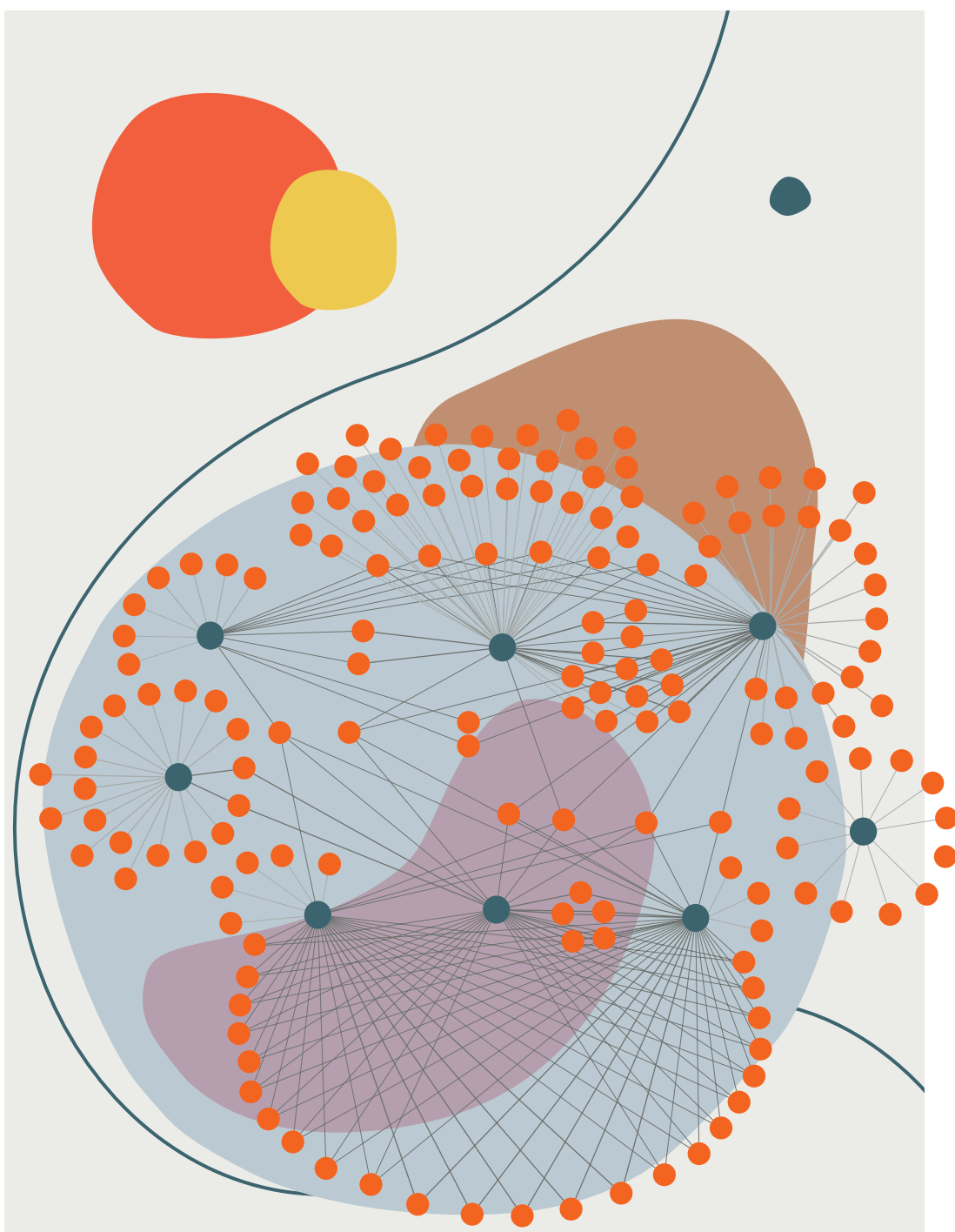


ВАВИЛОВСКИЙ

ЖУРНАЛ ГЕНЕТИКИ И СЕЛЕКЦИИ

VAVILOV JOURNAL OF GENETICS AND BREEDING

2026 • 30 • 5



Молекулярная и клеточная биология / Генетика растений / Генетика человека /
Медицинская генетика / Биоинформатика и системная биология

Сетевое издание

ВАВИЛОВСКИЙ ЖУРНАЛ ГЕНЕТИКИ И СЕЛЕКЦИИ

VAVILOV JOURNAL OF GENETICS AND BREEDING

*Основан в 1997 г.**Периодичность 8 выпусков в год**doi 10.18699/vjgb-26-71***Учредители**

Сибирское отделение Российской академии наук

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»

Межрегиональная общественная организация Вавиловское общество генетиков и селекционеров

Главный редактор

А.В. Кочетов – академик РАН, д-р биол. наук, профессор РАН (Россия)

Заместители главного редактора

Н.А. Колчанов – академик РАН, д-р биол. наук, профессор (Россия)

И.Н. Леонова – д-р биол. наук (Россия)

Н.Б. Рубцов – д-р биол. наук, профессор (Россия)

Ответственный секретарь

Г.В. Орлова – канд. биол. наук (Россия)

Редакционная коллегия

Е.Е. Андронов – д-р биол. наук (Россия)

Ю.С. Аульченко – д-р биол. наук (Нидерланды)

О.С. Афанасенко – академик РАН, д-р биол. наук (Россия)

Д.А. Афонников – д-р биол. наук, доцент (Россия)

Л.И. Афтанас – академик РАН, д-р мед. наук (Россия)

Л.А. Беспалова – академик РАН, д-р с.-х. наук (Россия)

А. Бёрнер – д-р наук (Германия)

Н.П. Бондарь – канд. биол. наук (Россия)

С.А. Боринская – д-р биол. наук (Россия)

П.М. Бородин – д-р биол. наук, проф. (Россия)

А.В. Васильев – чл.-кор. РАН, д-р биол. наук (Россия)

М.И. Воевода – академик РАН, д-р мед. наук (Россия)

Т.А. Гавриленко – д-р биол. наук (Россия)

Н.Е. Грунтенко – д-р биол. наук (Россия)

С.А. Демаков – д-р биол. наук (Россия)

И.К. Захаров – д-р биол. наук, проф. (Россия)

И.А. Захаров-Гезехус – чл.-кор. РАН, д-р биол. наук (Россия)

С.Г. Инге-Вечтомов – академик РАН, д-р биол. наук (Россия)

А.В. Кильчевский – чл.-кор. НАНБ, д-р биол. наук (Беларусь)

Д.М. Ларкин – канд. биол. наук (Великобритания)

С.А. Лашин – д-р биол. наук (Россия)

Ж. Ле Гуи – д-р наук (Франция)

И.Н. Лебедев – чл.-кор. РАН, д-р биол. наук, проф. (Россия)

Л.А. Лутова – д-р биол. наук, проф. (Россия)

Б. Люгтенберг – д-р наук, проф. (Нидерланды)

В.Ю. Макеев – чл.-кор. РАН, д-р физ.-мат. наук (Россия)

И.В. Максимов – д-р биол. наук (Россия)

Б.А. Малярчук – д-р биол. наук (Россия)

Ю.Г. Матушкин – канд. биол. наук (Россия)

В.И. Молодин – академик РАН, д-р ист. наук (Россия)

М.П. Мошкин – д-р биол. наук, проф. (Россия)

Л.Ю. Новикова – д-р с.-х. наук (Россия)

Е.К. Потокина – д-р биол. наук (Россия)

В.П. Пузырев – академик РАН, д-р мед. наук (Россия)

Д.В. Пышный – чл.-кор. РАН, д-р хим. наук (Россия)

Е.Ю. Рыкова – д-р биол. наук (Россия)

Е.А. Салина – чл.-кор. РАН, д-р биол. наук, проф. (Россия)

В.А. Степанов – академик РАН, д-р биол. наук (Россия)

И.А. Тихонович – академик РАН, д-р биол. наук (Россия)

Е.К. Хлесткина – чл.-кор. РАН, д-р биол. наук, проф. РАН (Россия)

Э.К. Хуснутдинова – д-р биол. наук, проф. (Россия)

М. Чен – д-р биол. наук (Китайская Народная Республика)

Е.В. Шахтшнейдер – д-р мед. наук (Россия)

С.В. Шестаков – академик РАН, д-р биол. наук (Россия)

С.В. Шеховцов – д-р биол. наук (Россия)

Н.С. Юдин – канд. биол. наук (Россия)

Н.К. Янковский – академик РАН, д-р биол. наук (Россия)

Online edition

VAVILOVSKII ZHURNAL GENETIKI I SELEKTSII

VAVILOV JOURNAL OF GENETICS AND BREEDING

*Founded in 1997**Publication frequency: 8 issues a year*

doi 10.18699/vjgb-26-71

Founders

Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences

Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences

The Vavilov Society of Geneticists and Breeders

Editor-in-Chief*A.V. Kochetov*, Full Member of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Biology), Professor of the RAS, Russia**Deputy Editor-in-Chief***N.A. Kolchanov*, Full Member of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Biology), Russia*I.N. Leonova*, Dr. Sci. (Biology), Russia*N.B. Rubtsov*, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia**Executive Secretary***G.V. Orlova*, Cand. Sci. (Biology), Russia**Editorial board***O.S. Afanasenko*, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology), Russia*D.A. Afonnikov*, Associate Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia*L.I. Aftanas*, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Medicine), Russia*E.E. Andronov*, Dr. Sci. (Biology), Russia*Yu.S. Aulchenko*, Dr. Sci. (Biology), The Netherlands*L.A. Bespalova*, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Agricul.), Russia*N.P. Bondar*, Cand. Sci. (Biology), Russia*S.A. Borinskaya*, Dr. Sci. (Biology), Russia*P.M. Borodin*, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia*A. Börner*, Dr. Sci., Germany*M. Chen*, Dr. Sci. (Biology), People's Republic of China*S.A. Demakov*, Dr. Sci. (Biology), Russia*T.A. Gavrilenko*, Dr. Sci. (Biology), Russia*N.E. Gruntenko*, Dr. Sci. (Biology), Russia*S.G. Inge-Vechtomov*, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology), Russia*E.K. Khlestkina*, Corr. Member of the RAS, Professor of the RAS,

Dr. Sci. (Biology), Russia

E.K. Khusnutdinova, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia*A.V. Kilchevsky*, Corr. Member of the NAS of Belarus, Dr. Sci. (Biology),

Belarus

D.M. Larkin, Cand. Sci. (Biology), Great Britain*S.A. Lashin*, Dr. Sci. (Biology), Russia*J. Le Gouis*, Dr. Sci., France*I.N. Lebedev*, Corr. Member of the RAS, Professor, Dr. Sci. (Biology),

Russia

B. Lugtenberg, Professor, Dr. Sci., Netherlands*L.A. Lutova*, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia*V.Yu. Makeev*, Corr. Member of the RAS, Dr. Sci. (Physics and Mathem.),

Russia

I.V. Maksimov, Dr. Sci. (Biology), Russia*B.A. Malyarchuk*, Dr. Sci. (Biology), Russia*Yu.G. Matushkin*, Cand. Sci. (Biology), Russia*V.I. Molodin*, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (History), Russia*M.P. Moshkin*, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia*L.Yu. Novikova*, Dr. Sci. (Agricul.), Russia*E.K. Potokina*, Dr. Sci. (Biology), Russia*V.P. Puzyrev*, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Medicine),

Russia

D.V. Pyshnyi, Corr. Member of the RAS, Dr. Sci. (Chemistry),

Russia

E.Y. Rykova, Dr. Sci. (Biology), Russia*E.A. Salina*, Corr. Member of the RAS, Professor,

Dr. Sci. (Biology), Russia

E.V. Shakhtshneider, Dr. Sci. (Medicine), Russia*S.V. Shekhovtsov*, Dr. Sci. (Biology), Russia*S.V. Shestakov*, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology),

Russia

V.A. Stepanov, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology),

Russia

I.A. Tikhonovich, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology),

Russia

A.V. Vasiliev, Corr. Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology), Russia*M.I. Voevoda*, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Medicine),

Russia

N.K. Yankovsky, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology),

Russia

N.S. Yudin, Cand. Sci. (Biology), Russia*I.K. Zakharov*, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia*I.A. Zakharov-Gezekhus*, Corr. Member of the RAS,

Dr. Sci. (Biology), Russia

Молекулярная и клеточная биология

- 713 **ОБЗОР**
Патогенные модуляторы клеточного старения. Е.В. Симороз, Е.В. Антонов, Г.С. Муравьев, Е. Василевская, Е.И. Рогаев

Генетика растений

- 725 **ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**
Изменение длины теломер растений *Arabidopsis thaliana* в результате инфицирования фитопатогенными бактериями *Pseudomonas syringae* DC3000. А.В. Санникова, Л.Р. Абдулкина, М.Р. Шарипова, Л.Р. Валеева
- 735 **ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**
Молекулярно-цитогенетический анализ некоторых видов *Picea* из Евразии и Восточной Азии. О.В. Горячкина, Е.Д. Бадаева, А.Б. Щербань, Е.Н. Муратова

Генетика человека

- 747 **ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**
Филогеографический анализ полиморфизма митохондриальных геномов шорцев. Б.А. Мальярчук, Г.А. Денисова, А.Н. Литвинов, Н.В. Похилиук
- 755 **ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**
Оценка генетических показателей, влияющих на надежность и эффективность реконструкции родословной в популяциях лесных и тундровых ненцев, при использовании X-STR маркеров. К.В. Вагайцева, Н.А. Колесников, О.М. Буренкова, И.А. Волкова, О.Д. Рузавина, В.Н. Харьков, В.А. Степанов
- 761 **ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**
Геномные профили жителей Фанагории хазарского времени. В.С. Окованцев, А.Д. Манахов, Е.В. Рождественских, С.Е. Храпов, М.В. Добровольская, Н.Г. Свиркина, С.Н. Остапенко, В.Д. Кузнецов, Т.В. Андреева, Е.И. Рогаев

Медицинская генетика

- 775 **ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**
Анализ спектра мутаций гена *CFTR* в ХМАО-Югре. М.Ю. Донников, А.В. Морозкина, Л.В. Коваленко, Н.А. Донникова, В.В. Мещеряков (на англ. языке)
- 782 **ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**
Анализ распределения гаплотипов генов *IL13* и *ADAM33* у русских, хакасов и тувинцев в связи с риском развития бронхиальной астмы. М.В. Смольникова, К.В. Афоничева, А.Г. Милейко
- 792 **ОБЗОР**
Унаследованная и соматическая компоненты в патогенетике многофакторных заболеваний. М.С. Назаренко, А.А. Слепцов, В.П. Пузырев
- 803 **ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**
Анализ влияния интронных вариантов с.940+3_940+6del, с.941-3C>G и с.2389+5G>A гена *LDLR* на сплайсинг пре-мРНК с использованием системы минигенов. В.Ю. Данильченко, Д.Е. Иванощук, О.В. Тимощенко, Е.А. Панина, П.С. Орлов, Е.В. Шахтштейндер
- 814 **ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**
Новый вариант с.1185_1196dup (p.(Gly396_Ser399dup)) в гене *SLC26A4*, ассоциированный с рецессивно наследуемой тугоухостью. М.В. Зыцарь, В.Ю. Данильченко, А.А. Бондарь, К.Е. Орищенко, О.Л. Посух
- 824 **ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**
Аллель *APOE* ε2 ассоциирован в российской когорте с риском неоваскулярной возрастной макулярной дегенерации. О.С. Кожевникова, И.Ф. Никулич, А.С. Дербенёва, В.А. Девяткин, Н.Г. Колосова, А.Ж. Фурсова (на англ. языке)

Биоинформатика и системная биология

- 830 **ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**
Выявление потенциальных генов-мишеней малых некодирующих фрагментов тРНК трематод среди дифференциально экспрессирующихся генов моноцитов человека. Е.А. Лишай, М.Ю. Пахарукова

Molecular and cell biology

- 713 **REVIEW**
Pathogenic modulators of cellular senescence.
E.V. Simoroz, Y.V. Antonov, G.S. Muravyov, J. Vasilevska, E.I. Rogaev

Plant genetics

- 725 **ORIGINAL ARTICLE**
Changes in telomere length in *Arabidopsis thaliana* plants infected with the phytopathogenic bacteria *Pseudomonas syringae* DC3000.
A.V. Sannikova, L.R. Abdulkina, M.R. Sharipova, L.R. Valeeva
- 735 **ORIGINAL ARTICLE**
Molecular cytogenetic analysis of some *Picea* species from Eurasia and East Asia.
O.V. Goryachkina, E.D. Badaeva, A.B. Shcherban, E.N. Muratova

Human genetics

- 747 **ORIGINAL ARTICLE**
Phylogeographic analysis of mitochondrial genome polymorphism in the Shors.
B.A. Malyarchuk, G.A. Denisova, A.N. Litvinov, N.V. Pokhilyuk
- 755 **ORIGINAL ARTICLE**
Evaluation of genetic parameters affecting the reliability and effectiveness of kinship reconstruction in Forest and Tundra Nenets populations using X-STR markers. *K.V. Vagaytseva, N.A. Kolesnikov, O.M. Burenkova, I.A. Volkova, O.D. Ruzavina, V.N. Kharkov, V.A. Stepanov*
- 761 **ORIGINAL ARTICLE**
Genomic profiles of the Khazar period inhabitants of Phanagoria. *V.S. Okovantsev, A.D. Manakhov, E.V. Rozhdestvenskikh, S.E. Khrapov, M.V. Dobrovol'skaya, N.G. Svirkina, S.N. Ostapenko, V.D. Kuznetsov, T.V. Andreeva, E.I. Rogaev*

Medical genetics

- 775 **ORIGINAL ARTICLE**
Analysis of *CFTR* mutation spectrum in Yugra region (Russian Federation).
M.Yu. Donnikov, A.V. Morozkina, L.V. Kovalenko, N.A. Donnikova, V.V. Mescheryakov
- 782 **ORIGINAL ARTICLE**
Analysis of distribution of *IL13* and *ADAM33* gene haplotypes in Russians, Khakass, Tuvans in relation to the risk of developing bronchial asthma. *M.V. Smolnikova, K.V. Afonicheva, A.G. Mileyko*
- 792 **REVIEW**
Inherited and somatic components in the pathogenetics of common diseases.
M.S. Nazarenko, A.A. Sleptcov, V.P. Puzyrev
- 803 **ORIGINAL ARTICLE**
In vitro analysis of the effects of intronic variants c.940+3_940+6del, c.941-3C>G, and c.2389+5G>A in the *LDLR* gene on pre-mRNA splicing using a minigene assay.
V.Yu. Danilchenko, D.E. Ivanoshchuk, O.V. Timoshchenko, E.A. Panina, P.S. Orlov, E.V. Shakhshneider
- 814 **ORIGINAL ARTICLE**
A novel variant c.1185_1196dup (p.(Gly396_Ser399dup)) in the *SLC26A4* gene associated with recessive hearing loss.
M.V. Zytsar, V.Yu. Danilchenko, A.A. Bondar, K.E. Orishchenko, O.L. Posukh
- 824 **ORIGINAL ARTICLE**
The *APOE* ϵ 2 allele is associated with risk of neovascular age-related macular degeneration in a Russian cohort.
O.S. Kozhevnikova, I.F. Nikulich, A.S. Derbeneva, V.A. Devyatkin, N.G. Kolosova, A.Zh. Fursova

Bioinformatics and systems biology

- 830 **ORIGINAL ARTICLE**
Identification of potential target genes of the trematode transport RNA-derived small RNAs among differentially expressed genes of human monocytes.
E.A. Lishai, M.Y. Pakharukova

doi 10.18699/vjgb-26-72

Патогенные модуляторы клеточного старения

Е.В. Симороз ¹, Е.В. Антонов ¹, Г.С. Муравьев¹, Е. Василевская ¹ , Е.И. Рогаев ²¹ Научно-технологический университет «Сириус», федеральная территория «Сириус», Краснодарский край, Россия² Медицинская школа Чан Массачусетского университета, департамент психиатрии, Шрусбери, США vasilevskaya.e@talantiuspeh.ru

Аннотация. Клеточное старение (сенесценция) представляет собой необратимую утрату способности к пролиферации при сохранении жизнеспособности и метаболической активности клетки. Этот процесс сопровождается формированием провоспалительного секреторного фенотипа, ассоциированного со старением (SASP), который способен оказывать повреждающее воздействие на окружающие ткани и организм в целом. Накопление сенесцентных клеток в тканях способствует ускорению возрастных изменений организма и развитию сопутствующих патологий, а также оказывает влияние на различные физиологические процессы, включая эмбриональное развитие, заживление ран, рост опухолей и регуляцию иммунного ответа. Сложность процесса старения обусловлена многообразием его механизмов, потенциальной обратимостью и гетерогенностью. В области экспериментальной геронтологии особое внимание уделяется выявлению патогенных модуляторов, регулирующих образование и накопление сенесцентных клеток, и исследованию их влияния на функциональное состояние тканей. Особый интерес представляет выявление новых молекулярных механизмов, участвующих в регуляции процессов клеточного старения. Основные патогенно опосредованные молекулярные пути включают p53-опосредованное старение и путь p16INK4a/pRb, а также неканонические механизмы, такие как IFI1-MAVS, которые вызывают окислительный стресс, повреждение ДНК, активацию SASP и другие клеточные нарушения. В данной работе проводится анализ влияния вирусов и бактерий на процессы клеточного старения с основным акцентом на индукцию сенесценции *in vitro*. Представлен всесторонний обзор регуляторных механизмов, посредством которых бактерии и вирусы инициируют старение клеток. Описаны генетические варианты, которые обуславливают предрасположенность к инфекциям, что, в свою очередь, влияет на патоген-индуцируемые процессы старения. Кроме того, систематизированы и проанализированы маркеры, применяемые для идентификации сенесцентных клеток. Исследование молекулярных механизмов клеточного старения открывает возможности для создания целенаправленных и эффективных терапий. Эти стратегии могут избирательно активировать старение в раковых клетках, подавлять его для замедления возрастных заболеваний или комплексно регулировать процессы старения для оптимальных результатов.

Ключевые слова: старение; вирусы; бактерии; патогенные модуляторы

Для цитирования: Симороз Е.В., Антонов Е.В., Муравьев Г.С., Василевская Е., Рогаев Е.И. Патогенные модуляторы клеточного старения. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2026;30(5):713-724. doi 10.18699/vjgb-26-72

Финансирование. Работа А.Е.В., М.Г.С. и В.Е. была финансирована федеральной территорией «Сириус». Соглашение 18-03, проект MB-BFT-2403.

Благодарности. Мы благодарим платформы BioRender.com и Illustrae, с помощью которых были сделаны схематические рисунки.

Pathogenic modulators of cellular senescence

E.V. Simoroz ¹, Y.V. Antonov ¹, G.S. Muravyov¹, J. Vasilevska ¹ , E.I. Rogaev ²¹ Sirius University of Science and Technology, Sirius Federal Territory, Krasnodar region, Russia² UMass Chan Medical School, Department of Psychiatry, Shrewsbury, United States vasilevskaya.e@talantiuspeh.ru

Abstract. Cellular senescence is characterized by irreversible cell-cycle arrest, with cells remaining viable and metabolically active. This state features a proinflammatory senescence-associated secretory phenotype (SASP) that can harm neighboring tissues. Accumulation of senescent cells accelerates age-related physiological decline and associated pathologies. Furthermore, cellular senescence is implicated in various physiological processes, including embryonic development, wound healing, tumor progression, and immune response regulation. The complexity of the aging process arises from its diverse underlying mechanisms, potential reversibility, and intrinsic heterogeneity. Experimental gerontology focuses on identifying pathogenic modulators that regulate the formation and accumulation of senescent cells, as well as investigating their impact on tissue function. Within the field of experimental gerontology, considerable attention is devoted to identifying pathogenic modulators that regulate the formation and accumulation of senescent cells, as well as to investigating their impact on tissue function. Of particular interest is the characterization of novel molecular mechanisms that govern cellular aging. Key pathogenic molecular pathways include the p53-dependent

senescence pathway, the p16INK4a/pRb pathway, and non-canonical pathways like IFI1-MAVS, which contribute to oxidative stress, DNA damage, activation of SASP, and other cellular dysfunction. This study critically examines how viral and bacterial agents induce cellular senescence, particularly *in vitro*, reviewing the regulatory mechanisms involved. It discusses genetic variants affecting infection susceptibility and categorizes senescence markers. Investigating the molecular mechanisms underlying cellular aging presents promising avenues for the development of targeted and effective therapeutic interventions. Such strategies may include the selective induction of senescence in cancer cells, suppression of senescence to mitigate age-related diseases, or the comprehensive modulation of aging processes to optimize clinical outcomes.

Key words: senescence; viruses; bacteria; pathogenic modulators

For citation: Simoroz E.V., Antonov Y.V., Muravyov G.S., Vasilevska J., Rogaev E.I. Pathogenic modulators of cellular senescence. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii* = *Vavilov J Genet Breed*. 2026;30(5):713-724. doi 10.18699/vjgb-26-72

Введение

Инфекционные агенты являются факторами, которые способствуют процессу старения организма, реализуя свое воздействие посредством двух взаимосвязанных механизмов. Во-первых, они вызывают прямое повреждение клеток и тканей в результате инфицирования, приводя к различным патологиям, связанным со старением, таким как сердечно-сосудистые заболевания (в частности, инсульт) (Donato et al., 2018; Smolgovsky et al., 2021), нейродегенеративные расстройства (болезнь Альцгеймера и болезнь Паркинсона) (Pringsheim et al., 2014; Trevisan et al., 2019; Blackhurst, Funk, 2023), нарушения иммунной системы (Sadighi Akha, 2018), онкологические заболевания (DeSantis et al., 2019; Kannampuzha et al., 2023). Во-вторых, они опосредованно способствуют индукции старения и накоплению сенесцентных клеток, что, в свою очередь, признано одним из ключевых механизмов развития хронических заболеваний и общего снижения жизнеспособности организма. Эти изменения приводят к постепенному снижению физических и когнитивных функций, а также к повышению риска возникновения заболеваний и смертности (Aman et al., 2021).

Старение млекопитающих, включая человека, сопряжено с прогрессирующей дисфункцией иммунной системы, обозначаемой термином «иммуностарение» (Arakelyan et al., 2025). Данный процесс характеризуется количественным снижением и ухудшением функциональной активности ключевых популяций иммунных клеток и нарушением иммунного гомеостаза. Это ослабляет адаптивный иммунный ответ, повышая восприимчивость к инфекционным заболеваниям и увеличивая тяжесть их течения в пожилом возрасте. Иммуностарение рассматривается также как один из драйверов системного воспаления и ускорения процессов старения. В качестве клинического подтверждения возрастной уязвимости служат эпидемиологические данные, демонстрирующие повышенную частоту инфицирования SARS-CoV-2 и более высокий риск осложнений среди лиц пожилого возраста по сравнению с когортой 18–39 лет. В отличие от этого, иммунный ответ в детском возрасте отличается высокой активностью и адаптивным потенциалом, что отражает выраженную возрастную динамику в реагировании иммунной системы на патогены (McGovern et al., 2023; Schmitt et al., 2023).

Клеточное старение делится на репликативное и стресс-индуцированное. Репликативное связано с укорочением

теломера и активизацией путей, таких как p53 и p21. Стресс-индуцированное обусловлено повышенной экспрессией гена *CDKN2A* и белка p16, что приводит к остановке клеточного цикла (Yan et al., 2024).

Для надежного определения сенесцентных клеток используют комбинацию маркеров (рис. 1): например, активность β-галактозидазы (SA-β-gal) и наличие секреторного фенотипа SASP (Fafián-Labora, O’Loughlen, 2020; Ogrodnik et al., 2024; Wyles et al., 2024).

Существуют данные, свидетельствующие о том, что сенесцентное состояние представляет собой феномен с высоким, но не абсолютным барьером обратимости. Наглядной иллюстрацией этого служит индукция факторов Яманаки (Oct4, Sox2, Klf4, c-Мyc), способных перепрограммировать клетку и устранять эпигенетические маркеры старения, возвращая даже сенесцентные клетки в плюрипотентное состояние с последующей возможностью их дифференцировки в различные типы клеток. В экспериментальных условиях реверсию сенесценции можно индуцировать посредством генетических или эпигенетических манипуляций, однако такой подход сопряжен с существенными рисками, прежде всего с потенциальным онкогенезом (Aguirre et al., 2023; Jiang et al., 2026). Другим примером являются внеклеточные везикулы, выделенные из эмбриональных стволовых клеток. Было показано, что эти везикулы могут выступать в роли медиаторов, модулирующих активность соседних клеток: они усиливали пролиферативный потенциал, снижали экспрессию SA-β-gal и других маркеров старения, таких как митохондриальный мембранный потенциал и уровень активных форм кислорода. Кроме того, отмечалось снижение экспрессии классических маркеров клеточного старения – p21WAF1/CIP1 (p21) и p16INK4a (p16). Установлено, что данный процесс опосредован ингибированием сигнального пути p38 MAPK (Liu Yu. et al., 2023).

Исследование, проведенное М. Reimann с коллегами (2024), демонстрирует, что степень обратимости сенесцентных состояний является более сложной и контекст-зависимой. После воздействия патогена или стрессового фактора развитие сенесцентного фенотипа может происходить быстро – в течение нескольких дней или недель. На начальных этапах клетки могут сохранять обратимое состояние и способность к восстановлению функций. Однако по мере накопления повреждений и активации соответствующих сигнальных путей, например опосредо-

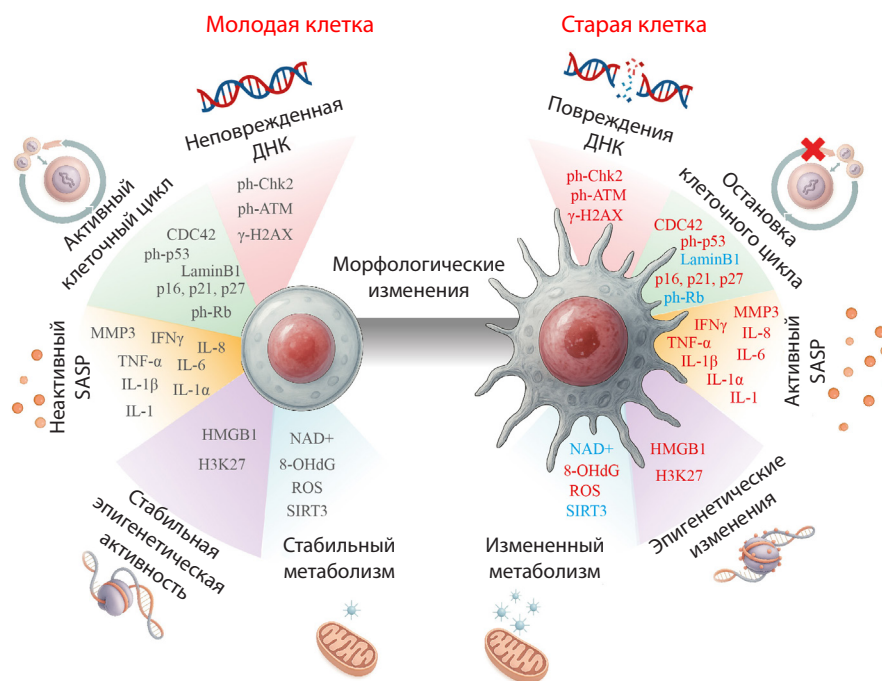


Рис. 1. Схематическое изображение, демонстрирующее сравнение молодой и старой клетки с указанием основных изменений и классических маркеров.

Маркеры, экспрессия которых повышена в старых клетках, выделены красным цветом по сравнению с контролем (серый цвет), тогда как маркеры с пониженной экспрессией в старых клетках обозначены синим цветом.

ванных p53 и p16INK4a, сенесценция стабилизируется и приобретает необратимый характер (Reimann et al., 2024).

Помимо возрастной предрасположенности к инфекциям, важно отметить, что индивидуальные особенности старения могут значительно варьировать в зависимости от генетики. Генетические мутации могут определять индивидуальные траектории старения в ответ на инфекционные воздействия. К числу таких генов, как правило, относятся те, которые обеспечивают поддержание иммунного гомеостаза (например, *PTPN2* и *FOXO3*) (Hale et al., 2020; Jeanpierre et al., 2024), а также гены, ответственные за адаптивный иммунитет, включая гены HLA, семейство толл-подобных рецепторов (TLR), интерферон-регулирующие транскрипционные факторы IRF (Zhang et al., 2015; De Jong et al., 2018; Augusto et al., 2023). Кроме того, значимую роль играют гены рецепторов, используемых патогенами для проникновения в клетки.

Исследование процессов старения в контексте инфекционных заболеваний представляет собой динамично развивающуюся область науки, в которой ежемесячно публикуется значительное количество новых работ (Alam et al., 2021; Ryu et al., 2021; Masters et al., 2022; Aguado et al., 2023; Gu et al., 2025). Это свидетельствует о возрастающем интересе к данной тематике и открывает перспективы для выявления новых мишеней в борьбе с инфекциями и сопутствующими патологиями. В настоящем обзоре рассматривается старение как прямое следствие воздействия патогенов, с особым акцентом на исследования *in vitro*, в которых описываются активированные сигнальные пути и выявленные маркеры данного процесса.

Бактерии как позитивные модуляторы старения

В научных исследованиях наблюдается возрастающий интерес к изучению роли микробиома и бактериальных токсинов в регуляции процессов старения организма-хозяина. Бактерии могут как способствовать, так и замедлять процессы старения клеток, что зависит от их вида и метаболической активности. Полезные пробиотические микроорганизмы синтезируют метаболиты, такие как короткоцепочечные жирные кислоты, которые обладают противовоспалительным и антиоксидантным эффектом. Эти метаболиты замедляют процессы старения, укрепляя иммунитет и снижая уровень хронического воспаления.

В статье (Han et al., 2023) продемонстрировано, что различные профили микробиоты формируют разные уровни иммунной оптимизации, что особенно важно в контексте борьбы с патогенами и воспалениями. Вмешательства, направленные на изменение микробиоты, например использование пробиотиков, могут стать эффективными стратегиями для профилактики или замедления патоген-индуцированного старения. Оптимальный баланс микробиома способствует повышению иммунной реакции, снижению воспалительных процессов и уменьшению риска развития возрастных заболеваний (Han et al., 2023).

Однако некоторые патогены, инфицируя клетки, могут манипулировать молекулярными путями, что нередко приводит к преждевременному старению. Это проявляется через повреждение ДНК в клетках хозяина или секрецию генотоксичных белков, что усугубляет процессы клеточного старения и негативно сказывается на общем состоянии ор-

ганизма (Chumduri et al., 2016). Так, бактерия *Helicobacter pylori*, являющаяся причиной хронического атрофического гастрита, выступает в качестве фактора, индуцирующего клеточное старение и способствующего развитию рака, что представляет собой очевидный феномен в слизистой оболочке желудка. Данная бактерия вызывает нарушение регуляции сигнального пути Erk, что приводит к накоплению ингибитора циклинзависимой киназы p21Cip1/Waf1. В результате происходит остановка клеточной пролиферации, характерная для процесса старения (Saito et al., 2010). В другом исследовании было показано, что бактерия *H. pylori* индуцирует старение эпителиальных клеток желудка как *in vitro*, так и *in vivo* посредством активации сигнального пути хемокинового рецептора CXCR2 (Cai et al., 2021).

Другим примером являются бактерии *Porphyromonas gingivalis* и *P. asaccharolytica*, обнаруженные в значительном количестве у пациентов с колоректальным раком. Кокультивация человеческих фибробластов в среде, содержащей культуральные супернатанты указанных бактерий, приводила к необратимой остановке клеточного цикла, сопровождавшейся повышенной экспрессией p16INK4a и p21Cip1/Waf1, а также факторов SASP (IL-1 и IL-6). Аналогичные результаты были получены в органоидах кишечного эпителия. Данный эффект обусловлен высокой секрецией бутирата – короткоцепочечной жирной кислоты – этими бактериями. Авторы выдвигают гипотезу, что воздействие бактерий в контексте индукции процессов старения способствует развитию и прогрессированию колоректального рака (Okumura et al., 2021).

Нарушения кроветворной системы тоже являются ярким признаком старения, которое сопровождается снижением способности к самообновлению, увеличением числа миелоидных клеток, накоплением повреждений ДНК и эпигенетическими и транскрипционными изменениями. Существует предположение, что и в этих процессах микробиота играет значимую роль. В исследовании (Kovtonyuk et al., 2022) было показано, что у пожилых мышей костный мозг выделяет больше IL-1 α и IL-1 β , а в крови выявляются паттерны, связанные с микробами, такие как лиганды TLR4 и TLR8. Авторы предполагают, что микробиом стимулирует клетки костного мозга к повышенной продукции цитокинов. Поддерживая гипотезу, они обнаружили, что клетки костного мозга пожилых мышей при стимуляции липополисахаридом демонстрируют более выраженный и продолжительный ответ по продукции IL-1 α/β как *in vitro*, так и *in vivo*. А лечение антибиотиками снижало уровень IL-1 в костном мозге, что подтверждает роль микробиома в формировании возрастных изменений кроветворения через путь IL-1R1 (Kovtonyuk et al., 2022).

Старение сердечно-сосудистой системы, обусловленное старением эндотелиальных клеток, также является одним из последствий бактериальной активности. Было показано, что бактерия *Clostridium* sp. ASF356, которая характеризуется высокой продукцией бактериального метаболита фенилуксусной кислоты и его побочного продукта – фенилацетилглутамина, значительно преобладает у пожилых мышей и людей. У молодых мышей инфек-

ция этой бактерией повышает уровень фенилуксусной кислоты в крови и вызывает старение эндотелиальных клеток, увеличивая митохондриальный H₂O₂. В аортальных клетках инфицированных мышей отмечается рост экспрессии маркера старения p16INK4a, повреждение ДНК (γ -H2A.X), повышение факторов SASP, а также активность β -галактозидазы (Saeedi Saravi et al., 2025).

Еще одним значимым фактором, способным индуцировать процессы старения, является *Mycobacterium tuberculosis* – возбудитель туберкулеза. У инфицированных пациентов отмечается ускоренное эпигенетическое старение примерно на 12.7 года по сравнению с их хронологическим возрастом, при этом повышаются уровни CXCL9, CXCL10 и TNF α – компонентов SASP (Bobak et al., 2022). Согласно исследованиям на мышиных альвеолярно подобных макрофагах, *M. tuberculosis* вызывает ускоренное старение *in vitro*, снижая пролиферацию и вызывая морфологические изменения, активацию путей повреждения ДНК и повышение маркеров старения (p21, SA- β -галактозидаза). Стареющие макрофаги выделяли провоспалительные цитокины (SASP) и способствовали старению соседних клеток (Scarpa et al., 2024). Известно, что *M. tuberculosis* инфицирует приблизительно треть мирового населения и ежегодно является причиной около двух миллионов смертей. Тем не менее лишь у 10 % инфицированных развивается клинически выраженный туберкулез (Lin, Flynn, 2010). Данный феномен, вероятно, обусловлен генетической предрасположенностью. В настоящее время установлена значимая ассоциация заболевания с однонуклеотидным полиморфизмом (SNP) в экзоне rs4331426, локализованном на хромосомном участке 18q11.2 (Thye et al., 2010). Однако функциональное подтверждение этой связи отсутствует.

Аналогично возбудителю туберкулеза, малярийный паразит *Plasmodium falciparum* способен индуцировать ускоренное клеточное старение. При этом генетические факторы хозяина играют ключевую роль в предрасположенности к развитию тяжелой формы малярии и ее осложнений. Анализ посмертных образцов мозга и периферической крови пациентов с малярией выявил повышение уровня маркера p21 при отсутствии изменений в экспрессии p16 (Hellani et al., 2024). Кроме того, этот патоген способствует ускоренному старению эритроцитов, что обусловлено, прежде всего, изменениями биохимического состава мембраны, проявляющимися в снижении содержания фосфолипидов и холестерина. Указанные изменения играют существенную роль в патогенезе малярии. Авторы выдвигают гипотезу о том, что данные изменения могут быть обусловлены перекисным окислительным повреждением, индуцированным паразитами (Omodeo-Salè et al., 2003). В рамках полногеномного анализа ассоциаций (GWAS) между пациентами и здоровыми индивидами наиболее значимый сигнал ассоциации был обнаружен вблизи гена бета-гемоглобина, содержащего классический полиморфизм серповидноклеточного гемоглобина S (*HbS*). Следует отметить, что у гомозигот по аллелю rs334 развивается жизнеугрожающая серповидноклеточная анемия, тогда как у гетерозигот по этому варианту риск тяжелой

малярии снижается примерно в десять раз. Кроме того, были выявлены дополнительные генетические варианты, требующие дальнейшего изучения и подтверждения, включая мутации в генах *SCO1* и *DDC* (Jallow et al., 2009).

Одна из актуальных проблем современной иммунологии – изучение процессов иммуностарения, индуцируемого различными бактериальными агентами. В исследовании (Mathiasen et al., 2021) показано, что генотоксины патогенных грамотрицательных бактерий (например, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Campylobacter jejuni* и др.) вызывают преждевременное старение CD4⁺ Т-лимфоцитов. Кокультивация с ними привела к появлению у Т-клеток стареющего фенотипа (SASP), с повышением цитокинов IL-13, IL-17, IFN- γ и маркеров повреждения ДНК (ATM, γ H2A.X). Молекулярный анализ путей, связанных с индукцией сенесценции, выявил повышение экспрессии фосфорилированного белка p53, сопровождающееся интенсивной ядерной локализацией p21CIP1/WAF1 (Mathiasen et al., 2021). Ранее было показано, что микробиота инициирует процесс старения нейтрофилов посредством активации сигнальных путей, опосредованных Toll-подобными рецепторами TLR2 и TLR4, а также адаптерным белком миелоидного дифференцировочного фактора 88 (Myd88). При этом стареющие нейтрофилы не экспрессируют классические маркеры клеточного старения, но имеют повышенный уровень CXCR4, что способствует снижению их количества в костном мозге. Вследствие этого происходит ингибирование продукции нейтрофилов через сигнальные каскады, связанные с IL-17 и гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (G-CSF). Кроме того, стареющие нейтрофилы характеризуются сниженной экспрессией L-селектина. Функциональный анализ показал, что эти клетки обладают нарушенной миграционной способностью и ослабленными провоспалительными функциями (Zhang et al., 2015).

В контексте старения В-лимфоцитов было продемонстрировано, что данный процесс тоже индуцируется бактериальной микрофлорой, что приводит к снижению продукции иммуноглобулина А (IgA) в кишечнике и, как следствие, оказывает модулирующее воздействие на состав и функциональное состояние микробиоты (Kawamoto et al., 2023).

Бактерии как негативные модуляторы старения

В ряде исследований было выявлено положительное влияние определенных бактериальных штаммов на процессы, связанные с замедлением старения. В 2025 г. L. Liu с коллегами изучали влияние бактерий из корней растений на продолжительность жизни нематоды *Caenorhabditis elegans*. Самым заметным оказался штамм *Mycobacterium* sp. Root265, который синтезирует полисахариды и арабиногалактанпептидогликан, повышающие гомеостаз белков и увеличивающие продолжительность жизни через DAF-16-зависимые и независимые пути (Liu L. et al., 2025). На той же модели нематод было продемонстрировано, что применение живых молочнокислых бактерий,

в частности *Lactobacillus rhamnosus* CNCM I-3690, увеличивает их жизнеспособность на 30 %, а также способствует увеличению средней продолжительности жизни червей на 20 %. Эффект достигается за счет активации DAF-16, связанного с инсулиноподобной сигнализацией (Grompone et al., 2012).

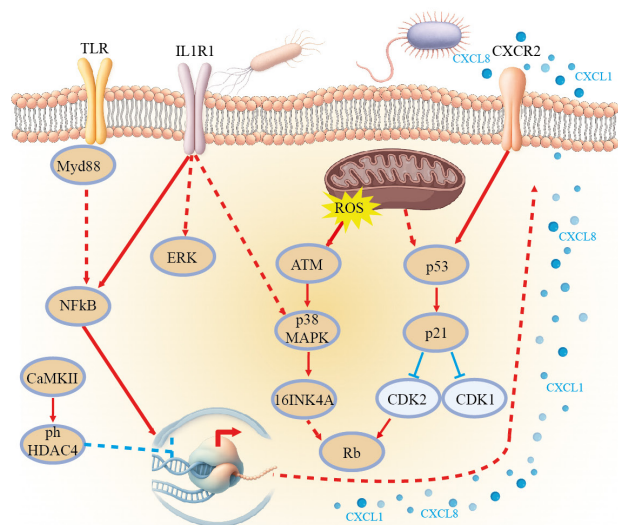
Эксперименты на мышах показали, что бактерия *Parabacteroides merdae* может замедлить процессы старения. Она производит разветвленные аминокислоты, превращающиеся в изовалерат, 2-метилбутират и изобутират. В модели мышей с искусственным старением (под эгидой D-галактозы) лечение этими метаболитами снижало окислительный стресс и воспаление, улучшало мышечную функцию, повышало уровень ацетилхолина в мозге и нормализовало глюкозу в крови (Azman, Zakaria, 2019). Анализ микробиоты показал увеличение полезных бактерий, таких как *Bifidobacterium pseudolongum* (Wang H. et al., 2025).

В исследовании, проведенном на здоровых пожилых людях, установлено, что прием пробиотика BB68S – специфического штамма *Bifidobacterium longum* – значительно улучшал когнитивные функции испытуемых. В частности, наблюдалось улучшение немедленной памяти, зрительно-пространственной и конструктивной памяти, внимания, а также отсроченной памяти. Кроме того, прием BB68S оказывал благоприятное воздействие на микробиоту кишечника, способствуя увеличению относительной численности полезных бактерий, таких как *Lachnospira*, *Bifidobacterium*, *Dorea* и *Cellulosilyticum*, и одновременно снижая количество бактерий, ассоциированных с нарушениями когнитивных функций, включая *Collinsella*, *Parabacteroides*, *Tyzzerella*, *Bilophila* и др. (Shi et al., 2022).

Накопленные научные данные убедительно свидетельствуют о том, что хронические и рецидивирующие бактериальные инфекции представляют собой значимый фактор, способствующий ускорению системного старения организма и развитию возраст-ассоциированных патологий. Основным механизмом данного воздействия является персистентная активация классических провоспалительных и клеточно-стрессовых молекулярных путей, ключевые из которых обобщены на рис. 2, а.

Несмотря на достигнутое понимание общих механизмов, фундаментальный вопрос о генетической предрасположенности к частым или тяжелым бактериальным инфекциям, способным вызывать преждевременное старение, остается в значительной степени недостаточно изученным. Так, например, для *Mycobacterium tuberculosis* выявлены моногенные варианты восприимчивости, тогда как для подавляющего большинства других бактерий данные остаются крайне фрагментарными. Прорывные достижения в области исследований микробиома, в частности изучение взаимодействия между бактериями (как комменсальными, так и патогенными) и клетками хозяина, которые могут способствовать выявлению новых молекулярных сигнальных путей, вовлеченных в регуляцию продолжительности жизни, представляются необходимыми для дальнейшего прогресса в данной области.

а Бактериально-опосредованные пути старения



б Вирус-опосредованные пути старения

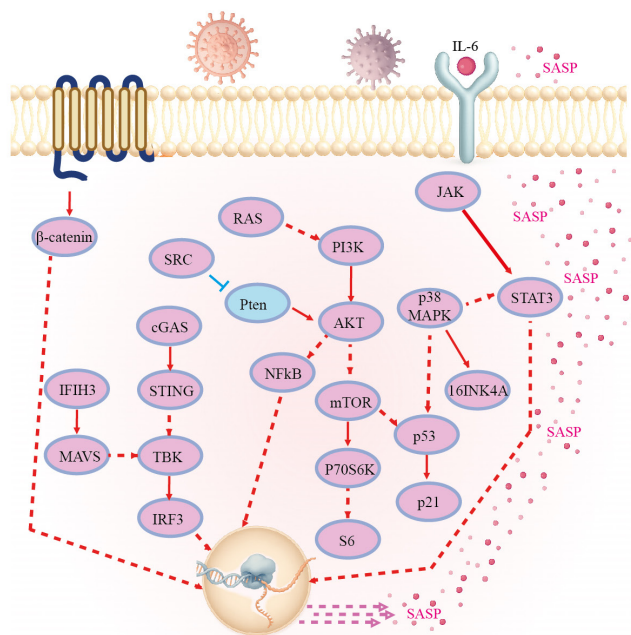


Рис. 2. Молекулярные сигнальные пути, задействованные в процессах старения, активированные бактериями (а) и вирусами (б). Молекулярные связи, рассмотренные в настоящем обзоре, обозначены сплошными стрелками, известные молекулярные связи – штриховыми стрелками.

Вирусы как модуляторы старения

В отличие от бактериальных инфекций, вирусные инфекции оказывают исключительно стимулирующее воздействие на процессы клеточного старения. Кроме того, имеется больше данных, свидетельствующих о генетической предрасположенности к усиленному течению вирусной инфекции и ее последствиям. Вирусы представляют собой сложные регуляторы процессов клеточного старения. Некоторые вирусы инициируют старение в качестве защитного механизма, направленного на ограничение их репликации, тогда как другие используют состояние клеточного старения для обеспечения собственного размножения. Такое взаимодействие способствует развитию патологических состояний при вирусных инфекциях, особенно у лиц пожилого возраста, посредством механизмов, включающих цитокиновый шторм и дисфункцию иммунного ответа (Seoane et al., 2020).

Несмотря на то что данные, подтверждающие наличие омолаживающего эффекта, связанного с вирусными инфекциями, отсутствуют, роль вирусов в индукции старения до сих пор неоднозначна. Некоторые исследовательские группы обнаруживают, что определенные вирусы, например герпесвирусы или другие патогены, вызывают усиление признаков клеточного старения и ускоряют старение тканей. В то же время другие работы не подтверждают таких эффектов или выявляют их лишь у определенных популяций или при длительном заражении. Причины расхождения результатов могут заключаться в различиях в моделях исследования (клеточные культуры, животные или клинические данные), условиях эксперимента, типах вирусов, а также индивидуальной генетической предрасположенности участников. В дополнение влияние вирусов

может зависеть от стадии инфекции, иммунного статуса пациента и наличия сопутствующих заболеваний, что подчеркивает необходимость дальнейших исследований для определения точного вклада вирусов в процессы старения и поиска возможных терапевтических мишеней.

В последнее время особое внимание уделяют вирусу SARS-CoV-2. Исследования показывают, что он вызывает клеточное старение в инфицированных клетках как реакцию на стресс. У пациентов с COVID-19 обнаружены маркеры старения в дыхательных путях и повышенный уровень факторов SASP в крови. Сенолитические препараты, такие как навитоклакс и комбинация дазатиниба с кверцетином, показывают потенциал в удалении вирус-индуцированных сенесцентных клеток и снижении повреждений легких у животных (Lee et al., 2021). Также известно, что шиповидный белок вируса ускоряет старение клеток через повышение экспрессии Cdc42, активирующего путь Wnt/β-катенин. Лечение ингибиторами Cdc42 уменьшает повреждения и воспаление легких (Nong et al., 2024).

Интересно, что важную роль в этом процессе играет генетика. Для выявления генетической предрасположенности, способствующей повышенному риску заражения вирусом SARS-CoV-2, были определены соответствующие генетические маркеры. В качестве ключевых факторов восприимчивости выделены варианты rs11246068-CC и rs12252-CC, rs1990760, rs2111485 в гене *IFITM3*, rs5742933-GG в гене *ORMDL1*, rs35337543-CG в гене *IFIH1*, а также гаплотип GGGCT, включающий полиморфизмы rs2070788, rs2298659, rs17854725, rs12329760 и rs3787950 в гене *TMPRSS2*. Указанные гены непосредственно участвуют в иммунном противовирусном ответе и процессах вирусной репликации. Данные генетические ва-

рианты выступают в качестве основных индикаторов восприимчивости к инфекции и могут способствовать ускорению процессов старения, вызванных вирусом (Beckmann, Becker, 2021; Xu et al., 2022; Majeed et al., 2024; Azcarate et al., 2025).

Аналогично инфекция вирусом гриппа А (IAV) приводит к развитию как острого, так и хронического повреждения легочной ткани. В эксперименте на мышах, инфицированных сублетальной дозой вируса H1N1p2009, было выявлено клеточное старение, что подтверждалось повышенной экспрессией в легочной ткани маркеров p16, p21, β -галактозидазы и маркера повреждения ДНК γ -H2A.X. Процесс клеточного старения начинался уже на четвертый день после инфицирования в эпителии бронхов и впоследствии распространялся на паренхиму легких. Таким образом, вирус-индуцированное клеточное старение провоцирует развитие легочных осложнений, связанных с гриппом (Lipskaia et al., 2025). Кроме того, установлено влияние генетических факторов на восприимчивость и тяжелое протекание инфекции вируса гриппа А. В ходе анализа пациентов с подтвержденной тяжелой пневмонией, вызванной инфекцией, выявлены полиморфизмы генов, локализованных на хромосомах 1 и 17, которые могут влиять на предрасположенность к развитию тяжелой пневмонии при данной инфекции. В частности, идентифицированы полиморфизмы генов *FCGR2A* (rs1801274), *RPAIN* (rs8070740) и *CIQBP* (rs3786054) (Zúñiga et al., 2012). В других исследованиях тоже обнаружены полиморфизмы в генах *IFITM3* (rs12252), *TLR2*, *TLR3*, *TLR4* (rs5743708, rs5743313, rs5743315, rs4986790 и rs4986791) (Hidaka et al., 2006; Esposito et al., 2012; Chen C. et al., 2016). Установлена ассоциация между полиморфизмами генов *CD55* (rs2564978) и *CIQBP* (rs3786054) с повышенным риском летального исхода при данной вирусной инфекции (Chatzopoulou et al., 2019).

Респираторно-синцициальный вирус человека (HRSV) является причиной большинства инфекций нижних дыхательных путей. Известно, что инфекция HRSV вызывает блокировку клеточного цикла на фазах G1 или G2/M в зависимости от типа клеток, что реализуется посредством накопления белков p53 и p21 (Bian et al., 2012). Дополнительно было продемонстрировано, что инфекция клеток индуцирует экспрессию маркеров повреждения ДНК и остановку пролиферации, таких как фосфорилированный ATM (ph-ATM) и γ H2A.X (Martínez et al., 2016). В ходе исследования генетических факторов, определяющих восприимчивость, был выделен однонуклеотидный полиморфизм rs199665292 в гене обонятельного рецептора *OR13C5* в качестве наиболее перспективного варианта-кандидата. Кроме того, обнаружены генетические варианты в генах главного комплекса гистосовместимости HLA (*HLA-DQA1*, *HLA-DPBI*) и в гене муцина 4 (*MUC4*) (Salas et al., 2017). Мутации *TLR4*, Asp299Gly и Thr399Ile, как по отдельности, так и в сочетании, чаще встречаются у пациентов с тяжелой формой заболевания (Tulic et al., 2007).

