо выраженную красную окраску. Поэтому при изучении наследования окраски, характерной для сорта *Rotblatt*, в класс окрашенных следует относить как растения с окраской листа и цветоносов, так и растения с зелеными листьями, но окрашенными верхушками цветоносных побегов, что было сделано нами ранее.

В табл. 2 приведены экспериментальные данные распределения растений второго гибридного поколения по классам одно-двулетности и наличия-отсутствия красной пигментации листа. При использовании критерия  $\chi^2$  для сравнения соответствия экспериментально полученных данных моногенной схеме наследования при распределении растений по классам «одно-двулетний тип развития» получаем: 0,39 для популяции № 16; 0,67 для популяции № 18 и 0,48 для популяции № 11, а при распределении растений по классам «наличие-отсутствие красной пигментации листа» для этих же популяций соответственно получаем: 0,04, 0,34 и 0,85. Поскольку каждый из вышеперечисленных признаков наследуется в соответствии с моногенной схемой, это позволяет проверить на соответствие экспериментально полученные данные модели независимого дигенного расщепления. Применение критерия  $\chi^2$  для проверки данной гипотезы позволяет сделать вывод: модель независимого наследования не принимается, однако значения критерия таковы, что она и не отвергается. Что связано, прежде

Таблица 2

Распределение растений по классам одно-двулетности  
и окраски листа во втором гибридном поколении

Номер популяции	Число растений					$\chi^2$ (9 : 3 : 3 : 1)
	всего	однолетних		двулетних		
		окрашенных	без окраски	окрашенных	без окраски	
16	124	62	28	32	2	9,39**
18	98	55	22	21	0	7,21**
11	100	50	28	21	1	9,94**
Сумма	322	167	78	74	3	23,89***

\*\* Экспериментально полученные данные значимо не отличаются от теоретически ожидаемых при 1 %-м уровне значимости. \*\*\* Экспериментально полученные данные значимо отличаются от теоретически ожидаемых, рассчитанное значение коэффициента рекомбинации составляет  $19,8\% \pm 5,3\%$ ;  $\chi^2_{0,05}$  (d.f.=3) = 7,81;  $\chi^2_{0,01}$  (d.f.=3) = 11,3.

всего, с недостаточными размерами выборок (Животовский, 1991).

Сравнение с помощью критерия  $\chi^2$  данных, приведенных в табл. 2, на однородность показывает, что они принадлежат одной генеральной совокупности. Рассчитанное значение критерия равно 3,59, теоретически ожидаемое равно 12,59 для 5 % уровня значимости и шести степеней свободы. Поэтому данные по каждому классу можно просуммировать и проверить их на соответствие дигенной схеме наследования.

Анализ объединенных данных показывает, что расщепление по признакам однолетности–двулетности и наличия–отсутствия окраски листа очень хорошо соответствует моногенной схеме наследования. Рассчитанное значение критерия составляет 0,20 и 0,004 для вышеперечисленных признаков соответственно. В то же время расщепление по этой паре признаков значимо отличается от дигенной схемы наследования при 1 %-м уровне значимости. Поэтому можно оценить коэффициент рекомбинации между генами, определяющими тип развития и красную пигментацию листа. Полученное значение составляет  $19,8\% \pm 5,3\%$ .

### Обсуждение

Первые данные о наследовании красной пигментации листа у свеклы были опубликованы Оуэном и Ризером в 1942 г. (Owen, Ryser, 1942). Они выделили три признака: окрашенный лист (colored leaf), контролируемый геном *Cl*, окрас-

ка жилок листа (colored veins), обусловленная геном *Cv*, и форелевый лист (trout leaf), контролируемый геном *Tr*. Американские исследователи пишут, что донором признаков «colored leaf» и «trout leaf» послужили образцы свеклы, полученные с сахарного завода, расположенного в Клейнванцлебене (Германия) (Owen, Ryser, 1942). В данной работе донором признака «красная пигментация листа» послужил сорт Rotblatt, поступивший в ВИР из Клейнванцлебена (бывшая ГДР).

Общность происхождения образцов свеклы, использованных американскими исследователями, и сорта Rotblatt позволяет предположить, что мы в своей работе изучали наследование окраски, которая ранее уже была изучена. Осталось установить, с каким именно из описанных ранее признаков обнаруживает сходство окраска сорта Rotblatt. Сравнение описаний, данных в работе Оуэна и Ризера, и окраски растений сорта Rotblatt показывает, прежде всего, большое сходство с признаком «colored leaf». Это касается, прежде всего, распределения окраски по листу, а также того, что с внутренней стороны она видна лучше, чем с наружной. К этому можно добавить, что в сорте Rotblatt и гибридов с ним появляются растения, у которых наблюдается различная степень асимметрии листа, когда одна половина больше другой. На эту особенность признака «colored leaf» также обращали внимание Оуэн и Ризер. В дополнение можно добавить, что помимо большого сходства в описании признака ген, контролирующий проявление признака окраски

листа, находится в той же группе сцепления, что и ген *Cl*, описанный Оуэном и Ризером. Все вышперечисленное позволяет заключить, что мы имеем дело с тем же геном и тем же признаком, что и предыдущие исследователи. Поэтому для его обозначения будем использовать генетический символ *Cl*, предложенный ранее Оуэном и Ризером.

При изучении наследования признака «окраска верхушек цветоносных побегов» в качестве донора признака А.А. Коноваловым были использованы растения инбредной линии R-5, взятой из коллекции Института цитологии и генетики Сибирского отделения РАН (Коновалов, 1992). Данная линия была получена в лаборатории популяционной генетики растений (бывшая лаборатория полиплоидии) ИЦиГ при самоопылении растений сорта Rotblatt (персональное сообщение Н.С. Леоновой). Если к этому добавить полученные нами результаты, что «окраска верхушек цветоносных побегов» и красная пигментация листьев всегда сопряжены, то становится очевидно, что эти два признака определяются одним и тем же геном, а именно геном *Cl*, впервые описанным еще в 1942 г.

### Литература

Животовский Л.А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 272 с.

Каталог мировой коллекции ВИР. Сахарная свекла. Л., 1985. 48с.

Коновалов А.А. Сцепление генов антоциановой окраски и несовместимости у сахарной свеклы // Докл. РАН. 1992. Т. 323. № 4. С. 772–775.

Мглинец А.В., Осипова З.А. Генетическое изучение новой окраски у свеклы *Beta vulgaris* L. // Генетика. 2006. Т. 42. № 7. С. 936–938.

Fisher R.A., Balmukand B.B. The estimation of linkage from the offspring of selfed heterozygotes // J. Genet. 1928. V. 20. P. 79–92.

Goldman I.L., Austin D. Linkage among the R, Y and BI loci in table beet // Theor. Appl. Genet. 2000. V. 100. № 3/4. P. 337–343.

Keller W. Inheritance of some major color types in beets // J. Agric. Res. 1936. V. 52. № 1. P. 27–38.

Lange W., Bock T.S.M. de, Brandenburg W.A. Taxonomy and cultonomy of beet (*Beta vulgaris* L.) // Bot. J. Linn. Soc. 1999. V. 130. № 1. P. 81–96.