Цитомегаловирус человека (HCMV) является возбудителем цитомегалии. Для репликации своего двуцепочечно-го ДНК-генома HCMV индуцирует значительные измене-

ния клеточного гомеостаза, аналогично клеточному старению. Данный вирус способствует снижению экспрессии Lamin B1 и KI67, а также увеличению секреции провоспалительных цитокинов IL-6 и IL-8 в различных клетках, что служит общепризнанным маркером клеточной сенесценции (Raviola et al., 2024). В подтверждение этого исследование, проведенное Т. Hasegawa с коллегами (2023), продемонстрировало наличие ДНК и РНК HCMV в нормальной коже человека. При этом уровни вирусного генетического материала были значительно повышены в образцах кожи пожилых людей по сравнению с молодыми, что свидетельствует о повышенной репликации вируса именно в сенесцентных клетках (Hasegawa et al., 2023). В дополнение к возрастной предрасположенности было обнаружено множество генетических вариантов, которые потенциально могут способствовать прогрессированию инфекции, однако данные ассоциации не получили подтверждения и их клиническая значимость остается неопределенной. Наиболее перспективным считается полиморфизм гена *CDC42EP3* (rs11686168), хотя его функциональная роль пока не объяснена (Casto et al., 2021). Предположительно, *CDC42EP3* не является прямым вирусным фактором, однако данный белок может косвенно взаимодействовать с вирусами, воздействуя на используемые вирусами клеточные процессы.

Вирус иммунодефицита человека типа 1 (ВИЧ-1), относящийся к семейству ретровирусов, способствует преждевременному старению у пациентов с хронической инфекцией. У лиц с ВИЧ-инфекцией наблюдаются снижение минеральной плотности костной ткани, а также повышенная распространенность остеопении и остеопороза. Это явление обусловлено тем, что вирусные белки Tat и Nef вызывают преждевременное старение мезенхимальных стволовых клеток костного мозга, снижая их пролиферацию из-за окислительного стресса и митохондриальной дисфункции. В результате уменьшается их способность дифференцироваться в остеобласты. Белок Tat дополнительно активирует NF- κ B и стимулирует секрецию провоспалительных цитокинов, способствуя воспалительному ответу (Beaupere et al., 2015). Кроме того, ВИЧ-1 может индуцировать старение микроглии, проявляющееся повышением активности β -галактозидазы, уровней p21 и цитокинов IL-6 и IL-8, а также снижением экспрессии SIRT3 – митохондриального фермента, важного для клеточного гомеостаза и метаболизма. Эти изменения сопровождаются усилением митохондриального окислительного стресса и формированием секреторного фенотипа, связанного со старением (Chen N.C. et al., 2018; Thangaraj et al., 2021).

Помимо вирусных инфекций, которые вызывают старение (Lee et al., 2021), в геномах организмов-хозяев присутствуют ретроэлементы – наиболее подвижные типы ДНК, интегрированные в различные участки генома. Большинство из них тоже существует в виде значимых внехромосомных форм ДНК. Предполагают, что реактивация эндогенных ретровирусов (ERV), являющихся разновидностью ретроэлементов, связана с процессом старения и обусловлена эпигенетическим переключением.

Был выявлен класс эндогенных ретровирусных элементов, которые подвергаются эпигенетическому подавлению в пролиферирующих клетках, однако активируются в ходе репликативного старения, а также при различных формах старения, индуцированного онкогенами RAS и Akt, либо после нокаута гена *HDAC4* (Di Giorgio et al., 2024). Кроме того, ERV активируются фактором транскрипции ATF3, что приводит к образованию двуцепочечных РНК. Эти молекулы, в свою очередь, инициируют активацию сигнального пути RIG-I/MDA5-MAVS и стимулируют продукцию интерферона типа I (IFN-I) в стареющих фибробластах. Данный молекулярный механизм, ассоциированный со старением, был подтвержден не только в тканях здоровых пожилых людей, но и у пациентов с синдромом прогерии Хатчинсона–Гилфорда (Mao et al., 2024).

ВИЧ-1 – один из наиболее тщательно изученных вирусов. Недавние исследования продемонстрировали, что восприимчивость к приобретению ВИЧ-1 является полигенным и наследуемым признаком. Оценки наследуемости на основе однонуклеотидных полиморфизмов объясняют от 28 до 42 % вариации данного признака на популяционном уровне. Генетический анализ выявил *EFCAB14* в качестве нового гена, ассоциированного с восприимчивостью к инфицированию ВИЧ-1. Помимо этого, установлено, что более высокий генетический риск приобретения ВИЧ-1 коррелирует с пониженным уровнем хемокинового лиганда *CCL17* (Powell et al., 2020). Известно, что для инфицирования он использует корецептор CCR5, а в некоторых случаях – корецепторы CCR2 и CXCR4. Следовательно, генетические мутации в данных рецепторах представляют собой важный фактор, влияющий на восприимчивость к инфекции. Частота гетерозиготных мутаций в гене *CCR5* значительно повышена среди лиц, способных много лет переносить инфекцию. Более того, мутации CCR5delta32 и CCR2-64I могут выступать в роли фактора, ограничивающего инфекцию ВИЧ-1, а также обуславливать доминантный фенотип замедленного прогрессирования заболевания у инфицированных пациентов (Dean et al., 1996; Smith et al., 1997; Martin, 1998).

Таким образом, многочисленные исследования подтверждают, что вирусы выступают в качестве мощных индукторов клеточной сенесценции. Они инициируют данный процесс посредством различных молекулярных путей, что схематически представлено на рис. 2, б. Известно, что индивидуальная восприимчивость к вирусным инфекциям и тяжесть их течения имеют генетическую основу. Вместе с тем большинство выявленных генов предрасположенности кодируют белки, непосредственно участвующие в распознавании вируса и формировании врожденного или адаптивного иммунного ответа (например, гены интерфероновой цепи, рецепторы паттернов) (табл. S1 Приложения)¹. На сегодняшний день практически отсутствуют функциональные исследования, которые бы напрямую связывали данные генетические варианты с модуляцией вирус-индуцированного клеточного старения. Тем не менее остается открытым ключевой вопрос:

определяет ли наследственная предрасположенность интенсивность сенесцентного ответа на инфекцию и посредством каких молекулярных механизмов? В связи с этим целенаправленный контроль и регуляция вирус-индуцированного клеточного старения представляют собой перспективное направление для разработки новых терапевтических стратегий.

Выводы

В настоящем литературном обзоре обобщены данные о различных патогенных модуляторах, оказывающих как положительное, так и отрицательное влияние на процессы старения. Проведен всесторонний анализ воздействия патогенных агентов, способных модулировать классические молекулярные пути старения, а также инициировать новые каскадные реакции, приводящие к возрастным изменениям. Представлены гены-кандидаты, влияющие на генетическую предрасположенность к инфекциям и, как следствие, на ускорение или замедление процессов старения (см. табл. S1). Рассмотренные эксперименты на модельных организмах и клеточных культурах продемонстрировали, что воздействие даже одного из перечисленных факторов может вызывать необратимые структурные и функциональные изменения. Исследование молекулярных механизмов старения, индуцированного патогенами, представляет собой важное междисциплинарное направление, объединяющее инфектологию, геронтологию, генетику и изучение возрастных заболеваний. Анализ данных механизмов не только необходим для углубленного понимания процессов старения, но и открывает новые перспективы в разработке методов профилактики и лечения возрастных патологий и в увеличении продолжительности здоровой жизни. Такой подход позволяет рассматривать старение как результат комплексного воздействия внешних факторов, таких как инфекции, и внутренних биологических процессов. Это создает основу для формирования превентивной медицины нового поколения, ориентированной не на лечение отдельных заболеваний, а на системное замедление старения посредством воздействия на его конкретные причины, включая патогенные факторы. Данная стратегия обладает потенциалом для увеличения продолжительности активного и здорового периода жизни, снижения нагрузки возрастных заболеваний и повышения качества жизни пожилых людей.

Эпидемиологическая значимость рассмотренных бактерий крайне высока: например, *H. pylori* инфицирует около половины населения мира, с наибольшей распространенностью в странах с низким уровнем дохода (Li et al., 2023). Представители пародонтопатогенов, таких как *Porphyromonas gingivalis*, широко распространены среди взрослого населения, связывая таким образом хронические инфекции с повышенным риском возраст-ассоциированных заболеваний (Mei et al., 2020). Ключевой вывод заключается в дуалистической роли бактерий. С одной стороны, определенные патогены способны выступать индукторами старения через активацию у клеток SASP, остановку клеточного цикла и иммуностарение. С другой стороны, комменсальные бактерии, такие как

¹ Табл. S1 Приложения см. по адресу:
<https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2026-30/appx38.pdf>

Parabacteroides merdae, демонстрируют геропротекторный потенциал, противодействуя окислительному стрессу и воспалению за счет выработки специфических метаболитов. Таким образом, старение можно рассматривать не только как внутренний биологический процесс, но и как явление, находящееся под влиянием микрофлоры человека. Процессы старения обусловлены взаимодействием клеточно-автономных и клеточно-неавтономных механизмов. В частности, индукция старения, вызванная бактериальной инфекцией, преимущественно регулируется классическими молекулярными путями – Erk, p53-p21 и ATM-p38. Помимо этого, были выявлены дополнительные сигнальные каскады, опосредованные через механизмы CXCR2, IL-1R1, CaMKII-HDAC4 и TLR-MyD88. Следует отметить, что активация сигнального пути CXCR2 продемонстрирована в контексте онкологического старения, тогда как путь TLR-MyD88 ассоциируется с иммунным старением. В то же время механизмы так называемого антистарения, индуцируемого пробиотиками, в большинстве случаев остаются недостаточно изученными и требуют дальнейшего исследования.

В отличие от бактерий, вирусные инфекции оказывают исключительно негативное воздействие на клеточное старение, омолаживающий эффект вирусных инфекций на данный момент не выявлен. Несмотря на общий отрицательный эффект, вирусы используют разнообразные молекулярные механизмы для регуляции процессов старения, включая пути PI3K-AKT-p70S6K, p38MAPK, SRC, Wnt/ β -катенин, p53, IL-6-JAK-STAT3 и NF- κ B. Ретровирусы, в свою очередь, задействуют сигнальные каскады IRF3, cGAS-STING, RAS, IFI1-MAVS и ATF3-RIG-I/MDA5-MAVS. Понимание механизмов вирус-индуцированного старения имеет большое значение, поскольку способствует разработке терапевтических стратегий для лечения вирусных инфекций и поддержанию здорового старения. Тем не менее в этой области по-прежнему наблюдается недостаток исследований, направленных на выявление терапевтических мишеней и создание эффективных лекарственных препаратов.

Выделяют два основных типа клеточного старения: сенесценция иммунных клеток (иммуносенесценция) и сенесценция клеток неиммунного происхождения. Накоплены данные, свидетельствующие о том, что стареющие неиммунные клетки, в частности опухолевые, способны индуцировать старение иммунных клеток. Так, сенесцентные раковые клетки могут повышать экспрессию лиганда программируемой клеточной гибели 1 (PD-L1) на своей поверхности или секретировать внеклеточные везикулы, содержащие PD-L1, что ведет к индукции сенесценции Т-лимфоцитов (Majewska et al., 2024; Hwang et al., 2025; Ma et al., 2025). В свою очередь, старение иммунных клеток тоже оказывает системное влияние на организм (Liu Z. et al., 2023). Необходимо отметить, что даже в пределах одной популяции сенесцентные клетки характеризуются значительной гетерогенностью. Это обстоятельство существенно осложняет разработку и поиск эффективных сенолитических агентов, направленных на элиминацию стареющих клеток. В настоящее время активно развивают-

ся подходы, сочетающие методы машинного обучения для классификации субпопуляций на основе морфологических признаков и омиксные технологии для их молекулярной характеристики (Kamat et al., 2025; Wang Z. et al., 2025). Тем не менее полнота существующих данных пока не позволяет описать уникальный фенотип старения, так как остается нерешенным вопрос: является ли наблюдаемая гетерогенность следствием сосуществования дискретных субпопуляций или результатом временной фенотипической эволюции одной и той же клеточной популяции (Bitencourt et al., 2024).

Следует отметить, что изучение механизмов старения нередко сопровождается определенной предвзятостью, поскольку внимание сосредоточено преимущественно на уже известных сигнальных путях и маркерах, тогда как множество потенциально значимых, но менее изученных механизмов остается вне поля зрения. Кроме того, существует методологический вызов – различия между результатами исследований *in vitro* и *in vivo*. Модельные системы часто не полностью воспроизводят сложность тканей и организма человека, что ограничивает экстраполяцию данных. Также важна гетерогенность сенесцентных клеток: их разнообразие по морфологии и функции затрудняет их точную идентификацию и оценку в тканях. Эти ограничения требуют внимательного учета при интерпретации результатов и подчеркивают необходимость дальнейших исследований, чтобы повысить трансляционный потенциал полученных данных и разработать эффективные превентивные стратегии.

Внедрение знаний о молекулярных механизмах патоген-обусловленного старения может привести к разработке новых диагностических подходов, позволяющих идентифицировать на ранних стадиях патологические изменения, вызванные инфекциями, и, соответственно, своевременно проводить профилактические мероприятия. Понимание роли патогенов в индукции старения открывает перспективы для создания терапевтических стратегий, направленных на снижение воспалительных ответов и замедление процессов старения у пациентов с длительными инфекциями или хроническими заболеваниями. Включение таких подходов в клиническую практику может значительно повысить качество жизни пожилых людей, снизить риск развития возрастных заболеваний и, в конечном итоге, расширить возможности для комплексного менеджмента возрастных состояний. Таким образом, данное направление исследований представляет не только академический интерес, но и фундамент для будущих прорывов в медицине и увеличении продолжительности здоровой жизни человечества.

Список литературы / References

- Aguado J., Amarilla A.A., Taherian Fard A., Albormoz E.A., Tyshkovskiy A., Schwabenland M., Chaggar H.K., ... Gladyshev V.N., Woodruff T.M., Mar J.C., Watterson D., Wolvetang E.J. Senolytic therapy alleviates physiological human brain aging and COVID-19 neuropathology. *Nat Aging*. 2023;3(12):1561-1575. doi 10.1038/s43587-023-00519-6
- Aguirre M., Escobar M., Forero Amézquita S., Cubillos D., Rincón C., Vanegas P., Tarazona M.P., Atuesta Escobar S., Blanco J.C., Ce-

- lis L.G. Application of the Yamanaka transcription factors *Oct4*, *Sox2*, *Klf4*, and *c-Myc* from the laboratory to the clinic. *Genes*. 2023; 14(9):1697. doi 10.3390/genes14091697
- Alam M.S., Gangiredla J., Hasan N.A., Barnaba T., Tartera C. Aging-induced dysbiosis of gut microbiota as a risk factor for increased *Listeria monocytogenes* infection. *Front Immunol*. 2021;12:672353. doi 10.3389/fimmu.2021.672353
- Aman Y., Schmauck-Medina T., Hansen M., Morimoto R.I., Simon A.K., Bjedov I., Palikaras K., ... Rubinsztein D.C., Partridge L., Kroemer G., Labbadia J., Fang E.F. Autophagy in healthy aging and disease. *Nat Aging*. 2021;1(8):634-650. doi 10.1038/s43587-021-00098-4
- Arakelyan N.A., Kupriyanova D.A., Vasilevska J., Rogaev E.I. Sexual dimorphism in immunity and longevity among the oldest old. *Front Immunol*. 2025;16:1525948. doi 10.3389/fimmu.2025.1525948
- Augusto D.G., Murdolo L.D., Chatzileontiadou D.S.M., Sabatino J.J., Yusufali T., Peyser N.D., Butcher X., ... Olgin J.E., Pletcher M.J., Maiers M., Gras S., Hollenbach J.A. A common allele of *HLA* is associated with asymptomatic SARS-CoV-2 infection. *Nature*. 2023; 620(7972):128-136. doi 10.1038/s41586-023-06331-x
- Azcarate D., Olasagasti Arsuaga F., Granizo Rodriguez E., Arana-Arri E., España P.P., Intxausti M., Sancho C., García De Vicuña Meléndez A., Ibarrondo O., De Pancorbo M.M. Human-genetic variants associated with susceptibility to SARS-CoV-2 infection. *Gene*. 2025;953:149423. doi 10.1016/j.gene.2025.149423
- Azman K.F., Zakaria R. d-Galactose-induced accelerated aging model: an overview. *Biogerontology*. 2019;20(6):763-782. doi 10.1007/s10522-019-09837-y
- Beaupere C., Garcia M., Larghero J., Fève B., Capeau J., Lagathu C. The HIV proteins Tat and Nef promote human bone marrow mesenchymal stem cell senescence and alter osteoblastic differentiation. *Aging Cell*. 2015;14(4):534-546. doi 10.1111/acer.12308
- Beckmann N., Becker K.A. Ceramide and related molecules in viral infections. *Int J Mol Sci*. 2021;22(11):5676. doi 10.3390/ijms22115676
- Bian T., Gibbs J.D., Örvell C., Imani F. Respiratory syncytial virus matrix protein induces lung epithelial cell cycle arrest through a p53 dependent pathway. *PLoS One*. 2012;7(5):e38052. doi 10.1371/journal.pone.0038052
- Bitencourt T.C., Vargas J.E., Silva A.O., Fraga L.R., Filippi-Chiela E. Subcellular structure, heterogeneity, and plasticity of senescent cells. *Aging Cell*. 2024;23(4):e14154. doi 10.1111/acer.14154
- Blackhurst B.M., Funk K.E. Viral pathogens increase risk of neurodegenerative disease. *Nat Rev Neurol*. 2023;19(5):259-260. doi 10.1038/s41582-023-00790-6
- Bobak C.A., Abhimanyu, Natarajan H., Gandhi T., Grimm S.L., Nishiguchi T., Koster K., ... Cirillo J.D., O'Malley J., Hill J.E., Coarfa C., DiNardo A.R. Increased DNA methylation, cellular senescence and premature epigenetic aging in guinea pigs and humans with tuberculosis. *Aging*. 2022;14(5):2174-2193. doi 10.18632/aging.203936
- Cai Q., Shi P., Yuan Y., Peng J., Ou X., Zhou W., Li J., Su T., Lin L., Cai S., He Y., Xu J. Inflammation-associated senescence promotes *Helicobacter pylori* - induced atrophic gastritis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2021;11(3):857-880. doi 10.1016/j.jcmgh.2020.10.015
- Casto A.M., Seo S., Levine D.M., Storer B.E., Dong X., Hansen J.A., Boeckh M., Martin P.J. Genetic variants associated with cytomegalovirus infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2021;138(17):1628-1636. doi 10.1182/blood.2021012153
- Chatzopoulou F., Gioula G., Kioumis I., Chatzidimitriou D., Exindari M. Identification of complement-related host genetic risk factors associated with influenza A(H1N1)pdm09 outcome: challenges ahead. *Med Microbiol Immunol*. 2019;208(5):631-640. doi 10.1007/s00430-018-0567-9
- Chen C., Wang M., Zhu Z., Qu J., Xi X., Tang X., Lao X., ... Bai C., Zhang Z., Lu S., Song Y., Zhou W. Multiple gene mutations identified in patients infected with influenza A (H7N9) virus. *Sci Rep*. 2016;6(1):25614. doi 10.1038/srep25614
- Chen N.C., Partridge A.T., Tuzer F., Cohen J., Nacarelli T., Navas-Martin S., Sell C., Torres C., Martín-García J. Induction of a senescence-like phenotype in cultured human fetal microglia during HIV-1 infection. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2018;73(9):1187-1196. doi 10.1093/gerona/gly022
- Chumduri C., Gurumurthy R.K., Zietlow R., Meyer T.F. Subversion of host genome integrity by bacterial pathogens. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2016;17(10):659-673. doi 10.1038/nrm.2016.100
- De Jong S.J., Créquer A., Matos I., Hum D., Gunasekharan V., Lorenzo L., Jabot-Hanin F., ... Franco J.L., Burger B., Orth G., Jouanguy E., Casanova J.-L. The human CIB1-EVER1-EVER2 complex governs keratinocyte-intrinsic immunity to β -papillomaviruses. *J Exp Med*. 2018;215(9):2289-2310. doi 10.1084/jem.20170308
- Dean M., Carrington M., Winkler C., Huttley G.A., Smith M.W., Allikmets R., Goedert J.J., ... Kaslow R., Saah A., Rinaldo C., Detels R., O'Brien S.J. Genetic restriction of HIV-1 infection and progression to AIDS by a deletion allele of the *CKR5* structural gene. *Science*. 1996;273(5283):1856-1862. doi 10.1126/science.273.5283.1856
- DeSantis C.E., Miller K.D., Dale W., Mohile S.G., Cohen H.J., Leach C.R., Goding Sauer A., Jemal A., Siegel R.L. Cancer statistics for adults aged 85 years and older, 2019. *CA Cancer J Clin*. 2019; 69(6):452-467. doi 10.3322/caac.21577
- Di Giorgio E., Ranzino L., Tolotto V., Dalla E., Burelli M., Gualandi N., Brancolini C. Transcription of endogenous retroviruses in senescent cells contributes to the accumulation of double-stranded RNAs that trigger an anti-viral response that reinforces senescence. *Cell Death Dis*. 2024;15(2):157. doi 10.1038/s41419-024-06548-2
- Donato A.J., Machin D.R., Lesniewski L.A. Mechanisms of dysfunction in the aging vasculature and role in age-related disease. *Circ Res*. 2018;123(7):825-848. doi 10.1161/CIRCRESAHA.118.312563
- Esposito S., Molteni C.G., Giliani S., Mazza C., Scala A., Tagliaferri L., Pelucchi C., Fossali E., Plebani A., Principi N. Toll-like receptor 3 gene polymorphisms and severity of pandemic A/H1N1/2009 influenza in otherwise healthy children. *Virol J*. 2012;9(1):270. doi 10.1186/1743-422X-9-270
- Fafian-Labora J.A., O'Loughlin A. Classical and nonclassical intercellular communication in senescence and ageing. *Trends Cell Biol*. 2020;30(8):628-639. doi 10.1016/j.tcb.2020.05.003
- Grompone G., Martorell P., Llopis S., González N., Genovés S., Mulet A.P., Fernández-Calero T., Tiscornia I., Bollati-Fogolin M., Chambaud I., Foligné B., Montserrat A., Ramón D. Anti-inflammatory *Lactobacillus rhamnosus* CNCM I-3690 strain protects against oxidative stress and increases lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS One*. 2012;7(12):e52493. doi 10.1371/journal.pone.0052493
- Gu P., Wei R., Liu R., Yang Q., He Y., Guan J., He W., ... Zeng Z., Chen Z., Jiang Y., Liu Z., Chen P. Aging-induced alternation in the gut microbiota impairs host antibacterial defense. *Adv Sci*. 2025; 12(12):2411008. doi 10.1002/advs.202411008
- Hale A.E., Collins-McMillen D., Lenarcic E.M., Igarashi S., Kamil J.P., Goodrum F., Moorman N.J. FOXO transcription factors activate alternative major immediate early promoters to induce human cytomegalovirus reactivation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2020; 117(31):18764-18770. doi 10.1073/pnas.2002651117
- Han S.-J., Stacy A., Corral D., Link V.M., De Siqueira M.K., Chi L., Teijeiro A., Yong D.S., Perez-Chaparro P.J., Bouladoux N., Lim A.I., Enamorado M., Belkaid Y., Collins N. Microbiota configuration determines nutritional immune optimization. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2023;120(49):e2304905120. doi 10.1073/pnas.2304905120
- Hasegawa T., Oka T., Son H.G., Oliver-García V.S., Azin M., Eisenhaure T.M., Lieb D.J., Hacohen N., Demehri S. Cytotoxic CD4+ T cells eliminate senescent cells by targeting cytomegalovirus antigen. *Cell*. 2023;186(7):1417-1431.e20. doi 10.1016/j.cell.2023.02.033
- Hellani F., Leleu I., Saidi N., Martin N., Lecoœur C., Werkmeister E., Koffi D., Trottein F., Yapo-Etté H., Das B., Abbadie C., Pied S. Role of astrocyte senescence regulated by the non-canonical autophagy in the neuroinflammation associated to cerebral malaria. *Brain Behav Immun*. 2024;117:20-35. doi 10.1016/j.bbi.2023.12.030

- Hidaka F., Matsuo S., Muta T., Takeshige K., Mizukami T., Nunoi H. A missense mutation of the Toll-like receptor 3 gene in a patient with influenza-associated encephalopathy. *Clin Immunol.* 2006;119(2): 188-194. doi 10.1016/j.clim.2006.01.005
- Hwang H.J., Kang D., Shin J., Jung J., Ko S., Jung K.H., Hong S.-S., Park J.E., Oh M.J., An H.J., Yang W.-H., Ko Y.-G., Cha J.-H., Lee J.-S. Therapy-induced senescent cancer cells contribute to cancer progression by promoting ribophorin 1-dependent PD-L1 up-regulation. *Nat Commun.* 2025;16(1):353. doi 10.1038/s41467-024-54132-1
- Jallow M., Teo Y.Y., Small K.S., Rockett K.A., Deloukas P., Clark T.G., Kivinen K., ... Williams T.N., Wilson M., Kwiatkowski D.P.; Wellcome Trust Case Control Consortium; Malaria Genomic Epidemiology Network. Genome-wide and fine-resolution association analysis of malaria in West Africa. *Nat Genet.* 2009;41(6):657-665. doi 10.1038/ng.388
- Jeanpierre M., Cognard J., Tusseau M., Riller Q., Bui L.-C., Berthelot J., Laurent A., ... Rodrigues Lima F., Walzer T., Rieux-Laucat F., Belot A., Mathieu A.-L. Haploinsufficiency in PTPN2 leads to early-onset systemic autoimmunity from Evans syndrome to lupus. *J Exp Med.* 2024;221(9):e20232337. doi 10.1084/jem.20232337
- Jiang M., Xu Q., Wu Z. Optimized Yamanaka factors combined with TERT gene therapy for enhanced anti-aging effects. *Genes Dis.* 2026;13(2):101669. doi 10.1016/j.gendis.2025.101669
- Kamat P., Macaluso N., Li Y., Agrawal A., Winston A., Pan L., Stewart T., Starich B., Milcik N., Min C., Wu P.-H., Walston J., Fan J., Phillip J.M. Single-cell morphology encodes functional subtypes of senescence in aging human dermal fibroblasts. *Sci Adv.* 2025;11(17):eads1875. doi 10.1126/sciadv.ads1875
- Kannampuzha S., Gopalakrishnan A.V., Padinharayil H., Alappat R.R., Anilkumar K.V., George A., Dey A., Vellingiri B., Madhyastha H., Ganesan R., Ramesh T., Jayaraj R., Prabhakaran D.S. Onco-pathogen mediated cancer progression and associated signaling pathways in cancer development. *Pathogens.* 2023;12(6):770. doi 10.3390/pathogens12060770
- Kawamoto S., Uemura K., Hori N., Takayasu L., Konishi Y., Katoh K., Matsumoto T., ... Ohtani N., Standley D.M., Suda W., Fukuda S., Hara E. Bacterial induction of B cell senescence promotes age-related changes in the gut microbiota. *Nat Cell Biol.* 2023;25(6): 865-876. doi 10.1038/s41556-023-01145-5
- Kovtonyuk L.V., Caiado F., Garcia-Martin S., Manz E.-M., Helbling P., Takizawa H., Boettcher S., Al-Shahrour F., Nombela-Arrieta C., Slack E., Manz M.G. IL-1 mediates microbiome-induced inflammation of hematopoietic stem cells in mice. *Blood.* 2022;139(1): 44-58. doi 10.1182/blood.2021011570
- Lee S., Yu Y., Trimpert J., Benthani F., Mairhofer M., Richter-Pechanska P., Wyler E., ... Ralsner M., Eils R., Reimann M., Fan D.N.Y., Schmitt C.A. Virus-induced senescence is a driver and therapeutic target in COVID-19. *Nature.* 2021;599(7884):283-289. doi 10.1038/s41586-021-03995-1
- Li Y., Choi H., Leung K., Jiang F., Graham D.Y., Leung W.K. Global prevalence of *Helicobacter pylori* infection between 1980 and 2022: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2023;8(6):553-564. doi 10.1016/S2468-1253(23)00070-5
- Lin P.L., Flynn J.L. Understanding latent tuberculosis: a moving target. *J Immunol.* 2010;185(1):15-22. doi 10.4049/jimmunol.0903856
- Lipskaia L., Delval L., Sencio V., Born E., Heumel S., Houssaini A., Valentin C., ... Le Grand R., Le Goffic R., Bernard D., Adnot S., Trottein F. Virus-induced cellular senescence causes pulmonary sequelae post-influenza infection. *Aging Cell.* 2025;24(9):e70140. doi 10.1111/accel.70140
- Liu L., Hao X., Bai Y., Tian Y. The soil *Mycobacterium* sp. promotes health and longevity through different bacteria-derived molecules in *Caenorhabditis elegans*. *Aging Cell.* 2025;24(3):e14416. doi 10.1111/accel.14416
- Liu Yu., Gu S., Su Y., Wang S., Cheng Y., Sang X., Jin L., Liu Yi., Li C., Liu W., Chen M., Wang X., Wang Z. Embryonic stem cell extracellular vesicles reverse the senescence of retinal pigment epithelial cells by the p38MAPK pathway. *Exp Eye Res.* 2023;227:109365. doi 10.1016/j.exer.2022.109365
- Liu Z., Liang Q., Ren Y., Guo C., Ge X., Wang L., Cheng Q., Luo P., Zhang Y., Han X. Immunosenscence: molecular mechanisms and diseases. *Sig Transduct Target Ther.* 2023;8(1):200. doi 10.1038/s41392-023-01451-2
- Ma F., Liu X., Zhang Y., Tao Y., Zhao L., Abusalamah H., Huffman C., Harbison R.A., Puram S.V., Wang Y., Peng G. Tumor extracellular vesicle-derived PD-L1 promotes T cell senescence through lipid metabolism reprogramming. *Sci Transl Med.* 2025;17(785):eadm7269. doi 10.1126/scitranslmed.adm7269
- Majeed A.Y., Zulkafli N.E.S., Ad'hiah A.H. The *IFIH1* gene variants rs1990760 and rs2111485 are associated with COVID-19 susceptibility and affect IFIH1 protein levels in Iraqis. *Egypt J Med Hum Genet.* 2024;25(1):132. doi 10.1186/s43042-024-00601-7
- Majewska J., Agrawal A., Mayo A., Roitman L., Chatterjee R., Sekeresova Kralova J., Landsberger T., ... Wagner W., Maimon A., Amit I., Alon U., Krizhanovsky V. p16-dependent increase of PD-L1 stability regulates immunosurveillance of senescent cells. *Nat Cell Biol.* 2024;26(8):1336-1345. doi 10.1038/s41556-024-01465-0
- Mao J., Zhang Q., Zhuang Y., Zhang Y., Li L., Pan J., Xu L., Ding Y., Wang M., Cong Y.-S. Reactivation of senescence-associated endogenous retroviruses by ATF3 drives interferon signaling in aging. *Nat Aging.* 2024;4(12):1794-1812. doi 10.1038/s43587-024-00745-6
- Martin M.P. Genetic acceleration of AIDS progression by a promoter variant of CCR5. *Science.* 1998;282(5395):1907-1911. doi 10.1126/science.282.5395.1907
- Martinez I., Garcia-Carpizo V., Guijarro T., Garcia-Gomez A., Navarro D., Aranda A., Zambrano A. Induction of DNA double-strand breaks and cellular senescence by human respiratory syncytial virus. *Virulence.* 2016;7(4):427-442. doi 10.1080/21505594.2016.1144001
- Masters M.C., Landay A.L., Robbins P.D., Tchkonja T., Kirkland J.L., Kuchel G.A., Niedernhofer L.J., Palella F.J. Chronic HIV infection and aging: application of a geroscience-guided approach. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2022;89(Suppl.1):S34-S46. doi 10.1097/QAI.0000000000002858
- Mathiasen S.L., Gall-Mas L., Pateras I.S., Theodorou S.D.P., Namiini M.R.J., Hansen M.B., Martin O.C.B., ... Akbar A.N., Gorgoulis V.G., Frisan T., Ødum N., Krejsgaard T. Bacterial genotoxins induce T cell senescence. *Cell Rep.* 2021;35(10):109220. doi 10.1016/j.celrep.2021.109220
- McGovern K.E., Sonar S.A., Watanabe M., Coplen C.P., Bradshaw C.M., Nikolich J.Ž. The aging of the immune system and its implications for transplantation. *GeroScience.* 2023;45(3):1383-1400. doi 10.1007/s11357-022-00720-2
- Mei F., Xie M., Huang X., Long Y., Lu X., Wang X., Chen L. *Porphyromonas gingivalis* and its systemic impact: current status. *Pathogens.* 2020;9(11):944. doi 10.3390/pathogens9110944
- Nong C., Wu Z., Yang C., Xu W., Luo L., Zhou J., Shen L., Chen Y., Yuan Y., Hu G. Cdc42 improve SARS-CoV-2 spike protein-induced cellular senescence through activating of Wnt/β-Catenin signaling pathway. *Front Cell Infect Microbiol.* 2024;14:1449423. doi 10.3389/fcimb.2024.1449423
- Ogrodnik M., Carlos Acosta J., Adams P.D., d'Adda Di Fagagna F., Baker D.J., Bishop C.L., Chandra T., ... Witwer K., Von Zglinicki T., Yun M.H., Grillari J., Demaria M. Guidelines for minimal information on cellular senescence experimentation *in vivo*. *Cell.* 2024;187(16):4150-4175. doi 10.1016/j.cell.2024.05.059
- Okumura S., Konishi Y., Narukawa M., Sugiura Y., Yoshimoto S., Arai Y., Sato S., ... Fukunaga Y., Ueno M., Sakai Y., Nagayama S., Hara E. Gut bacteria identified in colorectal cancer patients promote tumorigenesis via butyrate secretion. *Nat Commun.* 2021;12(1): 5674. doi 10.1038/s41467-021-25965-x
- Omodeo-Salé F., Motti A., Basilico N., Parapini S., Olgiaro P., Taramelli D. Accelerated senescence of human erythrocytes cultured with *Plasmodium falciparum*. *Blood.* 2003;102(2):705-711. doi 10.1182/blood-2002-08-2437

- Powell T.R., Duarte R.R.R., Hotopf M., Hatch S.L., De Mulder Rougie M., Breen G.D., Lewis C.M., Nixon D.F. The behavioral, cellular and immune mediators of HIV-1 acquisition: new insights from population genetics. *Sci Rep.* 2020;10(1):3304. doi 10.1038/s41598-020-59256-0
- Pringsheim T., Jette N., Frolkis A., Steeves T.D.L. The prevalence of Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Mov Disord.* 2014;29(13):1583-1590. doi 10.1002/mds.25945
- Raviola S., Griffante G., Iannucci A., Chandel S., Lo Cigno I., Lacarbonara D., Caneparo V., ... Boldorini R., Cantaluppi V., Landolfo S., Gariglio M., De Andrea M. Human cytomegalovirus infection triggers a paracrine senescence loop in renal epithelial cells. *Commun Biol.* 2024;7(1):292. doi 10.1038/s42003-024-05957-5
- Reimann M., Lee S., Schmitt C.A. Cellular senescence: neither irreversible nor reversible. *J Exp Med.* 2024;221(4):e20232136. doi 10.1084/jem.20232136
- Ryu S., Shchukina I., Youm Y.-H., Qing H., Hilliard B., Dlugos T., Zhang X., ... Horvath T.L., Dietrich M.O., Artyomov M., Wang A., Dixit V.D. Ketogenic diet restrains aging-induced exacerbation of coronavirus infection in mice. *eLife.* 2021;10:e66522. doi 10.7554/eLife.66522
- Sadighi Akha A.A. Aging and the immune system: an overview. *J Immunol Methods.* 2018;463:21-26. doi 10.1016/j.jim.2018.08.005
- Saeedi Saravi S.S., Pugin B., Constancias F., Shabanian K., Spalinger M., Thomas A., Le Gludic S., ... Falchi M., Alimonti A., Ruschitzka F., Paneni F., Beer J.H. Gut microbiota-dependent increase in phenylacetic acid induces endothelial cell senescence during aging. *Nat Aging.* 2025;5(6):1025-1045. doi 10.1038/s43587-025-00864-8
- Saito Y., Murata-Kamiya N., Hirayama T., Ohba Y., Hatakeyama M. Conversion of *Helicobacter pylori* CagA from senescence inducer to oncogenic driver through polarity-dependent regulation of p21. *J Exp Med.* 2010;207(10):2157-2174. doi 10.1084/jem.20100602
- Salas A., Pardo-Seco J., Cebey-López M., Gómez-Carballa A., Obando-Pacheco P., Rivero-Calle I., Currás-Tuala M.-J., ... Martínez-Padilla M.D.C., Baca-Cots M., Moreno-Pérez D., Beatriz-Reyes S., León-León M.C. Whole exome sequencing reveals new candidate genes in host genomic susceptibility to respiratory syncytial virus disease. *Sci Rep.* 2017;7(1):15888. doi 10.1038/s41598-017-15752-4
- Scarpa E., Oliveri D., Moschetti G., Griego A., Vianello A., Rondelli D., Antinori B., ... Franzè S., Cidonio G., Manganaro L., Lorè N.I., Rizzello L. Chronic mycobacteria infection triggers macrophage senescence. *bioRxiv.* 2024. doi 10.1101/2024.11.05.622137
- Schmitt C.A., Tehkonia T., Niedernhofer L.J., Robbins P.D., Kirkland J.L., Lee S. COVID-19 and cellular senescence. *Nat Rev Immunol.* 2023;23(4):251-263. doi 10.1038/s41577-022-00785-2
- Seoane R., Vidal S., Bouzaher Y.H., El Motiam A., Rivas C. The interaction of viruses with the cellular senescence response. *Biology.* 2020;9(12):455. doi 10.3390/biology9120455
- Shi S., Zhang Q., Sang Y., Ge S., Wang Q., Wang R., He J. Probiotic *Bifidobacterium longum* BB68S improves cognitive functions in healthy older adults: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutrients.* 2022;15(1):51. doi 10.3390/nu15010051
- Smith M.W., Dean M., Carrington M., Winkler C., Huttley G.A., Lomb D.A., Goedert J.J., ... Multicenter AIDS Cohort Study (MACS); Multicenter Hemophilia Cohort Study (MHCS); San Francisco City Cohort (SFCC); ALIVE Study; O'Brien S.J. Contrasting genetic influence of *CCR2* and *CCR5* variants on HIV-1 infection and disease progression. *Science.* 1997;277(5328):959-965. doi 10.1126/science.277.5328.959
- Smolgovsky S., Ibeh U., Tamayo T.P., Alcaide P. Adding insult to injury – inflammation at the heart of cardiac fibrosis. *Cell Signal.* 2021; 77:109828. doi 10.1016/j.cellsig.2020.109828
- Thangaraj A., Chivero E.T., Tripathi A., Singh S., Niu F., Guo M.-L., Pillai P., Periyasamy P., Buch S. HIV TAT-mediated microglial senescence: role of SIRT3-dependent mitochondrial oxidative stress. *Redox Biol.* 2021;40:101843. doi 10.1016/j.redox.2020.101843
- Thye T., Vannberg F.O., Wong S.H., Owusu-Dabo E., Osei I., Gya-pong J., Sirugo G., ... Wellcome Trust Case Control Consortium; Morris A.P., Meyer C.G., Horstmann R.D., Hill A.V.S. Genome-wide association analyses identifies a susceptibility locus for tuberculosis on chromosome 18q11.2. *Nat Genet.* 2010;42(9):739-741. doi 10.1038/ng.639
- Trevisan K., Cristina-Pereira R., Silva-Amaral D., Aversi-Ferreira T.A. Theories of aging and the prevalence of Alzheimer's disease. *BioMed Res Int.* 2019;2019:9171424. doi 10.1155/2019/9171424
- Tulic M.K., Hurrelbrink R.J., Prêle C.M., Laing I.A., Upham J.W., Le Souef P., Sly P.D., Holt P.G. TLR4 polymorphisms mediate impaired responses to respiratory syncytial virus and lipopolysaccharide. *J Immunol.* 2007;179(1):132-140. doi 10.4049/jimmunol.179.1.132
- Wang H., Feng L., Pei Z., Zhao J., Lu S., Lu W. Gut microbiota metabolism of branched-chain amino acids and their metabolites can improve the physiological function of aging mice. *Aging Cell.* 2025; 24(4):e14434. doi 10.1111/accel.14434
- Wang Z., Ge S., Liao T., Yuan M., Qian W., Chen Q., Liang W., Cheng X., Zhou Q., Ju Z., Zhu H., Xiong W. Integrative single-cell metabolomics and phenotypic profiling reveals metabolic heterogeneity of cellular oxidation and senescence. *Nat Commun.* 2025;16(1):2740. doi 10.1038/s41467-025-57992-3
- Wyles S.P., Yu G.T., Gold M., Behfar A. Topical platelet exosomes reduce senescence signaling in human skin: an exploratory prospective trial. *Dermatol Surg.* 2024;50(11S):S160-S165. doi 10.1097/DSS.0000000000004426
- Xu F., Wang G., Zhao F., Huang Y., Fan Z., Mei S., Xie Y., ... Cen S., Liang C., Ren L., Guo F., Wang J. IFITM3 inhibits SARS-CoV-2 infection and is associated with COVID-19 susceptibility. *Viruses.* 2022;14(11):2553. doi 10.3390/v14112553
- Yan J., Chen S., Yi Z., Zhao R., Zhu J., Ding S., Wu J. The role of p21 in cellular senescence and aging-related diseases. *Mol Cells.* 2024; 47(11):100113. doi 10.1016/j.mocell.2024.100113
- Zhang D., Chen G., Manwani D., Mortha A., Xu C., Faith J.J., Burk R.D., Kunisaki Y., Jang J.-E., Scheiermann C., Merad M., Frenette P.S. Neutrophil ageing is regulated by the microbiome. *Nature.* 2015;525(7570):528-532. doi 10.1038/nature15367
- Zúñiga J., Buendía-Roldán I., Zhao Y., Jiménez L., Torres D., Romo J., Ramírez G., ... Su L., Tager A.M., Pardo A., Selman M., Christiani D.C. Genetic variants associated with severe pneumonia in A/H1N1 influenza infection. *Eur Respir J.* 2012;39(3):604-610. doi 10.1183/09031936.00020611

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 23.12.2025. После доработки 28.04.2026. Принята к публикации 04.05.2026.

doi 10.18699/vjgb-26-73

Изменение длины теломер растений *Arabidopsis thaliana* в результате инфицирования фитопатогенными бактериями *Pseudomonas syringae* DC3000

А.В. Санникова , Л.Р. Абдулкина , М.Р. Шарипова , Л.Р. Валеева  

Институт фундаментальной медицины и биологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

 liarvaleeva@gmail.com

Аннотация. Ключевым структурно-функциональным элементом, обеспечивающим стабильность генома большинства эукариот, являются теломеры – специализированные нуклеопротеиновые комплексы на физических концах линейных хромосом. Одна из важнейших характеристик теломер, определяющих их защитный потенциал, – длина теломерной ДНК. У растений *Arabidopsis thaliana* она варьирует среди экотипов, что может указывать на роль теломер в адаптации к различным условиям окружающей среды и стрессу, включая воздействие фитопатогенов. Однако механизмы регуляции длины теломер при биотическом стрессе остаются неизученными. В статье представлены результаты исследования зависимости длины теломер *A. thaliana* от инфицирования фитопатогенным штаммом *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000. В работе использовались природные экотипы растений Col-0 (средняя длина теломер) и Sf-2 (длинные теломеры), а также мутантные линии с нарушением регуляции длины теломер и с теломерным фенотипом дикого типа, *oli5-2^{-/-}* и *nop2c-2^{-/-}* соответственно. Установлено, что восприимчивость к фитопатогену различается у растений разных генотипов: линия *oli5-2^{-/-}* с короткими теломерами проявляла наибольшую чувствительность, в том числе по сравнению с диким типом и линией *nop2c-2^{-/-}*, в то время как растения экотипа с длинными теломерами Sf-2 отличались наибольшей устойчивостью. Значимое укорочение длины теломер на третьи сутки после инфицирования было обнаружено на коротком плече хромосомы 4 у инфицированных растений линии *nop2c-2^{-/-}*, тогда как длина теломер инфицированных растений *oli5-2^{-/-}* незначительно сокращалась на третьи сутки и возрастала на седьмые сутки после инфицирования, что указывает на динамичность регуляции длины теломер при стрессе. Длина теломер растений дикого типа значительно не изменялась при инфицировании. Наиболее устойчивая линия Sf-2 сохраняла длину теломер на третьи и седьмые сутки после инфицирования, но на 18-е сутки происходило значительное укорочение теломер. Таким образом, впервые показано, что фитопатогенная инфекция влияет на длину теломер у растений, что открывает новое направление в изучении их регуляции при биотическом стрессе.

Ключевые слова: теломеры растений; стабильность ДНК; биотический стресс; бактериальная инфекция; рибосомные белки; метилтрансфераза рРНК; фитопатогены

Для цитирования: Санникова А.В., Абдулкина Л.Р., Шарипова М.Р., Валеева Л.Р. Изменение длины теломер растений *Arabidopsis thaliana* в результате инфицирования фитопатогенными бактериями *Pseudomonas syringae* DC3000. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2026;30(5):725-734. doi 10.18699/vjgb-26-73

Финансирование. Работа выполнена в рамках программы стратегического академического лидерства «Приоритет-2030».

Changes in telomere length in *Arabidopsis thaliana* plants infected with the phytopathogenic bacteria *Pseudomonas syringae* DC3000

A.V. Sannikova , L.R. Abdulkina , M.R. Sharipova , L.R. Valeeva  

Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

 liarvaleeva@gmail.com

Abstract. Telomeres are specialized nucleoprotein complexes at the physical ends of linear chromosomes of most eukaryotes that represent a key structural element in genome stability regulation. One of the most important characteristics determining the protective capacity of telomeres is telomere length (TL). In *Arabidopsis thaliana*, telomere length varies among ecotypes, which may be considered as an adaptive mechanism to various environmental and stress conditions, including phytopathogenic infections. However, the mechanisms of TL regulation under biotic stress remain unclear. Here, we show the results of our study of the TL changes in *A. thaliana* plants under the *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 infection. In the study, we used natural ecotypes Col-0 (medium telomere length) and Sf-2 (long telomeres), as well as mutant plant lines with disordered and wild-type telomere length phenotypes, *oli5-2^{-/-}* and *nop2c-2^{-/-}*, respectively. It was found that susceptibility to the phytopathogen varies in plants: the line with short

telomeres, *oli5-2^{-/-}*, showed the highest sensitivity compared to the WT and *nop2c-2^{-/-}*. Sf-2 plants possessed the highest resistance to the infection. Significant shortening of TL on the third day after infection was found on the short arm of chromosome 4 of infected *nop2c-2^{-/-}* plants, whereas TL of infected *oli5-2^{-/-}* plants slightly decreased on the third day and increased on the seventh day after infection. The most resistant line Sf-2 retained TL on the third and seventh days after infection but significantly lost it on the 18th day. So, it was shown for the first time that phytopathogenic infection affects telomere length in plants, which opens a new direction in the study of plant telomere regulation under biotic stress.

Key words: plant telomeres; DNA stability; biotic stress; bacterial infection; ribosomal proteins; rRNA methyltransferase; phytopathogens

For citation: Sannikova A.V., Abdulkina L.R., Sharipova M.R., Valeeva L.R. Changes in telomere length in *Arabidopsis thaliana* plants infected with the phytopathogenic bacteria *Pseudomonas syringae* DC3000. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektzii* = *Vavilov J Genet Breed.* 2026;30(5):725-734. doi 10.18699/vjgb-26-73

Введение

Взаимодействие живых организмов с окружающей средой требует от них разнообразных и тонко регулируемых механизмов адаптации для поддержания гомеостаза, среди которых защита генома имеет первостепенную важность. Биотический стресс может создавать колоссальную нагрузку на поддержание целостности генома. В клетках животных микробные метаболиты, такие как колибактин Е, могут производить генотоксический эффект на ДНК организма-хозяина, в том числе за счет алкилирования, что ведет к ее деградации (Wilson et al., 2019; Xue et al., 2019; Puschhof, Sears, 2022). Воздействие некоторых патогенов, например *Helicobacter pylori* и *Staphylococcus aureus*, может приводить к двуцепочечным разрывам и фрагментации ДНК человека (Chakraborty et al., 2011; Toller et al., 2011). Биотический стресс, в частности воздействие фитопатогенных микроорганизмов, оказывает комплексное и многоуровневое влияние и на растительный организм (Kong, Yang, 2023; Solomon et al., 2024). На уровне генома микробные инфекции способны индуцировать двуцепочечные разрывы ДНК растений и изменения в структуре и архитектуре хроматина, а также инициировать ответную реакцию на уровне метилирования ДНК и гистонов (Pavet et al., 2006; Dowen et al., 2012; López Sánchez et al., 2016; Alonso et al., 2018; Hannan Parker et al., 2022; Corrêa et al., 2024).

В свою очередь, как и для большинства других эукариот, одним из фундаментальных структурно-функциональных элементов, определяющих целостность хроматина растений, являются теломеры (McKnight et al., 2002; Riha, Shippen, 2003; Zakian, 2012; Peska, Garcia, 2020; Shakirov et al., 2022). Теломеры представляют собой специализированные нуклеопротеиновые структуры на концах линейных хромосом большинства эукариот, состоящие из tandemных повторов ДНК и связанного с ними белкового комплекса. Именно теломеры поддерживают стабильность линейного генома, предотвращая узнавание концов хромосом собственными экзонуклеазами и ферментами репарации и не допуская их патологического слияния (Riha, Shippen, 2003). Кроме того, теломеры ответственны за контроль незапрограммированной деградации генома во время деления клетки, обуславливающей репликативное старение (Watson, Riha, 2010). Таким образом, укорочение теломер является важным маркером нарушения стабильности генома (Gan, 2003; Amiard et al., 2014; Shakirov et al., 2022; Agabekian et al., 2024; Di Pietro et al., 2024).

Стресс тоже может повлиять на структуру теломер, сокращение длины теломерной ДНК или снижение теломеразной активности. В свою очередь, взаимосвязь теломер и инфекционных заболеваний все еще остается мало изученной в лабораторных и природных условиях, а ее механизм – спорным (Karell et al., 2017; Giraudeau et al., 2019; Sudyka et al., 2019; Wolf et al., 2023; Ravindran et al., 2024). При этом достоверной информации о влиянии биотического стресса на регуляцию длины теломер растений в настоящее время нет.

Известно, что длина теломер *A. thaliana* варьирует в широком диапазоне среди сотен известных экотипов (Riha et al., 2002; Shakirov, Shippen, 2004; Abdulkina et al., 2019; Choi et al., 2021). Кроме того, ранее было показано, что молекулярные механизмы, регулирующие теломеры, тесно связаны с поддержанием структуры и функционированием других важнейших субклеточных структур – рибосом (Abdulkina et al., 2019; Valeeva et al., 2023). Так, некоторые ассоциированные с биогенезом рибосом белки являются положительными регуляторами длины теломер арабидопсиса (Abdulkina et al., 2019; Agabekian et al., 2024). Ген *NOP2A/OLI2* *A. thaliana* кодирует ключевой фермент метилирования 25S рРНК и созревания 60S субъединицы рибосомы, а его мутация сопровождается выраженными нарушениями развития и метаболизма растения (Maekawa, Yanagisawa, 2021), а также сокращением длины теломер на 27 % от длины, характерной для растений дикого типа (Abdulkina et al., 2019). Паралог *NOP2A*, *NOP2C/NSUN5*, тоже относится к *NOP2/NSUN* метилтрансферазам 25S рРНК (Burgess et al., 2015), однако мутации в гене, кодирующем этот фермент, не приводят к изменениям длины теломер (Kobayashi, 2018), что говорит о его функциональной дивергенции. Укорочение теломер *A. thaliana* обнаружено у мутантов по генам-паралогам рибосомного белка *L5 – OLI5/RPL5A* и *OLI7/RPL5B* (Abdulkina et al., 2019). При этом все больше данных свидетельствует о важной роли рибосомных, а также связывающих и модифицирующих рибосомы белков в адаптации к стрессу (Schosserer et al., 2015; Tieu Ngoc et al., 2021; Fakih et al., 2023; Siodmak et al., 2023; Wang et al., 2024; Cai et al., 2025; Fakih, Germain, 2025).

В настоящей работе мы исследовали влияние бактериальной инфекции на длину теломер у *A. thaliana*. Нами были использованы линии растений, различающиеся не только по генотипу, но и по длине теломер: два природных экотипа *A. thaliana* – Col-0 и Sf-2 (средняя длина теломер

и длинные теломеры соответственно), а также две мутантные линии растений – *oli5-2^{-/-}* с укороченными теломерами и *nor2c-2^{-/-}* с отсутствием нарушений в длине теломер. Таким образом, полученные результаты являются первым шагом в изучении регуляции длины теломер растений в условиях биотического стресса.

Материалы и методы

Линии растений и штаммы бактерий. В работе были использованы растения *Arabidopsis thaliana* экотипа Columbia (Col-0) и экотипа San Feliu-2 (Sf-2) и мутантные линии растений на основе экотипа Col-0: по гену S-аденозил-L-метионин-зависимой метилтрансферазы pPHK *NOP2C* (локус At1g06560, линия *nor2c-2^{-/-}*) и гену белка L5A большой субъединицы рибосом *OLI5/RPL5A* (локус At3g25520, линия *oli5-2^{-/-}*). Растения *nor2c-2^{-/-}* (второе поколение, G2), *oli5-2^{-/-}* (второе поколение, G2) были гомозиготными по T-ДНК вставке в целевом гене. Семена растений были заказаны из стокового центра семян *Arabidopsis* Biological Resource Center (ABRC) (Университет Огайо, США).

Для проведения экспериментов семена поверхностно стерилизовали в растворе гипохлорита натрия по стандартной методике (Lindsey et al., 2017). Промытые семена оставляли в воде при 4 °C в течение суток для стратификации. Затем 10 семян помещали на твердую питательную среду MS (Murashige and Skoog Basal Medium: 1/2 MS, 1 % сахароза, pH 5.6) в чашки Петри и проращивали в стандартных условиях в течение 14 суток (фотопериод 16 ч день/8 ч ночь, температура 20–22 °C, относительная влажность воздуха 45–60 %, освещенность 7000–9000 лк). Растения выращивали в климатической камере (Sanyo, Япония). Для инфицирования растений *A. thaliana* использовали фитопатогенный штамм *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 (Pst DC3000) из коллекции лаборатории. Штаммы Pst DC3000 выращивали при 28 °C в жидкой питательной среде MG (Mannitol-glutamate medium; маннитол – 54.9 mM, глутаминовая кислота – 6.8 mM, KH_2PO_4 – 0.735 mM, CaCl_2 – 1.80 mM, NaCl – 3.42 mM, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.812 mM, FeSO_4 – 1.78 mM, Na-EDTA – 0.994 mM, pH 7.0) с добавлением антибиотика рифампицина (50 мкг/мл) при перемешивании с амплитудой 250 об/мин.

Инфицирование растений проводили в чашках Петри по оптимизированной методике Flood-inoculation, разработанной для проростков *A. thaliana* (Ishiga et al., 2011). Для инфицирования все линии растений выращивали в течение 14 суток в стандартных условиях, описанных в начале раздела. Бактериальную культуру Pst DC3000 выращивали в условиях, тоже описанных выше, в течение 12–14 ч до достижения оптической плотности $\text{OD}_{600} = 0.4$. Перед инфицированием растений бактериальные клетки осаждали центрифугированием при 5000 об/мин, промывали два раза от остатков питательной среды и ресуспендировали клеточный осадок в 2.5 % растворе сахарозы с добавлением 0.025 % пенообразователя Silwet L-77. Контрольную группу растений обрабатывали безбактериальной стерильной 2.5 % сахарозой с добавлением 0.025 % Silwet L-77.

Ответную реакцию растений и внешние симптомы развития патологий наблюдали и фотографировали на первые, третьи, пятые и седьмые сутки после инфицирования; линию растений Sf-2 наблюдали до 18 суток. Для каждой линии растений эксперимент проводили минимум в трех повторностях: три контрольные группы и три инфицированные группы на каждую временную точку. Отбор растений для анализа длины теломер осуществляли на третьи, пятые и седьмые сутки после инфицирования, а также дополнительно на 18-е сутки для линии Sf-2.

Анализ бактериального инфицирования тканей растений. Для оценки инвазии клеток *P. syringae* DC3000 в клетки и ткани *A. thaliana* проводили высев с поверхности и из гомогената тканей растений, как описано в (Ishiga et al., 2011). Анализ выполняли на шестые сутки после инфицирования.

Анализ длины теломер растений. Геномную ДНК растений для измерения длины теломер выделяли стандартным методом с применением CTAB-буфера (Castillo-González et al., 2022). Длину теломер растений на индивидуальных плечах хромосом измеряли методом PETRA (primer extension telomere repeat amplification) с использованием специфических праймеров к субтеломерным последовательностям плеч хромосом 4 и 5: праймер 4R к короткому плечу хромосомы 4, праймеры 5L и 5R к короткому и длинному плечам хромосомы 5 соответственно (Mayer et al., 1999; Tabata et al., 2000; Heacock et al., 2004; Watson, Shippen, 2007). Полученные ПЦР-продукты анализировали с помощью нерадиоактивного Саузерн-блот анализа с использованием DIG-меченой теломерной ДНК пробы (Sigma-Aldrich, США) и DIG-специфичных антител (Roche, США). Средние значения длины теломер рассчитывали онлайн-инструментом WALTER (<https://www.ceitec.eu/chromatin-molecular-complexes/rg51/tab?tabId=125#WALTER>) (Lyčka et al., 2021).

Статистический анализ выполняли в программе GraphPad Prism v.8.0 (GraphPad Software, США). Для визуализации данных и построения диаграмм использовали распределение средних значений длины теломер и стандартные отклонения. Для определения статистической значимости применяли двусторонний непараметрический *t*-тест; различия считались значимыми при $p < 0.05$.

Результаты и обсуждение

Различие в чувствительности к фитопатогенной инфекции у растений с разным генотипом

Для выявления корреляции между процессами ответной реакции на биотический стресс и регуляцией длины теломер было проведено инфицирование фитопатогенным штаммом *P. syringae* DC3000 14-суточных растений *A. thaliana* четырех генотипов (рис. S1 Приложения)¹:

1) контрольного экотипа Col-0 с длиной теломер 2.0–5.0 тысяч пар нуклеотидов (т. п. н.) (Shakirov, Shippen, 2004);

¹ Рис. S1–S3 Приложения см. по адресу:

<https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2026-30/appx39.pdf>

- 2) экотипа Sf-2 с длинными теломерами, 4.5–7.0 т. п. н. (Abdulkina et al., 2019);
- 3) линии *oli5-2^{-/-}* растений-мутантов по гену рибосомного белка *OLI5/RPL5A* (укороченные по сравнению с диким типом Col-0 теломеры, 1.8–2.0 т. п. н.);
- 4) линии *nop2c-2^{-/-}* растений-мутантов по гену S-ацетил-L-метил-зависимой метилтрансферазы рРНК *NOP2C*, регулятора биогенеза рибосом (средняя длина теломер всех хромосом не изменяется по сравнению с диким типом Col-0) (Kobayashi, 2018).

Для подтверждения инфицирования и инвазии фитопатогена в клетки растений мы провели бактериальный посев из смывов и из гомогенатов поверхностно стерилизованных тканей контрольных и инфицированных растений. Фитопатогенный штамм присутствовал во внутри- и межклеточных компартментах клеток тканей, что подтверждает инвазию патогена в межклеточное пространство тканей и внутрь клеток тканей растений (рис. S2). Наличие клеток Pst DC3000 было показано также на поверхности растений. В контрольной группе (неинфицированные растения) колонии *P. syringae* DC3000 не были найдены ни на поверхности, ни внутри растений, что свидетельствует об отсутствии контаминации при проведении эксперимента (см. рис. S2).

В течение всего эксперимента в контрольных неинфицированных группах все линии растений развивались одинаково и без внешних признаков стресса (рис. 1). В то же время в группах инфицированных растений были обнаружены различия в ответной реакции на фитопатоген между растениями разных линий. На первые и вторые сутки после инфицирования растений не наблюдалось заметных морфологических и фенотипических изменений ни у одной из опытных групп. Однако на третьи сутки в группе инфицированных растений были обнаружены признаки патологии листьев, наиболее выраженные у мутантной линии *oli5-2^{-/-}*. У растений этих линий наблюдалось изменение пигментации листьев, что свидетельствовало

о накоплении защитных гликозидов – антоцианов, которые образуются в тканях многих растений в ответ на различные факторы стресса и защищают от высоких концентраций активных форм кислорода (АФК) (Gould, 2004; Li, Ahammed, 2023). Также преимущественно на семядолях отмечено проявление хлороза, что является характерным признаком инфекции DC3000 в отношении арабидопсиса (Katagiri et al., 2002) и причиной отмирания листьев. Признаки поражения тканей, такие как хлороз и некроз, и отмирание листовых пластин растений линии *oli5-2^{-/-}* усиливались с каждым последующим днем роста, вплоть до седьмых суток, когда степень поражения тканей стала критичной и эксперимент был завершен. Линии растений *nop2c-2^{-/-}* и дикого типа Col-0 показали большую устойчивость к инфицированию. Так, на третьи сутки после инфицирования растения этих линий имели более темно-зеленую окраску, но без заметного наличия антоцианов, а также меньшее количество листьев с хлорозом. Более выраженными признаки ответной реакции на стресс стали на пятые сутки после инфицирования и достигли критических значений также на седьмые сутки (см. рис. 1).

В то же время обнаружено, что растения экотипа Sf-2, обладающего длинными теломерами, наиболее устойчивы к инфекции по сравнению с другими линиями. Единственным проявлением стрессового ответа было замедление роста растений Sf-2 начиная с пятых суток после инфицирования, что выражалось в виде более мелких листовых пластин по сравнению с контрольной группой растений (см. рис. 1). Патологические изменения тканей Sf-2, такие как хлороз и некроз листьев, стали наблюдаться после 14 суток после инфицирования, и лишь на 18-е сутки у растений данной группы была поражена большая часть побегов.

Таким образом, нами показано, что растения с разными генотипами обладают разной устойчивостью и ответной реакцией на биотический стресс, в частности на инфицирование фитопатогенными бактериями. Причем линия

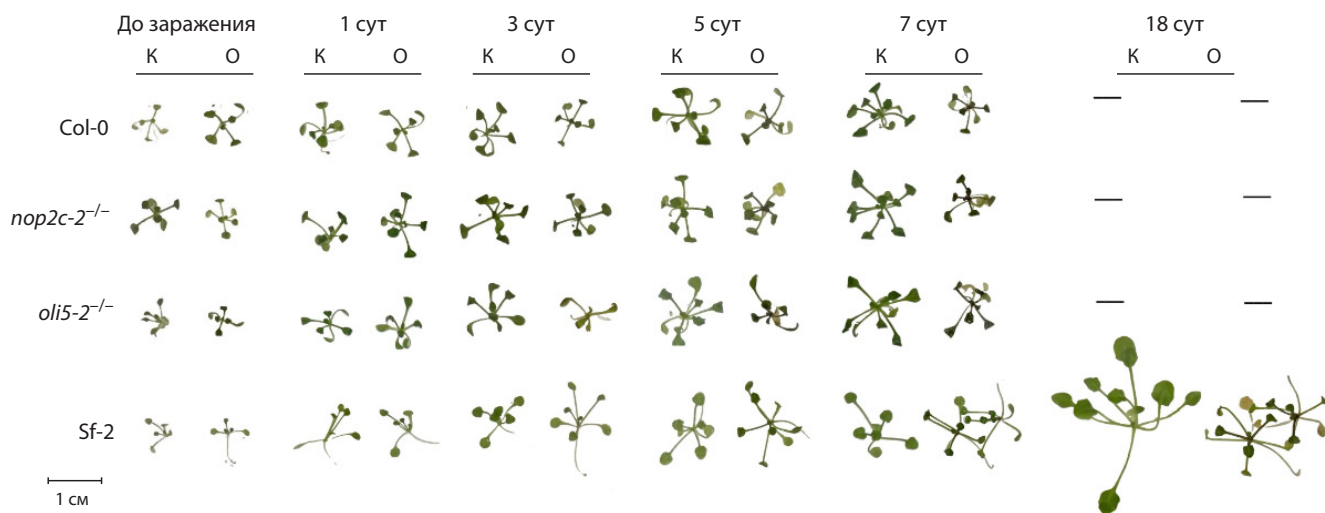


Рис. 1. Динамика развития симптомов инфекции у проростков *A. thaliana* после инфицирования (О) и в контроле (К).

Col-0 – дикий тип; *oli5-2^{-/-}*, *nop2c-2^{-/-}* – мутантные линии, полученные на основе экотипа Col-0; Sf-2 – экотип, имеющий длинные теломеры.

oli5-2^{-/-}, с нарушением в регуляции длины теломер (укороченные теломеры), была наименее устойчива к фитопатогенной инфекции по сравнению с диким типом Col-0 и линией *nop2c-2^{-/-}*, тогда как растения с более длинными теломерами экотипа Sf-2 проявили наибольшую устойчивость к инфекции по сравнению со всеми исследованными линиями. Полученные данные могут указывать на возможную корреляцию между устойчивостью к фитопатогенам и длиной теломер.

Влияние бактериального инфицирования на длину теломер *A. thaliana*

Согласно полученным в ходе эксперимента по инфицированию растений результатам, наиболее чувствительной к инфицированию *P. syringae* DC3000 была линия мутантов с укороченными теломерами *oli5-2^{-/-}*, и в целом линии с более короткими теломерами были менее устойчивы к фитопатогену. Далее мы проанализировали длину теломер у инфицированных растений и растений контрольных

групп. Для анализа длины теломер был использован метод PETRA, основанный на ПЦР, что позволило провести измерение при наличии минимального количества растительного материала и выделенной ДНК (Heacock et al., 2004; Watson, Shippen, 2007). Кроме того, метод PETRA позволил определить длину теломер на плечах хромосом, тем самым выявив статистически значимые различия при небольших абсолютных значениях изменений длины теломер.

Проведен анализ длины теломер растений на коротком плече хромосомы 4 (4R), длинном и коротком плечах хромосомы 5 (5R и 5L соответственно) на третьи сутки после инфицирования, когда признаки инфекционного поражения и ответной реакции на стресс различались у исследуемых линий растений. В результате было показано, что у всех трех линий происходило укорочение длины теломер на коротком плече хромосомы 4 при инфицировании по сравнению с контрольными группами (рис. 2, см. таблицу). При этом значимое укорочение было выявлено

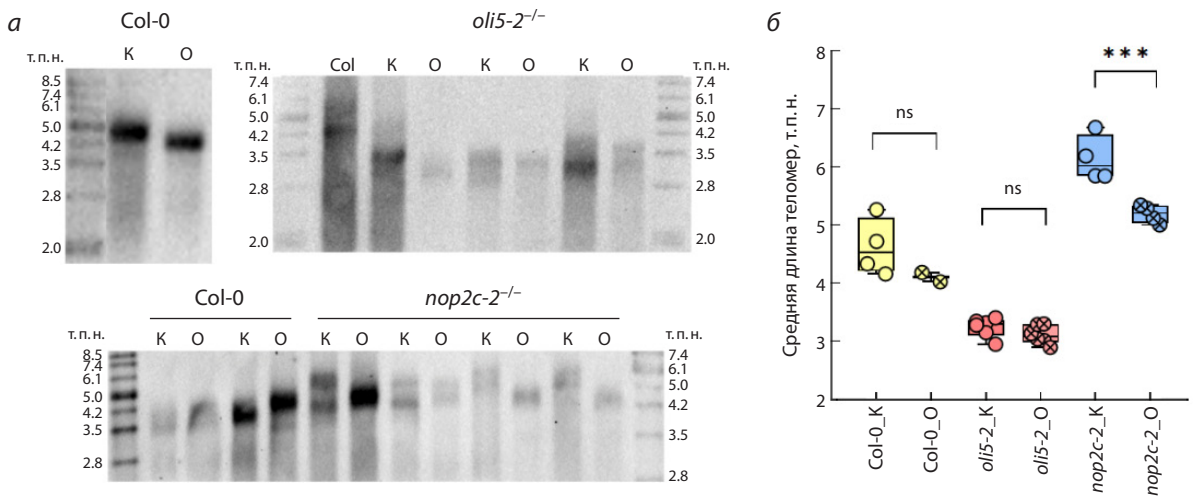


Рис. 2. Длина теломер на коротком плече четвертой хромосомы (4R) у растений линий Col-0, *oli5-2^{-/-}* и *nop2c-2^{-/-}* на третьи сутки после инфицирования.
а – Саузерн-блот анализ продуктов PETRA; б – средняя длина теломер. Статистическая значимость рассчитана с помощью непарного t-тест анализа, где ns – нет статистически значимого различия; *** $p \leq 0.001$.

Длина теломер *A. thaliana* исследованных линий в отсутствие фитопатогенного штамма Pst DC3000 и в условиях инфицирования

Хромосомное плечо	Col-0		<i>oli5-2^{-/-}</i>		<i>nop2c-2^{-/-}</i>		Sf-2	
	К	О	К	О	К	О	К	О
3 дня после инфицирования								
4R	4.62 ± 0.49	4.10 ± 0.11	3.24 ± 0.17	3.11 ± 0.16	6.14 ± 0.39	5.19 ± 0.16	7.11	6.49
5L	3.67 ± 0.14	4.29	3.42 ± 0.46	3.68 ± 0.26	4.21 ± 0.46	4.35 ± 0.72		н/д
5R	3.13 ± 0.20	2.76 ± 0.26	1.97 ± 0.08	2.16 ± 0.14	3.83 ± 0.11	3.87 ± 0.25		н/д
7 дней после инфицирования								
4R		н/д	3.15 ± 0.06	3.29 ± 0.01		н/д	7.27 ± 0.14	6.96 ± 0.04
18 дней после инфицирования								
4R		н/д		н/д		н/д	6.63 ± 0.70	3.71 ± 1.14

Примечание. К – контрольная группа; О – инфицированная группа; н/д – нет данных.

лишь для линии *por2c-2^{-/-}* (6.14 ± 0.39 т.п.н. в контроле против 5.19 ± 0.16 т.п.н. в инфицированных растениях; укорочение в среднем на 0.95 т.п.н., $p = 0.0042$) (см. рис. 2, таблицу). У линии *oli5-2^{-/-}*, с наиболее выраженными внешними патологическими признаками на данном сроке, укорочение длины теломер хотя и было выявлено (3.24 ± 0.17 т.п.н. в контроле против 3.11 ± 0.16 т.п.н. в инфицированных растениях; укорочение в среднем на 0.13 т.п.н., $p = 0.20$), но не подтверждалось статистически, как и у линии дикого типа Col-0 (4.62 ± 0.49 т.п.н. в контроле против 4.10 ± 0.11 т.п.н. в инфицированных растениях; укорочение в среднем на 0.52 т.п.н., $p = 0.24$) (см. рис. 2, таблицу).

Дополнительное измерение длины теломер на плече 4R у растений линии *oli5^{-/-}* было проведено на седьмые сутки после инфицирования. Обнаружено, что на более позднем сроке развития инфекции, которому соответствовали более выраженные признаки поражения растений, теломеры были длиннее у инфицированных растений (3.15 ± 0.06 т.п.н. у растений контрольной группы против 3.29 ± 0.01 т.п.н. в инфицированных растениях, $p = 0.025$) (см. таблицу, рис. S3).

При этом динамика изменения длины теломер на плече 4R экотипа с длинными теломерами Sf-2 коррелировала с динамикой развития инфекции в данной линии растений (см. таблицу). Так, на третьи и седьмые сутки после инфицирования, когда не наблюдалось выраженных патологических изменений в росте и развитии растений, длина теломер Sf-2 сохранялась неизменной по сравнению с контрольной группой. Однако на 18-е сутки после инфицирования, когда растения демонстрировали явные признаки биотического стресса, длина теломер на плече 4R значительно сократилась.

Для выяснения, является ли наблюдаемое изменение длины теломер общим для плеч всех хромосом, мы дополнительно проанализировали теломерные локусы на 5-й хромосоме с использованием праймеров, специфичных к длинному и короткому плечам (5R и 5L соответственно). Однако при анализе 5R и 5L была обнаружена противоположная тенденция в регуляции длины теломер: в случае плеча 5L теломеры были незначительно длиннее у инфицированных растений всех линий, тогда как в случае 5R разница не выявлена (см. таблицу). Отличие от результатов, полученных другими исследователями при анализе длины теломер на плече 4R, может быть связано с тем, что изменения длины теломер индивидуально регулируются на разных хромосомных плечах у индивидуальных организмов (Graakjaer et al., 2003; Perner et al., 2003; Sholes et al., 2022; Karimian et al., 2024).

Таким образом, было показано, что инфицирование фитопатогеном *P. syringae* DC3000 приводит к сокращению длины теломер в растениях *A. thaliana*, причем это коррелирует с генотипом растений.

Хотя исследования регуляции, структуры и функций теломер проводятся на протяжении многих лет, в настоящее время все еще мало известно о регуляции длины теломер при воздействии вирусных и бактериальных инфекций или паразитов. Немногочисленные исследования прово-

дились на животных или на клинических образцах тканей человека, тогда как никакой достоверной информации о влиянии биотического стресса на теломеры растений до сих пор не было получено. В нашей работе мы выбрали в качестве модели инфицирование растений *A. thaliana* различных генотипов фитопатогенным штаммом бактерий *P. syringae* DC3000 и провели анализ изменения длины теломер. Главным результатом стало обнаружение корреляции между инфицированием и длиной теломер, а также зависимости выраженности изменений в длине теломер от генотипа растений. Несмотря на небольшую выборку как природных экотипов, так и мутантных линий, использованных в работе, полученные результаты дают начало важному направлению в изучении регуляции теломер и стабильности хроматина при патологии растений и при их взаимодействии с микроорганизмами.

Как показывают исследования, достаточно явно связь биотического стресса и регуляции длины теломер прослеживается при вирусных заболеваниях человека и животных. С одной стороны, вирусы могут вызывать деградацию геномной ДНК, сокращение теломер и их дисфункцию. Так, при хронических вирусных инфекциях происходит повреждение теломерной ДНК организма-хозяина и ее укорочение (Bellon, Nicot, 2017; Dowd et al., 2017; Ji et al., 2019; Lim et al., 2022). С другой стороны, влияние вирусов на теломеры опосредовано увеличением активности теломеразы и последующим онкогенным перерождением инфицированных клеток. Обнаружено, что ДНК- и РНК-онковирусы могут взаимодействовать с теломеразой, как интегрируясь непосредственно в теломеры клетки-хозяина, так и активируя промотор теломеразы (Salimi-Jeda et al., 2021). Доказано, что такие вирусы, как вирус Эпштейна-Барр (Kamranvar, Masucci, 2017), папилломавирус человека (Liu X. et al., 2008), вирус гепатита В (Salimi-Jeda et al., 2021), могут нарушать регуляцию теломер и теломеразы, что впоследствии приводит к иммортализации клеток и развитию злокачественных образований. Кроме того, некоторые вирусы могут индуцировать механизмы альтернативного удлинения теломер (ALT) (Zhu et al., 2017; Lippert et al., 2021; Tornesello et al., 2022).

Помимо вирусных инфекций человека, ученые исследовали влияние других источников биотического стресса на длину теломер животных. Например, было показано, что заражение малярией ведет к сокращению длины теломер у птиц, таких как серые совы и лазоревки, и, кроме того, влияет на продолжительность их жизни (Karell et al., 2017; Sudyka et al., 2019). С другой стороны, в исследовании овец породы 'Соэй' ('Soay') не обнаружено корреляции между длиной теломер в лейкоцитах и заражением паразитическими нематодами, что позволило сделать вывод об отсутствии взаимосвязи между затратами на поддержание иммунитета и длиной теломер (Ravindran et al., 2024).

Согласно нашим результатам, растения с более короткими теломерами были более чувствительны к фитопатогенной инфекции и их теломеры сокращались на более ранних сроках после инфицирования. Таким образом, перед нами стоит вопрос о корреляции изначальной длины теломер и устойчивости к инфекции. Может ли длина теломер

служить достоверным прогностическим биомаркером для предсказания чувствительности или, наоборот, большей устойчивости к биотическому стрессу? Для более полного понимания этой взаимосвязи в дальнейшем необходимы исследования на большой выборке природных экотипов *A. thaliana* с разной длиной теломер, а также включение в работу большего количества растений-мутантов по известным генам-регуляторам теломер растений.

В настоящее время подобные широкомасштабные исследования проводились в основном на пациентах с вирусными заболеваниями: в частности, новая волна внимания к изучению взаимосвязи теломер и инфекций возникла после пандемии коронавируса COVID-19. В ряде работ была выявлена обратная корреляция между длиной теломер и тяжестью клинических исходов у госпитализированных пациентов, что может указывать на иммунопротекторные эффекты, связанные с более длинными теломерами, обеспечивающими меньшую восприимчивость к тяжелым исходам COVID-19 (Dos Santos et al., 2021; Vos et al., 2025). Однако проведение масштабных исследований взаимосвязи длины теломер и инфекционных заболеваний в естественных популяциях животных, а также среди пациентов затрудняется многими факторами: различием размера выборок, возрастными группами, типами и тяжестью изучаемых инфекций, методами измерения теломер и типами исследуемых тканей. Кроме того, не всегда можно выявить истинную причинно-следственную связь между длиной теломер и симптомами или тяжестью протекания инфекций (Tunncliffe et al., 2024).

Другой важный вопрос – выяснение механизма влияния инфекционного агента на регуляцию длины теломер растений. Мы предполагаем, что одним из вероятных механизмов является губительное влияние активных форм кислорода (АФК) на внутренний гомеостаз и стабильность хроматина, концентрация которых возрастает в ходе иммунного ответа растений на биотический стресс. В отсутствие стресса различные АФК, синтезируемые самими растениями, играют роль сигнальных молекул и участвуют в регуляции многих клеточных процессов, а их продукция и концентрация строго контролируются (Guo et al., 2023; Sood, 2025). Но в условиях биотического стресса, включая контакт с фитопатогеном или его инвазию, продукция АФК растительной клеткой возрастает, что позволяет выполнять сразу несколько ключевых функций иммунного ответа: направленное антимикробное действие на мембраны, белки и ДНК фитопатогена; активацию сигнальных мишеней и иммунных каскадных реакций, инициацию экспрессии генов, ассоциированных со стресс-ответом, и системной приобретенной устойчивости (SAR) (Sewelam et al., 2016; Zhang M., Zhang S., 2022; Liu C. et al., 2024; Haghpahan et al., 2025; Sood, 2025). При этом баланс АФК в клетке при биотическом стрессе тоже должен строго контролироваться, поскольку резкое повышение уровня АФК оказывает негативное окислительное воздействие на собственные белки, липиды и нуклеиновые кислоты, в конечном итоге приводя к контролируемой программируемой клеточной смерти (Vanderauwera et al., 2011; Dvorak et al., 2021; Sahu et al., 2022; Guo et al., 2023; Sood, 2025).

Помимо того, АФК могут представлять серьезную угрозу непосредственно для стабильности теломер. В связи с высоким содержанием наиболее легкоокисляющегося из всех азотистых оснований – гуанина – в последовательностях теломер растений, они становятся основной мишенью АФК и окисления, что ведет к образованию неканонических азотистых оснований, таких как 8-оксогуанин (8-охо-G), и повреждению генома в целом (Castillo-González et al., 2022). Показано, что при окислительном стрессе при сохранении длины теломеры вносят от 0.2 до 15 % от общего количества 8-охо-G, тем самым накапливая 8-охо-G в концентрациях примерно в 100 раз выше, чем остальной геном, хотя на долю теломерной ДНК приходится всего 0.02–0.07 % от общего генома (Castillo-González et al., 2022). Кроме того, предполагается, что снижение активности теломеразы в условиях абиотического стресса может усиливать разрушительное воздействие АФК, как обнаружено в растениях *A. thaliana*, выращенных в условиях космического полета (Barcenilla et al., 2023).

Использование мутантных линий модельных организмов остается важным инструментом в изучении теломер методами молекулярной генетики, в частности, их ответной реакции на различные виды стресса (Campitelli et al., 2022; Castillo-González et al., 2022; Barcenilla et al., 2023). В нашей работе использовались две линии растений, мутантных по генам *OLI5/RPL5A* и *NOP2C*. Оба кодируемых этими генами белка известны как компоненты процесса биогенеза рибосом (Fujikura et al., 2009; Burgess et al., 2015; Kobayashi, 2018; Abdulkina et al., 2019). Мы определили, что растения линии *oli5-2^{-/-}* более чувствительны к инфекции, чем растения *nop2c-2^{-/-}*, однако значительное сокращение длины теломер на третьи сутки после инфицирования показано лишь для линии *nop2c-2^{-/-}*. Длина теломер линии *oli5-2^{-/-}* незначительно сокращалась на третьи сутки и, наоборот, увеличивалась на седьмые сутки после инфицирования, что может говорить о динамичности регуляции теломер при стрессе.

Взаимосвязь между мутацией в этих генах, восприимчивостью к инфекции и длиной теломер может быть связана с важной ролью рибосом в ответной реакции на изменения условий окружающей среды, в том числе воздействие патогенов. Под воздействием биотического и абиотического стресса энергетически требовательный процесс трансляции является одним из основных элементов, регулируемых для снижения потребления энергии и избирательного синтеза белков, участвующих в формировании ответа на стресс у растений. Так, исследования растительных рибосом указывают на стресс-регулируемый паттерн экспрессии генов белков большой (RPL) и малой (RPS) субъединиц рибосом (Fakih, Germain, 2025). Кроме того, подавление генов, кодирующих рибосомные белки NbRPSaA, NbRPS5A и NbRPS24A в *Nicotiana benthamiana*, снизило трансляцию защитных генов, а подавление гена *NbRACK1A* приводило к нарушению трансляции специфических антиоксидантных ферментов (Fakih et al., 2023). Ферменты и белки, участвующие в биогенезе рибосом, такие как метилтрансферазы рРНК, тоже необходимы для устойчивости к стрессу. В работе (Schosserer et al., 2015)

снижение уровня экспрессии гомологов метилтрансферазы 25S рРНК NSUN5, к которым относится и NOP2C, увеличивало продолжительность жизни и устойчивость к стрессу у дрожжей, червей и мух. Причем потеря гена привела к структурной конформации рибосомы у дрожжей, что влияет на точность трансляции и способствует привлечению пула мРНК, чувствительных к окислительному стрессу (Schosserer et al., 2015).

Заключение

Таким образом, инфицирование фитопатогенным бактериальным штаммом *P. syringae* DC3000 приводит к развитию патологических процессов в тканях и органах растений *A. thaliana*, а также оказывает влияние на регуляцию длины теломер, которые, в свою очередь, являются важнейшими факторами защиты целостности генома. В то же время полученные данные показали, что сокращение длины теломер на ранних сроках развития инфекции может быть связано с влиянием генотипа растений: так, наиболее чувствительными к регуляции длины теломер были растения-мутанты по гену *NOP2C*. При этом экотип Sf-2, характеризующийся длинными теломерами, был не только более устойчив к инфекции в целом, но и обладал более стабильной длиной теломер на ранних сроках развития инфекции. Таким образом, полученные данные впервые указывают на взаимосвязь биотического стресса и изменения длины теломер у растений, что является важным заделом для будущих исследований и понимания молекулярных основ и эволюции защиты генома растений. Использование длины теломер в качестве биомаркера устойчивости растений к фитопатогенам и прогнозирования их роста и развития может стать основой для технологий получения устойчивых к стрессу линий сельскохозяйственных культур. В свою очередь, дальнейшее изучение генов, задействованных как в ответной реакции на биотический стресс, так и в регуляции длины теломер, может также внести значительный вклад в создание новых сортов растений.

Список литературы / References

- Abdulkina L.R., Kobayashi C., Lovell J.T., Chastukhina I.B., Akliu B.B., Agabekian I.A., Suescún A.V., Valeeva L.R., Nyamsuren C., Aglyamova G.V., Sharipova M.R., Shippen D.E., Juenger T.E., Shakirov E.V. Components of the ribosome biogenesis pathway underlie establishment of telomere length set point in *Arabidopsis*. *Nat Commun.* 2019;10(1):5479. doi 10.1038/s41467-019-13448-z
- Agabekian I.A., Abdulkina L.R., Lushnenko A.Y., Young P.G., Valeeva L.R., Boskovic O., Lilly E.G., Sharipova M.R., Shippen D.E., Juenger T.E., Shakirov E.V. *Arabidopsis* AN3 and OLIGOCELLULA genes link telomere maintenance mechanisms with cell division and expansion control. *Plant Mol Biol.* 2024;114(3):65. doi 10.1007/s11103-024-01457-6
- Alonso C., Ramos-Cruz D., Becker C. The role of plant epigenetics in biotic interactions. *New Phytol.* 2018;221(2):731-737. doi 10.1111/nph.15408
- Amiard S., Olivier M., Allain E., Choi K., Smith-Unna R., Henderson I.R., White C.I., Gallego M.E. Telomere stability and development of *ctc1* mutants are rescued by inhibition of EJ recombination pathways in a telomerase-dependent manner. *Nucleic Acids Res.* 2014;42(19):11979-11991. doi 10.1093/nar/gku897
- Barcenilla B.B., Meyers A.D., Castillo-González C., Young P., Min J.H., Song J., Phadke C., Land E., Canaday E., Perera I.Y., Bailey S.M., Aquilano R., Wyatt S.E., Shippen D.E. *Arabidopsis* telomerase takes off by uncoupling enzyme activity from telomere length maintenance in space. *Nat Commun.* 2023;14(1):7854. doi 10.1038/s41467-023-41510-4
- Bellon M., Nicot C. Telomere dynamics in immune senescence and exhaustion triggered by chronic viral infection. *Viruses.* 2017;9(10):289. doi 10.3390/v9100289
- Burgess A.L., David R., Searle I.R. Conservation of tRNA and rRNA 5-methylcytosine in the kingdom Plantae. *BMC Plant Biol.* 2015;15:199. doi 10.1186/s12870-015-0580-8
- Cai J., Shen L., Kang H., Xu T. RNA modifications in plant adaptation to abiotic stresses. *Plant Commun.* 2025;6(2):101229. doi 10.1016/j.xplc.2024.101229
- Campitelli B.E., Razzaque S., Barbero B., Abdulkina L.R., Hall M.H., Shippen D.E., Juenger T.E., Shakirov E.V. Plasticity, pleiotropy and fitness trade-offs in *Arabidopsis* genotypes with different telomere lengths. *New Phytol.* 2022;233(4):1939-1952. doi 10.1111/nph.17880
- Castillo-González C., Barbero Barcenilla B., Young P.G., Hall E., Shippen D.E. Quantification of 8-oxoG in plant telomeres. *Int J Mol Sci.* 2022;23(9):4990. doi 10.3390/ijms23094990
- Chakraborty S.P., Kar Mahapatra S., Sahu S.K., Das S., Tripathy S., Dash S., Pramanik P., Roy S. Internalization of *Staphylococcus aureus* in lymphocytes induces oxidative stress and DNA fragmentation: possible ameliorative role of nanoconjugated vancomycin. *Oxid Med Cell Longev.* 2011;2011:942123. doi 10.1155/2011/942123
- Choi J.Y., Abdulkina L.R., Yin J., Chastukhina I.B., Lovell J.T., Agabekian I.A., Young P.G., Razzaque S., Shippen D.E., Juenger T.E., Shakirov E.V., Purugganan M.D. Natural variation in plant telomere length is associated with flowering time. *Plant Cell.* 2021;33(4):1118-1134. doi 10.1093/plcell/koab022
- Corrêa R.L., Kutnjak D., Ambrós S., Bustos M., Elena S.F. Identification of epigenetically regulated genes involved in plant-virus interaction and their role in virus-triggered induced resistance. *BMC Plant Biol.* 2024;24(1):172. doi 10.1186/s12870-024-04866-3
- Di Pietro E., Burla R., La Torre M., González-García M.P., Dello Ioio R., Saggio I. Telomeres: an organized string linking plants and mammals. *Biol Direct.* 2024;19(1):119. doi 10.1186/s13062-024-00558-y
- Dos Santos G.A., Pimenta R., Viana N.I., Guimarães V.R., Romão P., Candido P., de Camargo J.A., Hatanaka D.M., Queiroz P.G.S., Teruya A., Leite K.R.M., Srougi V., Srougi M., Reis S.T. Shorter leukocyte telomere length is associated with severity of COVID-19 infection. *Biochem Biophys Rep.* 2021;27:101056. doi 10.1016/j.bbrep.2021.101056
- Dowd J.B., Bosch J.A., Steptoe A., Jayabalasingham B., Lin J., Yolken R., Aiello A.E. Persistent herpesvirus infections and telomere attrition over 3 years in the Whitehall II cohort. *J Infect Dis.* 2017;216(5):565-572. doi 10.1093/infdis/jix255
- Dowen R.H., Pelizzola M., Schmitz R.J., Lister R., Dowen J.M., Nery J.R., Dixon J.E., Ecker J.R. Widespread dynamic DNA methylation in response to biotic stress. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012;109(32):E2183-E2191. doi 10.1073/pnas.1209329109
- Dvorak P., Krasylenko Y., Zeiner A., Šamaj J., Takáč T. Signaling toward reactive oxygen species-scavenging enzymes in plants. *Front Plant Sci.* 2021;11:618835. doi 10.3389/fpls.2020.618835
- Fahik Z., Germain H. Implication of ribosomal protein in abiotic and biotic stress. *Planta.* 2025;261(4):85. doi 10.1007/s00425-025-04665-6
- Fahik Z., Plourde M.B., Germain H. Differential participation of plant ribosomal proteins from the small ribosomal subunit in protein translation under stress. *Biomolecules.* 2023;13(7):1160. doi 10.3390/biom13071160
- Fujikura U., Horiguchi G., Ponce M.R., Micol J.L., Tsukaya H. Coordination of cell proliferation and cell expansion mediated by ribosome-

- related processes in the leaves of *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 2009;59(3):499-508. doi 10.1111/j.1365-313X.2009.03886.x
- Gan S. Mitotic and postmitotic senescence in plants. *Sci Aging Knowledge Environ.* 2003;2003(38):re7. doi 10.1126/sageke.2003.38.re7
- Giraudeau M., Heidinger B., Bonneaud C., Sepp T. Telomere shortening as a mechanism of long-term cost of infectious diseases in natural animal populations. *Biol Lett.* 2019;15(5):20190190. doi 10.1098/rsbl.2019.0190
- Gould K.S. Nature's Swiss army knife: the diverse protective roles of anthocyanins in leaves. *J Biomed Biotechnol.* 2004;2004(5):314-320. doi 10.1155/S1110724304406147
- Graakjaer J., Bischoff C., Korsholm L., Holstebro S., Vach W., Bohr V.A., Christensen K., Kolvraa S. The pattern of chromosome-specific variations in telomere length in humans is determined by inherited, telomere-near factors and is maintained throughout life. *Mech Ageing Dev.* 2003;124(5):629-640. doi 10.1016/s0047-6374(03)00081-2
- Guo W., Xing Y., Luo X., Li F., Ren M., Liang Y. Reactive oxygen species: a crosslink between plant and human eukaryotic cell systems. *Int J Mol Sci.* 2023;24(17):13052. doi 10.3390/ijms241713052
- Haghpanah M., Namdari A., Kaleji M.K., Nikbakht-Dehkordi A., Arzani A., Araniti F. Interplay between ROS and hormones in plant defense against pathogens. *Plants.* 2025;14(9):1297. doi 10.3390/plants14091297
- Hannan Parker A., Wilkinson S.W., Ton J. Epigenetics: a catalyst of plant immunity against pathogens. *New Phytol.* 2022;233(1):66-83. doi 10.1111/nph.17699
- Heacock M., Spangler E., Riha K., Puizina J., Shippen D.E. Molecular analysis of telomere fusions in *Arabidopsis*: multiple pathways for chromosome end-joining. *EMBO J.* 2004;23(11):2304-2313. doi 10.1038/sj.emboj.7600236
- Ishiga Y., Ishiga T., Uppalapati S.R., Mysore K.S. *Arabidopsis* seedling flood-inoculation technique: a rapid and reliable assay for studying plant-bacterial interactions. *Plant Methods.* 2011;7:32. doi 10.1186/1746-4811-7-32
- Ji Y., Dang X., Nguyen L.N.T., Nguyen L.N., Zhao J., Cao D., Khanal S., ... El Gazzar M., Ning S., Wang L., Moorman J.P., Yao Z.Q. Topological DNA damage, telomere attrition and T cell senescence during chronic viral infections. *Immun Ageing.* 2019;16:12. doi 10.1186/s12979-019-0153-z
- Kamranvar S.A., Masucci M.G. Regulation of telomere homeostasis during Epstein-Barr virus infection and immortalization. *Viruses.* 2017;9(10):217. doi 10.3390/v9080217
- Karell P., Bensch S., Ahola K., Asghar M. Pale and dark morphs of tawny owls show different patterns of telomere dynamics in relation to disease status. *Proc Biol Sci.* 2017;284(1859):20171127. doi 10.1098/rspb.2017.1127
- Karimian K., Groot A., Huso V., Kahidi R., Tan K.T., Sholes S., Keener R., McDyer J.F., Alder J.K., Li H., Rechtsteiner A., Greider C.W. Human telomere length is chromosome end-specific and conserved across individuals. *Science.* 2024;384(6695):533-539. doi 10.1126/science.ado0431
- Katagiri F., Thilmony R., He S.Y. The *Arabidopsis thaliana*-*Pseudomonas syringae* interaction. *Arabidopsis Book.* 2002;1:e0039. doi 10.1199/tab.0039
- Kobayashi C.R. Gene Evolution and Function in *Arabidopsis* Telomere Biology System. PhD Dissertation. College Station, TX, USA: Texas A&M University, 2018
- Kong F., Yang L. Pathogen-triggered changes in plant development: virulence strategies or host defense mechanism? *Front Microbiol.* 2023;14:1122947. doi 10.3389/fmicb.2023.1122947
- Li Z., Ahammed G.J. Hormonal regulation of anthocyanin biosynthesis for improved stress tolerance in plants. *Plant Physiol Biochem.* 2023;201:107835. doi 10.1016/j.plaphy.2023.107835
- Lim Y.S., Nguyen M.T.N., Pham T.X., Huynh T.T.X., Park E.M., Choi D.H., Kang S.M., Tark D., Hwang S.B. Hepatitis C virus nonstructural 5A protein interacts with telomere length regulation protein: implications for telomere shortening in patients infected with HCV. *Mol Cells.* 2022;45(3):148-157. doi 10.14348/molcells.2021.0167
- Lindsey B.E. 3rd, Rivero L., Calhoun C.S., Grotewold E., Brkljacic J. Standardized method for high-throughput sterilization of *Arabidopsis* seeds. *J Vis Exp.* 2017;128:56587. doi 10.3791/56587
- Lippert T.P., Marzec P., Idilli A.I., Sarek G., Vancevska A., Bower M., Farrell P.J., Ojala P.M., Feldhahn N., Boulton S.J. Oncogenic herpesvirus KSHV triggers hallmarks of alternative lengthening of telomeres. *Nat Commun.* 2021;12(1):512. doi 10.1038/s41467-020-20819-4
- Liu C., Liu Q., Mou Z. Redox signaling and oxidative stress in systemic acquired resistance. *J Exp Bot.* 2024;75(15):4535-4548. doi 10.1093/jxb/erae193
- Liu X., Dakic A., Chen R., Disbrow G.L., Zhang Y., Dai Y., Schlegel R. Cell-restricted immortalization by human papillomavirus correlates with telomerase activation and engagement of the hTERT promoter by Myc. *J Virol.* 2008;82(23):11568-11576. doi 10.1128/JVI.01318-08
- López Sánchez A., Stassen J.H., Furci L., Smith L.M., Ton J. The role of DNA (de)methylation in immune responsiveness of *Arabidopsis*. *Plant J.* 2016;88(3):361-374. doi 10.1111/tpj.13252
- Lyčka M., Peska V., Demko M., Spyroglou I., Kilar A., Fajkus J., Fojtová M. WALTER: an easy way to online evaluate telomere lengths from terminal restriction fragment analysis. *BMC Bioinformatics.* 2021;22(1):145. doi 10.1186/s12859-021-04064-0
- Maekawa S., Yanagisawa S. Ribosome biogenesis factor OLI2 and its interactor BRX1-2 are associated with morphogenesis and lifespan extension in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biotechnol (Tokyo).* 2021;38(1):117-125. doi 10.5511/plantbiotechnology.20.1224a
- Mayer K., Schüller C., Wambutt R., Murphy G., Volckaert G., Pohl T., Dusterhöft A., ... Johnson A., Chen E., Marra M., Martienssen R., McCombie W.R. Sequence and analysis of chromosome 4 of the plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature.* 1999;402(6763):769-777. doi 10.1038/47134
- McKnight T.D., Riha K., Shippen D.E. Telomeres, telomerase, and stability of the plant genome. *Plant Mol Biol.* 2002;48(4):331-337. doi 10.1023/a:1014091032750
- Pavet V., Quintero C., Cecchini N.M., Rosa A.L., Alvarez M.E. *Arabidopsis* displays centromeric DNA hypomethylation and cytological alterations of heterochromatin upon attack by *Pseudomonas syringae*. *Mol Plant Microbe Interact.* 2006;19(6):577-587. doi 10.1094/MPMI-19-0577
- Perner S., Brüderlein S., Hasel C., Waibel I., Holdenried A., Ciloglu N., Chopurian H., Nielsen K.V., Plesch A., Högel J., Möller P. Quantifying telomere lengths of human individual chromosome arms by centromere-calibrated fluorescence *in situ* hybridization and digital imaging. *Am J Pathol.* 2003;163(5):1751-1756. doi 10.1016/S0002-9440(10)63534-1
- Peska V., Garcia S. Origin, diversity, and evolution of telomere sequences in plants. *Front Plant Sci.* 2020;11:117. doi 10.3389/fpls.2020.00117
- Puschhof J., Sears C.L. Microbial metabolites damage DNA. *Science.* 2022;378(6618):358-359. doi 10.1126/science.ade6952
- Ravindran S., Underwood S.L., Dorrens J., Seeker L.A., Watt K., Wilbourn R.V., Sparks A.M., ... McNeilly T.N., Harrington L., Pemberton J.M., Nussey D.H., Froy H. No correlative evidence of costs of infection or immunity on leucocyte telomere length in a wild population of Soay sheep. *Proc Biol Sci.* 2024;291(2020):20232946. doi 10.1098/rspb.2023.2946
- Riha K., Shippen D.E. Telomere structure, function and maintenance in *Arabidopsis*. *Chromosome Res.* 2003;11(3):263-275. doi 10.1023/a:1022892010878
- Riha K., Watson J.M., Parkey J., Shippen D.E. Telomere length deregulation and enhanced sensitivity to genotoxic stress in *Arabidopsis* mutants deficient in Ku70. *EMBO J.* 2002;21(11):2819-2826. doi 10.1093/emboj/21.11.2819

- Sahu P.K., Jayalakshmi K., Tilgam J., Gupta A., Nagaraju Y., Kumar A., Hamid S., Singh H.V., Minkina T., Rajput V.D., Rajawat M.V.S. ROS generated from biotic stress: effects on plants and alleviation by endophytic microbes. *Front Plant Sci.* 2022;13:1042936. doi 10.3389/fpls.2022.1042936
- Salimi-Jeda A., Badrzadeh F., Esghaei M., Abdoli A. The role of telomerase and viruses interaction in cancer development, and telomerase-dependent therapeutic approaches. *Cancer Treat Res Commun.* 2021;27:100323. doi 10.1016/j.ctarc.2021.100323
- Schossere M., Minois N., Angerer T.B., Amring M., Dellago H., Harreither E., Calle-Perez A., ... Wilson I.B., Polacek N., Grillari-Voglauer R., Breitenbach-Koller L., Grillari J. Methylation of ribosomal RNA by NSUN5 is a conserved mechanism modulating organismal lifespan. *Nat Commun.* 2015;6:6158. doi 10.1038/ncomms7158
- Sewelam N., Kazan K., Schenk P.M. Global plant stress signaling: reactive oxygen species at the crossroad. *Front Plant Sci.* 2016;7:187. doi 10.3389/fpls.2016.00187
- Shakirov E.V., Shippen D.E. Length regulation and dynamics of individual telomere tracts in wild-type *Arabidopsis*. *Plant Cell.* 2004;16(8):1959-1967. doi 10.1105/tpc.104.023093
- Shakirov E.V., Chen J.-L., Shippen D.E. Plant telomere biology: the green solution to the end-replication problem. *Plant Cell.* 2022;34(7):2492-2504. doi 10.1093/plcell/koac122
- Sholes S.L., Karimian K., Gershman A., Kelly T.J., Timp W., Greider C.W. Chromosome-specific telomere lengths and the minimal functional telomere revealed by nanopore sequencing. *Genome Res.* 2022;32(4):616-628. doi 10.1101/gr.275868.121
- Siodmak A., Martinez-Seidel F., Rayapuram N., Bazin J., Alhoraibi H., Gentry-Torfer D., Tabassum N., Sheikh A.H., Kise J.K.G., Blilou I., Crespi M., Kopka J., Hirt H. Dynamics of ribosome composition and ribosomal protein phosphorylation in immune signaling in *Arabidopsis thaliana*. *Nucleic Acids Res.* 2023;51(21):11876-11892. doi 10.1093/nar/gkad827
- Solomon W., Janda T., Molnár Z. Unveiling the significance of rhizosphere: implications for plant growth, stress response, and sustainable agriculture. *Plant Physiol Biochem.* 2024;206:108290. doi 10.1016/j.plaphy.2023.108290
- Sood M. Reactive oxygen species (ROS): plant perspectives on oxidative signalling and biotic stress response. *Discov Plants.* 2025;2:187. doi 10.1007/s44372-025-00275-4
- Sudyka J., Podmokła E., Drobnik S.M., Dubiec A., Arct A., Gustafsson L., Cichoń M. Sex-specific effects of parasites on telomere dynamics in a short-lived passerine – the blue tit. *Naturwissenschaften.* 2019;106(1-2):6. doi 10.1007/s00114-019-1601-5
- Tabata S., Kaneko T., Nakamura Y., Kotani H., Kato T., Asamizu E., Miyajima N., ... Bevan M., Fransz P.; Kazusa DNA Research Institute; Cold Spring Harbor and Washington University in St Louis Sequencing Consortium; European Union Arabidopsis Genome Sequencing Consortium. Sequence and analysis of chromosome 5 of the plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature.* 2000;408(6814):823-826. doi 10.1038/35048507
- Tieu Ngoc L.N., Jung Park S., Thi Huong T., Lee K.H., Kang H. N4-methylcytidine ribosomal RNA methylation in chloroplasts is crucial for chloroplast function, development, and abscisic acid response in *Arabidopsis*. *J Integr Plant Biol.* 2021;63(3):570-582. doi 10.1111/jipb.13009
- Toller I.M., Neelsen K.J., Steger M., Hartung M.L., Hottiger M.O., Stucki M., Kalali B., Gerhard M., Sartori A.A., Lopes M., Müller A. Carcinogenic bacterial pathogen *Helicobacter pylori* triggers DNA double-strand breaks and a DNA damage response in its host cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011;108(36):14944-14949. doi 10.1073/pnas.1100959108
- Tornesello M.L., Cerasuolo A., Starita N., Tornesello A.L., Bonelli P., Tuccillo F.M., Buonaguro L., Isaguliantis M.G., Buonaguro F.M. The molecular interplay between human oncoviruses and telomerase in cancer development. *Cancers (Basel).* 2022;14(21):5257. doi 10.3390/cancers14215257
- Tunnicliffe L., Muzambi R., Bartlett J.W., Howe L., Abdul Basit K., Warren-Gash C. Infection and telomere length: a systematic review protocol. *BMJ Open.* 2024;14(4):e081881. doi 10.1136/bmjopen-2023-081881
- Valeeva L.R., Abdulkina L.R., Agabekian I.A., Shakirov E.V. Telomere biology and ribosome biogenesis: structural and functional interconnections. *Biochem Cell Biol.* 2023;101(5):394-409. doi 10.1139/bcb-2022-0383
- Vanderauwera S., Suzuki N., Miller G., van de Cotte B., Morsa S., Ravanat J.L., Hegie A., Triantaphyllidis C., Shulaev V., Van Montagu M.C., Van Breusegem F., Mittler R. Extranuclear protection of chromosomal DNA from oxidative stress. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011;108(4):1711-1716. doi 10.1073/pnas.1018359108
- Vos S., Martens D.S., De Waele E., Dewyspelaere G., Mistiaen G., Goeminne P., Nawrot T.S. Telomere length and COVID-19 disease severity: insights from hospitalized patients. *Front Aging.* 2025;6:1577788. doi 10.3389/fragi.2025.1577788
- Wang Z., Zhang X., Liu C., Duncan S., Hang R., Sun J., Luo L., Ding Y., Cao X. AtPRMT3-RPS2B promotes ribosome biogenesis and coordinates growth and cold adaptation trade-off. *Nat Commun.* 2024;15(1):8693. doi 10.1038/s41467-024-52945-8
- Watson J.M., Riha K. Comparative biology of telomeres: where plants stand. *FEBS Lett.* 2010;584(17):3752-3759. doi 10.1016/j.febslet.2010.06.017
- Watson J.M., Shippen D.E. Telomere rapid deletion regulates telomere length in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Cell Biol.* 2007;27(5):1706-1715. doi 10.1128/MCB.02059-06
- Wilson M.R., Jiang Y., Villalta P.W., Stornetta A., Boudreau P.D., Carra A., Brennan C.A., Chun E., Ngo L., Samson L.D., Engelward B.P., Garrett W.S., Balbo S., Balskus E.P. The human gut bacterial genotoxin colibactin alkylates DNA. *Science.* 2019;363(6428):eaar7785. doi 10.1126/science.aar7785
- Wolf S.E., Zhang S., Clotfelter E.D. Experimental ectoparasite removal has a sex-specific effect on nestling telomere length. *Ecol Evol.* 2023;13(3):e9861. doi 10.1002/ece3.9861
- Xue M., Kim C.S., Healy A.R., Wernke K.M., Wang Z., Frischling M.C., Shine E.E., Wang W., Herzon S.B., Crawford J.M. Structure elucidation of colibactin and its DNA cross-links. *Science.* 2019;365(6457):eaax2685. doi 10.1126/science.aax2685
- Zakian V.A. Telomeres: the beginnings and ends of eukaryotic chromosomes. *Exp Cell Res.* 2012;318(12):1456-1460. doi 10.1016/j.yexcr.2012.02.015
- Zhang M., Zhang S. Mitogen-activated protein kinase cascades in plant signaling. *J Integr Plant Biol.* 2022;64(2):301-341. doi 10.1111/jipb.13215
- Zhu Z., Tran H., Mathahs M.M., Moninger T.O., Schmidt W.N. HCV induces telomerase reverse transcriptase, increases its catalytic activity, and promotes caspase degradation in infected human hepatocytes. *PLoS One.* 2017;12(1):e0166853. doi 10.1371/journal.pone.0166853

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 15.08.2025. После доработки 24.02.2026. Принята к публикации 14.04.2026.

doi 10.18699/vjgb-26-74

Молекулярно-цитогенетический анализ некоторых видов *Picea* из Евразии и Восточной Азии

О.В. Горячкина ¹, Е.Д. Бадаева ^{2, 3}, А.Б. Щербань ⁴, Е.Н. Муратова ¹¹ Институт леса им. В.Н. Сукачева Сибирского отделения Российской академии наук – обособленное подразделение

Федерального исследовательского центра «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», Красноярск, Россия

² Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия³ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, Россия⁴ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия kvitko@ksc.krasn.ru

Аннотация. Представлены результаты молекулярно-цитогенетического исследования семи видов *Picea*, распространенных на территории Евразии и Восточной Азии, методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) и флуоресцентного окрашивания DAPI. Кластеры рибосомных генов 45S и 5S рРНК на хромосомах *P. meyeri* и *P. purpurea* картированы впервые, *P. abies*, *P. obovata*, *P. schrenkiana*, *P. crassifolia*, *P. omorika* изучались из новых местопроизрастаний. Все виды показали сходное распределение локусов 5S рДНК на обоих плечах крупной метацентрической хромосомы III: более интенсивный сигнал наблюдался на длинном плече, частично перекрываясь с сигналом 45S рДНК, минорный сайт 5S рДНК был локализован терминально на коротком плече. Сигналы 45S рДНК разной интенсивности были выявлены на 7–9 парах хромосом в кариотипах исследуемых видов. Яркие (мажорные) сигналы локализованы интеркалярно и совпадали с постоянными вторичными перетяжками. Их количество на гаплоидный геном составило: у *P. omorika* – 8, у *P. abies* и *P. obovata* – 6, у *P. schrenkiana*, *P. crassifolia*, *P. purpurea* и *P. meyeri* – 5. Выявлено также несколько минорных сайтов 45S рДНК на хромосомах *Picea*, не описанных ранее в литературе. Добавочные (В) хромосомы, обнаруженные у некоторых проростков *P. obovata*, *P. meyeri* и *P. purpurea*, не несли локусов рибосомных генов 45S и 5S рРНК. На хромосомах ели наблюдались интенсивно флуоресцирующие DAPI-позитивные полосы в интеркалярных районах, а у некоторых хромосом окрашивалась также область центромеры. На хромосомах I, III и X пар удалось выявить несколько постоянных позитивных DAPI-блоков, имеющих сходную локализацию у всех изученных видов. FISH с зондами 45S и 5S рДНК в сочетании с окрашиванием DAPI позволяет идентифицировать практически все гомологичные пары хромосом и провести сравнение кариотипов разных видов ели. Обсуждается внутри- и межвидовое кариотипическое разнообразие в роде *Picea* на основе распределения локусов 5S и 45S рДНК и рисунка DAPI.