Letschert J.P.W. Beta section Beta: biogeographical patterns of variation and taxonomy. Wageningen University, Wageningen, 1993. 154 p.

Linde-Laursen I. A new locus for colour formation in beet, *Beta vulgaris* L. // Hereditas. 1972. V. 70. № 10. P. 105–112.

Owen F.W., Ryser G.K. Some Mendelian characters in *Beta vulgaris* L. and linkages observed in the Y-R-B group // J. Agric. Res. 1942. V. 65. № 3. P. 155–171.

Wolyn D.J., Gabelman W.H. Inheritance of root and petiole pigmentation in red table beet // J. Hered. 1989. V. 80. № 1. P. 33–38.

## GENETIC CONTROL OF RED LEAF COLOR TRAIT IN SUGAR BEET

F.V. Mglinets, Z.A. Osipova

Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,  
Novosibirsk, Russia, e-mail: mglin@bionet.nsc.ru

### Summary

Inheritance of the coloration in sugar beet variety Rotblatt has been studied. Plants from Rotblatt variety have no pigmentation of root skin, flesh, petioles and leaf veins. The pigmentation of hypocotyl and leaves is red. This type of coloration named “colored leaf” has monogenetic inheritance. The gene for “colored leaf” has been localized in the Y-R-B linkage group. Recombination frequency between this gene and B gene controlling annual habit of beet is 19,8 % ± 5,3 %. As a result of literature and experimental data survey the “colored leaf” trait was stated to be determined by *Cl* gene described by F. Owen and G. Ryser. The *Cl* gene was also found to be responsible for “top color” trait in beet.

**ТРОФИМ ЯКОВЛЕВИЧ ЗАРУБАЙЛО  
И ГЕНЕТИКА ВО ВСЕСОЮЗНОМ ИНСТИТУТЕ  
РАСТЕНИЕВОДСТВА ИМ. Н.И. ВАВИЛОВА  
(К 100-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ)**



Трофим Яковлевич Зарубайло родился 3 октября (20 сентября по старому стилю) 1906 г. в семье крестьянина-середняка в селе Рипна Подольской губернии. В 1925 г. вступил в комсомол, а в 1939 г. – в члены ВКП(б). После окончания Винницкого сельскохозяйственного института по специальности «агроном-растениевод» с 1926 г. работал преподавателем сельскохозяйственного техникума. В 1930–1932 гг. учился в очной аспирантуре Всесоюзного института растениеводства (ВИР, ныне ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова) и изучал наследование продолжительности вегетационного периода ячменя под руководством известного селекционера профессора Виктора Евграфовича Писарева. Кандидатскую диссертацию защитил по специальности «селекция сельскохозяйственных растений». Пробле-

мы биологии развития, вопросы наследования количественных признаков и влияние среды на наследственность (в том числе взаимодействие генотипа с условиями внешней среды) интересовали его все последующие годы.

Научная деятельность Трофима Яковлевича Зарубайло проходила в тяжелейших условиях для отечественной генетики: война, лысенковщина, идеологические обвинения ученых, вынужденный конформизм по отношению к власти, трудности послевоенного периода. В это время не каждый ученый был способен полностью проявить свой научный потенциал.

После окончания аспирантуры до 1935 г. Трофим Яковлевич работал научным руководителем Северо-Восточного селекционного центра (пос. Фаленки Кировской области). В 1935 г. поступил на работу в Пушкинские лаборатории ВИР, где занимался исследованиями биологии развития растений и изучал гибриды голозерного ячменя. С 1939 г. научную работу сочетал с преподавательской деятельностью в Пушкинском сельскохозяйственном институте в качестве доцента, читая курс «селекция и семеноводство».

В то время генетические исследования в ВИРе развивались в виде монографического изучения культивируемого растения, его отдельных признаков, свойств и, кроме того, гибридов от скрещивания отдаленных видов, что было новым для генетики растений того времени. Теоретическим основанием подхода к оценке разнообразия растений явился цикл экспериментальных исследований Н.И. Вавилова по систематизации большого разнообразия форм в пределах разных систематических групп растений, обобщенный в виде «Закона



гомологических рядов в наследственной изменчивости».

В отделе генетики ВИР в 1930-е гг. под руководством Г.Д. Карпеченко были широко развернуты работы по отдаленной гибридизации злаковых с целью интрогрессии ценных для использования в селекции растений чужеродных генов. Ученые ВИР к 1940-м гг. вплотную подошли к пониманию генетических механизмов интрогрессивной гибридизации и к целенаправленному изменению геномных комплексов культивируемых видов растений. Такие исследования были возрождены в России лишь в 1960-х гг. новосибирскими учеными.

Фактически сотрудники ВИР в то время стояли у истоков развития учения о полиплоидии, оказавшего впоследствии влияние на развитие теории видообразования и селекционной практики. Были получены интересные в практическом отношении полиплоидные формы томата, картофеля, льна и ряда других культур. Впервые Г.А. Левитским с соавт. было экспериментально продемонстрировано, что колхицин не только приводит к удвоению хромосомных комплексов, но может вызывать изменение морфологии хромосом.

В отделе генетики ВИР в 1930–1940 гг. интенсивно велась работа по изучению индуцированного мутагенеза растений с использованием воздействия  $\gamma$ -лучами, токами высокой частоты, химическими веществами.

В конце 1930-х и начале 1940-х гг. репрессии в стране были наиболее жестоки. Необоснованно были арестованы ведущие сотрудники ВИР, среди них Н.И. Вавилов, Г.Д. Карпеченко, Г.А. Левитский, К.А. Фляксбергер, А.И. Мальцев, Н.В. Ковалев, Л.И. Говоров. Ряд ученых были вынуждены уйти из института. С их уходом научная деятельность в области генетики в ВИРе была совершенно прекращена. Были ликвидированы наиболее перспективные направления генетических исследований, по большинству разделов которых ученые ВИРа занимали лидирующее положение в нашей стране и за рубежом.

В этот период Т.Я. Зарубайло совместно с

И.А. Костюченко была впервые выявлена и экспериментально показана способность зерновок хлебных злаков в состоянии домолочной, молочной и начале восковой спелости проходить яровизацию на материнском растении (яровизация «на корню») при наличии пониженных (0–14 °С) температур и достаточной влажности воздуха. Такие условия всегда имеют место на Крайнем Севере. Эта оригинальная работа получила широкую известность. Как писал акад. Н.И. Вавилов, «обнаруженные факты показывают, что происхождение семян одного и того же сорта из различных условий могут дать, при посеве их в новом месте, совершенно различные результаты. Отсюда возможность значительного изменения в фенотипе в последовательной культуре в ряде лет... Работы эти являются оригинальными, исключительно ценными по их перспективам и выводам и, несомненно, заслуживают самого серьезного внимания» (ЦГАНТД СПб.<sup>1</sup> Фонд 318, опись 1, дело 1194, лист 111). Позднее Трофим Яковлевич неоднократно возвращался к этой интереснейшей проблеме: привлекал новый экспериментальный материал, варьировал условиями опытов и т. д. Им было экспериментально доказано влияние различных условий репродукции семян (подзимний и весенний посев в Пушкине и Дербенте) на процесс яровизации. Т.Я. Зарубайло стоял у истоков нового направления физиологической генетики, которое можно обозначить как генетика скорости и типа развития растений.