Ключевые слова: хромосома; кариотип; FISH; 45S рДНК; 5S рДНК; окрашивание DAPI; *Picea*

Для цитирования: Горячкина О.В., Бадаева Е.Д., Щербань А.Б., Муратова Е.Н. Молекулярно-цитогенетический анализ некоторых видов *Picea* из Евразии и Восточной Азии. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2026;30(5): 735-746. doi 10.18699/vjgb-26-74

Финансирование. Работа выполнена в рамках базового проекта ИЛ СО РАН № FWES-2024-0028 «Биоразнообразие лесов Сибири: эколого-динамический, генетико-селекционный, физико-химический и ресурсно-технологический аспекты».

Благодарности. Авторы благодарят чл.-кор. РАН проф. Е.А. Салину, к.б.н. Е.М. Тимонову и н.с. Т.Н. Капко (ИЦиГ СО РАН) за помощь в работе; к.б.н. Н.В. Орешкову (ИЛ СО РАН) за помощь в выделении ДНК *L. sibirica*; к.б.н. А.Б. Безделева (Океанариум ДВО РАН), к.б.н. И.Н. Тихонову (ИЛ СО РАН), к.б.н. Ю.В. Ткачеву (Донецкий ботанический сад) и к.б.н. О.А. Мочалову (ИБПС ДВО РАН) за предоставление образцов семян. Изоляция и клонирование пробы 5S рДНК проводились в лаборатории молекулярной генетики и цитогенетики растений Института цитологии и генетики СО РАН.

Molecular cytogenetic analysis of some *Picea* species from Eurasia and East Asia

O.V. Goryachkina ¹, E.D. Badaeva ^{2, 3}, A.B. Shcherban ⁴, E.N. Muratova ¹¹ V.N. Sukachev Institute of Forest of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Federal Research Center "Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences", Krasnoyarsk, Russia² N.I. Vavilov Institute of General Genetics of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia³ Engelhardt Institute of Molecular Biology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia⁴ Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia kvitko@ksc.krasn.ru

Abstract. Karyotypes of seven *Picea* species distributed across Eurasia and East Asia were analyzed using fluorescence *in situ* hybridization (FISH) and DAPI fluorescent staining. For *P. meyeri* and *P. purpurea*, the 5S and 45S rDNA sites were mapped here for the first time, while karyotypes of *P. abies*, *P. obovata*, *P. schrenkiana*, *P. crassifolia*, and *P. omorika* were examined from new locations. All the species studied had a similar distribution of 5S rDNA loci on both arms of the large metacentric chromosome III: a more intense signal was observed in the middle of the long arm, partially overlapping with the 45S rDNA signal, and a minor 5S rDNA site was localized terminally on the short arm. The distribution of 5S rDNA loci varied in the karyotypes of the studied species: from 7 to 9 pairs of chromosomes carried 45S rDNA signals of varying intensity. Strong (major) signals were localized intercalarily and coincided with persistent secondary constrictions. Their number per haploid genome was as follows: 8 in *P. omorika*, 6 in *P. abies* and *P. obovata*, and 5 in *P. schrenkiana*, *P. crassifolia*, *P. purpurea*, and *P. meyeri*. We also detected several minor 45S rDNA sites on the *Picea* chromosomes that had not been previously described in the literature. Supernumerary (B) chromosomes found in some seedlings of *P. obovata*, *P. meyeri*, and *P. purpurea* did not carry 45S and 5S rDNA loci. Intensely fluorescent DAPI-positive bands were observed in the intercalary regions of the spruce chromosomes, and the centromere regions of certain chromosomes were also stained. Several constant DAPI-positive blocks were identified on chromosomes I, III, and X, with similar locations across all studied species. Fluorescence *in situ* hybridization with 45S and 5S rDNA probes in combination with DAPI staining allowed us to identify virtually all homologous chromosomes and compare karyotypes of different species. The intra- and interspecific karyotypic diversity in the genus *Picea* is discussed considering the distribution of 5S and 45S rDNA loci and DAPI signals.

Key words: chromosome; karyotype; FISH; 45S rDNA; 5S rDNA; DAPI staining; *Picea*

For citation: Goryachkina O.V., Badaeva E.D., Shcherban A.B., Muratova E.N. Molecular cytogenetic analysis of some *Picea* species from Eurasia and East Asia. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii* = *Vavilov J Genet Breed.* 2026;30(5):735-746. doi 10.18699/vjgb-26-74

Введение

Род *Picea* A. Dietr. (Ель) включает 35–50 видов, согласно классификациям разных авторов (Сукачев, 1928; Dalimore, Jackson, 1966; Бобров, 1971; Liu T.S., 1982; Farjon, 1990, 2001; Lockwood et al., 2013). Более половины видов *Picea* произрастает в Сибири, российском и зарубежном Дальнем Востоке, тихоокеанском бассейне. Это главные лесообразующие виды Северного полушария, имеющие большое практическое значение. Виды ели обладают большим морфологическим разнообразием, что связано с их географическим распространением от умеренных до субарктических районов.

Все представители рода *Picea* являются диплоидами с основным числом хромосом $n = 12$ ($2n = 24$) и имеют сходные кариотипы: восемь пар (I–VIII) длинных метacentриков, две пары (X, XI) коротких метacentриков и две пары (IX, XII) коротких субметacentриков (Liu Y.H., Li, 1985; Hizume, 1988; Li et al., 2001; Nkongolo, Meh-Smith, 2012). В пределах группы I–VIII пар хромосомы сходны по длине и соотношению плеч, что не позволяет идентифицировать гомологи, используя традиционное окрашивание. Многие виды ели содержат в кариотипе сверхкомплектные В-хромосомы (на сегодняшний день они обнаружены у 21 вида), чаще метacentрического типа (Муратова и др., 2023).

Большие перспективы для анализа кариотипов растений имеет метод флуоресцентной гибридизации *in situ*, позволяющий картировать на хромосомах уникальные и повторяющиеся последовательности ДНК. В качестве цитогенетических маркеров для идентификации хромосом часто используют последовательности рибосомной ДНК (рДНК). Они относятся к классу консервативных умеренных повторов и организованы в виде кластеров из сотен или тысяч копий генов, разделенных межгенными спейсерами (Roa, Guerra, 2012). Их изучают для выявления закономерностей хромосомной эволюции, видовой и популя-

ционной дифференциации, эволюционных связей (Rosello et al., 2022).

К настоящему времени менее половины видов *Picea* проанализировано методом FISH (Ohri, 2021). Локусы 5S и 45S рДНК картированы на хромосомах 16 видов ели (Brown et al., 1993; Hizume, Kuzakawa, 1995; Lubaretz et al., 1996; Brown, Carlson, 1997; Hizume et al., 1999; Friesen et al., 2001; Šiljak-Yakovlev et al., 2002; Vischi et al., 2003; Sarri et al., 2008; Shibata, Hizume, 2008). У 11 видов картированы также Sau3A-повторы – специфичное для представителей *Picea* семейство сателлитной ДНК (Shibata, Hizume, 2008). Большинство работ выполнено для отдельных видов из одного-двух местопроизрастаний, что недостаточно для растений с такими обширными ареалами. Кроме того, отсутствует единая система классификации хромосом в кариотипах *Picea*, поэтому сравнение данных, полученных разными коллективами, нередко проблематично. Необходимо отметить, что корректная идентификация всех гомологичных хромосом очень важна для сравнения кариотипов и оценки филогенетических взаимоотношений между таксонами.

Целью настоящей работы являлся анализ кариотипов семи видов *Picea*, распространенных на территории Евразии и Восточной Азии, методом флуоресцентной гибридизации *in situ* с пробами рибосомных генов 45S и 5S рРНК. Обсуждается межвидовое кариотипическое разнообразие в роде *Picea* на основе распределения локусов 5S и 45S рДНК и рисунка DAPI.

Восточноазиатские виды *P. purpurea* Masters [син. *P. likiangensis* var. *purpurea* (Masters) Dallim. et A.B. Jacs.] и *P. meyeri* Rehder et E.H. Wilson, произрастающие в Китае, исследованы впервые. Еще один вид из Китая – *P. crassifolia* Komarov [син. *P. schrenkiana* var. *crassifolia* (Komarov) Komarov и *P. complanata* var. *crassifolia* (Komarov) Gaussen] – изучался из нового местопроизрастания. По классификации Е.Г. Боброва (1971), *P. crassifolia* и

P. meyeri относятся к секции *Picea*, серии *Asperatae*, а *P. purpurea* – к секции *Casicta*, серии *Likiangenses*.

В анализ были включены два евроазиатских вида с перекрывающимися обширными ареалами: ель европейская *P. abies* (L.) Н. Karst. (секция *Picea*, серия *Excelsae*) и ель сибирская *P. obovata* Ledeb. (секция *Picea*, серия *Obovatae*). В непрерывном ареале популяции ели европейской и сибирской претерпевают постепенные изменения от одного вида к другому. В зоне контакта ареалов эти два вида вступают в гибридизацию и образуют межвидовой гибрид *P. × fennica* (Regel.) Kom. (Попов, 1999). В нашей работе семенной материал был взят на территории распространения «чистых» видов.

Также в исследование были включены ель Шренка (*P. schrenkiana* Fisch. et C.A. Mey., секция *Picea*, серия *Obovatae*), имеющая довольно обширный ареал в горах Центральной Азии, и ель сербская (*P. omorika* (Pančić) Purkine, секция *Omorika*) – эндемичный вид с крайне ограниченным ареалом из Восточной Европы.

Материал и методы

Растительный материал и первичный цитогенетический анализ. Семена ели, собранные в естественных древостоях и на искусственных плантациях (табл. 1), проращивали в чашках Петри на влажной фильтровальной бумаге при комнатной температуре. Проростки длиной 0.5–1.0 см обрабатывали 0.2 % колхицином 15–18 ч при температуре 20 °С, после чего выдерживали в ледяной воде в течение 1 ч и фиксировали смесью 96 % спирта и ледяной уксусной кислоты (3 : 1).

Для подсчета числа хромосом, выявления хромосомных и геномных аномалий, а также анализа морфологии хро-

мосом использовали стандартные для хвойных методики с собственными модификациями (Правдин и др., 1972). Перед приготовлением препаратов для FISH корешки обрабатывали ферментами с целью размягчения тканей. Применяли два варианта обработки: 0.6 % водным раствором целлюлозы (Calbiochem, Швейцария), pH ~ 3–4, при 24 °С в течение ночи или смесью 2 % целлюлазы Onozuka R-10 (Sigma-Aldrich, США) и 2 % пектолиазы Y-23 (Fisher Scientific, США) в цитратном буфере (pH 4.0) при 37 °С в течение 30 мин.

Флуоресцентная гибридизация *in situ*. Для картирования рибосомных генов 45S рДНК на хромосомах *P. purpurea* использовали ДНК-зонд пшеницы рTa71 (Gerlach, Bedbrook, 1979), меченный дигоксигенином методом нуклеотидной транскрипции. Детекцию проводили с помощью антител против дигоксигенина, конъюгированных с родамином (Anti-digoxigenin-rhodamine, Fab фрагменты, Sigma-Aldrich, США). Проба 5S рДНК, картированная на хромосомах *P. purpurea*, была амплифицирована из геномной ДНК лиственницы сибирской *Larix sibirica* Ledeb. Геномную ДНК выделяли модифицированным методом с применением цетилтриметиламмонийбромида (СТАВ) из образцов тканей хвои (Devey et al., 1996). Два праймера, P3 (5'-GAGTTCTGATGGGATCCGGTG-3') и P4 (5'-CGC TTGGGCTAGAGCAGTAC-3'), использовали для амплификации спейсерного региона и частичной амплификации гена 5S рРНК (Brown, Carlson, 1997; Trontin et al., 1999).

ПЦР проводили со следующими условиями реакции амплификации: 3 мин при 96 °С, 30 циклов (40 с при 94 °С, отжиг при 53 °С в течение 1 мин, 30 с при 72 °С), 10 мин при 72 °С. ПЦР-продукты разделяли электрофорезом на 1 % агарозном геле, содержащем бромид этидия,

Таблица 1. Географическое происхождение и цитогенетическая характеристика исследованных образцов

Вид	Происхождение семян	Изучено проростков, шт.	Число хромосом, 2n (%)*	Число ядрышек в интерфазных ядрах, max (среднее)	Количество локусов 45S рДНК	
					мажорных	минорных
<i>P. abies</i>	Украина, Волынская область, с. Ростань	23	24	9 (5.63 ± 0.06)	12	4
<i>P. crassifolia</i>	США, штат Вашингтон (интродукция)	23	24	10 (5.42 ± 0.09)	10	4
<i>P. meyeri</i>	Китай, провинция Шаньси	29	24; 24 + 2B (4.8)	10 (5.48 ± 0.06)	12	4
<i>P. obovata</i>	(а) Россия, Красноярский край, окрестности г. Красноярска	64	24; 24 + 1B (18.7); 24 + 2B (3.1); 24 + 3B (1.6)	12 (6.48 ± 0.08)	12	2
	(б) Россия, Магаданская область	71	24	Н/д	12	2
	(в) Россия, Республика Тыва, Пий-Хемский район	23	24	10 (6.20 ± 0.06)	12	2
<i>P. omorika</i>	(а) Юго-западная Сербия	54	24	Н/д	16	2
	(б) США, штат Вашингтон (интродукция)	23	24	14 (8.20 ± 0.07)	16	2
<i>P. purpurea</i>	Китай, провинция Сычуань	31	24; 24 + 1B (6.5)	10 (4.50 ± 0.06)	10	4
<i>P. schrenkiana</i>	Киргизия, оз. Иссык-Куль	31	24	10 (6.29 ± 0.08)	10	4

* В скобках указана доля проростков (в %), содержащих в кариотипе В-хромосомы, от общего числа исследованных.

и визуализировали в УФ-свете. Размеры ПЦР-продуктов фрагментов 5S рДНК составляли примерно 250 п. н. Соответствующую полосу вырезали после электрофореза и очищали ДНК с использованием набора для очистки QIAquick PCR (QIAGEN, Германия). Клонирование фрагмента 5S рДНК осуществляли с помощью набора для клонирования PCR QIAGEN (США). Для трансформации брали компетентные клетки *Escherichia coli* XL-blue.

Рекомбинантные колонии отбирали на агаризованной LB-среде с ампициллином и Xgal/IPTG. Присутствие вставок проверяли методом ПЦР с вышеуказанными праймерами. Рекомбинантный клон, содержащий вставку ожидаемой длины, был выбран в качестве зонда для FISH и помечен биотином 16-dUTP методом ник-трансляции согласно протоколу производителя (Roche, Германия). Биотинилированный зонд выявляли с помощью авидина, конъюгированного с флуоресцеином (Fluorescein Avidin D, Vector Laboratories, США). Сигнал гибридизации усиливали, применяя флуоресцеин анти-авидин (Fluorescein Anti-Avidin D, Vector Laboratories, США).

Для исследования остальных шести видов *Picea* использовали ДНК-зонды пшеницы: рTa794 и рTa71 (Gerlach, Bedbrook, 1979; Gerlach, Dyer, 1980). FISH проводили в соответствии с ранее опубликованной методикой (Goryachkina et al., 2013).

Хромосомы окрашивали флуорохромом DAPI (4,6-диамидино-2-фенилиндол дигидрохлорид, Sigma, США). Препараты анализировали с помощью флуоресцентного микроскопа Axio Imager D1 (Carl Zeiss, Германия) и CCD-камеры AxioCam (Carl Zeiss, Германия) с использованием пакета программ AxioVision, version 4.6. Изображения обрабатывали в пакете программ Adobe Photoshop, версия CS4 (Adobe Systems, Эдинбург, Великобритания).

Анализ кариотипа. Для анализа кариотипа и измерения хромосом использовали от 7 до 27 метафазных пластинок (у разных образцов) с хорошим разбросом. Для каждой хромосомы определяли следующие параметры: общую длину, соотношение плеч, положение вторичной перетяжки (отношение расстояния от центромеры до вторичной перетяжки к длине плеча хромосомы, в процентах), наличие или отсутствие локусов рДНК, позитивных и негативных полос DAPI, а также их локализацию на плече хромосомы как отношение расстояния от центромеры до середины сигнала к длине плеча хромосомы (в процентах). Пары гомологичных хромосом подбирали на основе морфологии, размеров, положения локусов 5S и 45S и рисунка DAPI. Нумерацию хромосом проводили в порядке уменьшения их абсолютной длины. В группе сходных по размерам метацентриков II–VII пар хромосомные пары располагались в той же последовательности, что в работе (Shibata, Hizume, 2008) для сравнения кариотипов.

Результаты

Кариотипы семи изученных видов *Picea* содержат 24 соматические хромосомы ($2n = 24$). Добавочные (В) хромосомы были найдены у нескольких проростков *P. meyeri*, *P. purpurea* и *P. obovata* из Красноярского края (см. табл. 1).

Все В-хромосомы относились к метацентрическому типу (соотношение плеч 1.1–1.3), их длина варьировала от 4.05 до 4.65 мкм. Кластеры рибосомных генов 5S и 45S рРНК на В-хромосомах отсутствовали. Морфометрические параметры хромосом *P. abies*, *P. obovata*, *P. omorika*, *P. meyeri* и *P. schrenkiana* представлены в табл. 2. Морфометрические параметры хромосом *P. crassifolia* и *P. purpurea* не рассчитывались, для этих видов в настоящей работе приводится только положение FISH сигналов.

Кариотипы изученных видов *Picea* показали сходное распределение кластеров генов 5S рРНК: два сигнала разной интенсивности выявлены на обоих плечах крупной метацентрической хромосомы III (рис. 1). Более интенсивный сигнал 5S рДНК наблюдался на длинном плече; он частично перекрывался с сигналом 45S рДНК, но был локализован ближе к центромере. Менее яркий минорный сайт 5S рДНК локализован терминально на противоположном плече. Зонд рTa794 показал более интенсивные сигналы гибридизации, чем зонд, амплифицированный из генома *L. sibirica*. Вероятно, поэтому нам не удалось выявить минорный сайт 5S рДНК на коротком плече хромосомы III у *P. purpurea*.

Сигналы 45S рДНК разной интенсивности были выявлены на 7–9 парах хромосом в кариотипах исследуемых видов. Яркие (мажорные) сигналы локализованы интеркалярно и совпадали с постоянными вторичными перетяжками. Их количество на гаплоидный геном составило: у *P. omorika* – 8, *P. abies* и *P. obovata* – 6, у *P. schrenkiana*, *P. crassifolia*, *P. purpurea* и *P. meyeri* – 5 (табл. 3, см. рис. 1).

Межвидовые различия по локализации и интенсивности сигналов 45S рДНК выявлены у хромосом II, VI, VIII, IX и X пар. Остальные пары хромосом у изученных видов не различались по этому признаку: хромосомы I, VII, XI и XII пар не содержали кластеров рибосомных генов 5S и 45S рРНК, а длинные метацентрики III, IV и V пар показали сходный рисунок гибридизации у всех изученных видов.

Сайт 45S рДНК на коротком плече хромосомы II присутствовал у всех видов, но были выявлены межвидовые различия по локализации и интенсивности сигнала (см. рис. 1). Проведенные измерения показали, что у *P. schrenkiana* и *P. omorika* локус 45S рДНК расположен более проксимально, чем у остальных видов (см. табл. 3), кроме того, он давал более слабый сигнал гибридизации. На хромосоме VI сайт 45S рДНК наблюдался у четырех из семи изученных видов, но его локализация различалась: у *P. meyeri* и *P. purpurea* сигнал выявлялся в медиальном положении, а у *P. abies* и *P. omorika* – ближе к центромере; интенсивность сигнала тоже различалась (см. рис. 1). Хромосомы VIII и X пар у исследуемых видов несли локусы 45S рДНК сходной локализации (см. табл. 3); различия были обнаружены по интенсивности гибридизационного сигнала.

В перичентромерных районах субметацентрической хромосомы IX наблюдались минорные сайты 45S рДНК у шести видов *Picea* (у всех, кроме *P. purpurea*). У *P. obovata*

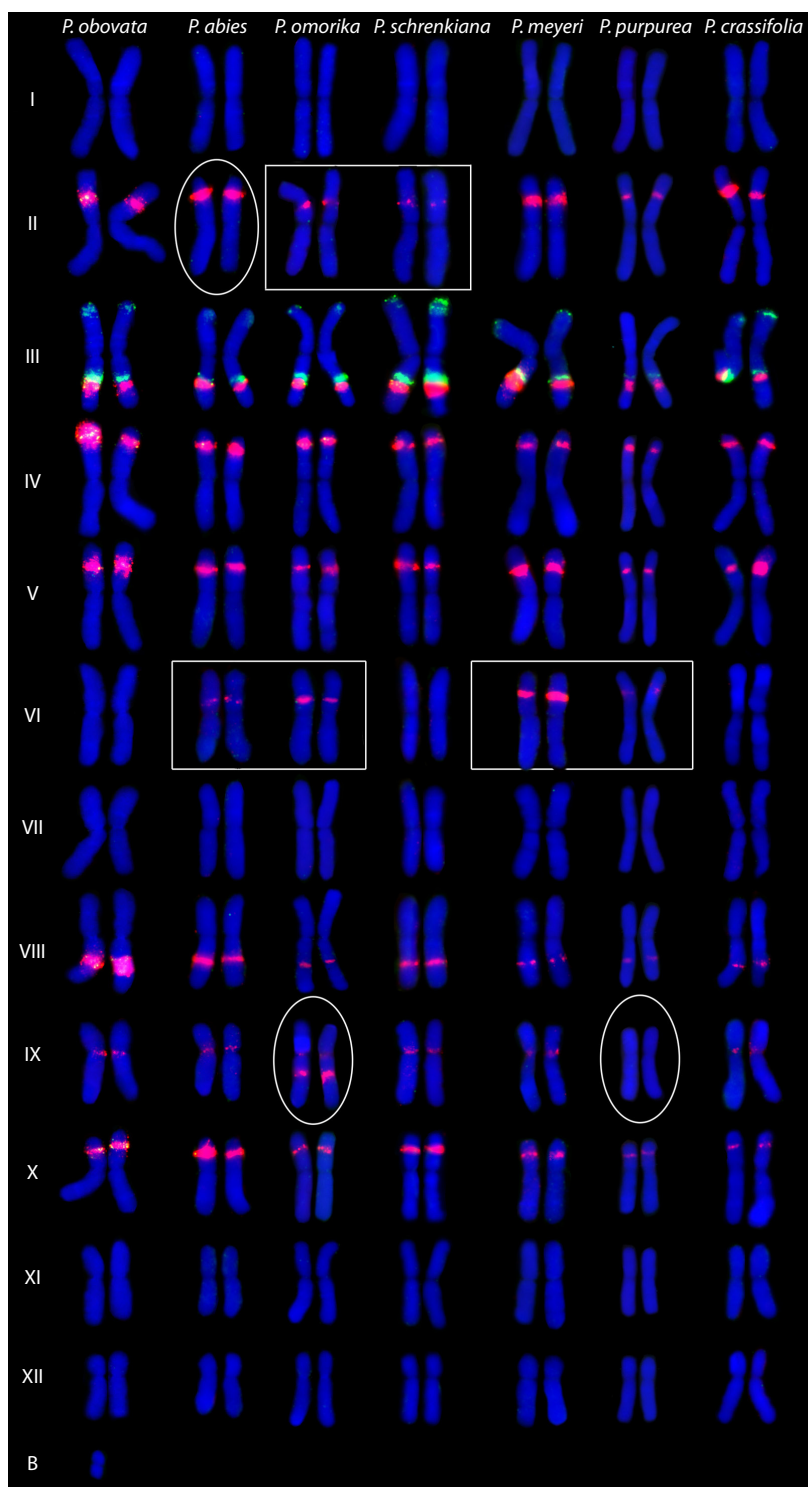


Рис. 1. Картирование сайтов 45S рДНК (красный цвет) и 5S рДНК (зеленый) на метафазных хромосомах семи видов *Picea*.

Прямоугольной рамкой очерчены хромосомы разных видов, несущие сигналы 45S рДНК сходной локализации, овалами – хромосомы с уникальным положением FISH сигнала или его отсутствием.

и *P. omorika* этот сайт отмечался на длинном плече, а у *P. abies*, *P. schrenkiana*, *P. crassifolia*, *P. meyeri* – на коротком. В кариотипе *P. omorika* хромосома IX несла еще и уникальный мажорный сигнал 45S рДНК в медиальном районе длинного плеча, совпадающий со вторичной перетяжкой.

После FISH на хромосомах были видны интенсивно флуоресцирующие DAPI-позитивные полосы в интеркалярных районах, а у некоторых хромосом окрашивается также область центромеры (рис. 2). DAPI-негативные полосы чаще соответствуют районам локализации рибосомных генов 5S и 45S рРНК и центромерам большинства хромосом.

Таблица 2. Морфометрические параметры хромосомных пар разных видов *Picea*: абсолютная длина / соотношение плеч

Пара хромосом	<i>P. abies</i> (28#)	<i>P. meyeri</i> (30)	<i>P. obovata</i>			<i>P. omorika</i>		<i>P. schrenkiana</i> (50)
			а (15)	б (7)	в (27)	а (13)	б (18)	
I	13.60 ± 0.24 / 1.06 ± 0.01	15.76 ± 0.32 / 1.06 ± 0.01	19.30 ± 0.49 / 1.06 ± 0.02	19.09 ± 0.53 / 1.05 ± 0.02	14.37 ± 0.19 / 1.07 ± 0.01	18.00 ± 0.24 / 1.06 ± 0.01	14.82 ± 0.35 / 1.08 ± 0.01	16.33 ± 0.44 / 1.07 ± 0.01
II	12.64 ± 0.32 / 1.07 ± 0.01	14.78 ± 0.31 / 1.08 ± 0.01	17.27 ± 0.40 / 1.09 ± 0.02	17.06 ± 0.28 / 1.13 ± 0.03	13.27 ± 0.20 / 1.08 ± 0.01	16.18 ± 0.23 / 1.06 ± 0.02	12.95 ± 0.34 / 1.05 ± 0.01	14.83 ± 0.38 / 1.07 ± 0.01
III	12.51 ± 0.18 / 1.14 ± 0.02	14.62 ± 0.35 / 1.15 ± 0.02	16.78 ± 0.43 / 1.08 ± 0.01	17.52 ± 0.34 / 1.08 ± 0.02	12.44 ± 0.15 / 1.06 ± 0.01	15.50 ± 0.20 / 1.06 ± 0.01	13.12 ± 0.27 / 1.04 ± 0.01	14.42 ± 0.34 / 1.03 ± 0.01
IV	12.06 ± 0.17 / 1.11 ± 0.01	13.13 ± 0.33 / 1.12 ± 0.01	16.02 ± 0.45 / 1.11 ± 0.02	16.42 ± 0.20 / 1.08 ± 0.02	11.82 ± 0.12 / 1.10 ± 0.01	14.95 ± 0.17 / 1.09 ± 0.01	12.69 ± 0.34 / 1.11 ± 0.01	14.27 ± 0.39 / 1.03 ± 0.01
V	11.95 ± 0.26 / 1.11 ± 0.02	13.85 ± 0.36 / 1.09 ± 0.02	16.66 ± 0.41 / 1.12 ± 0.02	17.03 ± 0.41 / 1.08 ± 0.03	12.76 ± 0.19 / 1.09 ± 0.01	15.41 ± 0.21 / 1.15 ± 0.02	12.58 ± 0.29 / 1.17 ± 0.02	14.53 ± 0.39 / 1.15 ± 0.01
VI	11.74 ± 0.22 / 1.13 ± 0.01	13.55 ± 0.34 / 1.08 ± 0.01	16.13 ± 0.28 / 1.06 ± 0.02	16.37 ± 0.33 / 1.08 ± 0.02	12.26 ± 0.17 / 1.06 ± 0.01	14.82 ± 0.29 / 1.08 ± 0.04	12.16 ± 0.23 / 1.06 ± 0.02	14.13 ± 0.39 / 1.07 ± 0.01
VII	11.28 ± 0.17 / 1.09 ± 0.01	13.23 ± 0.31 / 1.10 ± 0.01	16.06 ± 0.51 / 1.06 ± 0.01	16.16 ± 0.34 / 1.08 ± 0.02	12.01 ± 0.13 / 1.05 ± 0.01	15.10 ± 0.20 / 1.03 ± 0.01	13.05 ± 0.36 / 1.03 ± 0.01	13.49 ± 0.41 / 1.06 ± 0.01
VIII	11.00 ± 0.18 / 1.33 ± 0.02	12.35 ± 0.32 / 1.20 ± 0.01	15.83 ± 0.35 / 1.34 ± 0.02	16.08 ± 0.47 / 1.34 ± 0.05	11.66 ± 0.19 / 1.27 ± 0.02	14.76 ± 0.29 / 1.28 ± 0.02	12.33 ± 0.29 / 1.29 ± 0.02	13.74 ± 0.34 / 1.28 ± 0.01
IX	9.83 ± 0.14 / 1.79 ± 0.03	11.23 ± 0.24 / 1.80 ± 0.02	13.93 ± 0.27 / 1.75 ± 0.03	14.46 ± 0.21 / 1.70 ± 0.06	10.56 ± 0.14 / 1.72 ± 0.03	13.25 ± 0.16 / 1.69 ± 0.01	11.37 ± 0.35 / 1.71 ± 0.03	12.27 ± 0.31 / 1.72 ± 0.02
X	9.75 ± 0.15 / 1.36 ± 0.03	10.59 ± 0.20 / 1.56 ± 0.02	13.46 ± 0.27 / 1.32 ± 0.02	13.72 ± 0.23 / 1.44 ± 0.03	10.34 ± 0.11 / 1.29 ± 0.01	13.07 ± 0.21 / 1.27 ± 0.02	10.21 ± 0.24 / 1.22 ± 0.01	11.21 ± 0.25 / 1.36 ± 0.01
XI	8.84 ± 0.16 / 1.26 ± 0.02	9.89 ± 0.24 / 1.23 ± 0.02	12.41 ± 0.21 / 1.23 ± 0.02	12.57 ± 0.24 / 1.26 ± 0.02	9.07 ± 0.09 / 1.16 ± 0.01	11.75 ± 0.14 / 1.22 ± 0.02	9.52 ± 0.18 / 1.20 ± 0.02	10.84 ± 0.31 / 1.27 ± 0.01
XII	8.34 ± 0.14 / 1.96 ± 0.03	8.91 ± 0.20 / 1.91 ± 0.03	10.87 ± 0.20 / 1.97 ± 0.04	11.04 ± 0.20 / 1.90 ± 0.05	8.14 ± 0.09 / 1.79 ± 0.02	10.49 ± 0.11 / 1.86 ± 0.04	8.42 ± 0.14 / 2.00 ± 0.03	9.70 ± 0.22 / 2.01 ± 0.02
B	–	4.15 ± 0.11 / 1.32 ± 0.03	4.65 ± 0.22 / 1.13 ± 0.02	–	–	–	–	–

Примечание. Абсолютная длина приведена как $x \pm SE$ (мкм); соотношение плеч – как $x \pm SE$ (%); x – среднее; SE – стандартная ошибка; # число изученных метафаз.

Таблица 3. Относительное положение локусов 45S рДНК ($x \pm SE$), %, на хромосомах видов *Picea*

Виды и популяции	II (s)	III (l)	IV (s)	V (l)	VI (s)	VIII (l)	IX (l)	X (s)
<i>P. abies</i>	66.5 ± 0.9	54.9 ± 1.0	73.0 ± 0.5	53.6 ± 0.6	<u>42.0 ± 2.2</u>	48.4 ± 0.4	–	54.9 ± 0.2
<i>P. crassifolia</i>	53.3 ± 0.9	55.1 ± 2.2	72.4 ± 1.2	52.0 ± 1.3	–	<u>49.1 ± 0.5</u>	–	54.8 ± 1.2
<i>P. meyeri</i>	55.9 ± 0.6	54.1 ± 0.6	73.0 ± 0.5	50.0 ± 0.7	54.7 ± 0.6	<u>47.3 ± 0.4</u>	–	54.9 ± 0.2
<i>P. obovata</i> :								
а	55.0 ± 0.6	54.4 ± 0.4	74.1 ± 0.4	49.6 ± 0.6	–	46.2 ± 0.5	–	54.6 ± 0.5
б	54.9 ± 0.7	54.2 ± 0.8	72.9 ± 0.9	50.0 ± 0.5	–	47.5 ± 1.9	–	54.8 ± 0.6
в	52.8 ± 0.4	55.1 ± 0.6	73.0 ± 0.4	48.9 ± 0.5	–	48.4 ± 0.7	–	54.5 ± 0.3
<i>P. omorika</i> :								
а	38.9 ± 0.9	54.1 ± 0.5	73.9 ± 0.6	54.7 ± 0.7	44.3 ± 1.0	46.6 ± 0.5	36.5 ± 0.7	55.0 ± 0.2
б	41.0 ± 0.7	55.0 ± 0.6	74.3 ± 0.7	54.9 ± 0.8	43.4 ± 1.2	48.4 ± 0.9	38.7 ± 0.5	55.0 ± 0.4
<i>P. purpurea</i>	55.4 ± 0.4	54.2 ± 1.4	72.6 ± 0.4	51.0 ± 0.6	<u>54.1 ± 1.3</u>	<u>48.5 ± 0.5</u>	–	54.9 ± 0.4
<i>P. schrenkiana</i>	<u>40.0 ± 0.9</u>	55.2 ± 0.4	73.1 ± 0.2	51.1 ± 0.4	–	49.6 ± 0.2	–	54.8 ± 0.4
<i>P. glauca</i>	57.4 ± 2.4	52.5 ± 2.8	72.8 ± 3.6	51.6 ± 2.7	35.8 ± 1.3	49.8 ± 1.1	–	54.6 ± 3.1
<i>P. sitchensis</i>	56.3 ± 2.2	54.8 ± 4.2	73.6 ± 2.0	52.7 ± 4.6	35.8 ± 2.3	–	–	–

Примечание. Минорные сайты 45S рДНК выделены курсивом и подчеркнуты. Для *P. glauca* и *P. sitchensis* приведены литературные данные (Brown, Carlson, 1997).

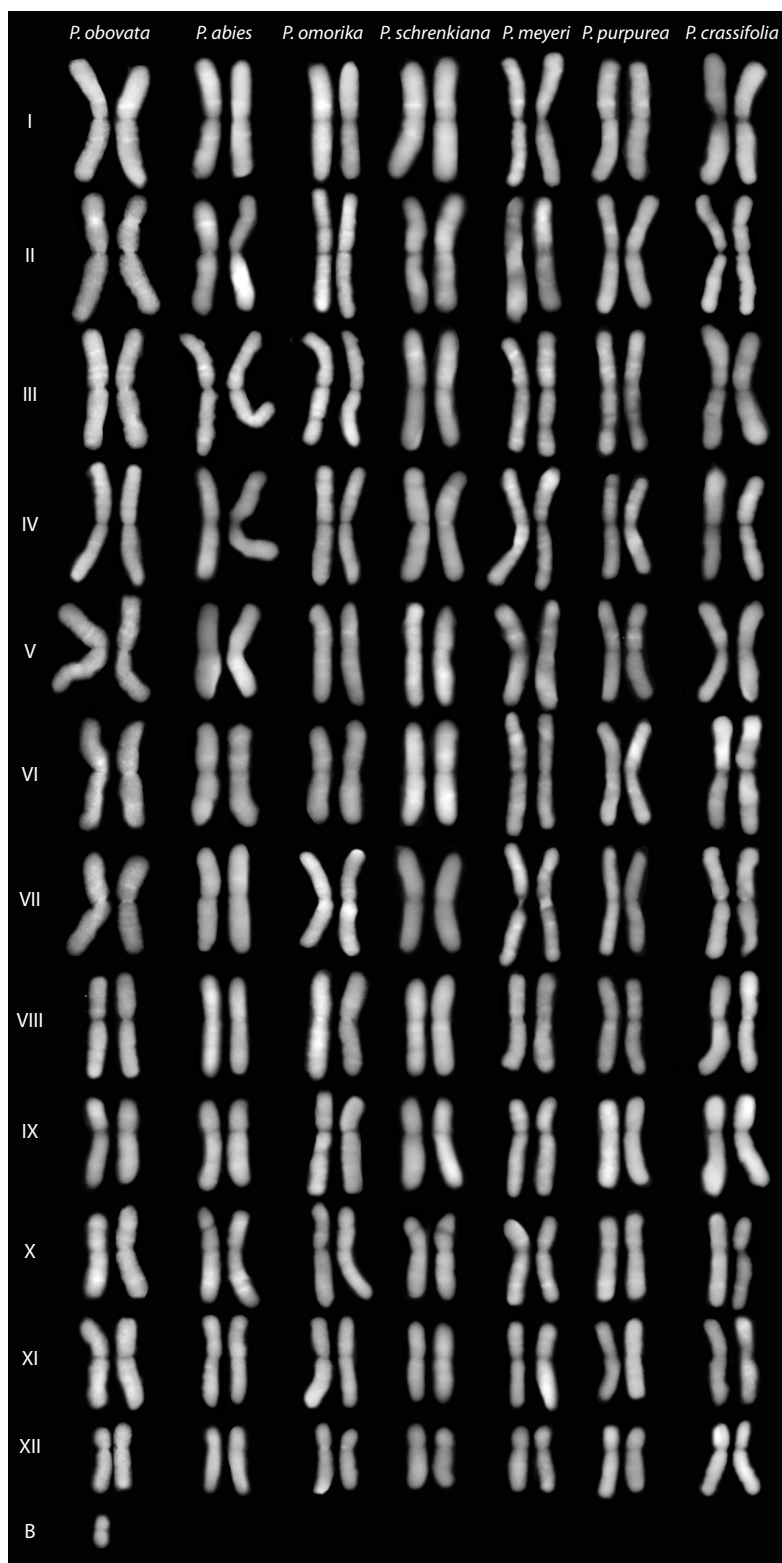


Рис. 2. Метафазные хромосомы изученных видов *Picea*, окрашенные DAPI.

Позитивные DAPI-блоки с яркой флуоресценцией в интеркалярных районах чаще всего выявлялись на хромосомах I, III и X пар (см. рис. 2). Их распределение совпадало у всех изученных видов, облегчая идентификацию этих хромосом и подбор пар гомологов. На обоих плечах хромосомы I наблюдались проксимальные позитивные

полосы DAPI; на коротком плече хромосомы III – двойная проксимальная и дистальная; на длинном плече хромосомы X – DAPI-бэнд в дистальном положении.

Другие DAPI-позитивные полосы отмечались на хромосомах нерегулярно, иногда только у одного гомолога в паре. Среди самых ярких можно отметить интеркаляр-

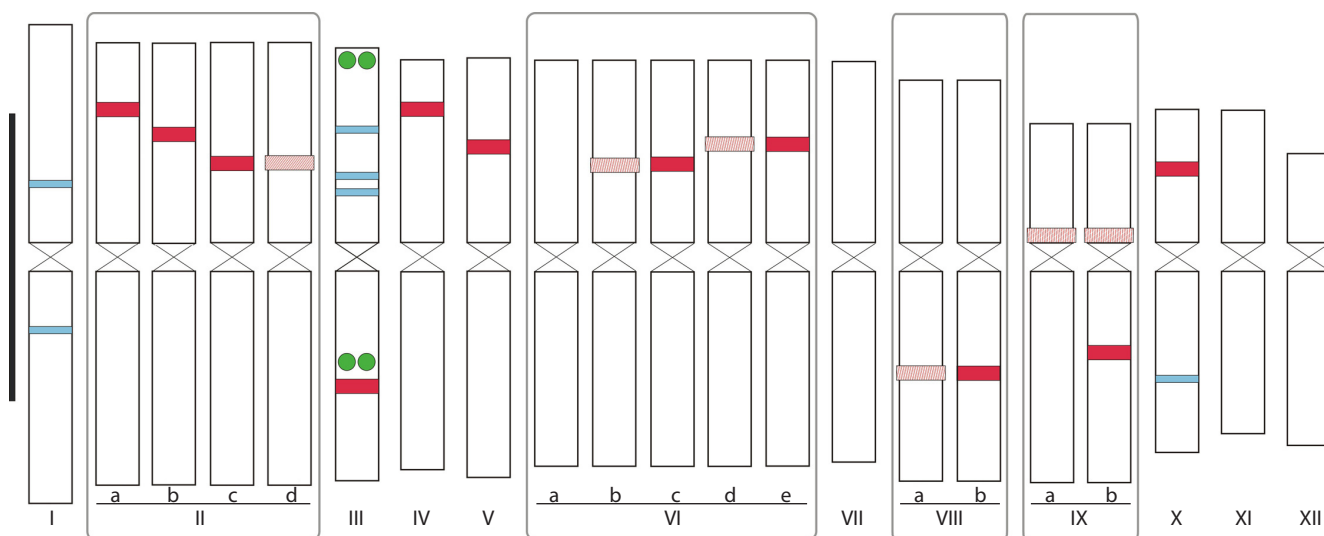


Рис. 3. Сравнительная идиограмма видов *Picea*, показывающая вариацию локализации сайтов 45S рДНК.

Красным показаны мажорные локусы, минорные локусы заштрихованы. Сайты 5S рДНК показаны зеленым цветом, DAPI-бэнды – голубым. Масштаб 10 мкм. I–XII – номера хромосом. Варианты локализации сайтов 45S рДНК соответствуют видам: на хромосоме II (a) – *P. abies*; (b) – *P. crassifolia*, *P. meyeri*, *P. obovata*, *P. purpurea*; (c) – *P. omorika*; (d) – *P. schrenkiana*; на хромосоме VI (a) – *P. schrenkiana*, *P. crassifolia*, *P. obovata*; (b) – *P. abies*; (c) – *P. omorika*; (d) – *P. purpurea*; (e) – *P. meyeri*; на хромосоме VIII (a) – *P. crassifolia*, *P. purpurea*, *P. meyeri*; (b) – *P. omorika*, *P. schrenkiana*, *P. obovata*, *P. abies*; на хромосоме IX (a) – *P. abies*, *P. crassifolia*, *P. meyeri*, *P. schrenkiana*, *P. obovata*; (b) – *P. omorika*.

ные полосы DAPI на коротком плече хромосомы II, соответствующие сайтам 45S рДНК у *P. obovata*, *P. abies*, *P. meyeri*. У остальных исследованных видов на коротком плече хромосомы II также обнаруживался интеркалярный DAPI-бэнд, но более слабый. Он был расположен ближе к центромере и не совпадал с сайтами 45S рДНК. На хромосоме IV у большинства видов наблюдалось много тонких интеркалярных DAPI-бэндов на обоих плечах. У *P. obovata*, *P. omorika*, *P. meyeri* и *P. purpurea* выявлены яркие DAPI-позитивные блоки в проксимальном районе короткого плеча хромосомы V, у *P. omorika*, *P. meyeri* и *P. purpurea* – позитивные DAPI-бэнды в середине длинного плеча хромосомы XII.

Таким образом, сочетание молекулярно-цитогенетического метода с традиционными методами кариологического анализа, основанного на изучении морфологии хромосом, позволяет идентифицировать пары гомологичных хромосом в кариотипах видов *Picea*. Восемь пар хромосом – I, III, IV, VIII, IX, X, XI, XII – легко идентифицируются у всех рассмотренных видов. У некоторых видов сложно различить хромосомы II и V пар, а также VI и VII пар. Например, хромосомы II и V пар в кариотипах *P. obovata*, *P. meyeri*, *P. purpurea* и *P. crassifolia* содержат мажорные сайты 45S рДНК сходной локализации на коротких плечах (см. табл. 3), и гомологичные пары могут быть различимы только по морфологии и рисунку DAPI-бэндинга. Хромосомы VI и VII у *P. obovata*, *P. schrenkiana*, *P. crassifolia* тоже трудно различимы, поскольку они не несут локусов рибосомных генов и имеют сходный рисунок DAPI.

Разнообразие изученных видов ели по распределению локусов рибосомных генов 5S и 45S рРНК представлено на идиограмме (рис. 3). Согласно рисунку, различия между видами по наличию, интенсивности и локализации сигналов 45S рДНК имеются у хромосомных пар II, VI, VIII

и IX. Эти данные вместе с другими признаками могут быть использованы для решения спорных вопросов и установления филогенетических взаимоотношений между видами рода *Picea*.

Обсуждение

Гены, кодирующие 5S и 45S рибосомную РНК, часто используются как молекулярно-цитогенетические маркеры в эволюционных и геномных исследованиях лесных древесных растений благодаря их высококонсервативной структуре и тандемной организации (Ribeiro et al., 2008). В пределах вида число локусов рДНК, как правило, стабильно, что делает их удобным инструментом для идентификации хромосом. Однако между таксонами число и локализация сайтов различаются, что связано с преобразованиями кариотипа в процессе эволюции.

Число кластеров рибосомных генов 5S рРНК у голосеменных варьирует от одного до четырех на гаплоидный геном, они могут иметь как терминальную, так и интерстициальную локализацию на хромосомах (Ribeiro et al., 2008; Garcia et al., 2017; Ohri, 2021). Гораздо большее разнообразие наблюдается по числу локусов 45S рДНК: от 2 (у большинства видов *Podocarpus* и *Juniperus*) до 38 у *Pinus taeda* (Ohri, 2021). Положение сайтов 45S рДНК на хромосомах большинства голосеменных растений, в том числе видов *Picea*, обычно интерстициальное, тогда как у покрытосеменных эти сайты чаще расположены терминально (Roa, Guerra, 2012; Garcia et al., 2017).

Гены 5S и 45S рРНК у представителей сем. Pinaceae чаще находятся на одной и той же хромосоме, во многих случаях на одном и том же плече, и гибридационные сигналы частично могут перекрываться. Такие хромосомы наблюдаются в кариотипах *Picea*, *Pinus* и *Abies*, однако метод Саузерн-блот гибридизации не выявил существен-

ной совместной гибридизации проб 26S (18S) и 5S рДНК, что свидетельствует о смежном положении независимых сайтов 5S и 45S рДНК (Garcia, Kovařík, 2013). При этом кластер генов 5S рДНК у видов *Picea* находится ближе к центромере, а у видов *Abies* – ближе к теломере (Shibata et al., 2004; Puizina et al., 2008). В кариотипах разных видов *Pinus* обнаружены оба варианта смежной локализации сайтов 45S и 5S рДНК (Liu Z. et al., 2003; Cai et al., 2006).

В кариотипах всех видов *Larix* и *Pseudotsuga menziesii* локусы 5S и 45S рДНК также расположены на одной хромосоме, но на разных плечах (Hizume et al., 1996; Liu B. et al., 2006, 2007; Zhang et al., 2010; Goryachkina et al., 2013). Межвидовая изменчивость по числу и локализации сайтов 5S рДНК описана у видов *Pinus* и *Abies* (Liu Z. et al., 2003; Shibata et al., 2004; Cai et al., 2006; Puizina et al., 2008; Nkongolo, Mehes-Smith, 2012; Ohri, 2021). У изученных к настоящему времени видов *Picea* и *Larix* число локусов 5S рДНК постоянное.

Хромосома, несущая два кластера рибосомных генов 5S рДНК и мажорный локус генов 45S рДНК, выявлена в кариотипах всех видов *Picea* (Brown et al., 1993; Hizume, Kuzakawa, 1995; Brown, Carlson, 1997; Hizume et al., 1999; Šiljak-Yakovlev et al., 2002; Shibata, Hizume, 2008) и, вероятно, может считаться маркером кариотипа данного рода. Сходная модель расположения кластеров локусов 5S и 45S рДНК на одном из длинных метацентриков наблюдается в кариотипах большинства видов *Larix*: единственный локус 5S рДНК локализован терминально на коротком плече хромосомы III, которая также несет мажорный сайт 45S рДНК на другом плече (Liu B. et al., 2006, 2007; Zhang et al., 2010; Goryachkina et al., 2013).

Среди видов *Picea* число локусов 45S рДНК варьирует от 8 до 26, при этом у американских и евразийских видов их наблюдается больше, чем у восточноазиатских (Ohri, 2021). Две хромосомы – I и XI – не несут кластеров рибосомных генов 45S рДНК ни у одного из исследованных к настоящему времени видов ели. Межвидовые различия зафиксированы по числу сайтов 45S рДНК и их локализации на остальных хромосомах в кариотипе. Мажорные сигналы 45S рДНК совпадают с местами локализации постоянных вторичных перетяжек, свидетельствующих о функциональной активности соответствующих локусов, как было показано ранее (Šiljak-Yakovlev et al., 2002).

Два локуса генов 45S рДНК характеризуются высоким постоянством и выявляются в кариотипах всех видов *Picea*: медиальный сайт на длинном плече хромосомы III и субтерминальный на коротком плече хромосомы IV. Эти локусы облегчают идентификацию хромосомных пар и подбор гомологов в группе длинных метацентриков II–VII пар. Дистальный сайт 45S рДНК на коротком плече хромосомы V тоже достаточно стабилен и не выявлен только у североамериканского вида *P. breweriana* (Shibata, Hizume, 2008). В кариотипе *P. breweriana* обнаружено несколько уникальных мажорных сайтов 45S рДНК, которые не наблюдались на хромосомах других видов ели: на коротком плече хромосомы III и в перичентромерном районе хромосомы X (Shibata, Hizume, 2008). Считается, что ель Бревера занимает изолированное положение в секции

Omorika рода *Picea*, ее близость к некоторым азиатским видам ели подтверждается на основе изучения последовательностей нуклеотидов в ядерных, митохондриальных и хлоропластных геномах (Ran et al., 2006, 2015; Lockwood et al., 2013).

Интересные данные были получены при сравнении локализации полиморфных сайтов 45S рДНК на хромосомах II, VI и VIII пар. Эти результаты можно считать предварительными, поскольку к настоящему времени гены 5S и 45S рДНК картированы на хромосомах только половины видов *Picea* (Brown et al., 1993; Lubaretz et al., 1996; Brown, Carlson, 1997; Hizume et al., 1999; Šiljak-Yakovlev et al., 2002; Vischi et al., 2003; Sarri et al., 2008; Shibata, Hizume, 2008). Тем не менее можно отметить некоторые закономерности, которые могут указывать на родство или общее происхождение видов.

Ранее F. Shibata и M. Hizume (2008) описали две позиции мажорного сигнала 45S рДНК на коротком плече хромосомы II: субтерминальную (*P. abies*, *P. sitchensis*, *P. glauca*) и медиальную (*P. asperata*, *P. crassifolia*, *P. jezoensis* var. *hondoensis*, *P. koraiensis*, *P. obovata*, *P. pungens* var. *glauca*). Оба варианта локализации показаны на идиограмме (см. рис. 3). Однако G.R. Brown с коллегами (1993) в оригинальной работе говорили о медиальной локализации данного сигнала у *P. sitchensis* и *P. glauca* (см. табл. 3), что позволяет отнести эти виды ко второй группе. Таким образом, у *P. abies* сайт 45S рДНК на хромосоме II имеет уникальное положение в субтерминальной части короткого плеча (см. рис. 3, табл. 3). Проведенные нами измерения показали, что у *P. schrenkiana* и *P. omorika* кластер 45S рДНК на хромосоме II располагается более проксимально по сравнению с другими видами, соответственно, эти виды можно отнести к третьей группе (см. рис. 3). Таким образом, локус 45S рДНК на коротком плече хромосомы II может иметь три варианта расположения у разных видов *Picea* и представляется наиболее полиморфным по локализации на хромосомном плече.

Сайт 45S рДНК на хромосоме VI тоже характеризуется полиморфной локализацией, но присутствует только у половины изученных видов *Picea*. Среди исследованных нами видов этот сайт имел проксимальную локализацию у *P. omorika* (мажорный локус) и *P. abies* (минорный локус). У североамериканских видов *P. glauca* и *P. sitchensis* отмечены мажорные локусы 45S рДНК на хромосоме VI также с проксимальной локализацией 35.8 % (Brown, Carlson, 1997). F. Shibata и M. Hizume (2008) показали, что в кариотипе *P. engelmannii* хромосома VI имеет сигнал 45S рДНК в проксимальной части короткого плеча, а у *P. koraiensis* – в медиальной части длинного плеча. Согласно нашим данным по морфометрии, у *P. purpurea* и *P. meyeri* сигнал 45S рДНК на хромосоме VI расположен медиально на коротком плече, хотя у метацентриков иногда бывает трудно идентифицировать короткое и длинное плечи (см. табл. 3). У всех остальных изученных видов ели (евразийские *P. schrenkiana* и *P. obovata*, восточноазиатские *P. crassifolia*, *P. asperata*, *P. jezoensis* var. *hondoensis* и *P. koyamai*, североамериканские *P. breweriana*, *P. mariana* и *P. rubens*) хромосома VI не имеет сигналов 45S рДНК.

Сайт 45S рДНК на хромосоме VIII имеет сходную локализацию в середине длинного плеча у всех видов, однако интенсивность сигнала различается. Для большинства восточноазиатских видов (*P. meyeri*, *P. crassifolia*, *P. purpurea*) зафиксированы слабые сигналы гибридизации, в то время как у европейских и евразийских видов (*P. abies*, *P. omorika*, *P. schrenkiana*, *P. obovata*) наблюдаются яркие мажорные локусы 45S рДНК. Среди исследованных другими авторами видов из Восточной Азии сайт 45S рДНК сходной локализации на хромосоме VIII отмечался только у *P. jezoensis* var. *hondoensis* и отсутствовал у *P. asperata*, *P. koraiensis*, *P. koyamai* (Hizume et al., 1999; Shibata, Hizume, 2008). Тем не менее у трех последних видов флуоресцентное окрашивание выявило интеркалярные СМА⁺-бэнды на длинном плече хромосомы VIII; среди восточноазиатских видов они отсутствуют только у *P. maximowiczii* var. *senanensis* и *P. wilsonii* (Hizume, 2017). Как известно, интеркалярные СМА⁺-бэнды могут соответствовать районам локализации генов 45S рРНК.

У большинства изученных видов, за исключением *P. purpurea*, был выявлен минорный сайт 45S рДНК в перичентромерном районе хромосомы IX. Ранее этот локус был обнаружен у *P. abies* при гибридизации с пробой PAF1, содержащей межгенный спейсер 45S рДНК (Vischi et al., 2003). Флуоресцентное окрашивание дает сходные результаты: виды ели из Северной Америки и Евразии содержали СМА⁺-бэнды на хромосоме IX, а у ряда восточноазиатских видов (*P. wilsonii*, *P. koyamae*, *P. maximowiczii* var. *senanensis*, *P. likiangensis*) эти полосы отсутствовали (Hizume, 2017). Ранее было установлено филогенетическое родство *P. wilsonii*, *P. likiangensis* и *P. purpurea* по результатам молекулярно-генетического анализа ядерных, хлоропластных и митохондриальных генов (Sun et al., 2014). *P. purpurea* и *P. likiangensis* также имеют сходные морфологические признаки: по форме и структуре семенных чешуй, почкам и хвое, цвету и опушению побегов (Liu T.S., 1982).