По поручению Н.И. Вавилова Трофим Яковлевич с 1940 г. до марта 1941 г. работал директором Среднеазиатской опытной станции ВИР, а с марта 1941 г. был назначен заведующим отделом зерновых культур Пушкинских лабораторий ВИР, где проработал до 23 июня 1941 г.

С 1941 по 1945 гг. Трофим Яковлевич участвовал в Великой Отечественной войне. Он награжден медалями: «За оборону Ленинграда» и «За победу над Германией в Великой Отечественной войне 1941–1945 гг.».

После войны, с 1945 г., Трофим Яковлевич возглавляет лабораторию зерновых культур Пушкинских лабораторий ВИР, а затем, с 1948 г. – лабораторию биологии развития, пре-

<sup>1</sup> Центральный государственный архив научно-технической документации С.-Петербурга.

образованную в 1950 г. в лабораторию (позже отдел) генетики и анатомии.

В этот период (с 1946 по 1964 гг.) советские биологи-марксисты формально придерживались ленинских взглядов на проблемы эволюции и генетики. Полностью прекратились исследования по генетике и ряду других направлений биологии. В системах АН СССР, министерств высшего образования, здравоохранения и сельского хозяйства были закрыты все лаборатории генетики, цитогенетики, феногенетики, органо-генеза и др., уволены тысячи профессоров, преподавателей и научных сотрудников. Остались работать только те, кто перешел на позиции так называемой «передовой мичуринской биологии». Результаты своих экспериментов исследователи вынуждены были облекать в словесную формулировку господствовавшей идеологии. Нельзя слишком строго судить ученых, работавших в то время, не каждый способен в крайне экстремальных условиях сохранять силу духа и свои убеждения. В такой обстановке человек должен нести ответственность не только за себя, но и за своих близких, за тех, с кем он работает. Необходимо было проявлять вынужденное стремление к единомыслию.

Трофиму Яковлевичу не нужно было идти против своих научных интересов – он всецело посвятил себя изучению закономерностей изменчивости растительных организмов в различных условиях среды, чем занимался в предыдущие годы. Основное внимание он уделит более углубленному исследованию взаимодействия генотипа с внешней средой и влиянию условий формирования семян культурных злаков на изменчивость длины вегетационного периода растений. Основным объектом была пшеница, обладающая морфологическим, экологическим и биологическим многообразием. Фактически он продолжил начатые еще до войны работы с И.А. Костюченко, но сделал их более цельными и убедительными, с применением контролируемых условий эксперимента. Для таких опытов была сконструирована специальная камера с низкой температурой, которая позволяла обрабатывать холодом только колосья, а само растение находилось при естественной температуре в светлом помещении. По мнению Т.Я. Зарубайло, эти опыты «с очевидностью показали решающее значение температурных

условий периода формирования–созревания семян для изменения потребности их в предпосевной яровизации при весеннем посеве». Причем это влияние пониженной температуры оказывает непосредственно на эти семена, а не на материнское растение. Как оказалось, эффект от действия пониженных температур на незрелые семена на материнском растении может совпадать с эффектом полной предпосевной яровизации проростков из зрелых семян. Чем моложе зерновка материнского растения, тем интенсивнее идет процесс яровизации. Согласно опытам Т.Я. Зарубайло, способностью проходить яровизацию в незрелом состоянии на материнском растении обладают не только семена пшеницы, но и семена других хлебных злаков, а также позднеспелого льна.

Трофима Яковлевича интересовали вопросы изменения яровых злаков в озимые при систематическом подзимнем посеве и роль гетерозиготности организма в этом процессе, а также пути повышения морозостойкости растений и создания зимостойких сортов. Изменение яровых форм в озимые, которое наблюдал Т.Я. Зарубайло, относится к категории таких фактов.

Внешне Трофим Яковлевич придерживался официальных взглядов на механизмы изменчивости и наследственности, иногда высказывал односторонне физиологическое понимание наследственности. Самое главное, внутренне он был сторонником постановки точного эксперимента, и только тщательно поставленный опыт убеждал его в правоте сделанных выводов. Этому он учил и своих научных сотрудников, и учеников-аспирантов. Он давал им полную свободу экспериментирования на заданную тему. Аспирант должен был самостоятельно обобщать результаты работы и сформулировать выводы. Трофим Яковлевич оценивал работу целиком и вносил редакционные изменения как в существо работы, так и в ее оформление. Он обладал аналитическим складом ума, внутренним чувством хорошего литературного русского языка и талантом популяризатора.

С 1960-х гг. в стране началось постепенное возрождение генетики. Обстоятельства складывались так, что Трофиму Яковлевичу пришлось непосредственно содействовать этому процессу в ВИРе. К этому времени он имел большой научный опыт и обладал значительным авто-

ритетом в научном сообществе. В 1964 г. по совокупности опубликованных работ ему была присуждена ученая степень доктора биологических наук, а в 1968 г. он был утвержден в звании профессора.

Т.Я. Зарубайло удалось создать в отделе генетики ВИР коллектив из молодых сотрудников, способных решать сложные научные проблемы. Под руководством и при непосредственном его участии начаты и проведены важные для теории и практики генетические исследования сельскохозяйственных растений. К ним относятся полиплоидия, мутагенез, отдаленная гибридизация и интрогрессия чужеродных генов, генетика иммунитета в сочетании с созданием новых, селекционно-ценных рекомбинантов. По существу были возобновлены основные направления исследований, выполняемых в 1930–1940-х гг. школой Н.И. Вавилова и Г.Д. Карпеченко, что явилось психологической доминантой в дальнейших экспериментальных исследованиях отдела генетики ВИР.

Силами своих аспирантов и научных сотрудников Трофим Яковлевич организовал и осуществил исследования по экспериментальному получению полиплоидных форм сельскохозяйственных растений, анализу их роли в селекционном процессе. В этом направлении впервые выявлен и изучен эффект аутоплоидии у томатов, моркови, капусты, вики. Получены гаплоиды у картофеля и разработана система их использования в селекционных целях. В отделе генетики организованы новые для ВИРа исследования культуры изолированных клеток и тканей, что расширило возможности анализа межвидовой совместимости и создания новых хозяйственно ценных форм растений. Экспериментально получены гаплоидные растения и гомозиготные андрогенные линии мягкой пшеницы в культуре пыльников и определены факторы внешней среды, способствующие высокому выходу таких форм.

Впервые в нашей стране были организованы и осуществлены эксперименты в области радиационного мутагенеза с использованием  $\gamma$ -поля. Установлено влияние степени ploидности на радиочувствительность и мутабельность растений пшеницы, ячменя, овса. Показана различная чувствительность растений к  $\gamma$ -облучению на разных этапах органогенеза.

Заслуживают большого внимания исследования тетраплоидных видов пшеницы (в том числе *Triticum timopheevii* (Zhuk.) Zhuk.), диплоидного *T. monococcum* L., а также ржи *Secale cereale* L. как источников комплексного иммунитета к грибным болезням. Созданы интрогрессивные линии мягкой пшеницы с генами устойчивости к бурой и стеблевой ржавчине и мучнистой росе, эффективными в разных экологических условиях. Таким исследованиям Трофим Яковлевич уделял особое внимание, понимая важность селекции болезнеустойчивых сортов для повышения урожайности сельскохозяйственных растений. Поэтому он всячески способствовал использованию новых методов генетического анализа, в частности анеуплоидного, и создания линий с замещением и дополнением отдельных хромосом.