Некоторые минорные сигналы представляют собой сайты с низким числом копий 45S рДНК, которые могли быть активными у предковых форм голосеменных, а затем переместились в дистальные районы хромосом в результате структурных перестроек или активности мобильных элементов (Garcia, Kovarik, 2013; Garcia et al., 2017). Этот феномен известен как амфиплазия и часто встречается у аллополиплоидных растений (Pikaard, 2000). Функция латентных локусов может быть восстановлена, если какие-то ядрышкообразующие районы хромосом были утеряны. Так, минорные сайты 45S рДНК на хромосоме 1R тетраплоидных *Triticale* становятся функционально активными в генотипах пшеницы, имеющих хромосомы 1В и 6В (Badaev et al., 1992). Большинство минорных ядрышковых организаторов обладают не истинными генами рДНК, а псевдогенами (Pedersen, Linde-Laursen, 1994) и могут возникать за счет действия мобильных элементов (Dubkovsky, Dvorak, 1995; Raskina et al., 2004).

Минорные перичентрические сигналы 45S рДНК характерны для сосен. Их количество варьирует у разных

видов от 2 до 18 на диплоидный набор (Liu Z. et al., 2003; Islam-Faridi et al., 2007; Bogunić et al., 2011; Shibata et al., 2016). М. Hizume с коллегами (2001) изолировали последовательности 18S и 26S рДНК, используя микродиссекцию перичентромерных районов хромосом *Pinus densiflora*, и предположили, что эти последовательности являются нефункциональными, поскольку число ядрышек в интерфазных ядрах было меньше, чем число мажорных NOR. Минорные перичентрические сигналы 45S рДНК наблюдались также у некоторых видов *Larix* (Goryachkina et al., 2013).

Рисунок FISH может быть использован для изучения взаимоотношений между видами. С этой точки зрения сигналы, локализованные на хромосомах II, VI, VII, VIII и X, представляются более информативными. Близкая локализация сайтов 45S рДНК во многих случаях обнаруживается у видов, относящихся к одним и тем же секциям (или под родам), выделенным разными авторами на основе сходства по морфологическим и анатомическим признакам (Сукачев, 1928; Dallimore, Jackson, 1966; Бобров, 1971; Liu T.S., 1982; Schmidt, 1989; Ledig et al., 2004; Farjon, 1990).

Необходимо отметить, что классификация рода внутри секций до сих пор остается противоречивой. Кроме того, многие виды *Picea* легко скрещиваются друг с другом в зоне контакта ареалов. Эксперименты по скрещиванию показали, что гибридизация происходит между видами ели, даже если они имеют географически изолированные ареалы, вплоть до расположения на разных континентах (Wright, 1955; Mikkola, 1969). Наши результаты по FISH в большой степени согласуются с данными других авторов по молекулярно-филогенетическим исследованиям рода (Sigurgeirsson, Szmidt, 1993; Nkongolo, 1999; Ran et al., 2006, 2015; Lockwood et al., 2013).

С другой стороны, сходная локализация сайтов 45S рДНК отмечена у видов из различных групп рода *Picea*: *P. omorika* и *P. schrenkiana* (проксимальный сигнал на коротком плече хромосомы II); *P. omorika* и *P. abies* (медиальный сигнал на коротком плече хромосомы VI); *P. meyeri* и *P. purpurea* (проксимальный сигнал на коротком плече хромосомы VI); *P. omorika* и *P. pungens* var. *glauca* (сигнал на длинном плече хромосомы IX). Таким образом, многие аспекты таксономических и филогенетических взаимоотношений видов рода *Picea* еще ожидают своего решения с использованием молекулярно-цитогенетических и генетических подходов.

Заключение

Сочетание молекулярно-цитогенетических методов с традиционными методами кариологического анализа, основанного на изучении морфологии хромосом, позволяет идентифицировать пары гомологичных хромосом в кариотипах *Picea*. Установлено, что кариотипы видов ели различаются по числу, локализации и интенсивности 45S рДНК сигналов. Сходная локализация сигналов, как правило, наблюдается у видов, входящих в состав одних и тех же секций. В некоторых случаях сходная локализация

сайтов 45S рДНК отмечена у видов из разных серий, что требует дальнейших сравнительных цитогенетических и молекулярно-генетических исследований. Таким образом, метод флуоресцентной гибридизации *in situ* дает ценную информацию для анализа взаимоотношений между видами и открывает новые возможности при изучении генетического разнообразия, эволюции, внутривидовой и межвидовой изменчивости рода *Picea*.

Список литературы / References

- Бобров Е.Г. История и систематика рода *Picea* A. Dietr. *Новости систематики высших растений*. 1971;7:5-40
- [Bobrov E.G. The history and systematics of the genus *Picea* A. Dietr. *Novitates Systematicae Plantarum Vascularium*. 1971;7: 5-40 (in Russian)]
- Муратова Е.Н., Седельникова Т.С., Горячкина О.В., Пименов А.В., Карпюк Т.В. Добавочные хромосомы хвойных растений (на примере видов ели *Picea* A. Dietr.). *Журнал СВУ. Биология*. 2023; 16(4):403-419
- [Muratova E.N., Sedel'nikova T.S., Goryachkina O.V., Pimenov A.V., Karpjuk T.V. Supernumerary chromosomes in coniferous plants: a case study of the *Picea* A. Dietr. genus. *Journal of Siberian Federal University. Biology*. 2023;16(4):403-419 (in Russian)]
- Попов П.П. Ель на востоке Европы и в Западной Сибири: популяционно-географическая изменчивость и ее лесоводственное значение. Новосибирск: Наука, 1999
- [Popov P.P. Spruce in the East Europe and Western Siberia: Population-geographic variation and its silviculture value. Novosibirsk: Nauka Publ., 1999 (in Russian)]
- Правдин Л.Ф., Бударагин В.А., Круклис М.В., Шершуква О.П. Методика кариологического изучения хвойных пород. *Лесоведение*. 1972;2:67-75
- [Pravdin L.F., Budaragin V.A., Kruklis M.V., Shershukova O.P. Methods of karyological investigation of conifers. *Lesovedenie*. 1972;2:67-75 (in Russian)]
- Сукачев В.Н. Лесные породы, систематика, география и фитосоциология их. Т. 1. Хвойные. М.: Новая деревня, 1928
- [Sukachev V.N. Forest Woody Species, Systematics, Geography and their Phytosociology. Vol. 1. Conifers. Moscow: Novaya Derevnja Publ., 1928 (in Russian)]
- Badaev N.S., Badaeva E.D., Dubovets N.I., Bolsheva N.L., Bormotov V.E., Zelenin A.V. Formation of a synthetic karyotype of tetraploid triticales. *Genome*. 1992;35(2):311-317. doi 10.1139/g92-047
- Bogunić F., Šiljak-Yakovlev S., Muratović E., Ballian D. Different karyotype patterns among allopatric *Pinus nigra* (Pinaceae) populations revealed by molecular cytogenetics. *Plant Biol*. 2011;13(1): 194-200. doi 10.1111/j.1438-8677.2010.00326.x
- Brown G.R., Carlson J.E. Molecular cytogenetics of the genes encoding 18s-5.8s-26s rDNA and 5s rRNA in two species of spruce (*Picea*). *Theor Appl Genet*. 1997;95(1-2):1-9. doi 10.1007/s001220050526
- Brown G.R., Amarasinghe V., Kiss G., Carlson J.B. Preliminary karyotype and chromosomal localization of ribosomal DNA sites in White spruce using fluorescence *in situ* hybridization. *Genome*. 1993; 36(2):261-267. doi 10.1139/g93-043
- Cai Q., Zhang D.M., Liu Z.L., Wang X.R. Chromosomal localization of 5S and 18S rDNA in five species of subgenus *Strobilus* and their implications for genome evolution of *Pinus*. *Ann Bot*. 2006;97(5): 715-722. doi 10.1093/aob/mcl030
- Dallimore W., Jackson A.B. A Handbook of Coniferae and Ginkgoaceae. London: Arnold, 1966
- Devey M.E., Bell J.C., Smith D.N., Neale D.B., Moran G.F. A genetic linkage map for *Pinus radiata* based on RFLP, RAPD, and microsatellite markers. *Theor Appl Genet*. 1996;92(6):673-679. doi 10.1007/BF00226088
- Dubcovsky J., Dvorak J. Ribosomal RNA multigene loci: nomads of the Triticeae genomes. *Genetics*. 1995;140(4):1367-1377. doi 10.1093/genetics/140.4.1367
- Farjon A. Pinaceae: Drawings and Descriptions of the Genera *Abies*, *Cedrus*, *Pseudolarix*, *Keteleeria*, *Nothotsuga*, *Tsuga*, *Cathaya*, *Pseudotsuga*, *Larix* and *Picea*. Königstein: Koeltz Scientific Books, 1990
- Farjon A. World Checklist and Bibliography of Conifers. Kew: Royal Botanic Gardens, 2001
- Friesen N., Brandes A., Heslop-Harrison J.S. Diversity, origin, and distribution of retrotransposons (*gypsy* and *copia*) in conifers. *Mol Biol Evol*. 2001;189(7):1176-1188. doi 10.1093/oxfordjournals.molbev.a003905
- Garcia S., Kovařík A. Dancing together and separate again: gymnosperms exhibit frequent changes of fundamental 5S and 35S rRNA gene (rDNA) organization. *Heredity*. 2013;111(1):23-33. doi 10.1038/hdy.2013.11
- Garcia S., Kovařík A., Leitch A.R., Garnatje T. Cytogenetic features of rRNA genes across land plants: analysis of the Plant rDNA database. *Plant J*. 2017;89(5):1020-1030. doi 10.1111/tpj.13442
- Gerlach W.L., Bedbrook J.R. Cloning and characterization of ribosomal RNA genes from wheat and barley. *Nucleic Acids Res*. 1979; 7(7):1869-1885. doi 10.1093/nar/7.7.1869
- Gerlach W.L., Dyer T.A. Sequence organization of the repeated units in the nucleus of wheat which contains 5S-rRNA genes. *Nucleic Acids Res*. 1980;8(21):4851-4865. doi 10.1093/nar/8.21.4851
- Goryachkina O.V., Badaeva E.D., Muratova E.N., Zelenin A.V. Molecular cytogenetic analysis of Siberian *Larix* species by fluorescence *in situ* hybridization. *Plant Syst Evol*. 2013;299(2):471-479. doi 10.1007/s00606-012-0737-y
- Hizume M. Karyomorphological studies in the family Pinaceae. *Mem Fac Educ Ehime Univ Nat Sci*. 1988;8(2):1-108
- Hizume M. Chromosome banding in *Picea* IV. Comparative karyotype analysis of fluorescent band patterns in 25 taxa. *Chromosome Bot*. 2017;12(2):17-32. doi 10.3199/iscb.12.17
- Hizume M., Kuzakawa Y. Fluorescent chromosome banding in *Picea*. II. Relationships between rDNA loci and chromomycin A₃-bands of *P. jezoensis* var. *hondoensis*. *La Kromosomo*. 1995;79-80:2754-2759
- Hizume M., Kuzakawa Y., Kondo T. Physical mapping of 5S rDNA locus on chromosomes in *Pseudotsuga menziesii*, Pinaceae. *La Kromosomo*. 1996;83-84:2901-2908
- Hizume M., Shibata F., Kondo T., Hoshi H., Kondo T., Ge S., Yang Q., Hong D. Identification of chromosomes in two Chinese spruce by multicolor fluorescence in hybridization. *Chromosome Sci*. 1999; 3(1):37-41
- Hizume M., Shibata F., Maruyama Y., Kondo T. Cloning of DNA sequences localized on proximal fluorescent chromosome bands by microdissection in *Pinus densiflora* Sieb. & Zucc. *Chromosoma*. 2001;110(5):345-351. doi 10.1007/s004120100149
- Islam-Faridi M.N., Nelson C.D., Kubisiak T.L. Reference karyotype and cytomechanical map for loblolly pine (*Pinus taeda* L.). *Genome*. 2007;50(2):241-251. doi 10.1139/g06-153
- Ledig F.T., Hodgskiss P.D., Krutovskii K.V., Neale D.B., Eguiluz-Piedra T. Relationships among the spruces (*Picea*, Pinaceae) of Southwestern North America. *Systematic Botany*. 2004;299(2):275-295. doi 10.1600/036364404774195485
- Li L.C., Wang G., Su S. Karyotype analysis of four species of *Picea* in Chengdu (Pinaceae). *Guihaia*. 2001;21(1):43-46 (in Chinese)
- Liu B., Zhang S.-G., Zhang Y., Lan T.-Y., Qi L.-W., Song W.Q. Molecular cytogenetics analysis of four *Larix* species by bicolor fluorescence *in situ* hybridization and DAPI banding. *Int J Plant Sci*. 2006;167(2):367-372. doi 10.1086/499317
- Liu B., Qi L.-W., Chen R., Song W.Q. Multicolor fluorescence *in situ* hybridization with combinatorial labeling probes enables a detailed karyotype analysis of *Larix principis-rupprechtii*. *Biol Res*. 2007; 40(1):23-28. doi 10.4067/s0716-97602007000100003
- Liu T.S. A new proposal for the classification of the genus *Picea*. *Acta Phytotax Geobot*. 1982;33(4-6):227-245. doi 10.18942/bunruichiri.KJ00001079164
- Liu Y.H., Li M.X. Karyotype analysis of five species of genus *Picea*. *J Wuhan Bot Res*. 1985;3(3):203-207 (in Chinese)

- Liu Z., Zhang D., Hong D., Wang X. Chromosomal localization of 5S and 18S-5.8S-25S ribosomal DNA sites in five Asian pines using fluorescence *in situ* hybridization. *Theor Appl Genet.* 2003;106(2): 198-204. doi 10.1007/s00122-002-1024-z
- Lockwood J.D., Aleksić J.M., Zou J., Wang J., Liu J., Renner S.S. A new phylogeny for the genus *Picea* from plastid, mitochondrial, and nuclear sequences. *Mol Phylogenet Evol.* 2013;69(3):717-727. doi 10.1016/j.ympev.2013.07.004
- Lubaretz O., Fuchs J., Ahne R., Meister A., Schubert I. Karyotyping of three Pinaceae species via fluorescent *in situ* hybridization and computer-aided chromosome analysis. *Theor Appl Genet.* 1996; 92(3-4):411-416. doi 10.1007/BF00223687
- Mikkola L. Observations on interspecific sterility in *Picea*. *Ann Bot Fenn.* 1969;6(4):285-339
- Nkongolo K.K. RAPD and cytological analysis of *Picea* spp. from different provenances: genomic relationship among taxa. *Hereditas.* 1999;130(2):137-144. doi 10.1111/j.1601-5223.1999.00137.x
- Nkongolo K.K., Mehesh-Smith M. Karyotype evolution in the Pinaceae: implication with molecular phylogeny. *Genome.* 2012;55(11): 735-753. doi 10.1139/g2012-061
- Ohri D. Karyotype evolution in conifers. *Feddes Repertorium.* 2021; 132(3):232-262. doi 10.1002/fedr.202100014
- Pedersen C., Lindle-Laursen I. Chromosomal locations of four minor rDNA loci and a marker microsatellite sequence in barley. *Chromosome Res.* 1994;2(1):65-71. doi 10.1007/BF01539456
- Pikaard C.S. Nucleolar dominance: uniparental gene silencing on a multi-megabase scale in genetic hybrids. *Plant Mol Biol.* 2000; 43(2-3):163-177. doi 10.1023/a:1006471009225
- Puizina J., Sviben T., Krajačić-Sokol I., Zoldoš-Pećnik V., Šiljak-Yakovlev S., Papeš D., Besendorfer V. Cytogenetic and molecular characterization of the *Abies alba* genome and its relationship with other members of the Pinaceae. *Plant Biol.* 2008;10(2):256-267. doi 10.1111/j.1438-8677.2007.00018.x
- Ran J.-H., Wei X.-X., Wang X.-Q. Molecular phylogeny and biogeography of *Picea* (Pinaceae): implications for phylogeographical studies using cytoplasmic haplotypes. *Mol Phylogenet Evol.* 2006; 41(2):405-419. doi 10.1016/j.ympev.2006.05.039
- Ran J.-H., Shen T.-T., Liu W.-J., Wang P.-P., Wang X.-Q. Mitochondrial introgression and complex biogeographic history of the genus *Picea*. *Mol Phylogenet Evol.* 2015;93(1):63-76. doi 10.1016/j.ympev.2015.07.020
- Raskina O., Belyayev A., Nevo E. Activity of *En/Spm*-like transposons in meiosis as a base for chromosome repatterning in a small. Isolated, peripheral populations of *Aegilops speltoides* Tausch. *Chromosome Res.* 2004;12(2):153-161. doi 10.1023/B:CHRO.0000013168.61359.43
- Ribeiro T., Barão A., Viegas W., Morais-Cecili L. Molecular cytogenetics of forest trees. *Cytogenet Genome Res.* 2008;120(3-4): 220-227. doi 10.1159/000121070
- Roa F., Guerra M. Distribution of 45S rDNA sites in chromosomes of plants: structural and evolutionary implications. *BMC Evolutionary Biology.* 2012;12:225. doi 10.1186/1471-2148-12-225
- Rossello J.A., Maravilla A.J., Rosato M. The nuclear 35S rDNA world in plant systematics and evolution: a primer of cautions and common misconceptions in cytogenetic studies. *Front Plant Sci.* 2022; 13:788911. doi 10.3389/fpls.2022.788911
- Sarri V.V., Minelli S., Panara F.F., Morgante M., Jurman I., Zuccolo A.A., Cionini P.G. Characterization and chromosomal organization of satellite DNA sequences in *Picea abies*. *Genome.* 2008; 51(9):705-713. doi 10.1139/G08-048
- Schmidt P.A. Contributions to the taxonomy and evolution of the genus *Picea* A. Dietr. *Flora.* 1989;182(5-6):435-461. doi 10.1016/S0367-2530(17)30431-0
- Shibata F., Hizume M. Comparative FISH karyotype analysis of 11 *Picea* species. *Cytologia.* 2008;73(2):203-211. doi 10.1508/cytologia.73.203
- Shibata F., Hizume M., Garajova Z. Conserved FISH karyotype in four species of *Abies* (Pinaceae). *Chromosome Sci.* 2004;8(3):95-98
- Shibata F., Matsusaki Y., Hizume M. A comparative analysis of multi-probe fluorescence *in situ* hybridization (FISH) karyotypes in 26 *Pinus* species (Pinaceae). *Cytologia.* 2016;81(4):409-421. doi 10.1508/cytologia.81.409
- Sigurgeirsson A., Szmidi A.E. Phylogenetic and biogeographic implications of chloroplast DNA variation in *Picea*. *Nordic J Bot.* 1993; 13(3):233-246. doi 10.1111/j.1756-1051.1993.tb00043.x
- Šiljak-Yakovlev S., Cerbah M., Coulaud J., Stojan V., Brown S.C., Zoldoš V., Jelenić S., Papeš D. Nuclear DNA content, base composition, heterochromatin and rDNA in *Picea omorika* and *Picea abies*. *Theor Appl Genet.* 2002;104(2-3):505-512. doi 10.1007/s001220100755
- Sun Y.-Sh., Abbott R.J., Li L.L., Li L., Zou J., Liu J.Q. Evolutionary history of Purple cone spruce (*Picea purpurea*) in the Qinghai-Tibet Plateau: homoploid hybrid origin and Pleistocene expansion. *Mol Ecol.* 2014;23(2):343-359. doi 10.1111/mec.12599
- Trontin J.-F., Grandemange C., Favre J.-M. Two highly divergent 5S rDNA unit size classes occur in composite tandem array in European larch (*Larix decidua* Mill.) and Japanese larch (*Larix kaempferi* (Lamb.) Carr.). *Genome.* 1999;42(5):837-848. doi 10.1139/g99-015
- Vischi M., Jurman J., Bianchi G., Morgante M. Karyotype of Norway spruce by multicolor FISH. *Theor Appl Genet.* 2003;107(4):591-597. doi 10.1007/s00122-003-1306-0
- Wright J.W. Species crossability in spruce in relation to distribution and taxonomy. *For Sci.* 1955;1(4):319-340. doi 10.1093/forestscience/1.4.31
- Zhang S.G., Yang W.H., Han S.Y., Han B.T., Li M.S., Qi L.W. Cytogenetic analysis of reciprocal hybrids and their parents between *Larix leptolepis* and *Larix gmelinii*: implications for identifying hybrids. *Tree Genet Genomes.* 2010;6(3):405-412. doi 10.1007/s11295-009-0258-1

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 28.11.2025. После доработки 16.04.2026. Принята к публикации 17.04.2026

doi 10.18699/vjgb-26-75

Филогеографический анализ полиморфизма митохондриальных геномов шорцев

Б.А. Мальярчук , Г.А. Денисова , А.Н. Литвинов , Н.В. Похилиук 

Институт биологических проблем Севера Дальневосточного отделения Российской академии наук, Магадан, Россия

 malbor@mail.ru

Аннотация. Получены данные об изменчивости нуклеотидных последовательностей целых митохондриальных геномов у шорцев – тюркоязычного народа Алтае-Саянского региона. У шорцев выявлен высокий уровень нуклеотидного разнообразия, обусловленный наличием в генофонде двух компонентов восточно- и западноевразийского происхождения (79.5 и 20.5 % соответственно). При этом отмечен относительно низкий (в масштабах Сибири) уровень разнообразия гаплотипов мтДНК, что связано с высокой распространенностью у шорцев некоторых одинаковых митохондриальных гаплотипов. Результаты многомерного шкалирования межпопуляционных генетических дистанций свидетельствуют о том, что шорцы занимают промежуточное положение между этническими группами Восточной Азии и коренными народами Восточной Сибири. Исследование полиморфизма целых митохондриальных геномов у индивидуумов, характеризующихся одинаковым гаплотипом гипервариабельного сегмента 1, который относится к гаплогруппе F1b1 и обнаружен у ~37 % шорцев, позволило определить 6 гаплотипов мтДНК, принадлежащих к гаплогруппам F1b1-b1 и F1b1-b2. Результаты филогеографического анализа показали, что особенностью митохондриального генофонда шорцев является высокая частота (65.9 %) гаплогрупп мтДНК, которые распространены исключительно в популяциях Алтае-Саянского региона: A-a1c1a, B4b1a3a1a, C4a1a4a1a, C4e, C5c*, D4b1a2a1a, D4m2a2, D5c1a2b, F1b1-b1, F1b1-b2, F2b1b1, H8b1a. Эволюционный возраст этих гаплогрупп мтДНК согласно результатам молекулярного датирования варьирует от 0.9 до 5.0 тыс. лет. Все указанные выше гаплогруппы мтДНК восточноазиатские по происхождению, за исключением западноевразийской H8b1a. Обособленному развитию митохондриальных гаплогрупп, специфичных для народов Алтае-Саянского региона, возможно, способствовала изоляция от восточноазиатских соседей, вызванная формированием афанасьевского населения в эпоху бронзового века в результате смешения популяций коренных жителей региона и мигрантов – представителей ямной культурно-исторической общности, существовавшей в Приуралье и Поволжье. В условиях отсутствия интенсивного притока дополнительных восточноазиатских гаплотипов мтДНК в течение нескольких тысяч лет в популяциях Алтае-Саянского региона, по всей видимости, произошла диверсификация уже имевшихся генетических линий восточноазиатского происхождения.

Ключевые слова: митохондриальный геном; филогеографический анализ; популяции человека; Сибирь; шорцы

Для цитирования: Мальярчук Б.А., Денисова Г.А., Литвинов А.Н., Похилиук Н.В. Филогеографический анализ полиморфизма митохондриальных геномов шорцев. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2026;30(5):747-754. doi 10.18699/vjgb-26-75

Phylogeographic analysis of mitochondrial genome polymorphism in the Shors

B.A. Malyarchuk , G.A. Denisova , A.N. Litvinov , N.V. Pokhilyuk 

Institute of Biological Problems of the North of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Magadan, Russia

 malbor@mail.ru

Abstract. The variability of nucleotide sequences of complete mitochondrial genomes in the Shors, a Turkic-speaking people from the Altai–Sayan region, was studied. The Shors exhibit a high level of nucleotide diversity due to the presence of two components of the East and West Eurasian origin in their gene pool (79.5 and 20.5 %, respectively). However, a relatively low level of mtDNA haplotype diversity was found among the Shors, which is associated with the high prevalence of certain identical mitochondrial haplotypes. Multidimensional scaling of interpopulation genetic distances indicates that the Shors fall in between East Asian ethnic groups and indigenous East Siberian peoples. By examining the polymorphism of whole mitochondrial genomes in individuals with the same hypervariable segment 1 haplotype belonging to haplogroup F1b1, found in ~37 % of the Shors, we identified six mtDNA haplotypes belonging to haplogroups F1b1-b1 and F1b1-b2. Phylogeographic analysis shows that the Shor mitochondrial gene pool is characterized by a high frequency (65.9 %) of mtDNA haplogroups found solely in the Altai–Sayan region: A-a1c1a, B4b1a3a1a, C4a1a4a1a, C4e, C5c*, D4b1a2a1a, D4m2a2, D5c1a2b, F1b1-b1, F1b1-b2, F2b1b1, and H8b1a. According to

molecular dating results, the evolutionary age of these mtDNA haplogroups varies from 0.9 to 5.0 thousand years. All of the mtDNA haplogroups listed are of East Asian origin, except for the West Eurasian H8b1a. The isolated evolution of mitochondrial haplogroups specific to the peoples of the Altai–Sayan region is assumed to have been facilitated by their isolation from East Asian neighbors. This isolation occurred during the Bronze Age, when the Afanasyevo culture formed as a result of the mixing of indigenous populations and migrants – representatives of the Yamnaya culture, which existed in the Urals and Volga regions. In the absence of a significant influx of additional East Asian mtDNA haplotypes to the populations of the Altai–Sayan region over several thousand years, it appears that existing genetic lineages of East Asian origin diversified.

Key words: mitochondrial genome; phylogeographic analysis; human populations; Siberia; Shors

For citation: Malyarchuk B.A., Denisova G.A., Litvinov A.N., Pokhilyuk N.V. Phylogeographic analysis of mitochondrial genome polymorphism in the Shors. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov J Genet Breed.* 2026;30(5):747–754. doi 10.18699/vjgb-26-75

Введение

Исследования полиморфизма митохондриальной ДНК (мтДНК) показали, что в генофондах большинства этнических групп западной части Сибири прослеживается существенный вклад западноевразийских линий мтДНК. Доля этого компонента максимальна (от 20 до 40 %) в современных популяциях Алтае–Саянского региона: у хакасов, шорцев, телеутов, алтай-кижи, теленгитов, алтайских казахов (Derenko et al., 2003; Деренко, Мальярчук, 2010; Gubina et al., 2013). В палеогеномных исследованиях установлено, что неолитическое население Алтая и соседних территорий характеризовалось преимущественно восточноазиатскими линиями мтДНК, хотя уже примерно 7.5 тыс. лет назад в регионе присутствовали и некоторые западноевразийские митохондриальные линии, например U2e1 (Wang K. et al., 2023; Gill et al., 2025). Приток восточноевропейского населения в эпоху бронзы, 5–4 тыс. лет назад, на юго-запад Сибири и далее в монгольские степи существенно увеличил долю европейского компонента в генофондах древнего населения (Allentoft et al., 2015). Однако позже, примерно 2 тыс. лет назад, начиная со времени экспансии хунну, в генофондах народов Центральной Азии и Алтае–Саянского региона значительно повышается доля восточноазиатских гаплотипов мтДНК (Damgaard et al., 2018; Jeong et al., 2020).

Шорцы – коренной народ, населяющий Горную Шорию на юге Кемеровской области. Шорцы говорят на языке, относящемся к уйгурской группе тюркских языков, и по этнографическим данным они родственны другим этническим группам северных алтайцев: челканцам, кумандинцам, тубаларам. Между тем в антропологическом отношении шорцы, наряду с кумандинцами, проявляют сходство с некоторыми угорскими и самодийскими народами – хантами, манси, селькупам, характеризующимися уральским антропологическим типом (Моисеев, 1999). По всей видимости, шорцы представляют собой тюркизированных потомков угорского, самодийского и кетоязычного населения северно-таежной части Алтае–Саянского нагорья (Народы Сибири, 1956). По данным переписи населения Российской Федерации 2021 г., численность шорцев составила 10.5 тыс. человек.

По результатам анализа полиморфизма гипервариабельного участка митохондриального генома (ГВС1), шорцы, населяющие отроги Алтая и Саян, группируются с другими этническими группами этого региона: хакасами,

телеутами, алтай-кижи, тувинцами, тоджинцами, тофаларами (Деренко, Мальярчук, 2010; Gubina et al., 2022). В то же время результаты филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей ГВС1 показывают некоторую удаленность шорцев от основного массива популяций Алтае–Саянского региона, что может объясняться их иным антропологическим составом и предполагаемым родством с угорскими и самодийскими народами (Деренко, Мальярчук, 2010). В пользу этой гипотезы свидетельствует присутствие в митохондриальном генофонде шорцев некоторых митохондриальных линий, J1b1 и U4b1, характерных для коренного населения Западной Сибири и Волго–Уральского региона (Деренко, Мальярчук, 2010).

Интересная особенность митохондриального генофонда шорцев, а также родственных им хакасов состоит в высокой встречаемости гаплотипов мтДНК, относящихся к восточноазиатской гаплогруппе F (от 15 до 40 %), хотя в других сибирских этнических группах ее частота заметно ниже (Derbeneva et al., 2002; Derenko et al., 2007; Gubina et al., 2013). Наиболее высокое разнообразие митохондриальных линий гаплогруппы F наблюдается в популяциях Юго–Восточной Азии (Hill et al., 2007).

В генофондах шорцев и хакасов преобладают F1b-линии мтДНК, происхождение которых связывают с Южным Китаем (Hill et al., 2007). Установлено также, что один из F1b-гаплотипов (с ГВС1-мотивом 16189–16232CA–16249–16304–16311) широко распространен как среди шорцев (до 37 %), так и среди хакасов (до 26 %) (Derenko et al., 2007; Gubina et al., 2013). Возможно, это связано с «эффектом основателя» при формировании этих популяций (Деренко, Мальярчук, 2010). Так как анализ полиморфизма ГВС1 мтДНК имеет невысокую разрешающую способность, целесообразно использовать более информативный метод – анализ изменчивости нуклеотидных последовательностей целых митохондриальных геномов. Это позволит прояснить вопрос о том, насколько идентичны F1b-последовательности ГВС1 мтДНК, обнаруженные ранее у шорцев. Кроме того, анализ полиморфизма целых митохондриальных геномов у шорцев на популяционном уровне даст возможность получить наиболее полные представления об уровне разнообразия их генофонда, а также позволит проследить филогенетические связи между гаплотипами мтДНК с помощью филогеографического анализа. Изучение этих вопросов – цель настоящей работы.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили образцы цельной крови в выборке шорцев ($N = 33$), сформированной из числа жителей Таштагольского района Кемеровской области. Исследование одобрено Региональным этическим комитетом медико-биологических исследований при Президиуме СВНЦ ДВО РАН, Магадан (протокол № 001/011 от 21.01.2011).

Для определения нуклеотидных последовательностей целых митохондриальных геномов применяли метод секвенирования ДНК по Сэнгеру с помощью генетического анализатора ABI 3500xL (Applied Biosystems), как описано нами ранее (Деренко, Малярчук, 2010). Продукты амплификации секвенировали с помощью набора для циклического секвенирования ДНК BrilliantDye™ Terminator Cycle Sequencing kit v3.1 (Нидерланды). Для выравнивания и сборки митогеномов использовали пакет программ SeqScape 2.7 (Applied Biosystems). Нуклеотидные последовательности митохондриальных геномов шорцев депонированы в GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) под № PX641521–PX641539. В анализе использованы также секвенированные ранее 11 митохондриальных геномов шорцев из Таштагольского района Кемеровской области (табл. S1)¹.

Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей митохондриальных геномов и оценку эволюционного возраста монофилетических кластеров мтДНК проводили с помощью пакета компьютерных программ mtPhyl v4.015 (<https://isogg.org/wiki/MtPhyl>), как описано нами ранее (Малярчук и др., 2025). Для определения гаплогрупп мтДНК использовали филогенетические классификации, предложенные ресурсами PhyloTree (www.phylotree.org) и YFull MTree (<https://www.yfull.com/mtree/>).

Для проведения филогеографического анализа мтДНК использовали данные об изменчивости целых митогеномов у представителей различных популяций человека согласно данным GenBank, Logan DNA Project (<http://www.ianlogan.co.uk>), YFull MTree. На момент написания статьи (ноябрь 2025 г.) в GenBank содержалось более 62 500 митохондриальных геномов от представителей различных этнических групп мира (<https://www.mitomap.org/foswiki/bin/view/MITOMAP/GBFreqInfo>). Этническая принадлежность исследованных образцов установлена на основании сведений, представленных в базах данных.

Сравнительный анализ изменчивости мтДНК на межэтническом уровне основан на использовании 2923 митохондриальных геномов представителей различных популяций Восточной Азии: китайцев (хани) и японцев (Zheng et al., 2011), эвенков, якутов, эвенов (Якутия), нивхов, удэгейцев и юкагигов (Duggan et al., 2013), коряков и эвенов Магаданской области, а также чукчей (Derenko et al., 2023), бурят (Derenko et al., 2018), монголов, баргутов и хамниган (Derenko et al., 2022), уйгуров (Zheng et al., 2017), таджиков и киргизов (Peng et al., 2018), дауров (Wang C.-Z. et al., 2022). Для расчета параметров генетического разнообразия в популяциях применяли пакет DnaSP 5.10.01

(Librado, Rozas, 2009). Анализ молекулярной изменчивости (AMOVA, *Fst*-анализ), основанный на попарных нуклеотидных различиях между митогеномами, проводили с помощью пакета программ Arlequin 3.5.1.2 (Excoffier, Lischer, 2010). Для исследования расположения популяций в двухмерном пространстве использовали метод многомерного шкалирования межпопуляционных *Fst*-различий (пакет программ STATISTICA10 package, StatSoft Inc.). Межпопуляционные генетические дистанции D_A и D_{XY} рассчитывали с использованием формулы

$$D_A = D_{XY} - (D_X + D_Y)/2,$$

где D_{XY} – среднее число нуклеотидных различий между популяциями X и Y , а D_X и D_Y – среднее число нуклеотидных различий внутри популяций X и Y соответственно (Nei, 1987).

Результаты и обсуждение

Разнообразие митохондриального генофонда шорцев и генетическая дифференциация популяций Восточной Азии

Изучение полиморфизма нуклеотидных последовательностей митохондриальных геномов шорцев (33 новых и 11 ранее опубликованных) в сравнении с другими этническими группами Сибири, Центральной и Восточной Азии показало, что митохондриальные гаплотипы относятся к 23 гаплогруппам (табл. 1, см. табл. S1).

В сравнении с другими популяциями Восточной Азии исследованная выборка шорцев характеризуется относительно низким показателем гаплотипического разнообразия $H = 0.979$, что сопоставимо с данными для популяций Северо-Восточной Сибири – чукчей, коряков, юкагигов, нивхов (Derenko et al., 2023). Это связано, по всей видимости, с высокой распространенностью у шорцев одинаковых гаплотипов, относящихся, в основном, к гаплогруппе F1b1 (см. табл. 1). Вместе с тем нуклеотидное разнообразие у шорцев находится на уровне максимальных значений $\pi = 0.00236$, среднее число попарных нуклеотидных различий $k = 39.01$. Проведенные ранее исследования показали, что близкие значения нуклеотидного разнообразия обнаружены у дауров, киргизов, хамниган (Derenko et al., 2023).

Анализ генетических различий, основанных на числе нуклеотидных замен на сайт между популяциями (D_{XY} и D_A), показал, что минимальные отличия от шорцев наблюдаются для ханей, уйгуров, монголов и киргизов (табл. 2). Анализ *Fst*-различий также продемонстрировал минимальные отличия шорцев от монголов, ханей, киргизов и уйгуров (*Fst*-различия на уровне 5.5–6.0 %), в то время как *Fst*-различия шорцев от палеоазиатских популяций: чукчей, коряков, нивхов – составляют более 20 % (табл. S2).

Результаты анализа межпопуляционных *Fst*-различий, проведенного с помощью метода многомерного шкалирования, показали, что в двухмерном генетическом пространстве шорцы находятся между компактно расположенными этническими группами Восточной Азии и рассеянными по графику другими (преимущественно восточносибирскими) популяциями (рис. 1). Среди последних

¹ Табл. S1 и S2 и рис. S1 Приложения доступны по адресу: <https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2026-30/appx40.xlsx>

Таблица 1. Гаплогруппы мтДНК шорцев, их эволюционный возраст и географическое распространение

Гаплогруппа мтДНК	<i>n</i>	Возраст, тыс. лет	Распространение на Алтае	Распространение в других регионах
A-a1c1a	1	1.29	Шорцы, кумандинцы, тубалары	Отсутствует
B4b1a3a1a	1	–	Шорцы, кумандинцы, челканцы	
C4a1a4a1a	1	1.72	Шорцы, телеуты	
C4a2a1	4	–	Шорцы	Якуты, эвенки
C4e	2	1.72	Шорцы, телеуты	Отсутствует
C5c*	1	4.98	Шорцы, телеуты, кумандинцы, челканцы, тубалары	
D4b1a2a1a	1	3.24	Шорцы, кумандинцы, челканцы, тубалары	
D4j7	1	4.16	Шорцы, телеуты, кумандинцы, тубалары	Буряты, баргуты
D4m2a2	1	0.86	Шорцы, челканцы, тубалары	Отсутствует
D5c1a2b	2	2.06	Шорцы, кумандинцы, челканцы, тубалары	
F1b1-b1	6	0.86	Шорцы, челканцы	
F1b1-b2	9	0.86	Шорцы	
F2b1b1	1	0.86	Шорцы, челканцы, тубалары, алтайцы	
G3a1'2	1	19.01	Шорцы	Восточная Азия
M10a1-a1	2	4.6		Монголы, дауры
Z4a	1	–		Восточная Азия
H1b2c	1	–		Европа (русские, поляки)
H6a1b	1	–		Европа, Западная Азия
H8b1a	3	4.22	Шорцы, тубалары, телеуты, алтайцы	Отсутствует
J1b1a1	1	–	Шорцы	Западная Евразия
K1-a4	1	–		
U4b1b1-a	1	3.54	Шорцы, кумандинцы, телеуты, алтайцы	Западная Евразия (татары, манси, персы)
U5b2b4c	1	1.29	Шорцы	Тувинцы

Примечание. *n* – количество образцов, относящихся к гаплогруппе. Прочерком (–) отмечены случаи, когда для определения эволюционного возраста недостаточно данных.

Таблица 2. Межпопуляционные генетические дистанции (D_{XY} и D_A , число замен на сайт между популяциями) между шорцами и другими этническими группами Восточной Азии

Этническая группа	D_{XY}	D_A	Этническая группа	D_{XY}	D_A
Китайцы (хани)	0.0022	0.00012	Таджики	0.00247	0.00024
Уйгуры	0.00228	0.00013	Удэгейцы	0.00223	0.00028
Монголы	0.00236	0.00013	Эвенки	0.00239	0.00035
Киргизы	0.00243	0.00013	Эвены	0.0024	0.00039
Дауры	0.00245	0.00016	Коряки	0.00241	0.00047
Японцы	0.00218	0.00017	Нивхи	0.00225	0.00048
Хамнигане	0.00244	0.00018	Юкагиры	0.00244	0.00051
Буряты	0.00238	0.00019	Чукчи	0.00245	0.00074
Баргуты	0.00244	0.00021			

Примечание. Значения дистанций ранжированы по D_A .

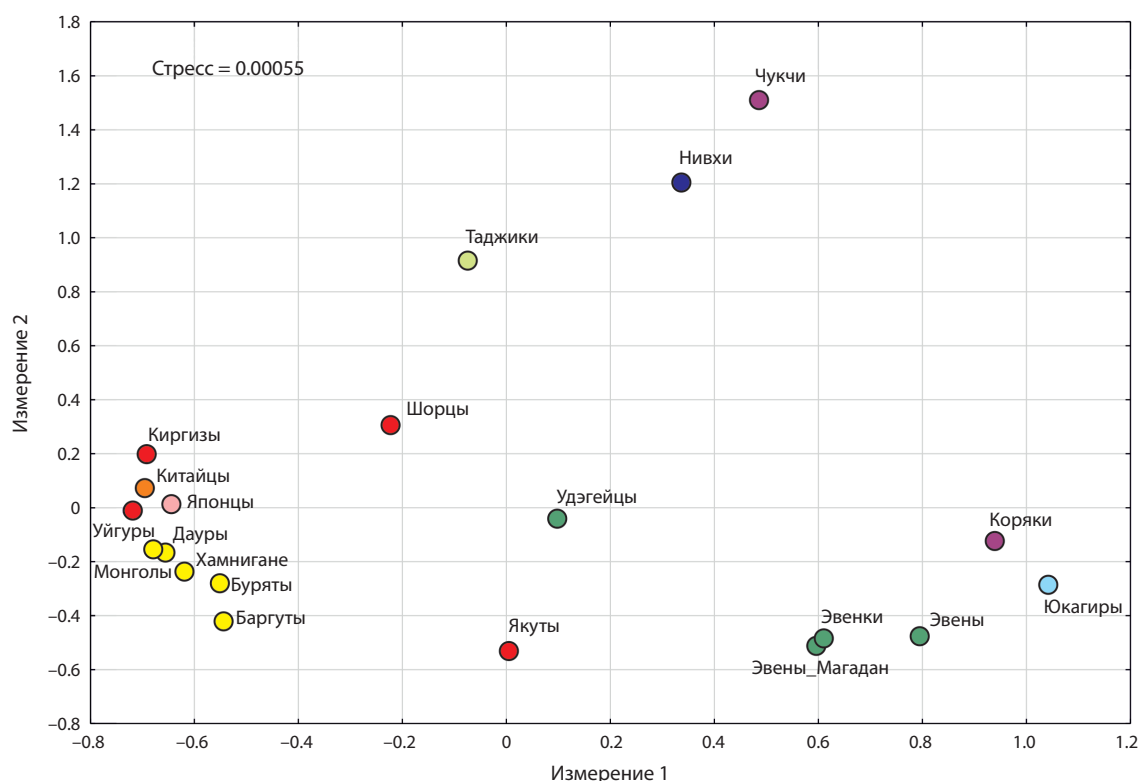


Рис. 1. Результаты многомерного шкалирования межпопуляционных *Fst*-значений, основанных на попарных нуклеотидных различиях между целыми митохондриальными геномами у населения Сибири, Восточной и Центральной Азии. Цветами отмечена языковая принадлежность популяций: тюркская группа алтайской семьи – красным, монгольская группа алтайской семьи – желтым, тунгусская группа алтайской семьи – зеленым, чукотско-камчатская семья – фиолетовым, китайско-тибетская семья – оранжевым, японский язык – бледно-розовым, индо-иранская группа индоевропейской семьи (таджики) – светло-желтым, языковые изоляты (нивхи, юкагиры) – другими цветами.

тенденция к кластеризации наблюдается только для эвенов, эвенков, коряков и юкагиров. К сожалению, среди исследованных популяций отсутствуют самодийские и угорские группы, что связано с дефицитом популяционных данных об изменчивости целых митохондриальных геномов для многих этнических групп Сибири и Восточной Европы. Поэтому более детальное исследование вопросов о происхождении шорцев, например на основе смешения самодийских и угорских племен с тюркоязычными группами, еще предстоит осуществить после расширения баз данных об изменчивости мтДНК у коренного населения Сибири и соседних регионов.

Разнообразие F1b1-гаплотипов у шорцев

Проведенные ранее исследования показали, что 30 из 82 обследованных шорцев (36.6 % выборки) характеризовались ГВС1-гаплотипом 16189-16232CA-16249-16304-16311, относящимся к гаплогруппе F1b1 (Derenko et al., 2007). В настоящей работе нами секвенированы целые митохондриальные геномы у 15 шорцев – носителей указанного выше гаплотипа. В результате исследование продемонстрировало, что исследуемый ГВС1-гаплотип относится к двум гаплогруппам: F1b1-b1, которая, по данным ресурса YFull MTree, уже зарегистрирована у челканцев и хакасов, и F1b1-b2 – новой гаплогруппе, которая выяв-

лена нами только у шорцев (рис. 2). Эволюционный возраст обеих гаплогрупп составляет 0.86 тыс. лет, хотя если оценивать возраст без учета идентичных образцов, т.е. только по гаплотипам, то возраст увеличивается до 1.72 (0–4.13) тыс. лет в обоих случаях.

Вместе с тем эволюционный возраст гаплогруппы F1b1-b составляет примерно 7.7 тыс. лет, и в ее составе находятся митохондриальные линии, обнаруженные у японцев и китайцев (см. рис. 2). Это свидетельствует о том, что F1b1-b-линии мтДНК могли быть привнесены в генофонды алтайских народов из Восточной Азии достаточно давно. В то же время высокая распространенность малого числа F1b1-b-гаплотипов мтДНК в популяции шорцев может быть обусловлена «эффектом основателя», имевшего место в их демографической истории.

Высокая популяционная специфичность алтайских вариантов мтДНК

Результаты филогеографического анализа показывают, что митохондриальный генофонд исследованной выборки шорцев представлен преимущественно восточноазиатскими гаплотипами (79.5 %) (см. табл. 1). Западноевразийские митохондриальные линии, выявленные у шорцев, представлены или единичными гаплотипами (H1b2c, H6a1b, J1b1a1, K1-a4), или же подгруппами (U4b1b1-a и U5b2b4c)

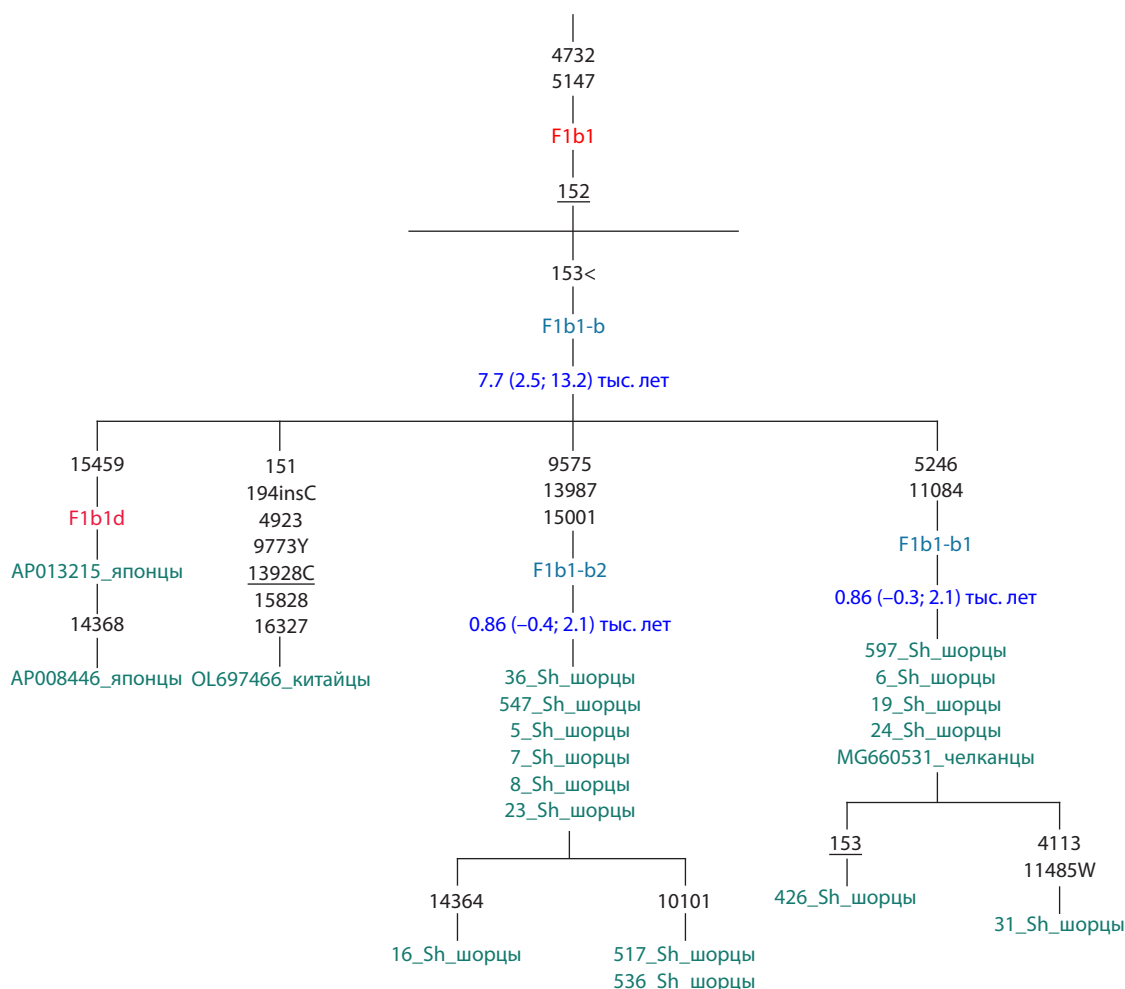


Рис. 2. Филогенетическое дерево мтДНК гаплогруппы F1b1-b. На ветвях показаны нуклеотидные позиции, в которых произошли транзиции; для трансверсий и случаев гетероплазмии указаны нуклеотиды; ins означает инсерцию нуклеотида. Нуклеотидные позиции, в которых зарегистрированы обратные мутации, подчеркнуты, повторяющиеся мутации отмечены знаком «<». Указаны номера образцов в GenBank и этническая принадлежность.

относительно небольшого эволюционного возраста (до 3.5 тыс. лет). Однако среди гаплотипов мтДНК западно-евразийского происхождения также имеются некоторые подгруппы, которые достаточно долго эволюционировали в генофондах сибирских народов (см. табл. 1 и табл. S1). Это гаплогруппа U4b1b1-a, распространенная, в основном, на Алтае, но и отмеченная также в популяциях Поволжья и Ирана; все остальные U4b1b1-подгруппы выявлены у населения Европы. Гаплогруппа U5b2b4 также, главным образом, распространена в европейских популяциях, но ее подгруппа U5b2b4c отмечена у шорцев и тувинцев. Очень интересна гаплогруппа H8b, распространение которой связано с Западной Евразией (подгруппы H8b2 и H8b3), однако подгруппа H8b1 самая разветвленная: она зарегистрирована в различных популяциях Сибири и Центральной Азии. Ее эволюционный возраст составляет 8.0–9.5 тыс. лет (рис. S1) (Derenko et al., 2014), что свидетельствует о давнем присутствии гаплогруппы H8b1 на востоке Северной Евразии. В ее составе находится также подгруппа H8b1a, зарегистрированная преимущественно на Алтае.

Особенность митохондриального генофонда шорцев состоит в высокой частоте (65.9 %) гаплогрупп мтДНК, которые распространены исключительно на Алтае: A-a1c1a, B4b1a3a1a, C4a1a4a1a, C4e, C5c*, D4b1a2a1a, D4m2a2, D5c1a2b, F1b1-b1, F1b1-b2, F2b1b1, H8b1a. Их эволюционный возраст, согласно результатам молекулярного датирования, варьирует от 0.86 до 4.98 тыс. лет (см. табл. 1 и рис. S1). Все указанные выше гаплогруппы мтДНК восточноазиатские по происхождению, за исключением H8b1a.

Закключение

Данные археологии и антропологии, а также палеогеномики показали, что формирование афанасьевской археологической культуры Алтая и степей Минусинской котловины в эпоху бронзового века, примерно 5 тыс. лет назад, связано с миграциями населения ямной культуры с территории Волго-Уральского региона – носителей протоевропейского антропологического типа и генетических линий западноевразийского происхождения (Allentoft et al., 2015; Jeong et al., 2020). Это объясняет появление в популяциях Алтае-Саянского региона целого набора западноевразий-

ских гаплотипов мтДНК. Однако особый интерес вызывает тот факт, что специфичный для алтайских народов компонент митохондриального генофонда шорцев представлен, главным образом, восточноазиатскими группами митохондриальных линий и их эволюционный возраст (примерно до 5 тыс. лет) укладывается во временной период изоляции от генофондов восточноазиатских соседей, вызванной формированием смешанного афанасьевского населения. По всей видимости, в условиях отсутствия интенсивного притока дополнительных восточноазиатских гаплотипов (в течение нескольких тысяч лет) в популяциях Алтае-Саянского региона началась диверсификация уже имевшихся генетических линий восточноазиатского происхождения. Обособленному развитию митохондриальных гаплогрупп могли способствовать и природные особенности этого региона, поскольку горный рельеф Алтае-Саян мог играть разные роли – как рефугиума для сохранения «реликтовых» форм генофонда, так и регулятора направления и интенсивности миграций людей (Балановская и др., 2014).

Таким образом, исследование изменчивости нуклеотидных последовательностей полноразмерных молекул мтДНК показало, что митохондриальный генофонд шорцев характеризуется высокой частотой генетического компонента (65.9 %), специфичного для этнических групп, населяющих Алтай: кумандинцев, челканцев, тубаларов, телеутов. Этот компонент представлен преимущественно митохондриальными линиями восточноазиатского происхождения, диверсификация которых произошла в условиях формирования смешанного населения на основе популяций коренных жителей Алтая и мигрантов – представителей ямной культурно-исторической общности, существовавшей в Приуралье и Поволжье.