Увеличение содержания каротина в плодах – одна из главных задач селекции томата. В связи с этим аспирантом Г.А. Воробьевой был сделан анализ гибридов культурного томата *Lycopersicon esculentum* Mill. (*Solanum lycopersicum* L.) с *Solanum pennellii* Cogn. и выделены константные оранжевоплодные линии с содержанием каротина до 17 мг/100 г, в 9–10 раз превышающего таковое у исходного сорта, что, возможно, связано с экспрессией гена В.

В область научных интересов Т.Я. Зарубайло всегда входило познание совместимости отдаленных видов растений для целей изучения филогении и использования чужеродных генов для улучшения культивируемых видов. Так, выяснены генетические и цитогенетические механизмы и разработаны методологические подходы к проведению эффективной интрогрессии таких генов. Впервые экспериментально показана роль *Kr*-генов, контролирующей межвидовую скрещиваемость, при совместимости *T. aestivum* L. с представителями различных родственных видов и родов пшеницевых и определена степень встречаемости этих генов у видов рода *Triticum* L. Впервые проведены комплексные исследования совместимости и селекционной ценности разнохромосомных тритикале. Трофим Яковлевич еще в 1970-х гг. считал, что перспективность тритикале как продовольственной культуры «не подлежит сомнению».

Под его руководством впервые экспериментально осуществлен ресинтез гексаплоидного вида пшеницы *T. zhukovskyi* Menabde et Erizjan. Проведен генетический анализ происхождения *T. macha* Dekapr. et Menabde с использованием белковых маркеров. Создана серия межвидовых аллогексаплоидных амфиплоидов пшеницы от скрещивания тетраплоидных видов с однозернянкой, некоторые из которых характеризуются высокой устойчивостью к грибным болезням и высоким содержанием белка в зерне.

И.М. Суриковым была изучена генетика самонесовместимости у ржи и предложена новая гипотеза генетического контроля этого признака. Обнаружены новые гены ржи и определены их группы сцепления.

Большое теоретическое и прикладное значение имели исследования отдельных хозяйственно ценных признаков наиболее значимых для производства видов культивируемых растений. В этих опытах выявлены неизвестные ранее закономерности генетического контроля и наследования хозяйственно ценных признаков пшеницы, ячменя, бобов: устойчивости к болезням, короткостебельности, морозостойкости, продолжительности вегетационного периода, технологических качеств. Продемонстрирована роль цитоплазмы в экспрессии морозостойкости у мягкой пшеницы и тритикале. Генетический контроль некоторых признаков исследован с использованием методов анеуплоидного анализа. Экспериментально созданные селекционно ценные формы и линии были переданы в коллекцию ВИР и селекционные учреждения страны.

В связи с большими надеждами практического использования гетерозисных гибридов яровой мягкой пшеницы Трофимом Яковлевичем было организовано изучение генетики цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС). Выяснено, что восстановление фертильности у форм пшеницы *T. aestivum* с цитоплазмой *T. timopheevii* может быть обусловлено действием двух генов. Впервые был открыт стерилизующий эффект цитоплазмы *T. araraticum* Jakubz. Как известно, ЦМС в наши дни является одним из основных методов получения гибридов у перекрестноопыляющихся культур и практического использования гетерозиса, однако у пшеницы из-за особенностей ее биологии такое направление не получило широкого развития.

Большое внимание Трофим Яковлевич уделял разработке методов селекции зимостойких сортов озимой пшеницы, в том числе с использованием гибридизации экологически отдаленных форм.

Во многих публикациях Т.Я. Зарубайло высказывал свое мнение о методах подбора исходного материала для селекции. Им впервые дано наиболее удачное определение понятия «донор». Он писал: «Слово «донор» означает «дающий», «дарящий». Поэтому донорами следует называть лишь те сорта или линии с высокими показателями того или иного признака, которые могут передать этот признак другим сортам сравнительно легко и не передадут вместе с ним каких-либо нежелательных признаков, от которых трудно или даже невозможно будет освободиться без одновременной утери переданного полезного признака. Выявление таких доноров возможно лишь путем генетического изучения соответствующих «кандидатов в доноры». В ряде случаев надежные доноры тех или иных, особенно генетически сложных, полезных признаков должны быть созданы путем ряда промежуточных скрещиваний, беккроссов, мутагенных воздействий и т. д.» (Зарубайло, 1976, С. 6). Это высказывание явилось заключительной частью дискуссии в отделе генетики ВИР и имело в дальнейшем большое значение для развития теории и методов создания исходного материала для селекции.

Большое значение для укрепления международного сотрудничества и обмена научным опытом и пополнения мировой коллекции ВИР новыми образцами сельскохозяйственных растений имели поездки Т.Я. Зарубайло в 1956 г. в Финляндию и в 1959 г. в Египет, Сирию, Судан и Эфиопию. Во время посещения Австралии в 1962 г. им был установлен творческий контакт с ведущим генетиком и селекционером этой страны I.A. Watson (Сиднейский университет, University of Sydney). От него был получен ценный гибридный материал – результат скрещивания представителей разнохромосомных видов пшеницы, среди которого путем гибридологического анализа были идентифицированы гены устойчивости к грибным болезням, эффективные в условиях нашей страны.

У Трофима Яковлевича Зарубайло всегда было четко выражено стремление к разработке



теоретических основ селекции, к познанию закономерностей наследования хозяйственно ценных признаков растений и использованию этих знаний для решения наиболее важных задач селекции. Во многом благодаря ему в ВИРе не потеряна преемственность в развитии генетических исследований, сохранены научные традиции и использованы результаты последних достижений современной генетики. Его активная работа по возрождению генетики оказала существенное влияние на процесс взаимопроникновения методов генетики, физиологии, биохимии, иммунологии, систематики, филогенетики, что является характерным при всестороннем изучении многообразия наследственных вариантов растений, сосредоточенных в коллекциях ВИРа. Под его руководством многие молодые исследователи получили хорошую подготовку и защитили кандидатские и докторские диссертации. Эти работы посвящены важным проблемам биологической науки, имеющим большое значение для сельского хозяйства. Среди его учеников доктора биологических наук В.Г. Гриф, Н.В. Фесенко и Б.В. Ригин, кандидаты биологических наук О.А. Гуриели, Р.И. Ионушите, Р.М. Карамышев, Т.В. Лебедева, Н.И. Приходько, Н.А. Скурыгина, Э.В. Таврин, Н.А. Соболев и Т.И. Соболева.

Трофиму Яковлевичу было присуще беззаветное служение науке, высокое чувство долга, исключительная добросовестность в проведении научных экспериментов, личная скромность, доброжелательность и обходительность. Благодаря высокой научной честности, исключительной доброте и отзывчивости, он пользовался большим уважением и авторитетом у всех сотрудников института.

Т.Я. Зарубайло избирался в состав ученого совета ВИР, многие годы возглавлял диссертационный Совет по присуждению ученой степени доктора наук при ВИРе, являлся членом редколлегии «Трудов по прикладной ботанике, генетике и селекции», состоял членом Всесоюзного общества генетиков и селекционеров им. Н.И. Вавилова.