Список литературы / References

- Балановская Е.В., Балаганская О.А., Дамба Л.Д., Дибирова Х.Д., Агджоян А.Т., Богунов Ю.В., Жабегин М.К., Исакова Ж.Т., Лавряшина М.Б., Балановский О.П. Влияние природной среды на формирование генофонда тюркоязычного населения гор и степных предгорий Алтае-Саян, Тянь-Шаня и Памира. Вестник Московского университета. Серия XXIII. Антропология. 2014; 2:46-55
- [Balanovska E.V., Balaganskaya O.A., Damba L.D., Dibirova Kh.D., Agdzhoian A.T., Bogunov Yu.V., Zhabagin M.K., Isakova J.T., Lavryashina M.B., Balanovsky O.P. Impact of the environment on the gene pool of Turkic-speaking populations of mountains and steppes in Altay, Sayan, Tien Shan and Pamir. *Lomonosov J Anthropol.* 2014;2:46-55 (in Russian)]
- Деренко М.В., Мальярчук Б.А. Молекулярная филогеография населения Северной Евразии по данным об изменчивости митохондриальной ДНК. Магадан: СВНЦ ДВО РАН, 2010
- [Derenko M.V., Malyarchuk B.A. Molecular phylogeography of populations of Northern Eurasia based on mitochondrial DNA variability data. Magadan, 2010 (in Russian)]
- Мальярчук Б.А., Денисова Г.А., Литвинов А.Н. Полиморфизм митохондриальных геномов у восточнославянского населения Северо-Востока Сибири. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2025;29(5):704-710. doi 10.18699/vjgb-25-77
- [Malyarchuk B.A., Denisova G.A., Litvinov A.N. Mitochondrial genome polymorphism in the East Slavic population of Northeastern Siberia. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii* = *Vavilov J Genet Breed.* 2025;29(5):704-710. doi 10.18699/vjgb-25-77]
- Моисеев В.Г. Происхождение уралоязычных народов по данным краниологии. СПб.: Наука, 1999
- [Moiseyev V.G. Origin of Uralic-speaking peoples based on cranio-logical data. St. Petersburg: Nauka Publ., 1999 (in Russian)]
- Народы Сибири. Ред. М.Г. Левин, Л.П. Потанов. М.; Л.: АН СССР, 1956
- [Peoples of Siberia. Eds. M.G. Levin, L.P. Potapov. Moscow; Leningrad: AN SSSR Publ., 1956 (in Russian)]
- Allentoft M.E., Sikora M., Sjögren K.G., Rasmussen S., Rasmussen M., Stenderup J., Damgaard P.B., ... Sicheritz-Pontén T., Brunak S., Nielsen R., Kristiansen K., Willerslev E. Population genomics of Bronze Age Eurasia. *Nature.* 2015;522(7555):167-172. doi 10.1038/nature14507
- Damgaard P.B., Marchi N., Rasmussen S., Peyrot M., Renaud G., Korneliussen T., Moreno-Mayar J.V., ... Nielsen R., Sikora M., Heyer E., Kristiansen K., Willerslev E. 137 ancient human genomes from across the Eurasian steppes. *Nature.* 2018;557(7705):369-374. doi 10.1038/s41586-018-0094-2
- Derbeneva O.A., Starikovskaya E.B., Volodko N.V., Wallace D.C., Sukernik R.I. Mitochondrial DNA variation in the Kets and Nganasans and its implications for the initial peopling of Northern Eurasia. *Russ J Genet.* 2002;38:1316-1321. doi 10.1023/A:1021111530654
- Derenko M.V., Grzybowski T., Malyarchuk B.A., Dambueva I.K., Denisova G.A., Czarny J., Dorzhu Ch.M., Kakpakov V.T., Miścicka-Sliwka D., Woźniak M., Zakharov I.A. Diversity of mitochondrial DNA lineages in South Siberia. *Ann Hum Genet.* 2003;67(Pt. 5): 391-411. doi 10.1046/j.1469-1809.2003.00035.x
- Derenko M., Malyarchuk B., Grzybowski T., Denisova G.A., Dambueva I., Perkova M., Dorzhu C., Luzina F., Lee H.K., Vanecsek T., Villems R., Zakharov I. Phylogeographic analysis of mitochondrial DNA in North Asian populations. *Am J Hum Genet.* 2007;81:1025-1041. doi 10.1086/522933
- Derenko M., Malyarchuk B., Denisova G., Perkova M., Litvinov A., Grzybowski T., Dambueva I., Skonieczna K., Rogalla U., Tsybovsky I., Zakharov I. Western Eurasian ancestry in modern Siberians based on mitogenomic data. *BMC Evol Biol.* 2014;14:217. doi 10.1186/s12862-014-0217-9
- Derenko M., Denisova G., Malyarchuk B., Dambueva I., Bazarov B. Mitogenomic diversity and differentiation of the Buryats. *J Hum Genet.* 2018;63(1):71-81. doi 10.1038/s10038-017-0370-2
- Derenko M., Denisova G., Dambueva I., Malyarchuk B., Bazarov B. Mitogenomics of modern Mongolic-speaking populations. *Mol Genet Genomics.* 2022;297(1):47-62. doi 10.1007/s00438-021-01830-w
- Derenko M., Denisova G., Litvinov A., Dambueva I., Malyarchuk B. Mitogenomics of the Koryaks and Evens of the northern coast of the Sea of Okhotsk. *J Hum Genet.* 2023;68(10):705-712. doi 10.1038/s10038-023-01173-x
- Duggan A.T., Whitten M., Wiebe V., Crawford M., Butthof A., Spietsyn V., Makarov S., Novgorodov I., Osakovsky V., Pakendorf B. Investigating the prehistory of Tungusic peoples of Siberia and the Amur-Ussuri region with complete mtDNA genome sequences and Y-chromosomal markers. *PLoS One.* 2013;8(12):e83570. doi 10.1371/journal.pone.0083570
- Excoffier L., Lischer H.E. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Resour.* 2010;10(3):564-567. doi 10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x
- Gill H., Seiduly M., Lee J., Lee J., Moon H., Walter A., Bianco R.A., ... Hermes T., Zhabagin M., Doumani Dupuy P., Warinner C., Jeong C. Ancient genomes from eastern Kazakhstan reveal dynamic genetic legacy of Inner Eurasian hunter-gatherers. *Sci Adv.* 2025;11(42):eadw8219. doi 10.1126/sciadv.adw8219
- Gubina M.A., Damba L.D., Babenko V.N., Romaschenko A.G., Voevoda M.I. Haplotype diversity in mtDNA and Y-chromosome in populations of Altai-Sayan region. *Russ J Genet.* 2013;49:329-343. doi 10.1134/S1022795412120034

- Gubina M.A., Babenko V.N., Batsevich V.A., Leibova N.A., Zabiya-ko A.P. Polymorphism of mitochondrial DNA and six nuclear genes in the Amur Evenk population. *Russ J Genet.* 2022;58:42-56. doi 10.1134/S1022795422010033
- Hill C., Soares P., Mormina M., Macaulay V., Clarke D., Blumbach P.B., Vizuete-Forster M., Forster P., Bulbeck D., Oppenheimer S., Richards M. A mitochondrial stratigraphy for island southeast Asia. *Am J Hum Genet.* 2007;80(1):29-43. doi 10.1086/510412
- Jeong C., Wang K., Wilkin S., Taylor W.T.T., Miller B.K., Bemmann J.H., Stahl R., ... Krause J., Boivin N., Erdene M., Hendy J., Warinner C. A Dynamic 6,000-year genetic history of Eurasia's Eastern steppe. *Cell.* 2020;183(4):890-904.e29. doi 10.1016/j.cell.2020.10.015
- Librado P., Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics.* 2009;25(11):1451-1452. doi 10.1093/bioinformatics/btp187
- Nei M. Molecular evolutionary genetics. NY: Columbia University Press, 1987
- Peng M.S., Xu W., Song J.J., Chen X., Sulaiman X., Cai L., Liu H.Q., ... Yang X.Y., Rakha A., Yao Y.G., Upur H., Zhang Y.P. Mitochondrial genomes uncover the maternal history of the Pamir populations. *Eur J Hum Genet.* 2018;26(1):124-136. doi 10.1038/s41431-017-0028-8
- Wang C.-Z., Yu X.-E., Shi M.-S., Li H., Ma S.-H. Whole mitochondrial genome analysis of the Daur ethnic minority from Hulunbuir in the Inner Mongolia Autonomous Region of China. *BMC Ecol Evol.* 2022;22:66. doi 10.1186/s12862-022-02019-4
- Wang K., Yu H., Radzevičiūtė R., Kiryushin Y.F., Tishkin A.A., Frolov Y.V., Stepanova N.F., ... Buzhilova A., Slon V., Jeong C., Krause J., Posth C. Middle Holocene Siberian genomes reveal highly connected gene pools throughout North Asia. *Curr Biol.* 2023;33(3):423-433.e5. doi 10.1016/j.cub.2022.11.062
- Zheng H.X., Yan S., Qin Z.D., Wang Y., Tan J.Z., Li H., Jin L. Major population expansion of East Asians began before Neolithic time: evidence of mtDNA genomes. *PLoS One.* 2011;6(10):e25835. doi 10.1371/journal.pone.0025835
- Zheng H.X., Li L., Jiang X.Y., Yan S., Qin Z., Wang X., Jin L. MtDNA genomes reveal a relaxation of selective constraints in low-BMI individuals in a Uyghur population. *Hum Genet.* 2017;136(10):1353-1362. doi 10.1007/s00439-017-1829-0

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 28.11.2025. После доработки 21.03.2026. Принята к публикации 06.04.2026.

doi 10.18699/vjgb-26-76

Оценка генетических показателей, влияющих на надежность и эффективность реконструкции родословной в популяциях лесных и тундровых ненцев, при использовании X-STR маркеров

К.В. Вагайцева , Н.А. Колесников , О.М. Буренкова , И.А. Волкова , О.Д. Рузавина ,
В.Н. Харьков , В.А. Степанов 

Научно-исследовательский институт медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра
Российской академии наук, Томск, Россия

 kseniya.simonova@medgenetics.ru

Аннотация. X-хромосомные STR-маркеры (X-STR) являются информативным инструментом для реконструкции родственных связей, особенно в случаях, когда стандартные аутомсомные панели недостаточно эффективны: при реконструкции родственных отношений между полнородными сестрами, сводными по отцу сестрами, бабушкой по отцовской линии и внучкой, тетей по материнской линии и племянницей. Однако использование X-STR маркеров в ДНК-идентификации требует учета структуры неравновесия по сцеплению и использования частот гаплотипов при расчете отношения правдоподобия (likelihood ratio, LR). В настоящей работе проведена оценка генетической структуры популяций лесных и тундровых ненцев по 16 X-STR маркерам, необходимая для получения референсных значений. Исследована выборка из 504 мужчин ненцев, подразделенная на субэтнические группы (лесные и тундровые ненцы), фратрии тундровых ненцев (Харючи и Вануйто), а также географические локальные группы (индивиды, проживающие в Антипаютинской, Гыданской и Находкинской тундрах). Статистически значимые различия между выборками не обнаружены, попарные значения F_{st} (exact test) не превысили 0.01. Показан средний уровень генетического разнообразия, характерный для популяций коренных народов Сибири. Наиболее полиморфными в популяции ненцев оказались локусы DXS8377 ($H_e = 0.910$) и DXS10079 ($H_e = 0.839$). Тринадцать из 16 маркеров были высокоинформативными ($PI_C > 0.5$). Суммарная исключаяющая способность (CPE) составила 0.99996, что указывает на высокую информативность набора при реконструкции родственных отношений. При попарном анализе структуры неравновесия по сцеплению (LD) статистически значимые отклонения выявлены для 46 из 120 пар маркеров, однако коэффициент r^2 для всех пар аллелей не превысил 0.09, что свидетельствует о слабой силе корреляции между аллелями. В статье приведены референсные значения частот аллелей и генотипов, рекомендуемые для использования в оценке отношения правдоподобия при реконструкции родственных связей. Полученные параметры позволяют повысить надежность и эффективность генетической экспертизы на территории Российской Федерации.

Ключевые слова: ненцы; X-STR; ДНК-идентификация; реконструкция родственных связей; структура неравновесия по сцеплению

Для цитирования: Вагайцева К.В., Колесников Н.А., Буренкова О.М., Волкова И.А., Рузавина О.Д., Харьков В.Н., Степанов В.А. Оценка генетических показателей, влияющих на надежность и эффективность реконструкции родословной в популяциях лесных и тундровых ненцев, при использовании X-STR маркеров. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2026;30(5):755-760. doi 10.18699/vjgb-26-76

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (<https://rscf.ru/project/23-74-10058/>).

Evaluation of genetic parameters affecting the reliability and effectiveness of kinship reconstruction in Forest and Tundra Nenets populations using X-STR markers

K.V. Vagaytseva , N.A. Kolesnikov , O.M. Burenkova , I.A. Volkova , O.D. Ruzavina ,
V.N. Kharkov , V.A. Stepanov 

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

 kseniya.simonova@medgenetics.ru

Abstract. X-chromosomal STR markers (X-STR) are informative tools for kinship reconstruction, particularly in cases where standard autosomal panels have limited discriminatory power: when reconstructing kinship between full sisters, paternal half-sisters, paternal grandmother and granddaughter, maternal aunt and niece. However, the use of X-STR markers in forensic genetics requires consideration of linkage disequilibrium structure and the use of haplotype

frequencies in calculating the likelihood ratio (LR). In this work, the genetic structure of Forest and Tundra Nenets populations was assessed using 16 X-STR markers in order to obtain reference values. A sample of 504 Nenets males was analyzed, divided into subethnic groups (Forest and Tundra Nenets), phratries of Tundra Nenets (Haryuchi and Vanuito), as well as geographical local groups (individuals living in the Antipayutinskaya, Gydan and Nakhodka tundras). No statistically significant differences were found between the samples, and the pairwise F_{st} values (exact test) did not exceed 0.01. The Nenets population demonstrated an intermediate level of genetic diversity typical of Indigenous Siberian populations. The loci DXS8377 ($H_e = 0.910$) and DXS10079 ($H_e = 0.839$) were found to be the most polymorphic in the Nenets population. Of the 16 markers, 13 were highly informative ($PIC > 0.5$). The combined power of exclusion (CPE) was 0.99996, which indicates that the panel is highly informative for reconstructing kinship relationships. Pairwise analysis of linkage disequilibrium (LD) revealed statistically significant deviations for 46 pairs of markers out of 120; however, the r^2 coefficient for all pairs of alleles did not exceed 0.09, which indicates a weak correlation between alleles. This study provides the reference data of allele and genotype frequencies recommended for use in assessing the likelihood ratio in the reconstruction of kinship relationships. The obtained reference data will contribute to improving the reliability and efficiency of forensic genetic analyses in the Russian Federation.

Key words: Nenets; X-STR; forensic genetic; kinship testing; linkage disequilibrium

For citation: Vagaytseva K.V., Kolesnikov N.A., Burenkova O.M., Volkova I.A., Ruzavina O.D., Kharkov V.N., Stepanov V.A. Evaluation of genetic parameters affecting the reliability and effectiveness of kinship reconstruction in Forest and Tundra Nenets populations using X-STR markers. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii* = *Vavilov J Genet Breed*. 2026;30(5):755-760. doi 10.18699/vjgb-26-76

Введение

Реконструкция родственных связей с помощью анализа генетических маркеров – ключевая задача ДНК-идентификации. Стандартный набор аутосомных STR-маркеров является высокоэффективным инструментом для реконструкции родства первой степени, когда для анализа доступны биологические образцы минимум трех индивидов, предположительно состоящих в родственных отношениях (например, мать, ребенок и предполагаемый отец, так называемое трио). При этом надежность данного подхода в более сложных случаях ниже из-за перекрытия диапазонов значений отношения правдоподобия (likelihood ratio, LR) для истинных родственников и неродственных индивидов (Ge, Budowle, 2020).

Для увеличения информативности в таком случае принято использовать дополнительные генетические маркеры STR, SNP, InDEL. Наиболее информативны для некоторых вариантов реконструкции родословных – маркеры, локализованные на X-хромосоме. Особенности наследования и гемизиготность у мужчин позволяют установить наличие родственных связей между предполагаемым отцом и дочерью, даже если биологический образец мужчины не доступен для анализа (в таком случае к экспертизе привлекается образец матери мужчины). Показано, что включение в анализ 12 X-STR маркеров приводит к росту эффективности экспертизы для следующих типов родственных пар: полнородные сестры, сводные сестры по отцу, бабушка со стороны отца–внучка, а также тетя по матери–племянница, тетя по матери–племянник. Для остальных категорий родства эффект от включения X-STR сопоставим с включением дополнительных аутосомных STR-маркеров, а в некоторых случаях (например, дядя по матери–племянник) уступает ему (Zhang et al., 2021a). При этом использование X-хромосомных маркеров в практике ДНК-идентификации приводит к некоторому усложнению статистических расчетов за счет сцепления локусов.

Согласно рекомендациям международного сообщества судебных генетиков (ISFG), при применении наборов,

включающих сцепленные маркеры, в ходе вероятностных оценок необходимо использовать частоты гаплотипов и учитывать структуру неравновесия по сцеплению (Tillmar et al., 2017). При этом оба этих показателя не являются универсальными, а варьируют в зависимости от генетико-демографической истории популяции. Поэтому перед внедрением любого набора X-STR маркеров в экспертную практику для конкретной популяции необходимо проведение популяционно-генетических исследований.

Цель этой работы – анализ генетической структуры популяции лесных и тундровых ненцев по 16 X-STR маркерам для формирования референсной базы, необходимой для увеличения эффективности реконструкции родственных отношений в практике ДНК-идентификации.

Проведение настоящего исследования одобрено Комитетом по биомедицинской этике Научно-исследовательского института медицинской генетики Томского НИМЦ (протокол номер 19 от 13.10.23).

Материалы и методы

Материалом исследования послужила выборка мужчин ненцев (760 образцов), принадлежащая биобанку биологических образцов «Биобанк населения Северной Евразии» Научно-исследовательского института медицинской генетики. Из данной выборки были исключены индивиды, являющиеся близкими родственниками (отец и сын, братья, дядя и племянник). Родство, популяционная принадлежность, место рождения и проживания были установлены на основе анкетирования. В результате фильтрации выборка сократилась до 504 образцов. В итоговой выборке можно выделить ряд подвыборок: лесные (46 образцов) и тундровые (458 образцов) ненцы; тундровые ненцы из фратрии Харючи (288 образцов); тундровые ненцы из фратрии Вануйто (158 образцов); ненцы, проживающие в Антипаютинской (107 образцов), Гыданской (56 образцов) и Находкинской (59 образцов) тундрах. Забор венозной крови у доноров проводили с соблюдением процедуры письменного информированного согласия на проведение исследования.

Генотипирование образцов по X-STR маркерам осуществляли методом мультиплексной полимеразной цепной реакции с последующим анализом продуктов на генетическом анализаторе «Нанофор 05» («Синтол», Россия). Структура праймеров и анализируемых маркеров представлена в публикации Y. Zhang с коллегами (2021b). Для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) реакции использовали реакционную смесь и активатор компании «Гордиз» (Россия). В состав ПЦР-смеси на один образец входило 2 мкл активатора, 2 мкл реакционной смеси, 1 мкл образца ДНК с концентрацией более 10 нг/мкл, 5 мкл деионизированной воды. Полимеразную цепную реакцию выполняли при следующих условиях: 95 °C 5 мин; 36 циклов: 95 °C 30 с, 60 °C 45 с, 72 °C 45 с. Заключительная элонгация: 72 °C 4 мин. Оценка флуоресцентных пиков проводили в программном обеспечении «GeneMarker». Соответствие размеров фрагментов аллелям устанавливали с помощью контрольных образцов 9947DNA (Applied Biosystems, США) и МК01 («Гордиз»). Экспериментальные исследования осуществлены на базе Центра коллективного пользования научно-исследовательским оборудованием «Медицинская геномика» (НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ).

Информационное содержание полиморфизма (PIC), ожидаемую гетерозиготность (He) и исключаящую способность (PE) рассчитывали с использованием онлайн-калькулятора ChrX-STR.org (база данных ChrX-STR.org, дата обращения: 10.01.2026). Значение исключяющей способности всего набора маркеров (SoftGenetics LLC, 2012), эффективное число аллелей (Ne), частоты аллелей рассчитывали стандартным способом с помощью программного пакета MS Excel. Анализ молекулярной дисперсии (AMOVA), оценку попарных значений F_{st} и R_{st} , оценку структуры неравновесия по сцеплению (LD), оценку частот гаплотипов проводили с использованием про-

граммного средства Arlequin v.3.5 (Excoffier, Lischer, 2010; Gusmão et al., 2025). Анализ методом главных компонент выполнен в среде R с помощью пакетов FactoMineR (функция PCA) и factoextra для визуализации (Lê et al., 2008).

Результаты

Генетическая дифференциация популяций

Первым этапом исследования стала оценка возможности объединения выборок ненцев в метапопуляцию. С этой целью для визуализации общих генетических взаимоотношений между индивидами был построен график методом главных компонент (PCA) (см. рисунок).

Распределение индивидов в пространстве двух первых главных компонент (которые в сумме объясняют 16.51 % общей изменчивости) не демонстрирует формирования обособленных кластеров, соответствующих выборке лесных или тундровых ненцев. Для оценки генетической дифференциации с помощью F-статистики мы использовали три показателя, два из них характеризуют силу дифференциации (F_{st} , σ^2), один (exact test) – статистическую значимость дифференциации (табл. 1).

Значения попарного F_{st} во всех сравнениях очень низкие (от 0.001 до 0.010), это свидетельствует о слабой генетической подразделенности популяций, что объясняется интенсивным потоком генов между популяциями и относительно недавним временем дивергенции. Точный тест показал отсутствие статистически значимых различий между популяциями.

Генетическое разнообразие и идентификационный потенциал

Поскольку величина генетической дифференциации между изученными выборками не превысила 1 %, согласно общемировой практике (Gusmão et al., 2025), таким уров-



Распределение образцов лесных и тундровых ненцев в пространстве двух первых главных компонент.

Таблица 1. Показатели генетической дифференциации популяций ненцев

Группа сравнения	Fst (p)	σ^2	p-value (exact test)
Лесные/тундровые	0.007 (0.009)	0.062	1
Харючи/Вануйто	0.001 (0.233)	0.022	1
Антипаютинская/Гыданская	0.006 (0.041)	0.103	1
Антипаютинская/ Находкинская	0.010 (0.002)	0.139	
Гыданская/Находкинская	0.003 (0.231)	0.028	

Примечание. Fst (p) – попарные значения Fst (population comparisons), в скобках приведены значения уровня значимости; σ^2 – генетическая дистанция между микросателлитными локусами; p-value – значения уровня значимости для точного теста популяционной дифференциации (population differentiation).

нем различий было решено пренебречь. Все образцы были объединены в единую метапопуляцию (504 образца) для оценки генетического разнообразия и идентификационного потенциала X-STR маркеров (табл. 2).

Результаты расчетов показали, что популяция ненцев демонстрирует средние показатели генетического разнообразия, что типично для коренных народов Сибири, находящихся в относительной изоляции (Вагайцева и др., 2015, 2025). Как видно из табл. 2, эффективное число аллелей варьирует от 1.882 (DXS7423) до 11.169 (DXS8377), а ожидаемая гетерозиготность (He) – от 0.469 (DXS7423) до 0.910 (DXS8377), что свидетельствует о выраженной вариабельности в уровне полиморфизма между локусами. Согласно классификации D. Botstein с коллегами (1980), 13 из 16 маркеров (81.3 %) являются высокоинформативными (PIC > 0.5), включая наиболее полиморфные DXS10079 и DXS8377 (PIC > 0.8). Общий уровень исключительной способности (CPE) всего набора маркеров составил 0.99996. Полученные значения сопоставимы с показателями, характерными для других коренных народов Сибири, однако уступают таковым в европейских популяциях (Вагайцева и др., 2015; Mršić et al., 2017).

Структура неравновесия по сцеплению

Локализация анализируемых маркеров на X-хромосоме как дает им преимущества для реконструкции родственных связей, так и усложняет анализ. Аллели локусов, находящиеся в сцеплении, наследуются совместно, формируя гаплотипы. Игнорирование в вероятностных расчетах структуры неравновесия по сцеплению, при котором наблюдаемая частота гаплотипа в популяции статистически значимо отклоняется от произведения частот составляющих его аллелей, может привести к систематическим ошибкам.

Различия в генетико-демографической истории популяции формируют уникальный паттерн неравновесия по сцеплению, который требует эмпирической оценки для каждой конкретной популяции и не позволяет экстраполировать данные, полученные при анализе одних выборок, на другие популяции. Для эмпирической оценки структуры неравновесия по сцеплению между рассматриваемыми X-STR в метапопуляции ненцев локусами был проведен

попарный анализ с расчетом двух общепринятых показателей: уровня значимости для каждой пары локусов (p-value) и квадрата корреляции r^2 . Матрица p-значений (табл. 3) демонстрирует множество статистически значимых ассоциаций. При пороговом уровне значимости $p < 0.05$ статистически значимое LD показали 46 пар локусов из 120. В то же время значения r^2 для всех пар аллелей не превысили 0.09. Это означает, что несмотря на статистическую значимость, сила корреляции низка.

Референсные данные

Референсные данные, необходимые для проведения вероятностных расчетов при реконструкции родственных связей в популяции ненцев, представлены в Приложении¹. В таблицах Приложения приведены частоты аллелей 16 X-STR локусов и частоты гаплотипов локусов, находящихся в одной группе сцепления: II группа сцепления (DXS7132–DXS10079), III группа сцепления (DXS10103–HPRTB), IV группа сцепления (DXS8377–DXS7423) (база данных ChrX-STR.org, дата обращения 10.01.2026).

Обсуждение

Ненцы – коренной народ Севера России, относящийся к уральской языковой семье. Они подразделяются на две основные субэтнические группы – лесных и тундровых ненцев, различающихся географией расселения, культурными особенностями и диалектами. У тундровых ненцев выделяют две основные фратрии: Харючи (Харюца) и Вануйто (Вануэта) (Хомич, 1966). Проведенный В.Н. Харьковым с коллегами анализ рассматриваемых нами выборок по маркерам Y-хромосомы показал высокую степень генетической дифференциации, полностью соответствующей родовой и фратриальной организации (Zvénigorosky et al., 2020; Харьков и др., 2025). Полученные в нашем исследовании результаты анализа X-STR, напротив, продемонстрировали отсутствие значимых различий между выборками (exact test, $p = 1$). Такие различия в уровне генетической дифференциации свидетельствуют об асимметричном потоке генов, обусловленном социальной организацией.

Ключевые характеристики ненецкой брачной системы – это патрилинейность, экзогамия и патрилокальность (Хомич, 1966). В отличие от мужчин, женщины активно перемещались между родами, фратриями и даже субэтническими группами. Наши данные согласуются с демографической историей популяции ненцев. Результаты исследования X-STR маркеров показали средний уровень генетического разнообразия в анализируемой популяции ненцев. Это объясняется действием эффекта основателя при заселении человеком Северной Евразии и последующим генетическим дрейфом в изолированных группах.

Попарный анализ Fst продемонстрировал низкий уровень генетической дифференциации, значения не превышали 1 %. Из пяти попарных сравнений статистическая значимость ($p < 0.05$) была обнаружена только в двух. При этом различия между выборками Антипаютинской и Находкинской тундр (Fst = 0.010, $p = 0.002$) превы-

¹ Приложение см. по адресу:
<https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2026-30/appx41.xlsx>

Таблица 2. Параметры генетического разнообразия и исключяющей способности X-STR метапопуляции ненцев

GATA31E08		DXS10079	DXS10103	DXS7132	DXS9895	DXS7133	DXS7424	DXS7423	DXS6789	DXS9902	DXS6810	DXS8377	HPRTB	DXS6797	DXS6804	GATA165B12
Na	7	9	7	6	5	4	8	4	9	5	4	18	8	8	6	4
Ne	4.282	6.201	3.960	3.676	2.855	2.308	4.083	1.882	3.913	3.012	2.416	11.169	3.636	3.413	3.878	2.184
PIC	0.729	0.819	0.714	0.682	0.584	0.500	0.724	0.424	0.708	0.602	0.522	0.903	0.682	0.660	0.703	0.472
He	0.766	0.839	0.747	0.729	0.650	0.567	0.755	0.469	0.744	0.668	0.586	0.910	0.725	0.707	0.743	0.542
PE	0.538	0.673	0.505	0.474	0.355	0.253	0.519	0.162	0.500	0.380	0.274	0.817	0.468	0.439	0.497	0.227

Примечание. Na – наблюдаемое число аллелей на локус; Ne – эффективное число аллелей; PIC – значение информационного содержания полиморфизма; He – ожидаемая гетерозиготность; PE – исключяющая способность.

Таблица 3. Матрица *p*-значений при оценке структуры неравновесия по сцеплению (LD)

Локусы	DXS9902	DXS9895	DXS6810	DXS7132	DXS10079	DXS6789	DXS7424	DXS6797	DXS7133	DXS6804	GATA165B12	DXS10103	HPRTB	GATA31E08	DXS8377
DXS9902	*														
DXS9895	0.0000	*													
DXS6810	0.0299	0.1000	*												
DXS7132	0.0136	0.1778	0.1298	*											
DXS10079	0.2127	0.4524	0.0006	0.0000	*										
DXS6789	0.1210	0.0022	0.0020	0.3529	0.0000	*									
DXS7424	0.3006	0.2589	0.5006	0.2559	0.3805	0.0000	*								
DXS6797	0.5259	0.0000	0.0277	0.2368	0.2640	0.0285	0.0000	*							
DXS7133	0.3248	0.3343	0.2124	0.2066	0.5788	0.0815	0.0015	0.0047	*						
DXS6804	0.1663	0.0081	0.3119	0.0438	0.2698	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	*					
GATA165B12	0.5644	0.3142	0.0650	0.7254	0.0202	0.0016	0.0355	0.0008	0.4632	0.3574	*				
DXS10103	0.4066	0.0924	0.4195	0.5312	0.1546	0.0000	0.4138	0.1351	0.2672	0.8459	0.0888	*			
HPRTB	0.4551	0.0358	0.2916	0.2064	0.0150	0.3056	0.1193	0.3816	0.7270	0.0472	0.0514	0.0000	*		
GATA31E08	0.0000	0.0000	0.0178	0.1458	0.0393	0.4363	0.2963	0.1192	0.7810	0.0983	0.2668	0.0000	0.0000	*	
DXS8377	0.2403	0.4584	0.8199	0.6650	0.0009	0.3204	0.0033	0.3578	0.0414	0.0726	0.0000	0.0060	0.2131	0.0148	*
DXS7423	0.1433	0.0382	0.3474	0.0152	0.6663	0.0932	0.0498	0.0873	0.3627	0.2202	0.5829	0.1132	0.9637	0.1002	0.0000

шают таковые между лесными и тундровыми ненцами ($F_{st} = 0.007$, $p = 0.009$). Для сравнения, в нашем другом исследовании с использованием 18 маркеров X-STR также выявлены слабые статистически значимые различия ($R_{st} = 0.007$, $p = 0.002$) между двумя другими популяциями Сибири (теленгитами и алтай-кижи), при этом уровень генетического разнообразия (H_e) в алтайских популяциях был выше (средняя H_e в популяции ненцев = 0.697, в популяции алтай-кижи = 0.726 и в популяции теленгитов = 0.723) (Вагайцева и др., 2025). Значение суммарной исключительной способности ($CPE = 0.99996$) подтверждает, что представленная панель из 16 X-STR достаточно информативна и может быть использована для реконструкции родословной в ненецкой популяции. Выявлено, что при реконструкции родственных связей индивидов из ненецкой популяции можно не учитывать территорию проживания анализируемых индивидов, благодаря отсутствию статистически значимой дифференциации между проанализированными группами ненцев (exact test, $p = 1$; $F_{st} < 1\%$). При этом следует отметить, что в данной работе анализируемая выборка лесных ненцев небольшая (46 образцов), это может влиять на полученные результаты. Тем не менее представленные данные являются наиболее полной на сегодняшний день характеристикой генетической структуры популяции ненцев по X-STR маркерам.

Заключение

Проведенные исследования позволили получить референсные данные по 16 X-STR маркерам для популяции ненцев, необходимые для повышения эффективности и надежности генетической экспертизы. Это особенно актуально для популяций коренных народов Сибири, поскольку низкий уровень генетического разнообразия нейтральных маркеров, используемых в ДНК-идентификации, делает стандартные aSTR (STR, локализованные на аутосомах) менее информативными (Zvěnigorosky et al., 2020). Полученные параметры могут быть использованы в практике ДНК-идентификации для повышения надежности генетической экспертизы на территории Российской Федерации.

Список литературы / References

- Вагайцева К.В., Харьков В.Н., Черпинская К.В., Хитринская И.Ю., Степанов В.А. Генетическая вариабельность X-сцепленных STR-маркеров в популяциях Сибири. *Молекулярная биология*. 2015;49(2):305-312. doi 10.7868/S0026898415020147
- [Vagaitseva K.V., Kharkov V.N., Cherpinskaya K.V., Khitrinskaya I.Yu., Stepanov V.A. Genetic variability of X-linked STR markers in Siberian populations. *Mol Biol*. 2015;49(2):267-274. doi 10.1134/S0026893315020132]
- Вагайцева К.В., Колесников Н.А., Скалин М.Д., Валихова Л.В., Рузавина О.Д., Пестрецова Д.Е., Высочина А.Н., Харьков В.Н., Степанов В.А. Генетическое разнообразие популяций теленгитов и алтай-кижи по маркерам, используемым в ДНК-идентификации. *Вестник Томского государственного университета. Биология*. 2025;69:29-37. doi 10.17223/19988591/69/4
- [Vagaitseva K.V., Kolesnikov N.A., Skalin M.D., Valikhova L.V., Ruzavina O.D., Pestretsova D.E., Vysochina A.N., Kharkov V.N., Stepanov V.A. Genetic diversity of Telengite and Altai-kizhi populations by markers used in forensic genetics. *Vestnik Tomskogo Gosudarstvennogo Universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2025;69:29-37. doi 10.17223/19988591/69/4 (in Russian)]
- Харьков В.Н., Валихова Л.В., Адамов Д.С., Зарубин А.А., Хитринская И.Ю., Степанов В.А. Особенности генофондов лесных и тундровых ненцев по гаплогруппам Y-хромосомы. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2025;29(5):711-721. doi 10.18699/vjgb-25-78
- [Kharkov V.N., Valikhova L.V., Adamov D.S., Zarubin A.A., Khitrinskaya I.Yu., Stepanov V.A. The Forest and Tundra Nenets: differences in Y-chromosome haplogroups. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov J Genet Breed*. 2025;29(5):711-721. doi 10.18699/vjgb-25-78]
- Хомич Л.В. Ненцы: историко-этнографические очерки. СПб.: Наука, 1966
- [Khomich L.V. The Nenets: Historical and Ethnographic Essays. St. Petersburg: Nauka Publ., 1966 (in Russian)]
- Botstein D., White R.L., Skalnack M.H., Davies R.W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *Am J Hum Genet*. 1980;32(3):314-331
- Excoffier L., Lischer H.E.L. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Resour*. 2010;10(3):564-567. doi 10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x
- Ge J., Budowle B. How many familial relationship testing results could be wrong? *PLoS Genet*. 2020;16(8):e1008929. doi 10.1371/journal.pgen.1008929
- Gusmão L., Antão-Sousa S., Faustino M., Abovich M.A., Aguirre D., Alghafri R., Alves C., ... Turchi C., Vullo C., Yurrebaso I., Pereira V., Pinto N. X-chromosomal STRs: metapopulations and mutation rates. *Forensic Sci Int Genet*. 2025;76:103232. doi 8.1016/j.fsigen.2025.103232
- Lê S., Josse J., Husson F. FactoMineR: an R package for multivariate analysis. *J Stat Softw*. 2008;25(1):1-18. doi 10.18637/jss.v025.i01
- Mršić G., Ozretić P., Crnjac J., Merkaš S., Račić I., Rožić S., Sukser V., Popović M., Korolija M. Analysis of 12 X-STR loci in the population of south Croatia. *Mol Biol Rep*. 2017;44(1):183-189. doi 10.1007/s11033-017-4096-1
- SoftGenetics LLC. GeneMarker® HID Software User Manual. Version 2.0. State College, PA: SoftGenetics LLC, 2012
- Tillmar A.O., Kling D., Butler J.M., Parson W., Prinz M., Schneider P.M., Egeland T., Gusmão L. DNA Commission of the International Society for Forensic Genetics (ISFG): guidelines on the use of X-STRs in kinship analysis. *Forensic Sci Int Genet*. 2017;29:269-275. doi 10.1016/j.fsigen.2017.05.005
- Zhang Y., Yu Z., Mo X., Zhao X., Li W., Liu H., Liu C., Wu R., Sun H. Comparative evaluation of autosomal STRs and X-chromosome STRs as a complement of autosomal STRs in kinship testing in Southern Han Chinese. *Ann Hum Biol*. 2021a;48(1):66-69. doi 10.1080/03014460.2020.1856926
- Zhang Y., Yu Z., Mo X., Zhao X., Li W., Liu H., Liu C., Wu R., Sun H. Development and validation of a new 18 X-STR typing assay for forensic applications. *Electrophoresis*. 2021b;42(6):766-773. doi 10.1002/elps.202000168
- Zvěnigorosky V., Sabbagh A., Gonzalez A., Fausser J.L., Palstra F., Romanov G., Solov'yev A., Barashkov N., Fedorova S., Crubézy É., Ludes B., Keyser C. The limitations of kinship determinations using STR data in ill-defined populations. *Int J Legal Med*. 2020;134(6):1981-1990. doi 10.1007/s00414-020-02298-w
- ChrX-STR.org 2.0 [site]. Forensic ChrX Research; [n.d.; updated Jun 25, 2009; cited Jan 10, 2026]. Available from: <https://www.chrx-str.org/xd/index.jsf>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 13.04.2026. После доработки 28.04.2026. Принята к публикации 12.05.2026.

doi 10.18699/vjgb-26-77

Геномные профили жителей Фанагории хазарского времени

В.С. Окованцев , А.Д. Манахов ^{1, 2}, Е.В. Рождественских ¹, С.Е. Храпов ¹, М.В. Добровольская³,
Н.Г. Свирина^{1, 3}, С.Н. Остапенко^{1, 3, 4}, В.Д. Кузнецов^{1, 3, 4}, Т.В. Андреева ^{1, 2, 5}, Е.И. Рогаев ^{1, 6} 

¹ Научно-технологический университет «Сириус», федеральная территория «Сириус», Краснодарский край, Россия

² Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия

³ Институт археологии Российской академии наук, Москва, Россия

⁴ Государственный историко-археологический музей-заповедник «Фанагория», пос. Сенной, Темрюкский район, Краснодарский край, Россия

⁵ Центр генетики и генетических технологий, биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

⁶ Медицинская школа Чан Массачусетского университета, департамент психиатрии, Шрусбери, США

 okovantsev.vs@talantiuspeh.ru; evivrecc@gmail.com

Аннотация. Городище Фанагория, расположенное на территории Таманского полуострова, представляет собой уникальный объект археологического наследия. История древнего города охватывает около 15 веков, что делает Фанагорию свидетелем многих исторических событий, в том числе имеющих отношение к ранней истории древнерусского государства. Раннесредневековый период истории Фанагории представляет особый интерес в связи с ее недостаточной изученностью. Работами Фанагорийской экспедиции Института археологии РАН в содружестве с Музеем-заповедником «Фанагория» были изучены культурные напластования города VII–X вв. Этот период существования урбанистического центра тесно связан с историей Хазарского каганата и завершается гибелью города в результате вражеского нападения. В ходе раскопок обнаружены скелетные останки людей со следами насильственной смерти. Антропологический анализ выявил монголоидные особенности этих индивидов. В данной работе представлены результаты анализа полногеномных последовательностей из останков трех индивидов из культурного слоя хазарского времени с использованием биоинформатических методов. Для двух индивидов проведено радиоуглеродное датирование. Благодаря высокому покрытию митохондриальной ДНК (от 43- до 96-кратного), подтвержден низкий уровень контаминации и определена гаплогруппа митохондриальной хромосомы. Установлена аутентичность древней ДНК и определены пол индивидов и гаплогруппа Y-хромосомы. Популяционный анализ проведен методом PCA, анализ предковых компонентов – методом ADMIXTURE и анализ корреляции частот аллелей – методом *f3*-статистики. Анализ полногеномных данных трех образцов показал генетическую близость исследованных индивидов с современным тюркоязычным населением Центральной Азии, а также с раннесредневековыми группами кочевников Евразийской степи, венгерских авар и монголов. Анализ главных компонент показал присутствие в геномах изученных образцов азиатских и европейских генетических компонентов. Наше исследование позволяет сделать вывод, что генетический профиль изученных индивидов сформировался в результате смешения генофондов выходцев из восточных районов Евразийской степи и населения Западной Евразии. Азиатские компоненты родственны таковым у средневековых групп монголов и авар.

Ключевые слова: древняя ДНК; геном; палеоантропология; Фанагория; параллельное секвенирование; Хазарский каганат

Для цитирования: Окованцев В.С., Манахов А.Д., Рождественских Е.В., Храпов С.Е., Добровольская М.В., Свирина Н.Г., Остапенко С.Н., Кузнецов В.Д., Андреева Т.В., Рогаев Е.И. Геномные профили жителей Фанагории хазарского времени. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2026;30(5):761-774. doi 10.18699/vjgb-26-77

Финансирование. Работа поддержана грантом по государственной программе федеральной территории «Сириус» «Палеогенетика Краснодарского края», Соглашение № 18-03 от 10.09.2024, код проекта GEN-BFT-2407 (В.С.О., А.Д.М., Е.В.Р., С.Е.Х.).

Genomic profiles of the Khazar period inhabitants of Phanagoria

V.S. Okovantsev , A.D. Manakhov ^{1, 2}, E.V. Rozhdestvenskikh ¹, S.E. Khrapov ¹, M.V. Dobrovolskaya³,
N.G. Svirina^{1, 3}, S.N. Ostapenko^{1, 3, 4}, V.D. Kuznetsov^{1, 3, 4}, T.V. Andreeva ^{1, 2, 5}, E.I. Rogayev ^{1, 6} 

¹ Sirius University of Science and Technology, Sirius Federal Territory, Krasnodar region, Russia

² Vavilov Institute of General Genetics of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

³ Institute of Archaeology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

⁴ The State Museum-Preserve “Phanagoria”, Sennoy village, Krasnodar region, Russia

⁵ Centre of Genetics and Genetic Technologies, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

⁶ UMass Chan Medical School, Department of Psychiatry, Shrewsbury, USA

 okovantsev.vs@talantiuspeh.ru; evivrecc@gmail.com

Abstract. The Phanagoria settlement, located on the Taman Peninsula, is a unique archaeological site. The history of the ancient city spans approximately 15 centuries, making Phanagoria a witness to many historical events, including those related to the early history of the Old Rus' state. The early medieval period of Phanagoria's history is of particular interest due to its insufficient study. The Phanagoria Expedition of the Institute of Archaeology of the Russian Academy of Sciences, in collaboration with the Phanagoria Museum-Reserve, studied the city's cultural strata from the 7th–10th centuries. This period of the urban center's existence is closely linked to the history of the Khazar Khaganate and culminates in the city's destruction as a result of an enemy attack. During excavations, skeletal remains bearing signs of violent death were discovered. Anthropological analysis revealed Mongoloid features of the individuals discovered. This paper presents the results of a bioinformatics-based analysis of whole-genome sequences from the remains of three individuals from a Khazar cultural layer. Radiocarbon dating was performed for two individuals. High mitochondrial DNA coverage (43- to 96-fold) confirmed its low level of contamination, and determined the mitochondrial chromosome haplogroup. High genome coverage confirmed the authenticity of the analyzed ancient DNA and allowed the determination of the individuals' sex and Y-chromosome haplogroup. Population analysis was performed using PCA, ancestral component analysis, using ADMIXTURE, and allele frequency correlation analysis, using the *f3* statistic. Whole-genome data analysis of the three samples demonstrated the genetic proximity of the studied individuals to the modern Turkic-speaking population of Central Asia, as well as to early medieval nomadic groups of the Eurasian steppe, Hungarian Avars, and Mongols. Principal component analysis revealed the presence of Asian and European genetic components in the genomes of the studied samples. Our study suggests that the genetic profile of the individuals studied was formed by the mixing of the gene pools of people from the eastern regions of the Eurasian Steppe and populations of Western Eurasia. The Asian components are related to those of medieval groups of Mongols and Avars.

Key words: ancient DNA; genome; paleoanthropology; Phanagoria; massive parallel sequencing; Khazar Khaganate

For citation: Okovantsev V.S., Manakhov A.D., Rozhdestvenskikh E.V., Khrapov S.E., Dobrovolskaya M.V., Svirkina N.G., Ostapenko S.N., Kuznetsov V.D., Andreeva T.V., Rogaev E.I. Genomic profiles of the Khazar period inhabitants of Phanagoria. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii* = *Vavilov J Genet Breed.* 2026;30(5):761–774. doi 10.18699/vjgb-26-77

Введение

Фанагория – древний город, располагавшийся на восточном берегу Керченского пролива (рис. 1), основанный греческими колонистами предположительно в VI в. до н. э. (Чхаидзе, 2012). В V в. н. э. вместе с другими городами Боспорского царства Фанагория входит в состав Византийской империи, которая сохраняет полную власть над городом до середины VII в. (Чхаидзе, 2012). Отмечается, что в V–VI вв. н. э. в населении города преобладает греческая составляющая (Чхаидзе, 2012).

С распадом Западно-тюркского каганата в прикаспийских степях возникает Хазарский каганат, влияние которого в VII в. н. э. расширяется на запад в Северное Причерноморье и Восточное Приазовье (Артамонов, 1962; Golden, 1980). К концу VII в. н. э. Фанагория становится местом тесных дипломатических контактов Византии и Хазарии. Над городом сохраняется власть Константинополя, но также осуществляют свою деятельность два хазарских чиновника. Формируется так называемый кондоминат двух государств. В VIII в. происходит массовое перемещение населения Хазарии в Крым и Приазовье, вызванное столкновениями хазар и Арабского халифата на Кавказе (Сазанов, Могаричев, 2006). Во второй половине IX в. Византия снова возвращает контроль над Фанагорией вследствие ослабления позиций Хазарии под давлением мадьяр и печенегов. А к началу X в. город оказывается разгромлен кочевниками – мадьярами, печенегами или огузами (Dunlop, 1954; Плетнёва, 1982; Новосельцев, 1990).

Население каганата было очень пестрым и включало булгар, алан, евреев, славян и прочих. Непосредственно о хазарах наши знания ограничены и противоречивы (Артамонов, 1962; Гинзбург, 1963; Балабанова, 2013). По имеющимся лингвистическим данным и сведениям средневековых историков, хазар относят к тюркоязычным народам. Рассматривается родственность их языка языку

булгар (Новосельцев, 1990). Среди советских и российских ученых распространена гипотеза о том, что хазарский этнос сформировался с участием иранского населения Предкавказья и пришлых тюрков, а также выходцев из Сибири (Артамонов, 1962; Новосельцев, 1990; Балабанова, 2013).

В настоящее время начало хазарского периода в Фанагории датируется последней четвертью VII в. (Кузнецов, Остапенко, 2024). Присутствие хазар подтверждается археологическими находками: керамикой, объектами архитектуры. В слоях VIII–IX вв. обнаружена керамика салтово-маяцкой культуры (Чхаидзе, 2012), которая ассоциируется с аланским и болгарским компонентами в населении каганата (Плетнёва, 1967).

Период истории Хазарского каганата с конца VIII в. интересен тем, что в это время высшая знать страны принимает иудаизм, вероятно, под влиянием значительной еврейской диаспоры, существовавшей в городах каганата (Артамонов, 1962; Калинина, 2010). Установить долю иудейского населения каганата не удастся. Многие исследователи считают, что иудейской была только приближенная к кагану элита, но большая часть населения оставалась языческой (Артамонов, 1962; Новосельцев, 1990; Калинина, 2010). Из исторических источников известно, что в Фанагории в I–V вв. н. э. существовала еврейская диаспора, о чем свидетельствуют многочисленные иудейские захоронения (Чхаидзе, 2012). Была обнаружена синагога, просуществовавшая до разрушения пожаром в VI в. н. э. (Кузнецов, 2024). Община существовала на Боспоре и в хазарское время (Чичуров, 1980), однако на сегодняшний день этому найдено только одно археологическое подтверждение в виде амфоры с древнееврейской надписью (Голофаст, 2020).

Согласно антропологическим данным, население Нижнего Дона и Нижнего Поволжья в период Хазарского каганата характеризуется смешением монголоидных и

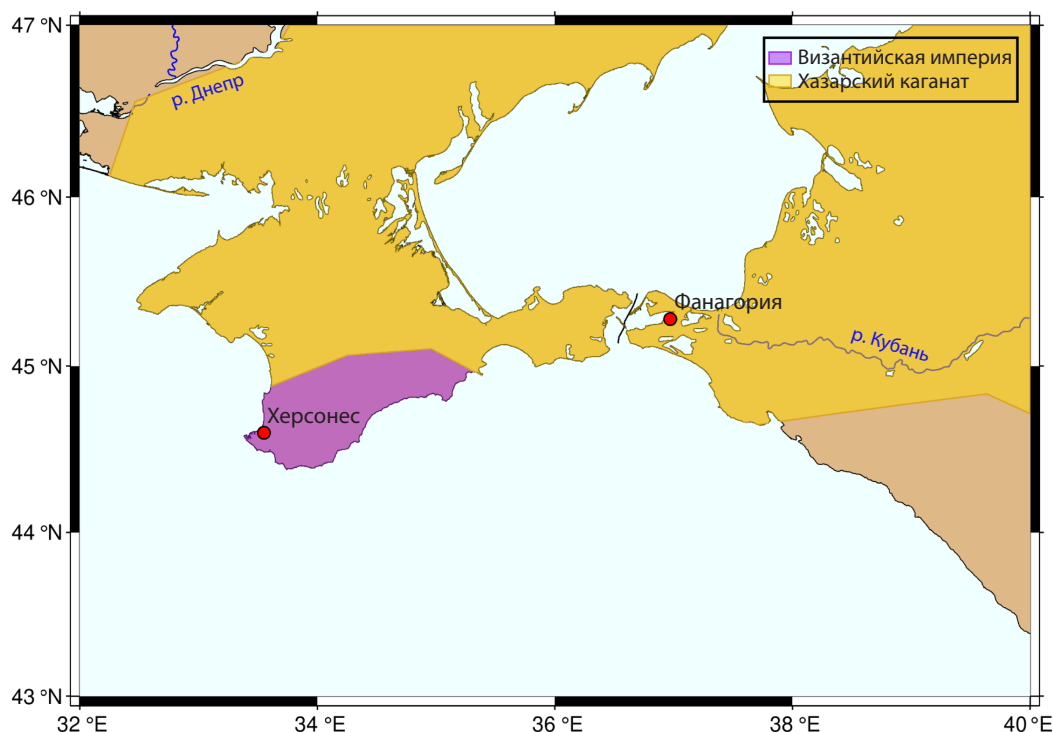


Рис. 1. Расположение памятника Фанагория в Северном Причерноморье (вторая половина VII в. н.э.).
Указаны примерные границы влияния Византии и Хазарии в регионе (по: Новосельцев, 1990; Aibabin, 2013).

европеоидных признаков (Гинзбург, 1963; Батиева, 2002; Балабанова, 2006, 2013). Отмечается, что черепа с монголоидными признаками чаще обнаруживают в более южных памятниках салтово-маяцкой культуры (Балабанова, 2005, 2006). В курганных погребениях с ровиками, которые ассоциируются с хазарским этносом (Семенов, 1983; Новосельцев, 1990; Афанасьев, 2015), находят преимущественно черепа монголоидного типа (Гинзбург, 1946; Батиева, 2002).

Текущие исследования захоронений античной Фанагории (Манахов и др., 2025; Рождественских и др., 2026) отмечают сходство населения эллинистического и римского периодов с современными европейскими популяциями. У индивидов из античной Фанагории выявлены гаплогруппы митохондриальной ДНК и Y-хромосомы, распространенные в современных европейских популяциях. В результате анализа аутосомных маркеров методом главных компонент индивиды античного периода проецируются вблизи современных европейских и кавказских популяций.

Антропологических материалов из погребений Фанагории хазарского периода мы не имеем. Все доступные для изучения останки происходят из культурных слоев города. Повреждения, обнаруженные на костях, свидетельствуют об эпизоде жестокой агрессии, проявившейся в убийстве людей разного пола и возраста. Поскольку комплектность материалов далеко не полная, оценить расовое своеобразие выборки можно было только для нескольких индивидов. Многие характеризуются монголоидными особенностями: уплощенность лица, слабое выступание носовых костей (Добровольская, Свиркина, 2018).

На сегодняшний день палеогенетика населения Хазарского каганата изучена крайне фрагментарно. Немногочисленные полногеномные данные, относящиеся к булгарским и аланским образцам салтово-маяцкой культуры (14 индивидов), представлены в рамках исследований населения Причерноморской степи (Damgaard et al., 2018; Saag et al., 2025).

В настоящей работе впервые использованы методы геномного и популяционного анализа для изучения останков из Фанагории, относящихся к периоду хазарского владычества над регионом.

Материалы и методы

В исследование были включены костные останки четырех индивидов, обнаруженные в раскопе «Нижний город» археологического памятника Фанагория в 2016 г. и относящиеся к периоду владычества Хазарского каганата на территории Северного Причерноморья в VII–X вв. н.э. Антропологическое описание образцов, а также перечисление сопровождающей погребенных атрибутики приведены в статье (Добровольская, Свиркина, 2018). Индивид KhT02 описан как девочка 8–9 лет. Обнаружены травмы черепа, следы хронического заболевания. Краниологически отмечена уплощенность лица. У индивида KhT03 описан хронический воспалительный процесс, который мог стать причиной задержки в развитии. Возраст определен как 6–7 лет, без возможности установить пол. Индивид KhT04 определен как мужчина 45 лет, с зажившей травмой теменной кости и воспалительным процессом. Антропологически описана брахикрания, уплощенность

лица. Индивид KhT05 был исключен из анализа из-за низкого содержания эндогенной ДНК.

Для двух изученных образцов на базе лаборатории изотопных исследований ЦКП «Геохронология кайнозоя» ИАЭТ СО РАН и ЦКП «Ускорительная масс-спектрометрия» Новосибирского государственного университета проведено радиоуглеродное датирование.

Получение препаратов древней ДНК (дДНК) из костных фрагментов проводили на базе Университета «Сириус» в «чистых» помещениях, предназначенных для работы с древней ДНК, согласно разработанной ранее методике (Andreeva et al., 2022). Каждое выделение ДНК сопровождалось негативным контролем. Фрагментные геномные библиотеки готовили по протоколу, основанному на использовании одноцепочечной ДНК (Gansauge, Meyer, 2013). Качественную и количественную оценку ДНК и приготовленных библиотек выполняли методом капиллярного гель-электрофореза на приборе Agilent TapeStation 4150 с помощью набора реагентов High Sensitivity D1000 (Agilent). Для образца KhT03 дополнительно готовили фрагментную библиотеку из препарата дДНК, подвергнутого репарации с использованием набора реагентов PreCR Repair Mix (NEB) (Moutham et al., 2015). Секвенирование проводили на базе Университета «Сириус» на платформе Illumina MiSeq в режиме парно-концевых прочтений длиной 76+76 нуклеотидов (тестовое секвенирование) и Illumina NovaSeq 6000 в режиме одноконцевых прочтений длиной 56 нуклеотидов (глубокое секвенирование).