За заслуги перед государством в мирное время Трофим Яковлевич награжден орденами «Трудового Красного Знамени» и «Знак Почета», медалью «В память 250-летия Ленинграда».

### Основные работы Т.Я. Зарубайло

- Костюченко И.А., Зарубайло Т.Я. Естественная яровизация зерна на растении в период созревания // Селекция и семеноводство. 1935. № 3 (11). С. 39–42.
- Костюченко И.А., Зарубайло Т.Я. Естественная яровизация зерна на растении в период созревания // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. Сер. А. Соц. растениеводство. 1936. № 17. С. 17–23.
- Костюченко И.А., Зарубайло Т.Я. О возможности прохождения стадии яровизации в созревающих семенах на растении // Тр. Ин-та генетики АН СССР. 1937. № 26/27. С. 33–47.
- Костюченко И.А., Зарубайло Т.Я. Яровизация семян при созревании и ее практическое значение // Селекция и семеноводство. 1937. № 6. С. 39–42.
- Kostjuchenko I.A., Zarubailo T.Ja. Vernalization of seed during ripening and its significance in practice // Herb. Rev. 1937. V. 5. P. 146–157.
- Зарубайло Т.Я. Восприимчивость незрелых семян пшеницы к яровизирующему действию пониженных температур // Докл. АН СССР. Новая серия. 1938. Т. 19. № 1/2. С. 30–32.
- Зарубайло Т.Я. Действие пониженных температур на семена пшеницы в период их созревания // Докл. ВАСХНИЛ. 1938. № 19/20. С. 3–5.
- Зарубайло Т.Я. Значение условий созревания семян для последующего развития растений // Сов. ботаника. 1938. № 4/5. С. 22–43.
- Зарубайло Т.Я. О характере действия пониженных температур на созревающие семена пшеницы // Селекция и семеноводство. 1938. № 8/9. С. 26–27.
- Костюченко И.А., Зарубайло Т.Я. Изменчивость биологических свойств растений в зависимости от условий созревания семян // Журн. Института ботаники АН УРСР. 1938. № 18/19. С. 26–27.
- Зарубайло Т.Я., Кислюк М.М. Изменчивость озимой пшеницы в результате прохождения стадии яровизации в условиях, отклоняющихся от нормы // Селекция и семеноводство. 1948. № 10. С. 17–25.
- Зарубайло Т.Я., Кислюк М.М. Условия прохождения стадии яровизации как фактор наследственной изменчивости // Агробиология. 1948. № 3. С. 29–32.
- Зарубайло Т.Я. Некоторые новые данные о влиянии температурных условий созревания семян на последующее развитие растений // Сб. тр. Пушкинских лаб. ВИР. 1949. С. 163–185.
- Зарубайло Т.Я. О работе лаборатории развития растений // Сб. тр. Пушкинских лаб. ВИР. 1949. С. 45–47.
- Зарубайло Т.Я., Иванов Н.Р., Коваленко Г.М. Краткие итоги работы Пушкинских лабораторий ВИРа в



- области изучения исходного материала для селекции сельскохозяйственных культур // Сб. тр. Пушкинских лаб. ВИРа. 1949. С. 67–85.
- Зарубайло Т.Я. Великий русский ученый К.А. Тимирязев. М.: Изд. Всесоюз. об-ва по распространению полит. и научных знаний, 1950. 40 с.
- Зарубайло Т.Я., Кислюк М.М. Улучшение семян яровых культур яровизацией при низких (отрицательных) температурах // Селекция и семеноводство. 1951. № 12. С. 43–47.
- Зарубайло Т.Я., Кислюк М.М. Яровизация при отрицательных температурах как метод воспитания зимостойкости // Селекция и семеноводство. 1951. № 8. С. 19–26.
- Зарубайло Т.Я. О возможности яровизации незрелых семян на материнском растении // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1952. Т. 29. Вып. 3. С. 3–11.
- Зарубайло Т.Я., Кислюк М.М. Воздействие отрицательными температурами на стадии яровизации как фактор формообразования // Агробиология. 1953. № 5. С. 92–99.
- Зарубайло Т.Я. Некоторые закономерности изменчивости при превращении яровых форм пшеницы в озимые // Достижения биологической науки. Матер. юб. сессии ВАСХНИЛ, посвященной 100-летию со дня рождения И.В. Мичурина. М.: Сельхозгиз, 1958. С. 140–154.
- Зарубайло Т.Я. Некоторые итоги работы по гибридизации пшеницы // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1958. Т. 33. Вып. 1. С. 114–127.
- Зарубайло Т.Я. Некоторые особенности поведения гибридов, полученных от скрещивания экологически отдаленных форм // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1958. Т. 33. Вып. 1. С. 1.
- Зарубайло Т.Я. Экспериментальное превращение яровых форм в озимые и вопрос о гетерозиготности исходного материала // Наследственность и изменчивость растений, животных и микроорганизмов // Тр. конф., посвященной 40-летию Великой Октябрьской соц. революции (8–14 окт. 1957 г.). М.: Изд-во АН СССР, 1959. Т. 2. С. 57–64.
- Зарубайло Т.Я. Гибридизация и ее значение в повышении продуктивности растений. Л.; М.: Сельхозиздат, 1961. 119 с.
- Зарубайло Т.Я. Отношение к длине дня растений яровой пшеницы, предыдущие поколения которых подвергались воздействию низких температур // Морфогенез растений. М.: Изд-во МГУ, 1961. Т. 1. С. 201–204.
- Зарубайло Т.Я., Кислюк М.М. Ультразвук как мутагенный фактор // Бюл. ВИР. 1962. № 10. С. 25–26.
- Зарубайло Т.Я. Генетика растений // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1963. Т. 33. Вып. 2. С. 32–62.
- Зарубайло Т.Я. Направленное изменение наследственности растений и гибридизация // Вестн. с.-х. науки. 1963. № 3. С. 29–31.
- Зарубайло Т.Я. Направленная изменчивость наследственности растений и селекция пшеницы // Генетика сельскому хозяйству. М.: Колос, 1963. С. 276–284.
- Зарубайло Т.Я. О способности незрелых семян к яровизации на материнском растении // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1963. Т. 35. Вып. 2. С. 98–117.
- Зарубайло Т.Я., Сидоров В.В. Земледелие республики Судан // Вестн. с.-х. науки. 1963. № 1. С. 141–145.
- Лубенец П.А., Зарубайло Т.Я. Селекция и семеноводство важнейших сельскохозяйственных культур в Австралии // Сельское хозяйство за рубежом. 1963. № 4. С. 3–11.
- Таврин Э.В., Зарубайло Т.Я. Анпилогов М.З. Наследование устойчивости к болезням при отдаленных скрещиваниях пшениц // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1964. Т. 36. Вып. 1. С. 30–33.
- Зарубайло Т.Я. Некоторые закономерности изменчивости мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) под влиянием условий произрастания: Доклад на соискание ученой степени доктора биологических наук по совокупности опубликованных работ. Л.: ВИР, 1964. 66 с.
- Зарубайло Т.Я., Кислюк М.М., Кожушко Н.Н. Экспериментально полученные мутации у хлебных злаков (пшеница, ячмень, овес) под воздействием ионизирующих излучений // Генетика. 1965. № 6. С. 132–136.
- Лубенец П.А., Зарубайло Т.Я. Исследования по селекции, семеноводству и возделыванию сельскохозяйственных растений в Австралии // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1966. Т. 38. Вып. 2. С. 34–52.
- Брежнев Д.Д., Зарубайло Т.Я., Дорофеев В.Ф. Полвека советской селекционной науки // Вестн. с.-х. науки. 1967. № 4. С. 17–25.
- Зарубайло Т.Я. Изучение комбинационной ценности при подборе пар на гетерозис у пшеницы и проблема гибридной пшеницы // Гетерозис в растениеводстве. М.: Колос, 1968. С. 36–42.
- Будин К.З., Зарубайло Т.Я. Исследования по генетике растений // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1969. Т. 41. Вып. 1. С. 296–303.
- Зарубайло Т.Я., Ригин Б.В., Ригина С.И. *Triticale* как исходный материал при селекции мягкой пшеницы на иммунитет к мучнистой росе (*Erysiphe graminis* D.C. f. sp. *tritici* March.) // Бюл. ВИР. 1970. Вып. 15. С. 9–12.