Из полученных в результате секвенирования прочтений с использованием программы AdapterRemoval v2 (Schubert et al., 2016) удаляли адаптерные последовательности и последовательности с низким качеством. Затем с помощью программы BWA (Li, Durbin, 2009) с параметрами, адаптированными для результатов секвенирования дДНК (Schubert et al., 2012), выполняли картирование полученных прочтений относительно референсного (GRCh37) и митохондриального (мтДНК, NC_012920.1) геномов человека. С применением функции MarkDuplicates из пакета программ Picard (Picard Tools – By Broad Institute, 2019) маркировали дубликаты, чтобы исключить соответствующие прочтения из дальнейшего анализа.

Оценку аутентичности древней ДНК осуществляли с помощью программы MapDamage2 (Jónsson et al., 2013). Определение генетического пола исследуемых образцов проводили с использованием программы karyo_RxRy (Anastasiadou et al., 2024).

Оценку уровня контаминации образцов проводили по гетерозиготности мтДНК с помощью программ Schmutzi (Renaud et al., 2015) и ContamMix (Fu et al., 2013). Для образца мужского пола дополнительно выполняли анализ уровня контаминации по гетерозиготности X-хромосомы (Rasmussen et al., 2011).

Реконструкцию последовательности митохондриальной ДНК производили путем определения в ней полиморфизмов с помощью программы BCFtools (Danecek et al., 2021). Выявленные полиморфизмы фильтровали по качеству (QUAL > 30) и проверяли визуально с использованием про-

граммы IGV (Integrative Genomics Viewer) (Thorvaldsdóttir et al., 2013). Определение гаплогрупп мтДНК проводили с помощью программы Haplogrep3 (версия PhyloTree 17 – Forensic Update 1.2) (Schönherr et al., 2023) с дополнительной проверкой обнаруженных вариантов по базе данных Yfull MTREE 1.02 (Van Oven, Kayser, 2009).

Филогенетический анализ последовательностей мтДНК осуществляли с применением программного пакета mtPhyl (Eltsov, Volodko, 2016). Для филогенетического анализа формировали выборку последовательностей мтДНК, принадлежащих к гаплогруппе, обнаруженной у исследуемого индивида, для чего использовали базы, содержащие как древние, так и современные образцы HaploTree (HaploTree, 2025), AADR (Mallick et al., 2024), NCBI BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), Yfull MTREE 1.02 и AmtDB (Ehler et al., 2019). Кроме того, использовали базы данных древних образцов, ранее составленные в НТУ «Сириус» (Андреева и др., 2022, 2023). Из анализа были исключены участки поли-С трактов, tandemных повторов и позиции с высокой частотой мутаций).

С помощью программы pileupCaller из пакета SequenceTools (Schiffels, 2025) реконструировали псевдо-гаплоидные геномные профили исследуемых индивидов по 1240 тыс. генетическим маркерам, соответствующим панели AADR (параметр --randomHaploid). При этом для анализа использовали прочтения с качеством выравнивания (MQ) и качеством прочтения (BQ) не менее 30.

Установление генетического родства проводили с помощью программы READv2 (Alaçamlı et al., 2024), позволяющей определять родство вплоть до третьей степени.

Популяционный анализ осуществляли с применением метода главных компонент (PCA) при помощи функции smartpca из программного пакета EIGENSOFT (Patterson et al., 2006). Геномные профили исследуемых индивидов были спроецированы в пространство главных компонент, сформированное на основе генетических профилей 2598 представителей 168 современных групп с территории Евразии из панели Human Origin, включающей 600 тыс. генетических маркеров. Анализ выполняли, используя геномные профили, из которых были исключены транзиции (C ↔ T и G ↔ A), которые могут быть следствием пост-мортальных модификаций, характерных для древней ДНК.

Для сравнения исследованных образцов с древними популяциями в анализ было включено 1435 образцов из 90 древних групп периодов раннего железного века – Средневековья с территории Восточной Европы, Передней и Центральной Азии, представленных в базе данных AADR v.62, а также в публикациях (Nikitin et al., 2025; Saag et al., 2025).

Анализ ADMIXTURE проводили с помощью набора из 560 тыс. аутомомных генетических маркеров из базы данных AADR v.62 и материалов из публикаций (Lazaridis et al., 2014; Flegontov et al., 2019; Nikitin et al., 2025; Saag et al., 2025). Была использована программа ADMIXTURE v1.3 (Alexander et al., 2009) с параметрами по умолчанию. Осуществляли по 10 независимых расчетов, изменяя число предполагаемых предковых компонент (K) от 1 до 12.

Оптимальное число компонент было определено на основе сравнения значений CV-error, вычисляемых программой; в результате оптимальным оказалось значение $K = 5$. Из 10 вариантов был выбран расчет с минимальным значением CV-error (Приложение)¹.

Перед анализом выполняли отбор образцов и фильтрацию генетических вариантов. В случае, если образцы происходили из одной семейной группы, в анализ включали только одного индивида с наибольшим числом определенных аутосомных псевдогиплоидных генотипов. С использованием программы PLINK v2.00 (Chang et al., 2015) из анализа исключали генетические варианты, генотипы которых были определены лишь у одного индивида (--geno 0.999); варианты с частотой минорного аллеля менее 0.002 (--maf 0.002); варианты, являющиеся транзигциями, которые могут быть следствием постморальных модификаций, характерных для древней ДНК; а также сцепленные генетические варианты (--indep-pairwise 200 5 0.5). Образцы, для которых по итогам фильтрации осталось менее 10 тыс. псевдогиплоидных маркеров, были исключены из анализа.

В общей сложности в анализ вошел 2521 образец, включая трех представителей населения Фанагории хазарского времени; 2248 древних образцов из базы данных AADR v62 и опубликованных материалов (Flegontov et al., 2019; Lazaridis et al., 2025; Nikitin et al., 2025; Saag et al., 2025) периода с раннего бронзового века до Средневековья с территории Евразии; 188 древних и 85 современных образцов из базы данных AADR v62, представляющие собой группы, в которых максимизированы общепринятые в палеогенетических исследованиях предковые компоненты (WHG (Western European Hunters Gatherers) – компонента, ассоциированная с западноевропейскими мезолитическими охотниками-собираателями; EHГ (Eastern European Hunters Gatherers) – компонента, связанная с восточноевропейскими мезолитическими охотниками-собираателями; ANF (Anatolian Neolithic Farmers) – компонента, ассоциированная с неолитическими земледельцами Анатолии; Han – восточноазиатская компонента, максимизированная у современной популяции китайцев-ханьцев; Nganasan – сибирская компонента, максимизированная в современной популяции нганасан; Mbuti – африканская компонента, представленная африканской популяцией Мбути) (см. далее).

Для оценки генетического сходства с ранее опубликованными древними популяциями выполняли расчет f_3 -статистики. В анализ были включены псевдогиплоидные генотипы по панели из 1240 тыс. генетических маркеров, транзигции были исключены. Расчеты f_3 -статистики проводили с использованием программ AdmixTools v.7.0.1 (Patterson et al., 2012) и admixr v.0.9.1 (Petr et al., 2019) в форме f_3 (Mbuti, Test; KhT02/KhT03/KhT04), где Test – одна из древних групп, относительно которой анализируется исследуемый образец; Mbuti – представители африканской популяции Мбути, использованные как внешняя группа. В качестве теста были взяты древние группы Евро-

пы, Центральной и Восточной Азии со средней датировкой от 1700 до 700 лет назад. В анализ были включены только группы, представленные более чем тремя неродственными индивидами и имевшими не менее 20 тыс. генетических маркеров, пересекающихся с исследованными образцами KhT02/KhT03/KhT04.

Результаты

Радиоуглеродное датирование двух образцов подтвердило их принадлежность к хазарскому времени (табл. 1). Получены две даты с очень широкими датировками. Оба образца, KhT02 и KhT03, относятся к одному эпизоду агрессии, однако радиоуглеродный возраст и калиброванные даты демонстрируют сильное расхождение этих образцов во времени. Одно это требует очень осторожного отношения к полученным датам и расширения количества образцов и спектра датированных материалов (см. табл. 1). Тем не менее мы хотели бы отметить, что более возможным оказывается отнесение нападения на город к VIII в., чем к IX в., поэтому связывать гибель людей с прекращением существования города пока маловероятно.

Из костных образцов всех четырех индивидов успешно получены препараты геномной ДНК, которые были использованы для приготовления фрагментных геномных библиотек и их секвенирования. Для трех образцов была показана высокая доля прочтений, картированных относительно референсного генома человека, и подтверждена аутентичность дДНК, что позволило использовать ДНК этих образцов для полногеномного исследования (табл. 2, рис. 2). Образец KhT05 исключили из дальнейшего анализа из-за низкого содержания эндогенной ДНК.

Для всех трех образцов был определен генетический пол: образцы KhT02 (ребенок 8–9 лет) и KhT04 (индивид старше 45 лет) – женский, образец KhT03 (ребенок 6–7 лет) – мужской. Обращает на себя внимание расхождение диагностики пола для индивида KhT04: по сохранившимся морфологическим признакам на черепе (развитие надглазничного рельефа, внешний край глазницы, размеры сосцевидного отростка, общая массивность черепа), размерам и выраженности рельефа на костях верхней конечности скелет был определен как принадлежащий мужчине. Следует отметить, что антропологические признаки дают вероятностное определение биологического пола, поэтому расхождения в результатах диагностики пола двумя методами возможны. В данном случае вызывает интерес физический габитус индивида, который, согласно результатам генетического анализа, является женщиной.

Проведенная для образца мужского пола оценка уровня контаминации по мтДНК и по X-хромосоме показала, что загрязнение не превышает допустимого для палеогеномных исследований 5 % уровня (см. табл. 2).

Для всех образцов были реконструированы полные последовательности мтДНК и определены их митохондриальные гаплогруппы (KhT02 – C4a1a-a, KhT03 – B4b1a3a, KhT04 – T2d2a) (рис. 3). Так как они оказались различными, можно сделать вывод о том, что исследованные образцы не являются прямыми родственниками по материнской линии.

¹ Приложение см. по адресу:
<https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2026-30/appx42.xlsx>

Таблица 1. Археологические и антропологические данные об исследованных образцах из раскопа 2016 г. «Нижнего города» Фанагории

Образец	Локация	Пол (по антропологическим данным)	Возраст, лет	Кость	Радиоуглеродное датирование			
					Шифр образца	Р. в., лет BP*	К. д. с вероятностью 95.4 %**	Распределение вероятностей временных интервалов
KhT02	Квадрат Ж4, Ж штык 12	Ж	8–9	Височная кость	GV-6027	1207 ± 34	687–947 гг. н.э.	687–743 AD 10.6 % 771–894 AD 81.6 % 927–947 AD 2–3 %
KhT03	Объект 10, штык 15	Ребенок	6–7		GV-6028	1288 ± 35	658–821 гг. н.э.	658–777 AD 90.2 % 791–821 AD 5.2 %
KhT04	Квадрат И1, М штык 13	М	Старше 45		–	–	–	–
KhT05	Квадрат Ж4, Ж штык 14	Ж	20–25	Зуб	–	–	–	–

* Р. в. – радиоуглеродный возраст; ** К. д. – календарная дата.

Таблица 2. Статистика ДНК-секвенирования, гаплогруппы мтДНК и Y-хромосомы

ID образца	Тип библиотеки	Прочтения, картированные на геном, %	Среднее покрытие мтДНК	Среднее геномное покрытие	Генетический пол	Контаминация по мтДНК (Shmutzi)	Контаминация по мтДНК (ContaMix [95 % CI])	Контаминация по X-хромосоме	Гаплогруппа мтДНК	Гаплогруппа Y-хромосомы	Количество SNP по панели 1240k
KhT02	Нерепарированная	82.34	x43.5	x0.3	F	1 %	1.23 % [0.32 – 2.68 %]	–	C4a1a-a	–	223 379
KhT03	Нерепарированная	61.55	x96.7	x2.6	M	2 %	0.74 % [0.25 – 1.48 %]	1.75 ± 0.13 %	B4b1a3a	C2a1a1b1b (C-Y10420)	1 082 901
	Репарированная	64.79				–					
KhT04	Нерепарированная	70.23	x48.4	x0.4	F	2 %	3.72 % [2.63 – 5.35 %]	–	T2d2a	–	310 822
KhT05	Нерепарированная	6.13	x0.9	x0.002	F	–	–	–	–	–	–

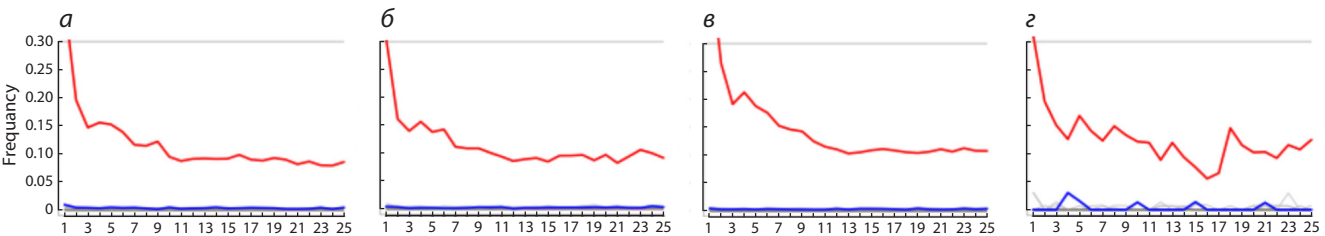


Рис. 2. Профили нуклеотидных замен для прочтений, картированных на референсную последовательность мтДНК, рассчитанные с помощью MapDamage2.

Замены C > T, специфические для дДНК, отображены красной линией. По оси X отмечена позиция нуклеотида от 5'-конца фрагментов ДНК. Образцы: а – KhT02; б – KhT03; в – KhT04; з – KhT05.

Анализ родства, по данным полногеномного секвенирования, проведенный с помощью программы READv2, также показал, что исследованные индивиды – не родственники первой, второй или третьей степени.

Для образца KhT03, принадлежащего индивиду мужского пола, определена гаплогруппа Y-хромосомы C-Y10420 (C2a1a1b1b).

Популяционный анализ, выполненный с использованием метода главных компонент, показал, что исследованные образцы проецируются вблизи современных тюркоязычных популяций Центральной Азии – туркмен, узбеков, каракалпаков и казахов, а также ногайцев юга европейской части России (рис. 4, а). При этом все три образца удалены друг от друга и расположены по оси Кавказ–Монголия.

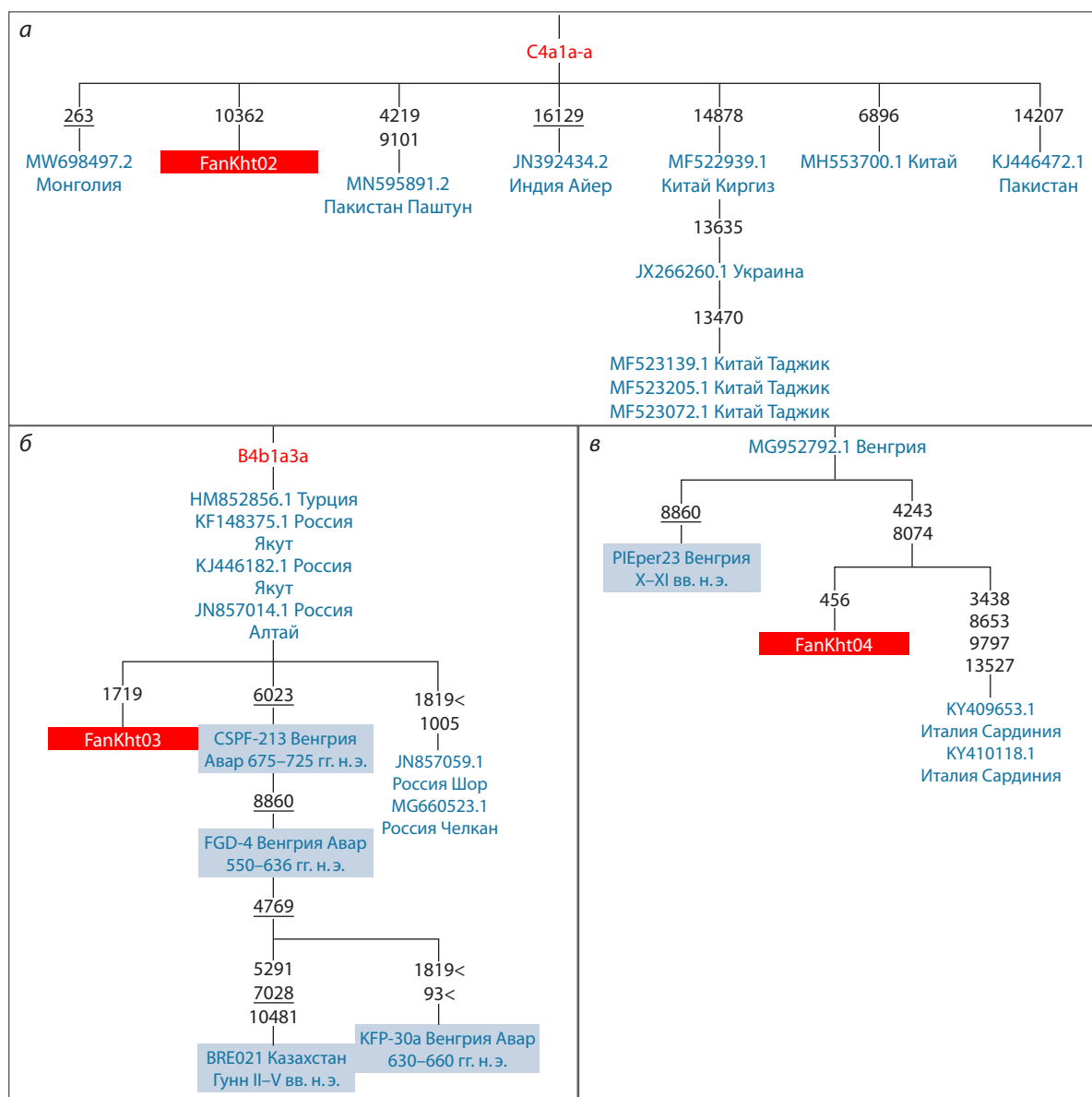


Рис. 3. Филогенетическое дерево гаплогруппы: а – C4a1a-a; б – B4b1a3a и в – T2d2a, построенное с использованием программного пакета mtPhyl.

Мутации на ветвях указаны относительно референсной последовательности мтДНК (rCRS). Для транзиций приведен только номер нуклеотидной позиции, для трансверсий – нуклеотидная замена; символом «<» обозначены позиции повторяющихся мутаций. Неопределенные позиции в последовательностях мтДНК не учитывали при построении дерева. Древние образцы выделены голубым фоном. Для каждого образца указано его географическое происхождение и для древних образцов – возраст (см. табл. 2).

Образец KhT04 располагается ближе других к скоплению европейских групп, в массиве туркмен, узбеков и ставропольских ногайцев. Образец KhT02 кластеризуется с казахами, киргизами и каракалпаками. KhT03 проецируется между ними рядом с астраханскими и ставропольскими ногайцами. Можно отметить, что все три исследованных образца никак не пересекаются с кластером современных еврейских популяций, группирующихся с другими популяциями Ближнего Востока и Леванта.

При сравнении с древними популяциями раннего железного века, раннего и высокого Средневековья (см. рис. 4, б) исследуемые образцы кластеризуются со степны-

ми кочевниками раннего железного века и Средневековья с территории современных Казахстана, Монголии, Китая и Венгрии. Все индивиды проецируются в массив авар с территории Венгрии.

Для определения предковых компонентов, составляющих геномы изученных образцов из Фанагории, проведен анализ методом ADMIXTURE в контексте древних популяций неолита, бронзового, железного и Средних веков (рис. 5). У образцов KhT выделяются четыре компонента, названных в соответствии с группами, в которых каждый преобладает: анатолийские неолитические земледельцы (ANF) (Turkey_Marmara_Barcin_N.AG), европейские охот-

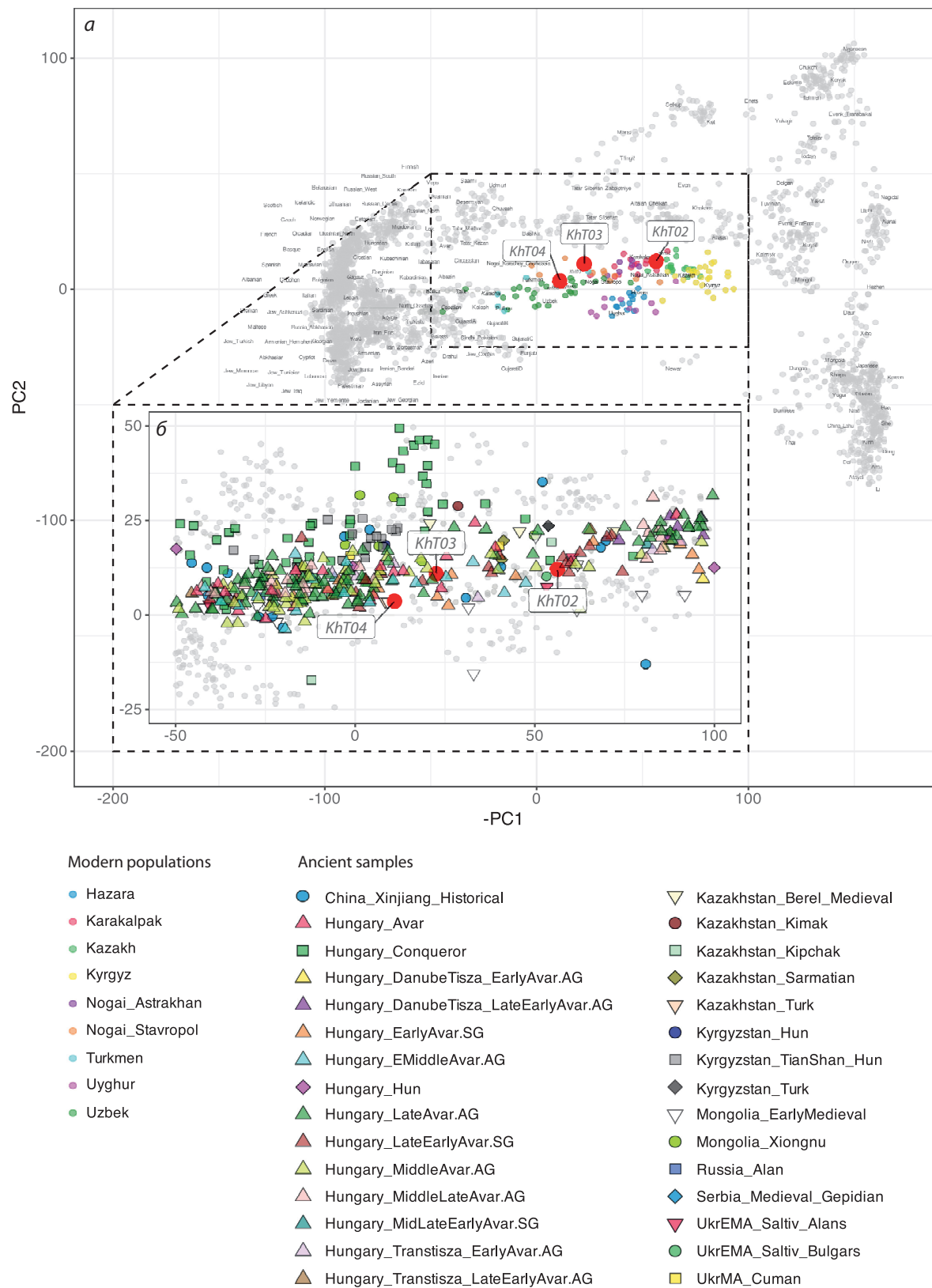


Рис. 4. Проекция геномных профилей исследуемых индивидов из Фанагории хазарского времени (KhT02–KhT04) (отмечено красным цветом) в пространстве главных компонент (PC1 и PC2), сформированная на основе генетических профилей представителей современных евразийских популяций (серые точки), цветными точками отмечены образцы современных хазарейцев, каракалпаков, казахов, ногайцев, туркмен, уйгуров и узбеков (а); проекция геномных профилей исследуемых индивидов с древними группами из открытых источников со средней датировкой от 1700 до 700 лет назад (б).

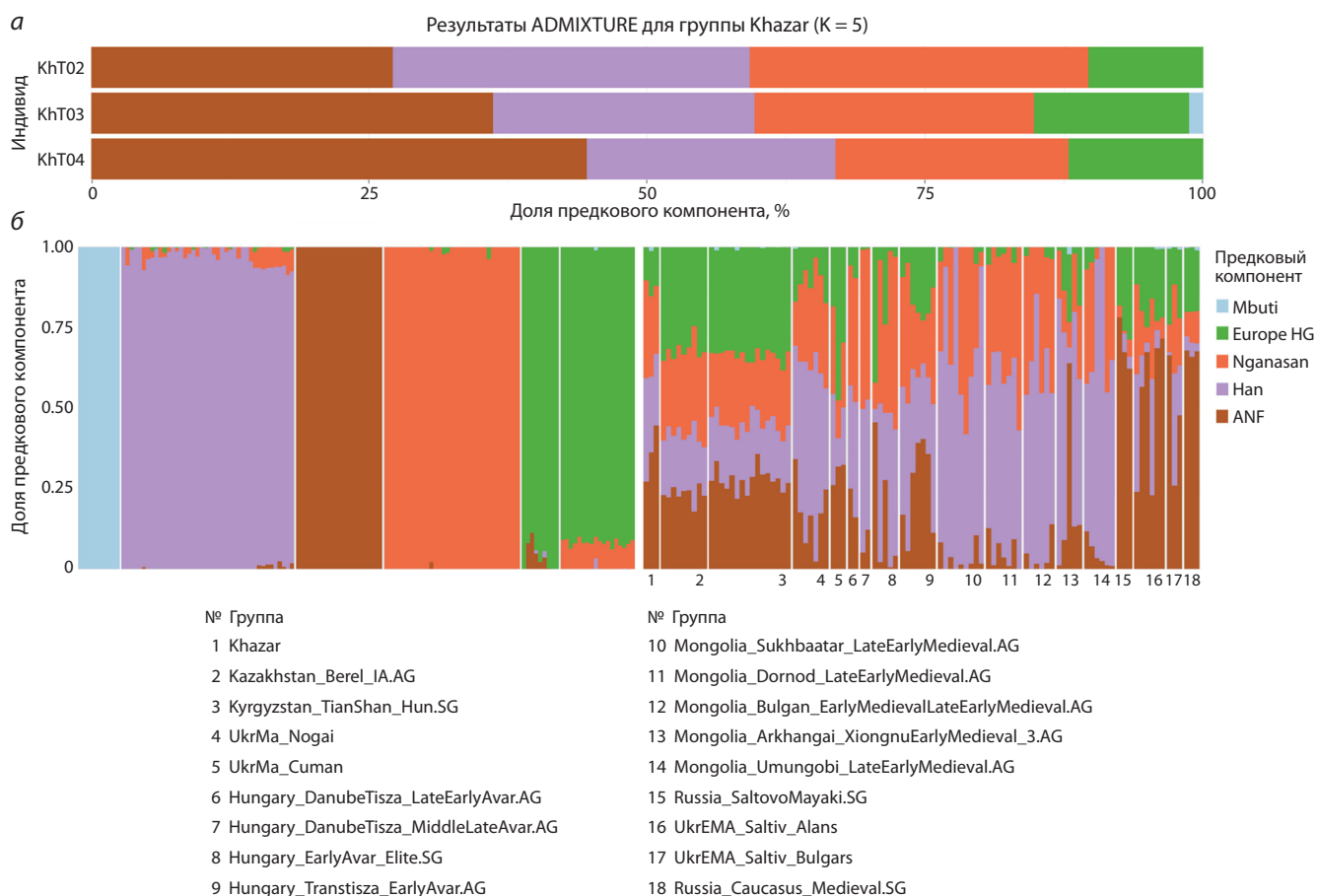


Рис. 5. Результаты анализа ADMIXTURE (K = 5).

а – для исследуемых образцов KhT02–04; **б** – для шести групп, где максимизирован один из предковых компонентов, и для некоторых групп кочевников железного и Средних веков (см. Приложение 1).

ники-собиратели (Europe HG) (France_Mesolithic.AG, Russia_YuzhnyOleniyOstrov_Mesolithic.AG), восточноазиатский (Han) и древнесибирский компоненты (Nganasan).

Анализ с использованием метода f_3 -статистики показал, что образцы KhT02 и KhT03 имеют генетические профили, сходные с профилями авар с территории Венгрии (табл. 3, рис. 6). Для индивида KhT03 обнаруживается сходство с группой Avar_Asia_Core2, представляющей ранних авар VI–VIII вв. из могильников Apátfalva-Nagy-út-dűlő, Budapest-Csepel-Kavicsbánya, Csólyospálos-Felsőpálos, Fajsz-Garadomb, Felgyő-Ürmöstanya, Kiskörös-Vágóhididűlő, Kunpeszér-Felsőpeszériút-Homokbánya, Makó-Mikócsa-halom с территории Венгрии с преобладающим восточноазиатским компонентом (Maróti et al., 2022). Для индивида KhT04 высокое значение f_3 -статистики, помимо авар, наблюдается для группы средневекового населения Южной Монголии из могильников Банзарт-Хайрхан, гора Эрдэнэ, Ганзагад, Гун-Тармагтай, Их-Увгун, Шар-Толгой в аймаке Умнеговь, Монголия (Mongolia_Umungobi_EarlyMedieval), а также половцев из могильников Мамай-Гора и Великая Знаменка в Запорожье и Кумы Харьковской области (UkrMA_Cuman) (Saag et al., 2025).

Обсуждение

Исследования костных останков из малых курганов в районе хазарского города Саркел на месте современного Цимлянского водохранилища отмечали южносибирские черты, характерные для тюрков и половцев (Гинзбург, 1946). В подкурганных погребениях Нижнего Подонья, связываемых с этническими хазарами (Семенов, 1983; Новосельцев, 1990), были погребены преимущественно монголоиды, а «мужские монголоидные черепа и черепа из женских выборок проявляют наибольшее сходство с гуннами Забайкалья и тюрками-кочевниками Сибири, Алтая и Казахстана» (Батиева, 2002, с. 99). Антропологические исследования останков из Фанагории хазарского времени отмечают присутствие монголоидного компонента (Добровольская, Свиркина, 2018).

Результаты PCA изученных образцов из Фанагории хазарского времени в контексте современных и древних популяций подтверждают выводы антропологии и позволяют говорить о присутствии азиатского компонента в геноме исследованных образцов. Генетический профиль образцов хазарского времени из Нижнего города Фанагории схож с профилем современных тюркоязычных народов Центральной Азии и исторического кочевого населения

Таблица 3. Значения *f3*-статистики *f3*(KhT, Test; Mbuti.DG) для образцов хазарского времени и групп сравнения

Исследуемый образец	Группа сравнения	Аут-группа	<i>f3</i>	stderr	Zscore	nsnps
KhT02	Hungary_DanubeTisza_EarlyAvar.AG	Mbuti	0.291885	0.004902	59.538	33322
	Hungary_DanubeTisza_MiddleLateAvar.AG		0.290993	0.005677	51.258	29211
	Avar_Asia_Core2		0.286955	0.004871	58.914	33559
	Mongolia_Umungobi_EarlyMedieval		0.28378	0.005348	53.059	30283
	Mongolia_EarlyMedieval		0.283269	0.00449	63.086	35545
KhT03	Avar_Asia_Core2		0.279129	0.00303	92.117	161020
	Hungary_DanubeTisza_EarlyAvar.AG		0.278325	0.003062	90.908	159674
	Hungary_DanubeTisza_LateEarlyAvar.AG		0.275194	0.00298	92.349	157505
	Mongolia_Selenge_EarlyMedieval		0.274352	0.003178	86.334	145533
	Hungary_DanubeTisza_MiddleLateAvar.AG		0.273691	0.003343	81.872	139562
KhT04	Mongolia_Umungobi_EarlyMedieval		0.278274	0.004533	61.386	41593
	Hungary_DanubeTisza_EarlyAvar.AG		0.277181	0.004095	67.69	46232
	Hungary_DanubeTisza_LateEarlyAvar.AG		0.276548	0.004191	65.987	45588
	UkrMA_Cuman		0.275737	0.004979	55.385	35218
	Avar_Asia_Core2		0.275528	0.004085	67.446	46719

Примечание. stderr (standard error) – стандартная ошибка оценки *f3*-статистики, характеризующая точность ее вычисления; Zscore – отношение значения *f3* к стандартной ошибке (*f3*/stderr), отражающее статистическую надежность оценки; чем выше значение, тем надежнее результат; nsnps – число однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), использованных при расчете *f3*-статистики для данной пары образцов.

Евразийской степи, но не свидетельствует об их схожем происхождении.

Степное население формировалось в результате сложных процессов с участием носителей азиатского и европейского генетических компонентов. Вероятно, положение образцов KhT на графике PCA показывает, что процессы, повлиявшие на формирование геномов образцов KhT, схожи с таковыми у степных народов. При этом следует отметить, что три исследованных образца в пространстве главных компонент располагаются на некотором расстоянии друг от друга. Образец KhT04 ближе других к массиву групп с заведомым присутствием западноевразийских корней, KhT02 – к степным тюркским группам (казахи, киргизы), KhT03 – между ними. Сравнение с древними образцами продемонстрировало, что все три образца попадают в крупный кластер авар с территории Венгрии (550–900 гг. н. э.).

Анализ однородительских маркеров мтДНК (см. рис. 3) выявил, что образец KhT02 принадлежит к гаплогруппе C4a1a-a (выделилась около 3.4 тыс. лет назад в Южной Сибири (Derenko et al., 2010; YFull, 2025)), распространенной среди современного населения Китая, Сибири, Афганистана и Пакистана (Van Oven, Kayser, 2009; YFull, 2025), а также обнаруженной у населения монгольского аймака Ховсогол бронзового века, у гуннов и усуней раннего железного века с территории Казахстана, раннесредневековых вестготов с территории Испании и населения Иркутской области раннего бронзового века. Филогенетический анализ показал, что последовательности, наиболее близкие

к мтДНК данного индивида, встречаются у современных образцов.

Образец KhT03 принадлежит к гаплогруппе B4b1a3a (выделилась около 6.8 тыс. лет назад (YFull, 2025)), распространенной у современного населения Южной и Восточной Сибири, тогда как из древних групп была обнаружена у авар VI–IX вв. из Венгрии, у гуннов раннего Средневековья из могильника Берель, Казахстан, и населения Монголии раннего железного века. Последовательности мтДНК, наиболее близкие к мтДНК индивида KhT03, обнаружены у современных народов Сибири, Турции, а также у авар.

Образец KhT04 принадлежит к гаплогруппе T2d2a (выделилась около 5.4 тыс. лет назад (YFull, 2025)), распространенной в современной Турции, Средиземноморье и на Кавказе. Из древних групп эта линия была обнаружена у индивидов из позднеантичного Рима, из иранских могильников Динха-Тепе и Шахри-Сухте бронзового века и могильника железного века Хасанлу, у индивида культуры Езеро раннего бронзового века из Болгарии, этруска раннего железного века из Италии, мадьяра X–XI вв. из Венгрии. Филогеографический анализ выявил, что последовательность мтДНК образца KhT04 наиболее близка к современным образцам с территории Венгрии и Италии, а также к образцу средних веков (X–XI вв.) с территории Венгрии.

Таким образом, на основе как анализа однородительских маркеров мтДНК, так и анализа аутосомных профилей исследуемых образцов мы наблюдаем связь образцов

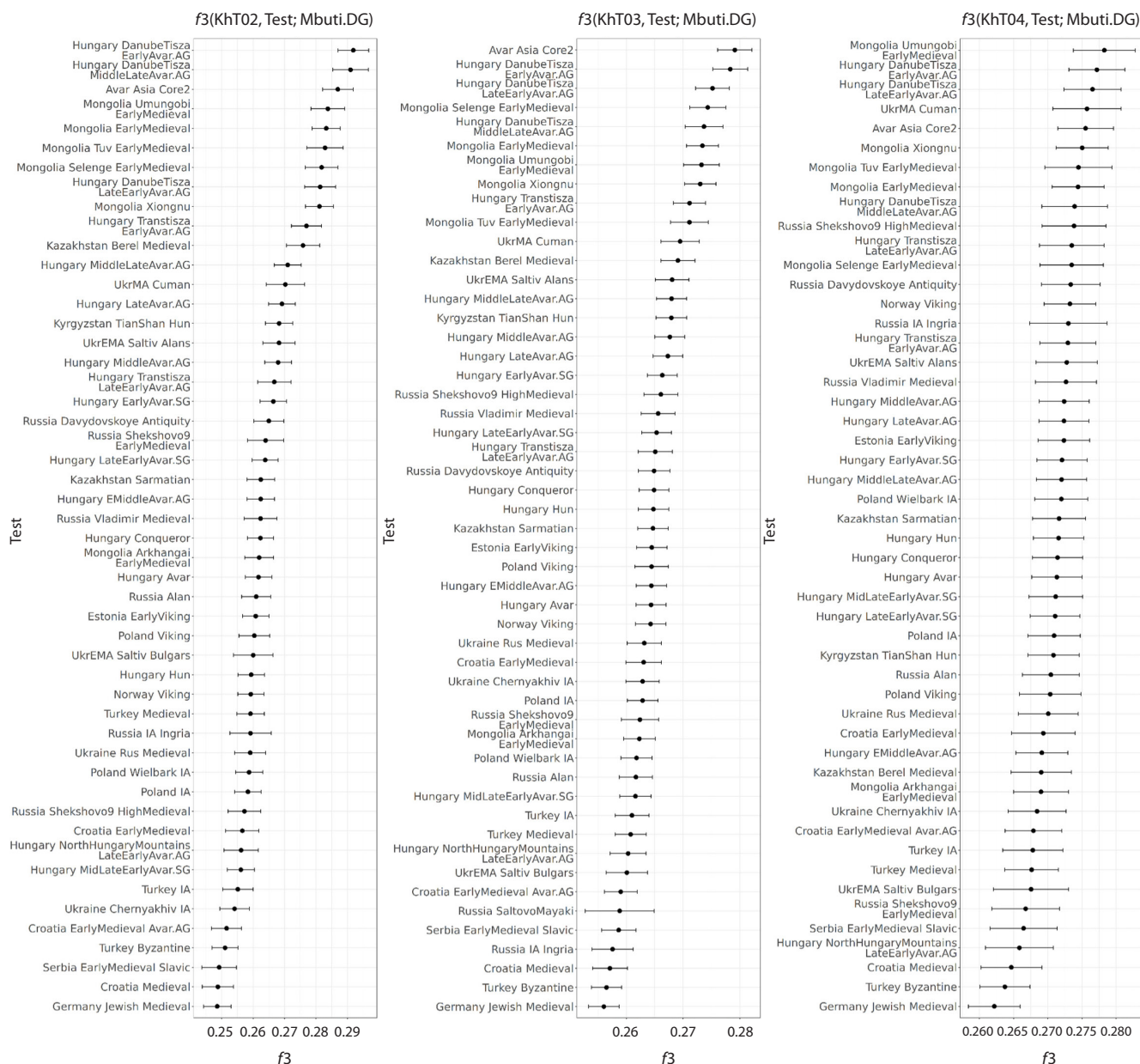


Рис. 6. Графики f_3 -статистики для образцов KhT02, KhT03, KhT04 и древних групп раннего железного века–Средневековья. Чем выше значения f_3 , тем более генетически схожа группа сравнения и исследуемый образец.

KhT02 и KhT03 с центральноазиатскими и сибирскими популяциями, в то время как образец KhT04 имеет корни в западноевропейских популяциях, потомки которых переместились в Европу в результате миграционных процессов в раннем железном веке.

По результатам ADMIXTURE-анализа, у исследованных образцов из Фанагории более половины генома составляют азиатские компоненты: восточноазиатский компонент Han и древнесибирский Nganasan, представленные в равных долях в геномах средневековых образцов с территории Монголии (Mongolia_Sukhbaatar_LateEarlyMedieval.AG, Mongolia_Dornod_LateEarlyMedieval.AG). Кроме того, существенные доли имеют компоненты Europe HG и ANF, распространенные в европейских и ближневосточ-

ных группах, а также встречающиеся у кочевых групп Центральной Азии.

Соотношение компонентов сближает образцы из Фанагории с группами авар VI–IX вв. из могильников в северо-восточной Венгрии Hungary_DanubeTisza_LateEarlyAvar.AG и Hungary_Transtisza_EarlyAvar.AG, что может говорить о схожих процессах в формировании генома. Различие в долях компонента ANF между исследованными индивидами соответствует положению их на проекции PCA: индивид KhT04, кластеризующийся ближе к европейским кластерам, имеет большую долю анатолийского компонента ANF, тогда как у индивида KhT02 доля этого компонента меньше, что согласуется с его положением на графике PCA. Увеличение доли ANF может быть резуль-

татом смешения с группами Причерноморья и Прикавказья, у которых этот компонент преобладает, что видно по изученным группам алан салтово-маяцкой культуры (Russia_SaltovoMayaki.SG) и средневековому населению Анапы (Russia_Caucasus_Medieval.SG).

По результатам f_3 , для всех трех образцов наблюдаются генетические связи с группами авар, относящимися к ранним и элитным группам, у которых сильнее прочих проявляются сибирский и восточноазиатский компоненты. Можно сделать предположение об общем восточноазиатском происхождении авар и предков изученных образцов. Наличие сходства с группой UkrMA_Cuman, имеющей профиль компонентов, характерный для кочевых групп западной части евразийской степи (Saag et al., 2025), у индивида KhT04 говорит о его смешанном происхождении при участии азиатских и европейских компонентов.

Малое количество образцов синхронного времени не позволяет нам однозначно утверждать, является ли генетический профиль индивидов KhT02-04 типичным для представителей непосредственно хазарской общности или другой тюркской группы раннего Средневековья, живших на территории каганата. Наблюдается резкое отличие от исследованных на данный момент индивидов из захоронений античной Фанагории (Манахов и др., 2025; Рождественских и др., 2026), которые проявляют сходство с европейскими популяциями. Можно сказать, что генетические изменения созвучны с культурными и популяционными изменениями в истории города.

В Северном Причерноморье Хазария образовалась после распада Западной части Тюркского каганата, население которого включало генетически различные компоненты. Поэтому исследование генетической структуры Хазарии – крайне сложная задача. Ранее об этом писали краниологи, выделяя разные антропологические компоненты (Гинзбург, 1963). Причем краниологические особенности демонстрируют связь с погребальным обрядом, что указывает на достаточно обособленное существование неких идентичностей внутри хазарского социума. Наши материалы не позволяют судить о том, относили ли себя индивиды, вошедшие в генетический анализ, к различным идентичностям или нет. Поэтому на настоящем уровне исследования мы затрудняемся связывать генетическую неоднородность изученных индивидов с изначальным их разнообразием или с существовавшими различиями между группами внутри Фанагории хазарского времени.

Заключение

Наше исследование подкрепляет антропологические наблюдения о присутствии азиатского компонента в геноме жителей Фанагории в хазарский период. Процессы, стоящие за этим, вероятно, похожи на таковые у авар, имеющих восточноазиатский субстрат, дополненный западноевразийскими компонентами. Ввиду отсутствия доступных полногеномных прочтений этнических хазар нельзя достоверно сказать, принадлежали ли изученные индивиды к хазарам или другим кочевым группам раннего Средневековья.

Список литературы / References

- Андреева Т.В., Патрикеев А.Д., Манахов А.Д., Робаев Е.И. Генетические профили представителей древних популяций Русской равнины эпохи железного века и средневековья. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2022623562. 2022
[Andreeva T.V., Patrikeev A.D., Manakhov A.D., Rogaev E.I. Genetic profiles of representatives of ancient populations of the Russian plain in the Iron and Middle ages. Database. № 2022623562. 2022 (in Russian)]
- Андреева Т.В., Манахов А.Д., Робаев Е.И. Генетические профили населения средневековой Руси. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2023624133. 2023
[Andreeva T.V., Manakhov A.D., Rogaev E.I. Genetic profiles of the population of Medieval Rus. Database. № 2023624133. 2023 (in Russian)]
- Артамонов М.И. История хазар. Л.: Изд-во Гос. Эрмитажа, 1962
[Artamonov M.I. History of the Khazars. Leningrad, 1962 (in Russian)]
- Афанасьев Г.Е. О самоидентификации Хазарского каганата в IX в. (по данным системы обороны). *Краткие сообщения Института археологии*. 2015;238:98-114
[Afanasyev G.E. On the self-identification of the Khazar Khaganate in the 9th century (based on data of the defence system). *Kratkie Soobshcheniya Instituta Arkheologii = Brief Commun Inst Archaeol*. 2015;238:98-114 (in Russian)]
- Балабанова М.А. Антропология населения Нижнего Поволжья (кон. V–I в. пол. IX в.). В: Евлевский А.В. (ред.) Степи Европы в эпоху Средневековья. Донецк: ДонГУ, 2005;55-72
[Balabanova M.A. Anthropology of the population of the Lower Volga region (late 5th – first half of the 9th centuries). In: Evglevsky A.V. (Ed.) Steppes of Europe in the Middle Ages. Donetsk: Donetsk National University Publ., 2005;55-72 (in Russian)]
- Балабанова М.А. Особенности антропологического состава погребальных комплексов хазарского времени. В: Гохман И.И., Громов А.В. (ред.) Некоторые актуальные проблемы современной антропологии. СПб.: МАЭ РАН, 2006;59-61
[Balabanova M.A. Features of the anthropological composition of burial complexes of the Khazar period. In: Gokhman I.I., Gromov A.V. (Eds) Some Current Issues of Modern Anthropology. St. Petersburg, 2006;59-61 (in Russian)]
- Балабанова М.А. Антропологическая структура населения хазарского времени восточно-европейских степей. В: Матишов Д.Г. (ред.) Международная научная конференция «Население Юга России с древнейших времен до наших дней» (Донские антропологические чтения). Ростов-на-Дону: ЮНЦ РАН, 2013; 76-78
[Balabanova M.A. Anthropological structure of the population of the Eastern European steppes in the Khazar period. In: Matishov D.G. (Ed.) International Scientific Conference “The Population of Southern Russia Across the Ages” (The Don Readings in Physical Anthropology). Rostov-on-Don, 2013;76-78 (in Russian)]
- Батиева Е.Ф. Антропология населения Нижнего Подонья в хазарское время. *Донская археология*. 2002;(3-4):71-101
[Batieva E.F. Anthropology of Bottom Don’s population in Khazar Studies. *Donskaya Arkheologiya*. 2002;(3-4):71-101 (in Russian)]
- Гинзбург В.В. Антропологические данные по этногенезу хазар. *Советская этнография*. 1946;2:81-86
[Ginzburg V.V. Anthropological data on the ethnogenesis of the Khazars. *Sovetskaya Etnografiya = Soviet Ethnogr*: 1946;2:81-86 (in Russian)]
- Гинзбург В.В. Антропологический состав населения Саркела – Белой Вежи и его происхождение. В: Артамонов М.И. (ред.) Труды Волго-Донской археологической экспедиции. Материалы и исследования по археологии СССР. М.; Л.: Академия наук СССР, 1963;260-281
[Ginzburg V.V. Anthropological composition of the population of Sarkel – Belaya Vezha and its origin. In: Artamonov M.I. (Ed.) Pro-

- ceedings of the Volga-Don Archaeological Expedition. Materials and Research on the Archaeology of the USSR. Moscow; Leningrad, 1963;260-281 (in Russian)]
- Голофаст Л.А. Раннесредневековая амфора с древнееврейской надписью на свинцовой пломбе из Фанагории. *Российская археология*. 2020;3:159-172. doi 10.31857/S086960630010958-2 [Golofast L.A. Early medieval amphora with a Hebrew inscription on the lead seal from Phanagoria. *Rossiyskaya Archaeologiya = Russian Archaeology*. 2020;3:159-172. doi 10.31857/S086960630010958-2 (in Russian)]
- Добровольская М.В., Свирина Н.Г. Антропологические материалы хазарского времени из Фанагории. В: Фанагория. Результаты археологических исследований. Т. 6. Вып. 3. М., 2018;73-87 [Dobrovolskaya M.V., Svirina N.G. Anthropological materials of the Khazar period from Phanagoria. In: Phanagoria. Results of Archaeological Research. Vol. 6. Moscow, 2018;73-87 (in Russian)]
- Калинина Т.М. Три стадии существования и падение Хазарского каганата. В: Хазары: миф и история. М.: Мосты культуры, 2010; 25-41 [Kalinina T.M. Three stages of existence and the fall of the Khazar Khaganate. In: The Khazars: Myth and History. Moscow: Mosty Kultury Publ., 2010;25-41 (in Russian)]
- Кузнецов В.Д. Фанагорийская синагога (предварительное сообщение). *Российская археология*. 2024;3:117-127. doi 10.31857/S0869606324030085 [Kuznetsov V.D. Phanagorian synagogue (preliminary report). *Rossiyskaya Archaeologiya = Russian Archaeology*. 2024;3:117-127. doi 10.31857/S0869606324030085 (in Russian)]
- Кузнецов В.Д., Остапенко С.Н. Средневековая Фанагория: новые открытия. *Вестник древней истории*. 2024;84(2):386-399. doi 10.31857/S0321039124020077 [Kuznetsov V.D., Ostapenko S.N. Medieval Phanagoria: new discoveries. *Vestnik Drevney Istorii = J Ancient Hist*. 2024;84(2):386-399. doi 10.31857/S0321039124020077 (in Russian)]
- Манахов А.Д., Рождественских Е.В., Айтуганова Э.Д., Кунижева С.С., Ворошилов А.Н., Свирина Н.Г., Остапенко С.Н., Кузнецов В.Д., Рогаев Е.И. Генетические исследования погребенных из двух склепов античной эпохи восточного некрополя Фанагории. В: Труды VII (XXIII) Всероссийского археологического съезда. Т. 3. Красноярск, 2025;370-372 [Manakhov A.D., Rozhdestvenskikh E.V., Aituganova E.D., Kunizheva S.S., Voroshilov A.N., Svirina N.G., Ostapenko S.N., Kuznetsov V.D., Rogaev E.I. Genetic study of individuals buried in two tombs of the Classical period from the eastern necropolis of Phanagoria. In: Proceedings of the 7th (23rd) All-Russian Archaeological Congress. Vol. 3. Krasnoyarsk, 2025;370-372 (in Russian)]
- Новосельцев А.П. Хазарское государство и его роль в истории Восточной Европы и Кавказа. М.: Наука, 1990 [Novoseltsev A.P. The Khazar State and its Role in the History of Eastern Europe and the Caucasus. Moscow: Nauka Publ., 1990 (in Russian)]
- Плетнёва С.А. От кочевий к городам. Салтово-маяцкая культура. М.: Наука, 1967 [Pletneva S.A. From Nomadic Camps to Cities. The Saltovo-Mayaki Culture. Moscow: Nauka Publ., 1967 (in Russian)]
- Плетнёва С.А. Кочевники Средневековья. Поиски исторических закономерностей. М.: Наука, 1982 [Pletneva S.A. Nomads of the Middle Ages. In Search of Historical Patterns. Moscow: Nauka Publ., 1982 (in Russian)]
- Рождественских Е.В., Манахов А.Д., Ворошилов А.Н., Свирина Н.Г., Айтуганова Э.Д., Кунижева С.С., Андреева Т.В., Остапенко С.Н., Кузнецов В.Д., Рогаев Е.И. Историческая генетика Фанагории: геномный анализ людей из эллинистического склепа. *Краткие сообщения Института археологии*. 2026;282: 309-324. doi 10.25681/IARAS.0130-2620.282.309-324 [Rozhdestvenskikh E.V., Manakhov A.D., Voroshilov A.N., Svirina N.G., Aituganova E.D., Kunizheva S.S., Andreeva T.V., Ostapenko S.N., Kuznetsov V.D., Rogaev E.I. Historical genetics of Phanagoria: genomic analysis of individuals from a Hellenistic tomb. *Kratkie Soobshcheniya Instituta Arkheologii = Brief Commun Inst Archaeol*. 2026;282:309-324. doi 10.25681/IARAS.0130-2620.282.309-324 (in Russian)]
- Сазанов А.В., Могаричев Ю.М. Боспор и Хазарский каганат в конце VII–начале VIII вв. В: Журавлев Д.В., Ломтадзе Г.А. (ред.) Северное Причерноморье в эпоху античности и средневековья. М.: ГИМ, 2006;117-129 [Sazanov A.V., Mogarichev Yu.M. The Bosphorus and the Khazar Khaganate in the late 7th–early 8th centuries. In: Zhuravlev D.V., Lomtadze G.A. (Eds) Northern Black Sea Region in Antiquity and the Middle Ages. Moscow, 2006;117-129 (in Russian)]
- Семенов И.Г. Романовское погребение и донские памятники предсальтовской культуры хазарского времени. В: Проблемы хронологии археологических памятников степной зоны Северного Кавказа. Ростов-на-Дону, 1983;98-102 [Semenov I.G. The Romanovka burial and Don region sites of the pre-Saltovo culture of the Khazar period. In: Problems of Chronology of Archaeological Sites of the Steppe Zone of the North Caucasus. Rostov-on-Don, 1983;98-102 (in Russian)]
- Чичуров И.С. Византийские исторические сочинения: «Хронография» Феофана, «Бревиарий» Никифора: тексты, перевод, комментарий. М.: Наука, 1980 [Chichurov I.S. Byzantine Historical Works: “Chronographia” by Theophanes, “Breviarium” by Nikephoros: Texts, Translation, Commentary. Moscow: Nauka Publ., 1980 (in Russian)]
- Чхаидзе В.Н. Фанагория в VI–X веках. М.: Триумф принт, 2012 [Chkhaidze V.N. Phanagoria in the 6th–10th Centuries. Moscow, 2012 (in Russian)]
- Aibabin A.I. Written sources on Byzantine ports in the Crimea from the fourth to seventh century. *Uchenye Zapiski Tavricheskogo Natsional'nogo Universiteta imeni V.I. Vernadskogo. Seriya: Istoricheskiye Nauki*. 2013;26(2):156-166
- Alaçamlı E., Naidoo T., Güler M.N., Sağlıcan E., Aktürk Ş., Mapelli I., Vural K.B., Somel M., Malmström H., Günther T. READv2: advanced and user-friendly detection of biological relatedness in archaeogenomics. *Genome Biol*. 2024;25:216. <https://doi.org/10.1186/s13059-024-03350-3>
- Alexander D.H., Novembre J., Lange K. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Res*. 2009;19(9): 1655-1664. doi 10.1101/gr.094052.109
- Anastasiadou K., Silva M., Booth T., Speidel L., Audsley T., Barrington C., Buckberry J., ... Holst M., Loe L., Armit I., Schulting R., Skoglund P. Detection of chromosomal aneuploidy in ancient genomes. *Commun Biol*. 2024;7(1):14. doi 10.1038/s42003-023-05642-z
- Andreeva T.V., Manakhov A.D., Gusev F.E., Patrikeev A.D., Golovanova L.V., Doronichev V.B., Shirobokov I.G., Rogaev E.I. Genomic analysis of a novel Neanderthal from Mezmaiskaya Cave provides insights into the genetic relationships of Middle Palaeolithic populations. *Sci Rep*. 2022;12(1):13016. doi 10.1038/s41598-022-16164-9
- Chang C.C., Chow C.C., Tellier L.C., Vattikuti S., Purcell S.M., Lee J.J. Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *GigaScience*. 2015;4:7. doi 10.1186/s13742-015-0047-8
- Damgaard P. de B., Marchi N., Rasmussen S., Peyrot M., Renaud G., Korneliussen T., Moreno-Mayar J.V., ... Nielsen R., Sikora M., Heyer E., Kristiansen K., Willerslev E. 137 ancient human genomes from across the Eurasian steppes. *Nature*. 2018;557(7705):369-374. doi 10.1038/s41586-018-0094-2
- Danecek P., Bonfield J.K., Liddle J., Marshall J., Ohan V., Pollard M.O., Whitwham A., Keane T., McCarthy S.A., Davies R.M., Li H. Twelve years of SAMtools and BCFtools. *GigaScience*. 2021;10(2):giab008. doi 10.1093/gigascience/giab008
- Derenko M., Malyarchuk B., Grzybowski T., Denisova G., Rogalla U., Perkova M., Dambueva I., Zakharov I. Origin and Post-Glacial dis-