- Зарубайло Т.Я., Ригин Б.В., Хван О. Формообразовательные процессы у *Triticale* // Матер. 3-го Всесоюз. совещ. по полиплоидии. Минск, 1970. С. 47–48.
- Tavrin E.W., Zarubailo T.Y. Die Schaffen der gegen die Krankheiten resistenten, neuen hexaploiden Formen des Weizen // *Sveriges vtsädesförenings tidskrift*. 1971. Z. 72–83.
- Зарубайло Т.Я., Таврин Э.В. Новые аллогексаплоиды пшеницы, их плодовитость и устойчивость к болезням // Бюл. ВИР. 1972. Вып. 24. С. 30–34.
- Зарубайло Т.Я., Ригин Б.В., Скурыгина Н.А., Таврин Э.В. Проблемы отдаленной гибридизации пшеницы // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1973. Т. 49. Вып. 3. С. 59–71.
- Зарубайло Т.Я., Губарева Н.К., Таврин Э.В. Геномный анализ межвидовых гибридов пшеницы по белкам зерна // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1974. Т. 52. Вып. 1. С. 214–221.
- Зарубайло Т.Я. Г.Д. Карпеченко и межвидовая гибридизация растений // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1975. Т. 54. Вып. 1. С. 262–267.
- Зарубайло Т.Я. Перспективы создания высокозимостойких короткостебельных сортов озимой пшеницы // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1975. Т. 54. Вып. 1. С. 49–55.
- Зарубайло Т.Я., Ригин Б.В. Формообразовательные процессы у вторичных *Triticale* // Тритикале. Проблемы и достижения селекции. Л.: Изд-во ВИР, 1975. С. 181–185.
- Таврин Э.В., Зарубайло Т.Я., Губарева Н.К. Биохимическая и генетическая характеристика межвидовых и межродовых амфидиплоидов пшеницы // Науч. тр. ВАСХНИЛ: Проблемы белка в сельском хозяйстве. М.: Колос, 1975. С. 465–471.
- Зарубайло Т.Я. Генетические предпосылки создания продуктивных сортов зерновых культур // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1976. Т. 58. Вып. 1. С. 3–11.
- Зарубайло Т.Я. Генетическое изучение исходного материала и путей его использования в селекции // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1977. Т. 60. Вып. 1. С. 124–128.
- Таврин Э.В., Зарубайло Т.Я. Экспериментальное получение форм сельскохозяйственных растений, ценных в селекционном отношении // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1977. Т. 59. Вып. 3. С. 103–107.
- Таврин Э.В., Зарубайло Т.Я., Губарева Н.К. О скрещиваемости *T. macha* с амфиплоидом *T. palaeocolchicum* × *T. monococcum* и *T. aestivum* // Бюл. ВИР. 1979. Вып. 89. С. 16–22.
- Лебедева Т.В., Зарубайло Т.Я. Наследование устойчивости против мучнистой росы у интрогрессивных линий мягкой пшеницы // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1980. Т. 67. Вып. 3. С. 3–11.
- Зарубайло Т.Я. Некоторые итоги генетических исследований // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1984. Т. 85. С. 3–5.

**Профессор Б.В. Ригин**

ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург

## ЮБИЛЕЙ ВЫДАЮЩЕГОСЯ ГЕНЕТИКА КУКУРУЗЫ ЭДВАРДА КО

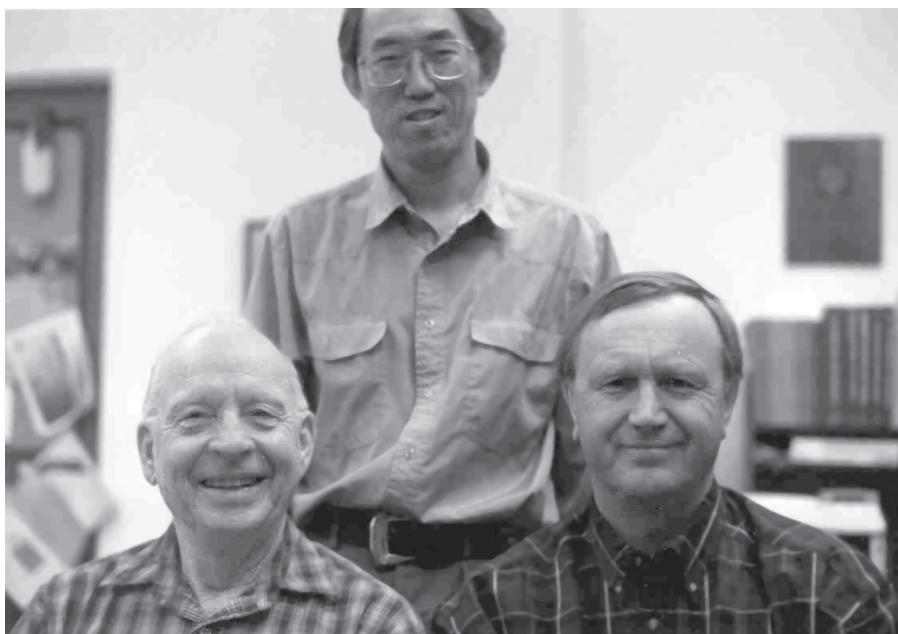
7 декабря 2006 г. исполнилось 80 лет выдающемуся генетику кукурузы Эдварду Ко. Эдвард, или как он предпочитает обращение к себе, Эд, родился в Сан-Антонио в Техасе в семье военного инженера. По всей видимости, любовь к растениям ему привила мать, которой он в детстве много помогал в уходе за садом. Кроме того, как практически все американские подростки, летом он подрабатывал, помогая домовладельцам поддерживать дворные участки в Арлингтоне, куда семья переехала через полгода после его рождения.

Эдвард Ко обучался в Университете Джорджа Вашингтона в Сент-Луисе и, по его собственным словам, не был целеустремленным студентом. Учеба Эда была прервана на два года службой в армии США в оккупационных вой-

сках в Корее. После службы с 1949 по 1951 гг. Эдвард работал над магистерской диссертацией в Университете Миннесоты под руководством Чарльза Бернхэма. С 1951 по 1954 гг. Эд обучался в аспирантуре Университета Иллинойса у Джона Лафнана, где и получил степень доктора философии (PhD). Далее он работал в качестве постдока (postdoc) в Калифорнийском технологическом институте с Е. Андерсоном.

На первой фотографии доктор Ко в 1954 г., ее условно можно назвать «с молотком на мобильные элементы». Следует отметить очень характерное для Эда восприятие всего с легкой долей иронии и юмора, очень похожее на то, как советовал Н.В. Тимофеев-Ресовский, не относиться к своим результатам «со звериной серьезностью».





В 1955 г. Эд Ко поступил на службу в генетическую группу Министерства земледелия в Университете Миссури, где работает по сей день. За время работы в этой группе Эд проделал с кукурузой работу от «А» до «Я» (согласно латинскому алфавиту от «А» до «Z»), а именно: от изучения генетики антоциановой окраски и биосинтеза антоцианинов до прикладных исследований. Наиболее известны его результаты по исследованию линий продуцентов гаплоидов, контролю тканеспецифичной экспрессии генов синтеза антоцианов. Эд Ко является открывателем генов, экспрессирующихся в гаплофазе. Им сделан значительный вклад в работы по менделевскому наследованию (парамутации в В-локусе кукурузы). Много лет Эдвард осуществлял руководство изданием журнала «Maize News Letters», которое он принял от М.М. Родса. Кроме того, он постоянно участво-

вал в качестве председателя или члена оргкомитета Стадлеровского симпозиума по генетике. За исследования по генетике кукурузы Эд Ко удостоен медали Томаса Гента Моргана Американской генетической ассоциации, которой, по словам его коллег, очень гордится. В его кабинете эта медаль находится на почетном месте – на полке сразу за его креслом (и на опубликованном втором снимке, хотя и не очень четко, она видна – в деревянной рамке на стене).

В настоящее время Эдвард Ко ведет огромную работу по поддержанию банка данных по исследованию кукурузы, который был создан под его руководством в Университете Миссури.

Желаем юбиляру крепкого здоровья и дальнейших успехов, все остальное у Эдварда Ко уже есть, в том числе и самое главное – признание коллег и уважение к нему как к человеку и исследователю.

**В.А. Соколов**





## ПАМЯТИ Л. И. КОРОЧКИНА

19 августа 2006 г. в результате нелепого дорожно-транспортного происшествия погиб Леонид Иванович Корочкин – выдающийся генетик и эмбриолог, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией в Институте биологии гена.

Леонид Иванович родился 16 апреля 1935 г. в г. Новокузнецке в семье медицинских работников. Отец, Иван Григорьевич, заслуженный врач РСФСР, а мать, Антонина Васильевна, до выхода на пенсию работала медсестрой.

В 1954 г. после окончания с золотой медалью мужской средней школы № 1 в г. Кемерово Л. Корочкин поступил на лечебный факультет Томского государственного медицинского института, который закончил в 1960 г.

С первых же курсов Леонид Иванович проявил большой интерес к научной работе и работе студенческих научных обществ: он был именованным стипендиатом, председателем научного студенческого общества им. Н.И. Пирогова, председателем городского научного сту-

денческого общества. По окончании обучения в институте Леонид Иванович был принят в аспирантуру при кафедре гистологии Томского государственного медицинского института. Уже через год, в 1961 г., он защитил кандидатскую диссертацию по дифференцировке интрамурального нервного аппарата пищеварительной трубки человека.

Леонид Иванович одним из первых в стране начал использовать гистохимические методы для исследования процессов нейрогенеза и, сочетая эти методы с классическими, выявил нейронные ансамбли в сплетениях автономной нервной системы и сформулировал «групповой принцип» развития и функционирования нейронов, согласно которому эти процессы осуществляются объединенными в ансамбли (сети) клетками, что, в сущности, означало открытие модульного принципа организации применительно к автономной нервной системе. Леонид Иванович выявил также факторы, обуславливающие неравномерное распределение нервных



клеток разного типа вдоль пищеварительной трубки. Разработанные им принципы гистохимического тестирования функциональной активности нейронов до сих пор используются в нейрогистологии и патогистологии. После успешной защиты диссертации Леонид Иванович организовал гистохимический кабинет при Центральной научно-исследовательской лаборатории Томского медицинского института. Возглавляемый им коллектив развернул активную работу по сравнительному исследованию организации и развития вегетативной нервной системы у разных видов животных и человека, а также по изучению патологических процессов в этой системе. Леонид Иванович выявил репаративные процессы в интрамуральной нервной системе желудка и впервые показал наличие нейробластического резерва и его участие в этих процессах. На основании многочисленных гистофизиологических экспериментов с использованием физиологических, гистохимических и нейрогистологических методов им была впервые разработана детальная схема организации интрамуральной нервной системы пищеварительной трубки, которая не утратила актуальности в современной неврологии.

Леонид Иванович обобщил результаты своих исследований в монографии «Дифференцировка и старение вегетативного нейрона» (М.: Л.: Наука, 1965). Эту монографию он защитил в 1968 г. в качестве докторской диссертации.

В Институте цитологии и генетики СО АН СССР Л.И. Корочкин начал работать в 1964 г. Здесь он организовал сначала группу, а затем лабораторию генетических основ онтогенеза. Темой его исследований на долгие годы стала роль генетического аппарата клеток в процессе их детерминации и дифференцировки. Обладая даром видеть интегральную картину изучаемого явления и умением найти адекватный экспериментальный подход к его анализу, Леонид Иванович в этот период обращается и к исследованию ЦНС млекопитающих, и к выявлению сложной системы генетической регуляции работы половой системы самцов дрозофилы. Он со своими учениками продемонстрировал периодичность морфогенетической активности ядер в ходе развития коры головного мозга млекопитающих. Впервые в СССР были начаты исследования по генетике изоферментов в

отдельных органах, которые переросли в большой цикл работ, продолженный позднее в Москве.

В лаборатории были освоены методы изоляции отдельных клеток и микрометоды их молекулярно-генетического анализа, что позволило характеризовать генетически состояние различных клеточных популяций. Был разработан уникальный и оригинальный метод высоковольтного электрофореза отдельных клеток в плоских капиллярах с последующим выявлением фракций белков и изоферментов в них. В фундаментальном руководстве О. Graal «Electrophoresis in the separation of biological macromolecules» (New-York; Toronto: J. Wiley and Sons, 1980) цитируются только две отечественные работы, в том числе работа Леонида Ивановича, посвященная микрометодам анализа изолированных клеток. Его монография «Взаимодействие генов в развитии» (М.: Наука, 1977), подводившая итоги этой работы, была переведена на английский язык и издана в издательстве «Springer-Verlag» в 1981 г. В 1977 г. возглавляемый им коллектив издал уникальное в отечественной и мировой литературе руководство «Генетика изоферментов», до сих пор пользующееся большой популярностью. В дальнейшем итоги работы его школы были изложены в таких книгах, как «Введение в генетику развития» (М.: Наука, 1999), «Введение в нейрогенетику» (М.: Наука, 2000), «Биология индивидуального развития» (М.: МГУ, 2002) и многочисленных публикациях в отечественной и зарубежной литературе.

Первым в СССР Леонид Иванович освоил и широко использовал в своих исследованиях новое направление науки, а именно генетику изоферментов, и разработал оригинальный метод, позволяющий с помощью высоковольтного электрофореза определять спектр изоферментов в отдельных изолированных клетках, охватывая большие клеточные популяции. Длительное время работая в Каролинском институте в знаменитой лаборатории Яна-Эрика Эдстрема, он овладел уникальной техникой молекулярного анализа синтеза РНК в отдельных клетках. Сосредоточив свое внимание на молекулярно-генетических процессах в клетке, Леонид Иванович успешно исследовал две экспериментальные модели. Одна из них – генетически

детерминированная предрасположенность крыс Крушинского-Молодкиной к аудиогенным эпилептическим припадкам – касалась изучения функционирования генетического аппарата клеток в постнатальном периоде. Он показал исходные различия в метаболизме РНК в мозге крыс этой линии по сравнению с нормой. Он выявил «дежурные» нейроны, от реакции которых зависел неадекватный ответ крыс на воздействие звуковым сигналом. Под его руководством была выполнена работа по селекции «умных» и «глупых» крыс и обнаружены различия функционирования генетического аппарата в мозге этих линий. Вторая экспериментальная модель, разработанная Леонидом Ивановичем, была посвящена исследованию генетической регуляции тканеспецифического синтеза белка у дрозофилы. Он обнаружил специфический белок – эстеразу, синтезируемый в половой системе самцов различных видов дрозофилы, и проанализировал генетические механизмы регуляции его экспрессии у *Drosophila melanogaster* и *D. virilis*. Результатом этих многолетних исследований было выделение структурного гена эстеразы. Подробные и разносторонние исследования тканеспецифических эстераз у разных видов дрозофилы позволили выявить архитектуру генетической системы, связанной с регуляцией полового поведения мух. Эта работа остается непревзойденной и сегодня. В дальнейшем в совместных исследованиях с А.Т. Михайловым и их испанскими коллегами было показано, что эта генетическая система регуляции полового поведения самцов универсальна, поскольку гомологичные гены были найдены у млекопитающих, рыб, моллюсков и др.

В 1980 г. Леонид Иванович, будучи уже одним из ведущих нейробиологов нашей страны, организовал лабораторию генетики развития в Институте биологии развития им. Н.К. Кольцова АН СССР, а в 1991 г. – и лабораторию нейрогенетики и генетики развития в Институте биологии гена РАН в Москве.

Приступив к необычным экспериментам по трансплантации нервной ткани дрозофилы в мозг других организмов, Леонид Иванович начал новую серию исследований, которая привела к разработке метода трансформации стволовых клеток с помощью регуляторных элементов генома дрозофилы. Было обнаружено

также блокирующее влияние белка теплового шока HSP-70 на развитие рубцовой ткани вокруг трансплантата. Были открыты новые гены, ответственные за дифференцировку специфических типов клеток в коре головного мозга млекопитающих, а также изучен ген, контролирующий процесс стратификации в ходе кортикогенеза.

Школа Л.И. Корочкина начала складываться еще в 1960-е гг. в период его работы в Новосибирском Академгородке. В Институте цитологии и генетики СО РАН была организована небольшая неформальная группа генетики индивидуального развития, преобразованная в 1972 г. в лабораторию генетических основ онтогенеза.

Леонид Иванович постоянно читал курсы лекций по генетике развития и нейрогенетике. Под его руководством выполнено и защищено 50 кандидатских диссертаций и проконсультирована работа над 15 докторскими диссертациями. Его ученики успешно работают как в России, так и во многих странах мира.

Он автор около 500 научных публикаций в отечественной и зарубежной печати, написал 6 монографий и 2 учебника. Леонид Иванович – автор ряда философских произведений. В книгах «Христианство и судьбы человечества» и «Недогматическое христианское богословие» он дает оригинальную трактовку Библии, по-новому рассматривает взаимоотношения науки и религии. Книга «Свет и тьма» посвящена критике марксизма-ленинизма, в ней раскрывается античеловеческая сущность коммунистической идеологии. В философских статьях Леонид Иванович анализирует проблемы философии биологии, истории русской философии, проводит сравнительный анализ различных философских систем, в частности, позитивизма, прагматизма, экзистенциализма, выдвигает принцип единства (триединства) науки, искусства и религии. Оригинальную философскую трактовку дает он истории современной живописи, формированию различных направлений авангарда.

Друзья знали Леонида Ивановича и как оригинального художника-авангардиста, участвовавшего в знаменитых выставках на Малой Грузинской, имевшего персональные выставки в Мальтийском посольстве, в Москве, Казани и Новосибирске. Многие его картины представ-

лены в частных коллекциях в нашей стране и за рубежом (США, Франция, Англия, Мальта, Германия).

Увлекался футболом. В качестве вратаря защищал честь Института цитологии и генетики на первенствах Новосибирского Академгородка по футболу, получил 3-й спортивный разряд.

Заслуги Л.И. Корочкина отмечены Государственной премией РФ и Премией РАН им. Н.К. Кольцова, он был избран членом-корреспондентом РАН, действительным членом РАЕН и Российской медико-технической академии, почетным членом Московского отделения Вавиловского общества генетиков и селекционеров. Постоянно участвовал в организации научных конференций, был заместителем генерального секретаря Международного генетического конгресса в Москве в 1978 г. Являлся членом редколлегий отечественных и зарубежных журналов, а также ученых и научных сове-

тов, членом Центрального совета ВОГиС им. Н.И. Вавилова, членом бюро Научного совета по биологии развития, экспертом РФФИ.

Трудно принять эту огромную утрату для науки, семьи, его друзей. Человек огромных научных знаний, широкого круга интересов, он многое умел и многое успел совершить, но еще мог бы многое сделать, если бы не этот ужасный и нелепый случай.

Иногда по ритуалу произносят: «Светлая память». О Леониде Ивановиче действительно останется светлая память. Мы не знаем ни одного человека, кого бы он обидел или того, кто сказал о нем дурное слово. Всегда простой в обращении, добросердечный, веселый, с тонким чувством юмора, он был всеобщим любимцем. Огромное число людей обращались к нему по разным поводам за помощью, и он всегда, именно делом, помогал. У многих из нас Леонид Иванович оставил свои книги, картины и свой светлый образ.

**И.Ф. Жимулев, Л.А. Васильева, С.М. Закиян**

Отредактировано и подготовлено к печати  
в редакционно-издательском отделе ИЦиГ СО РАН

Редакторы: А.А. Ончукова, И.Ю. Ануфриева  
Дизайн А.В. Харкевич  
Компьютерная графика: А.В. Харкевич, Т.Б. Коняхина  
Компьютерная верстка Н.С. Глазкова

Подписано к печати 28.11.2006 г.  
Формат бумаги 60×84 1/8. Усл.-печ.л. 18,36. Уч.-изд.л. 16,67  
Тираж 400. Заказ 460

Отпечатано в типографии ГУ «Издательство СО РАН»  
630090, Новосибирск, Морской проспект, 2