- persal of mitochondrial DNA haplogroups C and D in Northern Asia. *PLoS One*. 2010;5(12):e15214. doi 10.1371/journal.pone.0015214
- Dunlop D.M. The History of the Jewish Khazars. Princeton University Press, 1954
- Ehler E., Novotný J., Juras A., Chyleński M., Moravčík O., Pačes J. AmtDB: a database of ancient human mitochondrial genomes. *Nucleic Acids Res*. 2019;47(D1):D29-D32. doi 10.1093/nar/gky843
- Eltsov N., Volodko N. MtPhyl: Software tool for human mtDNA analysis and phylogeny reconstruction [WWW Document]. URL: <http://eltsov.org>
- Flegontov P., Altınışık N.E., Changmai P., Rohland N., Mallick S., Adamski N., Bolnick D.A., ... O'Rourke D.H., Krause J., Pinhasi R., Reich D., Schiffels S. Palaeo-Eskimo genetic ancestry and the peopling of Chukotka and North America. *Nature*. 2019;570(7760):236-240. doi 10.1038/s41586-019-1251-y
- Fu Q., Mittnik A., Johnson P.L.F., Bos K., Lari M., Bollongino R., Sun C., ... Caramelli D., Castellano S., Reich D., Pääbo S., Krause J. A revised timescale for human evolution based on ancient mitochondrial genomes. *Curr Biol*. 2013;23(7):553-559. doi 10.1016/j.cub.2013.02.044
- Gansauge M.-T., Meyer M. Single-stranded DNA library preparation for the sequencing of ancient or damaged DNA. *Nat Protoc*. 2013;8(4):737-748. doi 10.1038/nprot.2013.038
- Golden P.B. Khazar Studies. Budapest: Akadémiai kiadó, 1980
- HaploTree. 2025. URL: <https://haplotree.info/home/> (accessed 12.1.25)
- Jónsson H., Ginolhac A., Schubert M., Johnson P.L.F., Orlando L. mapDamage2.0: fast approximate Bayesian estimates of ancient DNA damage parameters. *Bioinformatics*. 2013;29(13):1682-1684. doi 10.1093/bioinformatics/btt193
- Lazaridis I., Patterson N., Mittnik A., Renaud G., Mallick S., Kirsanov K., Sudmant P.H., ... Slatkin M., Pääbo S., Kelso J., Reich D., Krause J. Ancient human genomes suggest three ancestral populations for present-day Europeans. *Nature*. 2014;513(7518):409-413. doi 10.1038/nature13673
- Lazaridis I., Patterson N., Anthony D., Vyazov L., Fournier R., Ringbauer H., Olalde I., ... Palamara P.F., Mallick S., Rohland N., Pinhasi R., Reich D. The genetic origin of the Indo-Europeans. *Nature*. 2025;639(8053):132-142. doi 10.1038/s41586-024-08531-5
- Li H., Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics*. 2009;25(14):1754-1760. doi 10.1093/bioinformatics/btp324
- Mallick S., Micco A., Mah M., Ringbauer H., Lazaridis I., Olalde I., Patterson N., Reich D. The Allen Ancient DNA Resource (AADR) a curated compendium of ancient human genomes. *Sci Data*. 2024;11(1):182. doi 10.1038/s41597-024-03031-7
- Maróti Z., Neparáczki E., Schütz O., Maár K., Varga G.I.B., Kovács B., Kalmár T., ... Gulyás B., Kovacsóczy B.N., Gál S.S., Tomka P., Török T. The genetic origin of Huns, Avars, and conquering Hungarians. *Curr Biol*. 2022;32(13):2858-2870.e7. doi 10.1016/j.cub.2022.04.093
- Moutham N., Klunk J., Kuch M., Fournier R., Poinar H. Surveying the repair of ancient DNA from bones via high-throughput sequencing. *BioTechniques*. 2015;59(1):19-25. doi 10.2144/000114307
- Nikitin A.G., Lazaridis I., Patterson N., Ivanova S., Videiko M., Dergachev V., Kotova N., ... Workman J.N., Zalzal F., Mallick S., Rohland N., Reich D. A genomic history of the North Pontic Region from the Neolithic to the Bronze Age. *Nature*. 2025;639(8053):124-131. doi 10.1038/s41586-024-08372-2
- Patterson N., Price A.L., Reich D. Population structure and eigenanalysis. *PLoS Genet*. 2006;2(12):e190. doi 10.1371/journal.pgen.0020190
- Patterson N., Moorjani P., Luo Y., Mallick S., Rohland N., Zhan Y., Genschoreck T., Webster T., Reich D. Ancient admixture in human history. *Genetics*. 2012;192(3):1065-1093. doi 10.1534/genetics.112.145037
- Petr M., Vernot B., Kelso J. *admixr* – R package for reproducible analyses using ADMIXTOOLS. *Bioinformatics*. 2019;35(17):3194-3195. doi 10.1093/bioinformatics/btz030
- Picard Tools – By Broad Institute [WWW Document] 2019. URL: <https://broadinstitute.github.io/picard/> (accessed 12.1.25)
- Rasmussen M., Guo X., Wang Y., Lohmueller K.E., Rasmussen S., Albrechtsen A., Skotte L., ... Sicheritz-Pontén T., Vilems R., Nielsen R., Wang J., Willerslev E. An Aboriginal Australian genome reveals separate human dispersals into Asia. *Science*. 2011;334(6052):94-98. doi 10.1126/science.1211177
- Renaud G., Slon V., Duggan A.T., Kelso J. Schmutzi: estimation of contamination and endogenous mitochondrial consensus calling for ancient DNA. *Genome Biol*. 2015;16:224. doi 10.1186/s13059-015-0776-0
- Saag L., Utevska O., Zadnikov S., Shramko I., Gorbenko K., Bandrivskiy M., Pavliv D., ... Barrington C., Gilardet A., Macleod R., Skoglund P., Thomas M.G. North Pontic crossroads: mobility in Ukraine from the Bronze Age to the early modern period. *Sci Adv*. 2025;11(2):eadr0695. doi 10.1126/sciadv.adr0695
- Schiffels S. *stschiff/sequenceTools*. 2025. URL: <https://github.com/stschiff/sequenceTools>
- Schönherr S., Weissensteiner H., Kronenberg F., Forer L. Haplogrep 3 – an interactive haplogroup classification and analysis platform. *Nucleic Acids Res*. 2023;51(W1):W263-W268. doi 10.1093/nar/gkad284
- Schubert M., Ginolhac A., Lindgreen S., Thompson J.F., Al-Rasheid K.A., Willerslev E., Krogh A., Orlando L. Improving ancient DNA read mapping against modern reference genomes. *BMC Genomics*. 2012;13:178. doi 10.1186/1471-2164-13-178
- Schubert M., Lindgreen S., Orlando L. AdapterRemoval v2: rapid adapter trimming, identification, and read merging. *BMC Res Notes*. 2016;9:88. doi 10.1186/s13104-016-1900-2
- Thorvaldsdóttir H., Robinson J.T., Mesirov J.P. Integrative Genomics Viewer (IGV): high-performance genomics data visualization and exploration. *Brief Bioinform*. 2013;14(2):178-192. doi 10.1093/bib/bbs017
- Van Oven M., Kayser M. Updated comprehensive phylogenetic tree of global human mitochondrial DNA variation. *Hum Mutat*. 2009;30(2):E386-E394. doi 10.1002/humu.20921
- YFull [WWW Document] 2025. URL: <https://www.yfull.com/> (accessed 12.01.25)

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 23.12.2025. После доработки 29.12.2025. Принята к публикации 29.12.2025.

doi 10.18699/vjgb-26-78

Analysis of *CFTR* mutation spectrum in Yugra region (Russian Federation)

M.Yu. Donnikov ¹, A.V. Morozkina ¹, L.V. Kovalenko ¹, N.A. Donnikova ², V.V. Mescheryakov¹

¹ Medical Institute of Surgut State University, Surgut, KhMAO-Yugra, Russia

² Surgut Regional Clinical Center for Protection of Maternity and Childhood, Surgut, KhMAO-Yugra, Russia

 donnikov@gmail.com

Abstract. Rapid progress in both molecular diagnostics tools and targeted therapy for cystic fibrosis (CF) requires clear understanding of *CFTR* mutation spectrum in population constantly living in any large region of any country. There are still no published results of comprehensive genetic study of CF patients from the Yugra region (Western Siberian part of Russia). Three-step molecular genetic approach was used for gDNA samples derived from a group of 54 CF patients living in the Yugra region: (1) AFLP/RFLP was used for the panel of 35 major *CFTR* mutations; (2) NGS, for full sequencing of exons and exon-intron boundaries of *CFTR* gene; and (3) the MLPA technique, to search for large gene rearrangements. The search of major *CFTR* mutations in multiethnic Yugra population accounted for only 76.6 % of all CF-causing mutations. Most common were variants F508del (rs113993960), 1677delTA (rs121908776), CFTRdele2,3, E92K (rs121908751), R1066C (rs78194216). Genomic DNA samples from 19 CF patients from the tested group in which only one mutant allele was identified were analyzed by the NGS approach followed by MLPA. This allowed to reveal 19 rare pathogenic *CFTR* variants, including five new variants absent in CF mutation databases. Generally, three-tier molecular genetics approach applied for the first time for a Yugra-originated cohort of CF patients allowed to find 12 missense mutations, 9 nonsense ones, 6 in/dels, 4 splice-site variants, 1 CNV. Three alleles remained unidentified. Deciphering the genetic background for CF patients living in Yugra allowed to support rational administration of *CFTR* modulators with profound clinical effect. The need to develop a region-specific testing panel for common *CFTR* mutations is demonstrated.

Key words: cystic fibrosis; *CFTR* gene; common and rare mutations; KhMAO-Yugra

For citation: Donnikov M.Yu., Morozkina A.V., Kovalenko L.V., Donnikova N.A., Mescheryakov V.V. Analysis of *CFTR* mutation spectrum in Yugra region (Russian Federation). *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii* = *Vavilov J Genet Breed*. 2026;30(5):775-781. doi 10.18699/vjgb-26-78

Funding. The study was conducted with the financial support of the Fund of Scientific and Technological Development of Yugra (scientific project # 2023-574-05).

Acknowledgements. We deeply appreciate the aid of pulmonologist Natalya Satsuk from Nizhnevartovsk Regional Children Hospital in data retrieval from the Regional CF Patients Registry.

Анализ спектра мутаций гена *CFTR* в ХМАО-Югре

М.Ю. Донников ¹, А.В. Морозкина ¹, Л.В. Коваленко ¹, Н.А. Донникова ², В.В. Мещеряков¹

¹ Медицинский институт Сургутского государственного университета, Сургут, ХМАО-Югра, Россия

² Сургутский окружной клинический центр охраны материнства и детства, Сургут, ХМАО-Югра, Россия

 donnikov@gmail.com

Аннотация. Быстрый прогресс как в молекулярной диагностике, так и в таргетной терапии муковисцидоза (МВ) требует четкого понимания спектра мутаций в гене *CFTR* у населения, постоянно проживающего в крупном регионе любой страны. До сих пор нет опубликованных результатов ни одного комплексного генетического исследования пациентов с МВ из ХМАО-Югры (Западно-Сибирская часть России). Образцы геномной ДНК, полученные от группы из 54 пациентов с МВ, проживающих в Югре, были изучены с использованием трехэтапного молекулярно-генетического подхода: 1) ПДРФ-анализ для панели из 35 мажорных мутаций в гене *CFTR*; 2) NGS для полного секвенирования экзонов и экзон-интронных границ гена *CFTR*; 3) метод MLPA для поиска крупных генных перестроек. Поиск мажорных мутаций в гене *CFTR* в многоэтнической популяции Югры позволяет выявить лишь 76.6 % от всех мутаций, вызывающих МВ. Наиболее распространенными являются варианты F508del (rs113993960), 1677delTA (rs121908776), CFTRdele2,3, E92K (rs121908751), R1066C (rs78194216). Геномная ДНК 19 пациентов с МВ из исследуемой группы, у которых идентифицирован только один мутантный аллель, была проанализирована с помощью метода NGS с последующим исследованием методом MLPA. В результате выявлены 19 редких патогенных вариантов гена *CFTR*, включая пять новых вариантов, информация о которых отсутствует в базах данных мутаций гена *CFTR*. В целом трехступенчатый молекулярно-генетический

подход, впервые примененный для когорты пациентов с МВ из ХМАО-Югры, позволил обнаружить 12 миссенс-мутаций, 9 нонсенс-мутаций, 6 инсерций/делеций, 4 варианта сайта сплайсинга и 1 CNV. Три аллеля остались неидентифицированными. Расшифровка генетического груза пациентов с МВ, проживающих в ХМАО-Югре, позволяет обосновать рациональное назначение модуляторов белка *CFTR* с выраженным клиническим эффектом. Показана необходимость разработки регион-специфической панели тестирования на распространенные мутации в гене *CFTR*.

Ключевые слова: муковисцидоз; ген *CFTR*; частые и редкие мутации; ХМАО-Югра

Introduction

Yugra is officially known as Khanty-Mansi Autonomous Okrug – Yugra and is located in the Western Siberian part of the Russian Federation, with a predominantly urban population of 1.7 million people scattered over an area of 534,000 km² in several large towns and a string of small settlements. The indigenous population (Khanty and Mansi) currently comprises only 27,000 people. Rapid development of oil and gas production over the last 40 years led to radical changes in population structure. The incoming migrant population is characterized by ethnic heterogeneity and a high proportion of Turk-originated and Finno-Ugric cohorts with a predominance of people of Slavic origin. The formation of an ethnically and genetically heterogeneous population creates a need of genetic studies aimed to reveal regional features of hereditary disorders.

Among these, cystic fibrosis (CF, OMIM #219700) is one of the most frequent genetic conditions with an autosomal recessive type of inheritance; it is common among Europeans and residents of North America (Ong, Ramsey, 2023; Amaral, Pankonien, 2025). CF is a multiple organ pathology caused by mutations in the *CFTR* gene encoding the chloride channel (Callebaut et al., 2018). Until recently, the diagnosis of CF was determined by characteristic clinical manifestations of the respiratory system and exocrine glands, indicating the onset of irreversible pathological changes (Sosnay et al., 2017b). With the spread of neonatal (newborn) screening (NBS), the diagnosis of CF becomes presymptomatic (Farrell et al., 2017), which largely determines the early initiation of therapy, prevents the development of severe complications, and improves prognosis.

Currently, more than 2,300 mutations of the *CFTR* gene are known (Stepanova et al., 2025), and their spectrum is strongly population-specific, which makes it difficult to correctly diagnose CF in heterogeneous populations (Petrova et al., 2020; Ayupova et al., 2024). A complete genetic diagnosis is of particular relevance in connection with optimized genetic counseling and facilitation of mutation-specific targeted CF therapy in clinical practice (Parisi et al., 2025; Terlizzi, Lopes-Pacheco, 2025). The goal of CF genetic diagnostics is to detect at least one clinically significant mutation in the *CFTR* gene in the majority of patients with clinical symptoms of CF (Sosnay et al., 2017a), which is ensured by using a panel of frequent (major) mutations. Federal genetic centers in the Russian Federation use panels of 33 mutations characteristic of the Russian population (Petrova et al., 2020), which identify up to 85 % of mutant CF alleles as described previously (Petrova et al., 2016). The search for the second mutation for patients from remote Yugra locations was until recently hampered by a number of resource and logistics issues and thus was performed mostly retrospectively.

According to annually updated data from CF regional registry, there are 54 patients with confirmed CF diagnosis (as of June 2025), and each year this number is gradually increased by 3–4 children. Since 2006, CF has been one of the five diseases monitored through newborn screening (NBS) program in Russia, and CF diagnostics begins immediately after birth by continuous screening examination (Therrell et al., 2024). In Yugra, as throughout Russia, mass screening of newborns for CF has been carried out as part of a national project, an important component of which is the genetic diagnostics of CF. The results of many years of continuous research make it possible to calculate and predict the incidence of CF, assess the effectiveness of the genetic diagnostics of CF NBS. In this regard, there is a strong need to study the structure of *CFTR* mutations in a cohort of patients in a given territory, which determines the necessity for a complete examination of patients using a method of gene diagnostics available for regional conditions. Thus, the aim of the study was to describe the range of *CFTR* mutations revealed in a local Russian region characterized by a small general population scattered over a large territory and having a healthcare system capable of applying modern genetic technologies to study hereditary diseases like CF.

Materials and methods

The study was approved by the Local Ethics Committee of the Medical Institute of Surgut State University (protocol No. 6, February 12, 2025). All participants (or their official representatives) gave their informed consent. Clinical and demographic characteristics of the studied CF patients living in Yugra are listed in Table 1. All EDTA blood samples were retrieved as frozen aliquots from the regional biobank located in the Medical Institute of Surgut State University.

AFLP/RFLP. In-house amplified fragment length (AFLP) and restriction fragment length polymorphism (RFLP) techniques were used to detect insertion/deletion variants and nucleotide substitutions, respectively (Ivaschenko et al., 1995). The panel included 35 CF-causing mutations (legacy names given) relevant for the North-Western region of Russia: F508del (rs113993960), I507del (rs121908745), CFTRdele2,3, E92K (rs121908751), 3849+10kb C>T (rs75039782), 1677delTA (rs121908776), N1303K (rs80034486), W1282X (rs77010898), L138ins (rs397508686), G542X (rs113993959), 394delTT (rs121908769), R334W (rs121909011), W1282R (rs766509028), S1196X (rs886061212), 2143delIT (rs121908812), 1367del5 (rs397508184), 2183AA>G (rs121908799), R1066C (rs78194216), W1310X (rs397508645), 712-1G>T (rs121908793), 621+1G>T (rs78756941), R553X (rs74597325), L1335P (rs397508658), 4015delA (rs1553429051), R1162X (rs74767530),

3120+1G>A (rs75096551), 2184insA (rs121908769), 2184delA (rs121908798), 2113delA, 2118del4, 2176insC, 2183delAA (rs121908769), R347P (rs77932196), G551D (rs75527207), W1282G. In cases where only one *CFTR* mutation was found, we performed NGS of the entire gene. Positive findings were confirmed in parents to determine mutant allele segregation.

Next generation sequencing (NGS) was performed on the MiSeq platform (Illumina, USA) with library preparation based on NimbleGen SeqCap EZ Choice: 151012_HG38_CysFib_EZ_HX3, fully covering the *CFTR* gene. Reference genome NCBI37/hg19 was used for NGS data analysis. Genetic variants were identified by BWA (<http://bio-bwa.sourceforge.net/>), GATK (<https://www.broadinstitute.org/gatk/>), SNPeff (<http://snpeff.sourceforge.net/>), Basespace Illumina (<https://basespace.illumina.com/apps/>). Variant pathogenicity was assessed using data from Exome Aggregation Consortium (<http://exac.broadinstitute.org/>), Exome Variant Server (<http://evs.gs.washington.edu/EVS/>), 1000 Genomes Project (<http://browser.1000genomes.org/index.html>), dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>), ClinVar (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>), OMIM (<http://omim.org/>), HGMD (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>). Final results were verified by direct Sanger sequencing using an ABI 3130 genetic analyzer (Applied Biosystems, USA).

MLPA. A search for large rearrangements (deletions/duplications – CNV) involving the *CFTR* locus in chromosome region 7q31.2 was performed using multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) in cases where no pathogenic variant was found. MLPA was performed using SALSA MLPA probemix P091-D2 *CFTR* (MRC-Holland, the Netherlands) according to the manufacturer’s recommendations. The MLPA results were analyzed using Coffalyser.Net (MRC-Holland).

To assess the disease course in patients living in Yugra and included in regional CF registry, the following key clinical parameters were taken into account: the patient age at follow-up (first half of 2025), sweat chloride concentration (mmol/L), body mass index (BMI) (kg/m²), lung function estimation (FEV₁, % predicted), microbiological status of the lower respiratory tract.

Statistical analysis was performed using the STATISTICA 8.0 program. To compare the observed categorical variables, the Fisher test was used, while for quantitative tests, the Mann–Whitney test was utilized. Results were considered significant at $p \leq 0.05$.

Results

As of June 2025, 54 CF patients were officially registered in Yugra (Table 1). The long-term mean annual prevalence (2016–2024) was 48.6 cases, and the incidence was one case

Table 1. Demographic, clinical and brief genetics characteristic of the CF patients studied

Parameter	Group 1 (without NBS), N = 11	Group 2 (with NBS), N = 43	Statistics
Age at follow-up, years			
M ± SD	22.0 ± 5.8	6.9 ± 4.2	<0.01*
Me (Q25; Q75)	19.0 (18.5; 25.6)	7.2 (3.1; 10.5)	
Sex distribution, n (%)			
Males	6 (54.5)	21 (47.7)	>0.05†
Females	5 (45.5)	23 (52.3)	
Age of diagnosis, years			
Me (Q25; Q75)	5.90 (0.79–7.56)	0.28 (0.14–1.25)	0.001*
Sweat test			
Sweat conductivity, mmol/L			
Me (Q25; Q75)	101.5 (98.9–113.4)	102.0 (77.5–108.5)	0.82*
BMI, kg/m ²			
Me (Q25; Q75)	20.1 (18.4; 21.4)	19.4 (17.7–19.9)	0.045*
Lung function			
FEV ₁ , % of predicted			
Me (Q25; Q75)	93.0 (86.5–95.0)	100.0 (95.0–111.3)	0.011*
Microbiology			
Intermittent <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , n (%)	10 (45.5)	4 (12.5)	<0.05†
Chronic <i>Staphylococcus aureus</i> , n (%)	16 (72.7)	22 (68.8)	<0.05†
CFTR mutation testing			
Three mutations known (complex allele), n (%)	0	2 (4.7)	0†
Two mutations known, n (%)	9 (81.8)	40 (93.0)	>0.05†
One variant known, n (%)	11 (100.0)	43 (100.0)	>0.05†
F508del/F508del, n (%)	1 (9.1)	9 (20.9)	<0.05†
F508del/non-F508del, n (%)	8 (72.7)	25 (58.1)	>0.05†
non-F508del/non-F508del, n (%)	2 (18.2)	9 (20.9)	>0.05†

* Mann–Whitney U test (when comparing median values).
† Fischer’s exact test (when comparing %).

per 9,025 newborns per year, which corresponds to nationwide data (1:9,000) (Registry..., 2025).

The diagnosis of CF was confirmed according to the guidelines of the European Cystic Fibrosis Society as well as the Russian National Consensus on Cystic Fibrosis: for adult patients, the presence of typical pulmonary or gastrointestinal symptoms was established, for patients with NBS, at least one of the following was found: two positive sweat chloride tests, or the identification of two *CFTR* mutations *in trans* (Kondratyeva et al., 2019; Castellani et al., 2023).

The studied cohort consisted of 54 patients, mostly children (45 individuals) and 9 adults (the oldest was born in 1988). To demonstrate NBS efficiency, we subdivided the cohort in two subgroups depending on NBS availability (Table 1). All of the known CF patients residing in Yugra and included in regional CF registry were genetically studied in consecutive steps. As the first step, we used the testing panel of our colleagues from St. Petersburg (Glotov O., personal communication) developed for routine testing of CF-suspected individuals living in North-western Russia. Samples with unidentified mutant alleles underwent NGS of the *CFTR* gene. As the last step, MLPA was performed to confirm or identify large gene rearrangements.

Analysis of the patient cohort using a panel of 35 *CFTR* mutations common in Northwestern Russia revealed a particularly high frequency of two mutations in the Yugra population: c.1521_1523delCTT (p.Phe508del; F508del) – 53/111 alleles (47.7 %), and c.1545_1546delTA (p.Tyr515X; 1677delTA) – 8/111 alleles (7.2 %) (Table 2). Overall, only 15 out of the 35 mutations included in the panel were detected (Table 2), whereas 20 mutations were not found at all. Thus, the overall efficiency of the panel was detection of 85/111 alleles (76.6 %), which is less than that for a similar panel developed by our colleagues from Moscow (83 %); it obviously needs further customization for regional-specific *CFTR* variants (Petrova et al., 2020).

Sequencing of all the samples confirmed the results of panel testing and also additionally identified 19 rare mutations, 15 of which were unique (reported in individual families). Using the MLPA method, only one type of large rearrangement of the *CFTR* gene (c.54-5940_273+10250del21kb, CFTRdele2,3) was found in 5 unrelated patients, which constitutes 5/111 (4.5 %) of all tested mutant alleles. In three patients (two adults and one kid) with a confirmed CF diagnosis, only one mutation was revealed despite the use of NGS and MLPA. Thus, three mutant alleles remain unidentified and require further in-depth study.

As a result, 34 pathogenic genetic variants in the *CFTR* gene were detected (Table 2). Among these, there are 12 missense mutations, 9 nonsense mutations, 5 frameshift deletions, 1 frameshift insertion, 4 splice-site mutations, 1 in-frame insertion, and 1 CNV. Frequent mutation E92K (prevalent for Chuvash nationality) was attributed to both missense and splice-site mutation classes.

Mutation F508del (c.1521_1523delCTT) is among the most common *CFTR* variants worldwide (Bobadilla et al., 2002), and it is the most frequent in Russian CF patients (52.61 % in the 2023 registry (Registry..., 2025)). Its frequency in Yugra (47.7 %) precedes the lowest number observed in the North

Caucasian region of Russia (27.1 %). F508del homozygotes were observed in 10 patients, F508del in a heterozygous compound state was observed in 33 patients (61.1 %).

The second most frequent mutation identified (1677delTA) was described previously as common for Georgian patients (Petrova et al., 2021); but in Yugra, these eight alleles are distributed among patients of Chechen origin (two siblings and one unrelated proband are homozygous and two unrelated patients are heterozygous for this variant). These cases changed the expected distribution of *CFTR* mutations within the Yugra population, in spite of the fact that the Chechens comprise only 0.41 % of the Yugra population structure (Rosstat data, available online). A possible explanation is health-related internal migration due to a high level of medical care for CF patients in Yugra compared to North Caucasus. Before these families relocated to Yugra, the second most frequent variant had been the Slavic-associated CFTRdele2,3 variant.

The reported predominant distribution of the CFTRdele2,3 (c.54-5940_273+10250del21kb) variant for Eastern European populations (Dörk et al., 2000) is confirmed in our study, but compared to the All-Russian CF registry, this mutation is the third by frequency in Yugra: 5/111 alleles (4.5 % vs 6.15 %, respectively), preceded by the 1677delTA mutation.

The fourth most frequent mutation is E92K (c.274G>A) – 4/111 alleles (3.6 %). It has been described in the Chuvash population (Stepanova et al., 2012). In our study all four alleles were detected in the heterozygous state in unrelated patients of Russian origin.

The fifth most frequent mutation is R1066C (c.3196C>T) – 3/111 alleles (2.7 %) – revealed in a homozygous state in one CF patient and in one unrelated heterozygous patient, both of non-Slavonic nationalities (Azerbaijani and Dagestan).

Five other relatively frequent mutations (L138ins, S466X(TAA), R1070Q, L467F, R668C) were observed in 2/111 alleles (1.8 %) each in a compound heterozygous state. Moreover, S466X(TAA) mutation formed a complex allele with R1070Q, which was revealed in two siblings. L138ins was also revealed in two siblings. N1303K was found in a homozygous state in one proband. The remaining 23 mutant alleles were private and were observed only once in a compound heterozygous state.

Additionally, five novel variants absent from the main CF mutation databases (CFTR1, CFTR2, ExAC) were identified for the first time: three of them are nonsense mutations (c.252T>A (p.Tyr84X), c.831G>A (p.Trp277X), c.1580dupA (p.Glu528Argfs*40)), one mutation is missense (c.3983T>A (p.Ile1328Lys)), and one mutation is a frameshift deletion (c.1845_1846delAA). Clinical significance of these newly found mutations is estimated as “likely pathogenic” (Zhang et al., 2020) and requires additional functional study. All five children carrying these variants *in trans* with F508del had high sweat chloride values and a pancreatic-insufficient phenotype with pulmonary manifestations typical of CF.

Over half of the studied alleles (62) corresponding to a relatively low variety of mutations *per se* (only four – F508del, E92K, R1066C, N1303K) are attributed to the II class of *CFTR* mutation. Among these, ten patients were homozygous and 33 patients were heterozygous for F508del. That makes a

Table 2. The *CFTR* gene variants identified in Yugra-living patients

No.	cDNA variant	Protein change	Legacy name	Exon/intron	Mutation type	Mutation class	Allele number	%	% in Russian CF registry (2023)	% in ECFS registry (2023) §	% in CFTR2 DB †
1	c.1521_1523delCTT	p.Phe508del	F508del	11e	i	II	53	47.7	52.61	60.41	69.70
2	c.1545_1546delTA	p.Tyr515X	1677delTA	11e	sd	I	8	7.2	2.12		0.09
3	c.54-5940_273+10250 del21kb	p.Ser18Argfs*16	CFTRdele2,3	2-3e	CNV	I	5	4.5	6.15	0.96	0.29
4	c.274G>A	p.Glu92Lys	E92K	4e	m, s	II	4	3.6	3.25		0.03
5	c.3196C>T	p.Arg1066Cys	R1066C	20e	m	II	3	2.7	0.38		0.15
6	c.412_413insACT	p.Leu137_Leu138insThr	L138ins	4e	si	IV	2	1.8	1.53		0.01
7	c.1397C>G#	p.Ser466X	S466X(TAA)	11e	n	I	2	1.8	0.59		0.03
8	c.1399C>T	p.Leu467Phe	L467F	11e	m	?	2	1.8	–		
9	c.2002C>T	p.Arg668Cys	R668C	14e	m	?	2	1.8	0.01		0.05
10	c.3209G>A#	p.Arg1070Gln	R1070Q	20e	m	IV	2	1.8	0.59		0.01
11	c.3909C>G	p.Asn1303Lys	N1303K	24e	m	II	2	1.8	1.53	2.18	1.58
12	c.43delC	p.Leu15PhefsX1	175delC	1e	sd	I	1	0.9	0.07		
13	c.53+1G>T (p.(=))	–	185+1G>T	1i	s	I	1	0.9	0.04		
† 14	c.252T>A	p.Tyr84X	–	3e	n	I	1	0.9	0.07		
15	c.262_263delTT	p.Leu881lefs*22	394delTT	3e	sd	I	1	0.9	0.85		
16	c.489+1G>T	–	621+1G>t	4i	s	I	1	0.9	0.20		
17	c.653T>A	p.Leu218X	L218X	6e	n	I	1	0.9	0.01		
† 18	c.831G>A	p.Trp277X	–	7e	n	I	1	0.9	0.03		
19	c.1000C>T	p.Arg334Trp	R334W	8e	m	IV	1	0.9	0.74		
20	c.1040G>A	p.Arg347His	R347H	8e	m	IV	1	0.9	0.13		
† 21	c.1580dupA	p.Glu528Argfs*40	E527fs	11e	n	I	1	0.9	0.01		
22	c.1624G>T	p.Gly542X	G542X	12e	n	I	1	0.9	1.46	2.75	2.54
23	c.1704G>T	p.Leu568Phe	L568F	13e	m	?	1	0.9	0.01		
† 24	c.1845_1846delAA	p.Lys615fs	–	13e	sd	?	1	0.9	–		
25	c.2353C>T	p.Arg785X	R785X	14e	n	I	1	0.9	0.17		
26	c.2657+5G>A	–	2789+5G>A	16i	s	V	1	0.9	0.38	1.07	
27	c.3208C>T	p.Arg1070Trp	R1070W	20e	m	IV	1	0.9	0.01		
28	c.3454G>C	p.Asp1152His	D1152H	21e	m	IV	1	0.9	0.09		
29	c.3718–2477C>T	–	3849+10kbC>T	22i	s	V	1	0.9	0.01	1.00	
30	c.3485G>T	p.Arg1162Leu	3617G/T	22e	m	?	1	0.9	–		
31	c.3816_3817delGT	p.Ser1273LeufsX28	3944delGT	23e	sd	I	1	0.9	0.29		
32	c.3846G>A	p.Trp1282X	W1282X	23e	n	I	1	0.9	1.73	1.07	1.21
33	c.3929G>A	p.Trp1310X	W1310X	24e	n	I	1	0.9	0.32		
† 34	c.3983T>A	p.Ile1328Lys	–	25e	m	?	1	0.9	0.01		
Identified								108	97.3		
Not identified								3	2.7	–	
Total								111			

Note. Mutation types used: (m) – missense mutation, (n) – nonsense mutation, (sd) – frameshift deletion, (si) – frameshift insertion, (s) – splice-site, (i) – in-frame insertion, (CNV) – copy number variation (large rearrangement).
Complex allele S466X-R1070Q.
† Newly identified *CFTR* variants.
§ Out of 7 most frequent (Zolin et al., 2025).
Out of 6 most frequent.

significant number of patients (at least 44) carrying these alleles eligible for targeted drug therapy. Currently, 36 children with CF living in Yugra are receiving targeted therapy and this number is rapidly growing. Unfortunately, there are 28 mutant alleles belonging to the I class (and carried by 10 patients) with potential targeted drugs still in development.

Discussion

According to the Russian Registry of CF patients in 2023 (RF CF Registry), among at least 275 pathogenic *CFTR* variants, only eleven mutations are the most frequent ones in Russia with frequencies exceeding 1 % in the tested sample: F508del shares 51.4 %, CFTRdele2,3 – 6.1 %, E92K – 3.7 %, 1677delTA – 2.5 %, 3849+10kbC>T – 2.2 %, 2143delT – 2.0 %, 2184insA – 1.9 %, W1282X – 1.7 %, L138ins and N1303K each sharing 1.7 %, G542X – 1.5 % (Registry..., 2025). It is conceivable that the spectrum of *CFTR* mutations varies in different regions depending on specific ethnic background of the population. The East Slavic population comprises 77.7 % of the population living in Russia, according to the 2010 census. Moreover, in the European part, Russians comprise 85–90 % of the population (Rosstat data). In Yugra, top three nationalities according to the latest statistical Rosstat data are: Slavonic (Russians, Ukrainians and Belarusians) – 74.1 %, Tatar – 6.3 %, Bashkir – 2.3 %. Indigenous people (Khanty and Mansi) comprise a small part: 1.5 and 0.9 %, respectively. To our knowledge, no CF patients of indigenous origin have been identified to date, in spite of equal involvement of all newborn children in neonatal screening.

A comparison of frequency profiles for 34 *CFTR* mutations revealed in Yugra with that of reported officially by Russian CF registry (data for 2023 (Registry..., 2025)) reveals a similarity of frequency distributions for Yugra patients and for patients from the All-Russian sample (Table 2), which is not surprising as ethnic Russians make up the majority of CF patients in the Russian Federation. The differences between values are determined by the much larger sample size in Russian CF registry than in Yugra regional CF registry (4,058 and 54 patients, respectively). Any small change in patient number reported in Yugra (for example, during updating genetics data for newly found newborns with CF) will inevitably cause the range of frequent regional mutations to be restructured. Comparison of mutation profiles in Yugra with those from European CF registry (Zolin et al., 2025) and the CFTR2 database (Sosnay et al., 2017a) appears to be inappropriate (see Table 2), except for the F508del mutation. This may reflect greater differences in population structures between Western Europe and Eastern territories of Russia.

Conclusion

The relatively small (1.78 million) size of the population constantly living in the Yugra region and its highly developed healthcare system allowed us to perform comprehensive genetic testing for all 54 CF patients currently included in regional CF registry. The shaping of CF patients' cohort in Yugra actually is the result of efficient NBS efforts which allowed to sieve up to 396,000 kids born since 2006 in terms

of biochemical analysis of immunoreactive trypsinogen levels and sweat testing. Also, a comprehensive genetic analysis of CF patients became possible with the advent of NGS in routine laboratory work. Targeted CF therapy with *CFTR* modulators that started in 2022 in Yugra greatly improved both quality of life and prognosis for patients. The three-step model of genetic testing proposed by leading Russian geneticists (Petrova et al., 2020) and the results of the current study, which demonstrated a relatively low efficiency of using a panel of *CFTR* mutations not adapted to a regional population structure, clearly indicate the need for development of a region-focused panel for the preliminary search for most frequent mutations in Yugra-born patients as the 1st-tier genetic test. Comprehensive genetic study of *CFTR* mutations shows that out of 34 identified pathogenic variants, only 11 mutant alleles had the frequencies exceeding 1 %, whereas the remaining 23 variants were unique and were observed only in individual cases. This fact strongly supports the usefulness of consistent use of NGS and MLPA for identifying rare *CFTR* mutations. Functional analysis for novel genetic variants is also recommended.

The obtained genetic information is useful for further improvement of medical care in CF patients and related families with regard to effective genetic counseling and resource allocation in cases where CF-targeted drug therapy with *CFTR* modulators is available. Identification of unknown pathogenic variants contributes to the general knowledge about *CFTR* mutations heterogeneity at the national and worldwide scale.

References

- Amaral M.D., Pankonien I. Cystic fibrosis as a paradigmatic disease in bringing science to the bedside. *FEBS Lett.* 2025;599(22):3196–3207. doi 10.1002/1873-3468.70101
- Ayupova G., Litvinov S., Akhmetova V., Minniakhmetov I., Mokrysheva N., Khusainova R. Population characteristics of the spectrum and frequencies of *CFTR* gene mutations in patients with cystic fibrosis from the Republic of Bashkortostan (Russia). *Genes (Basel)*. 2024;15(10):1335. doi 10.3390/genes15101335
- Bobadilla J.L., Macek M., Jr., Fine J.P., Farrell P.M. Cystic fibrosis: a worldwide analysis of *CFTR* mutations – correlation with incidence data and application to screening. *Hum Mutat.* 2002;19(6):575–606. doi 10.1002/humu.10041
- Callebaut I., Chong P.A., Forman-Kay J.D. *CFTR* structure. *J Cyst Fibros.* 2018;17(2S):S5–S8. doi 10.1016/j.jcf.2017.08.008
- Castellani C., Simmonds N.J., Barben J., Addy C., Bevan A., Burgel P.R., Drevinek P., ... Nährlich L., Raraigh K., Sermet-Gaudelus I., Sommerburg O., Southern K.W. Standards for the care of people with cystic fibrosis (CF): a timely and accurate diagnosis. *J Cyst Fibros.* 2023;22(6):963–968. doi 10.1016/j.jcf.2023.09.008
- Dörk T., Macek M., Mekus F., Tümmler B., Tzountzouris J., Casals T., Krebsová A., ... Stuhmann M., Bauer I., Seydewitz H.H., Neumann T., Jakubiczka S. Characterization of a novel 21-kb deletion, CFTRdele2,3(21 kb), in the *CFTR* gene: a cystic fibrosis mutation of Slavic origin common in Central and East Europe. *Hum Genet.* 2000;106(3):259–268. doi 10.1007/s004390000246
- Farrell P.M., White T.B., Howenstine M.S., Munck A., Parad R.B., Rosenfeld M., Sommerburg O., ... Wilschanski M., Sermet-Gaudelus I., Blau H., Gartner S., McColley S.A. Diagnosis of cystic fibrosis in screened populations. *J Pediatr.* 2017;181S:S33–S44.e2. doi 10.1016/j.jpeds.2016.09.065
- Ivaschenko T., Bakay M., Baranov V. Novel frameshift mutation in exon 4 of *CFTR* gene. *Hum Mutat.* 1995;5(2):184–185. doi 10.1002/humu.1380050215

- Kondratyeva E.I., Kashirskaya N.Y., Kapranov N.I. (Eds) National Consensus Project. Cystic Fibrosis: Definition, Diagnostic Criteria, Treatment. Moscow, 2019 (in Russian)
- Ong T., Ramsey B.W. Cystic fibrosis: a review. *JAMA*. 2023;329(21):1859-1871. doi 10.1001/jama.2023.8120
- Parisi G.F., Terlizzi V., Manti S., Papale M., Pecora G., Presti S., Tos-
to M., Leonardi S. Cutting-edge advances in cystic fibrosis: from
gene therapy to personalized medicine and holistic management.
Genes (Basel). 2025;16(4):402. doi 10.3390/genes16040402
- Petrova N.V., Kondratyeva E.I., Krasovsky S.A., Polyakov A.V.,
Ivachshenko T.E., Pavlov A.E., Zinchenko R.A., ... Semykin S.Y.,
Sergienko D.F., Simonova O.I., Shabalova L.A., Kashirskaya N.Y.
National Consensus Project "Cystic fibrosis: definition, diagnostic
criteria, treatment" Section "Genetics of Cystic Fibrosis. Molecular
genetic diagnosis of cystic fibrosis". *Med Genet*. 2016;15(11):29-45
(in Russian)
- Petrova N.V., Kashirskaya N.Y., Vasilyeva T.A., Kondratyeva E.I.,
Zhekaite E.K., Voronkova A.Y., Sherman V.D., Galkina V.A., Gin-
ter E.K., Kutsev S.I., Marakhonov A.V., Zinchenko R.A. Analysis of
CFTR mutation spectrum in ethnic Russian cystic fibrosis patients.
Genes (Basel). 2020;11(5):554. doi 10.3390/genes11050554
- Petrova N., Balinova N., Marakhonov A., Vasilyeva T., Kashirskaya N.,
Galkina V., Ginter E., Kutsev S., Zinchenko R. Ethnic differences
in the frequency of *CFTR* gene mutations in populations of the
European and North Caucasian part of the Russian Federation. *Front
Genet*. 2021;12:678374. doi 10.3389/fgene.2021.678374
- Registry of Patients with Cystic Fibrosis in the Russian Federation.
2023. Moscow, 2025. doi 10.61726/1981.2025.26.16.001 (in Rus-
sian)
- Sosnay P.R., Salinas D.B., White T.B., Ren C.L., Farrell P.M., Ra-
raigh K.S., Girodon E., Castellani C. Applying cystic fibrosis trans-
membrane conductance regulator genetics and *CFTR2* data to fa-
cilitate diagnoses. *J Pediatr*. 2017a;181S:S27-S32.e1. doi 10.1016/
j.jpeds.2016.09.063
- Sosnay P.R., White T.B., Farrell P.M., Ren C.L., Derichs N., Howen-
stine M.S., Nick J.A., De Boeck K. Diagnosis of cystic fibrosis in
nonscreened populations. *J Pediatr*. 2017b;181S:S52-S57.e2. doi
10.1016/j.jpeds.2016.09.068
- Stepanova A.A., Abrukova A.V., Savaskina E.N., Poliakov A.V.
Mutation p.E92K is the primary cause of cystic fibrosis in Chu-
vashes. *Russ J Genet*. 2012;48:731-737. doi 10.1134/S102279541
2060166
- Stepanova A.A., Galeeva N.M., Schagina O.A., Ryzhkova O.P., Kra-
sovsky S.A., Voronkova A.Y., Zhekaite E.K., Melyanovskaya Y.L.,
Kondratyeva E.I., Polyakov A.V. Results of the extended genotyp-
ing program for patients with suspected cystic fibrosis. *Med Genet*.
2025;24(7):100-103. doi 10.25557/2073-7998.2025.07.100-103 (in
Russian)
- Terlizzi V., Lopes-Pacheco M. Cystic fibrosis: new challenges and
perspectives beyond elxacaftor/tezacaftor/ivacaftor. *Ther Adv
Respir Dis*. 2025;19:17534666251323194. doi 10.1177/17534666
251323194
- Therrell B.L., Padilla C.D., Borrajo G.J.C., Khneisser I., Schie-
len P.C.J.I., Knight-Madden J., Malherbe H.L., Kase M. Current sta-
tus of newborn bloodspot screening worldwide 2024: a compre-
hensive review of recent activities (2020–2023). *Int J Neonatal Screen*.
2024;10(2):38. doi 10.3390/ijns10020038
- Zhang J., Yao Y., He H., Shen J. Clinical interpretation of sequence
variants. *Curr Protoc Hum Genet*. 2020;106(1):e98. doi 10.1002/
cphg.98
- Zolin A., Adamoli A., Bakkeheim E. ECFSPR Annual Report 2023.
European Cystic Fibrosis Society, 2025. Available: [https://www.ecfs.
eu/sites/default/files/Annual%20Report_2023_vs1.2_ECFSPR_
20250721.pdf](https://www.ecfs.eu/sites/default/files/Annual%20Report_2023_vs1.2_ECFSPR_20250721.pdf)

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received September 9, 2025. Revised April 17, 2026. Accepted April 20, 2026.

doi 10.18699/vjgb-26-79

Анализ распределения гаплотипов генов *IL13* и *ADAM33* у русских, хакасов и тувинцев в связи с риском развития бронхиальной астмы

М.В. Смольникова , К.В. Афоничева , А.Г. Милейко 

Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера – обособленное подразделение Федерального исследовательского центра «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», Красноярск, Россия

 smarinv@yandex.ru

Аннотация. Несмотря на значительные успехи в исследованиях молекулярных механизмов бронхиальной астмы (БА), остаются малоизученными популяционно-генетические особенности, особенно в мультиэтнических регионах России. Актуальность изучения патогенеза астмы определяется необходимостью выявления этноспецифичных генетических маркеров для совершенствования подходов к персонализированному прогнозированию риска развития и тяжести течения БА. Целью работы был сравнительный анализ гаплотипических комбинаций в генах *IL13* (rs20541, rs1800925, rs1295686) и *ADAM33* (rs2280090, rs2787094, rs44707) между этническими группами для выявления потенциальных популяционно-специфичных генетических маркеров в локусах, ассоциированных с БА. В исследовании приняли участие 524 подростка в возрасте от 12 до 18 лет из Красноярска, Кызыла и Абакана, с верифицированной национальной принадлежностью (русские – 293, тувинцы – 158, хакасы – 73). ДНК выделяли из образцов слюны с последующим генотипированием полиморфных локусов генов *IL13* (rs20541, rs1800925, rs1295686) и *ADAM33* (rs2280090, rs2787094, rs44707) методом ПЦР в реальном времени. Установлено, что у русских редкие варианты полиморфизмов *IL13* встречаются чаще по сравнению с тувинцами и хакасами. У хакасов и тувинцев в два-три раза чаще относительно русских встречается гаплотип АТС *IL13*. В русской популяции значимо чаще выявлялся гаплотип GAC гена *ADAM33*, содержащий редкие аллели всех исследованных полиморфизмов. Полученные данные подчеркивают актуальность анализа гаплотипов и важность учета этногеографических особенностей при оценке генетических рисков развития БА.

Ключевые слова: бронхиальная астма; генетический полиморфизм; гаплотипы; популяции; *IL13*; *ADAM33*

Для цитирования: Смольникова М.В., Афоничева К.В., Милейко А.Г. Анализ распределения гаплотипов генов *IL13* и *ADAM33* у русских, хакасов и тувинцев в связи с риском развития бронхиальной астмы. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2026;30(5):782-791. doi 10.18699/vjgb-26-79

Финансирование. Исследование выполнено в рамках темы государственного задания НИИ МПС № 124020100065-3 «Исследование молекулярно-клеточных механизмов регуляции иммунного ответа и взаимодействия иммунной системы с другими системами организма у жителей Восточной Сибири».

Analysis of distribution of *IL13* and *ADAM33* gene haplotypes in Russians, Khakass, Tuvans in relation to the risk of developing bronchial asthma

M.V. Smolnikova , K.V. Afonicheva , A.G. Mileyko 

Scientific Research Institute of Medical Problems of the North – a separate division of the Federal Research Center “Krasnoyarsk Science Center” of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russia

 smarinv@yandex.ru

Abstract. Bronchial asthma (BA) is a heterogeneous disease, the development of which is determined by a complex interaction of genetic factors and environmental factors. Despite significant progress in understanding the molecular mechanisms of the disease, population-specific genetic characteristics, especially in multi-ethnic regions of Russia, remain understudied. The relevance of this study is determined by the need to identify ethnicity-specific genetic markers to improve approaches for personalized prediction of the risk of developing BA and its severity. The aim of the work was to conduct a comparative analysis of haplotypic combinations in the *IL13* (rs20541, rs1800925, rs1295686) and *ADAM33* (rs2280090, rs2787094, rs44707) genes between ethnic groups to identify potential population-specific genetic markers at BA-associated loci. The study involved 524 adolescents aged 12 to 18 years from Krasnoyarsk, Kyzyl and Abakan with verified ethnicity (Slavs – 293, Tuvans – 158, Khakass – 73). DNA was isolated from saliva samples followed by genotyping of polymorphic loci of the *IL13* (rs20541, rs1800925, rs1295686) and *ADAM33* (rs2280090, rs2787094, rs44707) genes using real-time PCR. It was found that rare variants of *IL13* polymorphisms were more common in Russians than in Tuvans and the Khakass. The ATC

haplotype of *IL13* is 2–3 times more common among the Khakass and Tuvans than in Russians. In the Russian population, the GAC haplotype of the *ADAM33* gene, containing rare alleles of all the polymorphisms studied, is detected significantly more often. The data obtained emphasize the relevance of haplotype analysis and the importance of taking into account ethnogeographical features when assessing the genetic risks of BA.

Key words: bronchial asthma; gene polymorphism; haplotypes; populations; *IL13*; *ADAM33*

For citation: Smolnikova M.V., Afonicheva K.V., Mileyko A.G. Analysis of distribution of *IL13* and *ADAM33* gene haplotypes in Russians, Khakass, Tuvans in relation to the risk of developing bronchial asthma. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov J Genet Breed.* 2026;30(5):782-791. doi 10.18699/vjgb-26-79

Введение

Генетическая предрасположенность, реализация которой зависит от влияния факторов окружающей среды, лежит в основе развития бронхиальной астмы (БА). Гетерогенность БА проявляется в разнообразии эндотипов (атопическая, неатопическая, аспирин-индуцированная, ассоциированная с ожирением БА, тяжелая стероид-зависимая астма, стероид-нечувствительная эозинофильная, нейтрофильная, эозинофильная и др.), вариативности ответа на лекарственную терапию, множественных патогенетических механизмах.

По информации Министерства здравоохранения России, эпидемиологические данные показывают высокую распространенность БА: на 2019 г. в мире насчитывалось более 350 млн больных, из них 10 % дети. В Российской Федерации в 2022 г. с диагнозом БА числилось 1.591 млн больных, из них подростков (15–17 лет) – 84 тыс., детей (0–14 лет) – 229 тыс. В 2019 г. показатель общей заболеваемости БА в Сибирском федеральном округе превышал среднероссийский (1507.1 на 100 тыс. всего населения) (Быстрицкая, Биличенко, 2022). Общая заболеваемость БА в Республиках Хакасия и Тыва соответствует среднероссийским тенденциям, однако точных данных в доступных официальных источниках не представлено. По информации из СМИ, в Республике Хакасия на 2022 г. зарегистрировано около 6500 случаев БА. Министерство здравоохранения Хакасии отмечает рост распространенности БА тяжелой степени. В Республике Тыва по состоянию на 2023 г. насчитывалось примерно 1000 случаев БА.

Роль генетических факторов в развитии БА подтверждается высоким коэффициентом наследуемости: до 70 % случаев БА вызвано именно генетическими причинами, а коэффициент наследуемости оценивается до 74 % у взрослых и до 90 % у детей (Hernandez-Pacheco et al., 2019). Доля фенотипической дисперсии признака, объясняемая общими однонуклеотидными полиморфизмами, оцененная в рамках модели подразумеваемой предрасположенности (h_g^2), выше для БА, проявившейся в детском возрасте (от 0 до 19 лет, $h_g^2 = 25.6$ %), чем для БА, начало которой зафиксировано в возрасте от 20 до 60 лет ($h_g^2 = 10.6$ %) (Ferreira et al., 2019). Кроме того, полногеномные ассоциативные исследования (genome-wide association study, GWAS) выявили более 150 локусов риска развития БА, в том числе *IL13*, *IL33*, *IL1RL1*, *ADAM33*, *ORMDL3*, *ADRB2*, *FLG* (Pividori et al., 2019). Также стоит отметить наличие этнической специфичности генетических ассоциаций. К примеру, значимая связь между полиморфизмом rs2243250 *IL4* и БА при анализе подгрупп

по этнической принадлежности установлена среди азиатов и европеоидов, но отсутствует у афроамериканцев (Nie et al., 2013). Помимо генов, кодирующих провоспалительные цитокины, значительный вклад в развитие и контроль БА вносят полиморфизмы генов, регулирующих метаболизм базисной терапии. Так, в татарской популяции России с неконтролируемым течением астмы и снижением показателей функции внешнего дыхания ассоциирован аллель G полиморфизма rs37973 *GLCCII*, а у башкир – аллель T rs2305089 *TBX1* (Федорова и др., 2019).

Для населения Российской Федерации идентифицировано 167 генов, причем 11 полиморфных вариантов продемонстрировали достоверную ассоциацию с БА. Эти данные, полученные на масштабной выборке ФМБА России, свидетельствуют, что определенные генетические варианты могут как увеличивать, так и снижать вероятность развития заболевания, что важно для разработки методов превентивной диагностики (Akhmerova et al., 2023). Недостаточная изученность распределения частот значимых полиморфизмов в европейских и азиатских популяциях подчеркивает важность этнического фактора, что особенно актуально для коренных народностей Российской Федерации, среди которых выявляются существенные различия в генетическом профиле, ассоциированные с предрасположенностью к заболеваниям и поведенческими особенностями (Смольникова, Терещенко, 2020; Смольникова и др., 2022; Малярчук, 2024; Малярчук и др., 2024; Малярчук, Литвинов, 2025; Gusareva et al., 2025).

Поиск по ключевым словам “bronchial asthma AND gene AND ethnic group AND nationality” в базе данных PubMed выдал 12950 результатов за последние пять лет (2020–2025). Поиск по аналогичному запросу «бронхиальная астма, ген, этническая группа, национальность» в научной электронной библиотеке eLibrary за тот же период показал 125 публикаций, что говорит об исследовательском интересе к данной теме, однако также подчеркивает дисбаланс в мировых популяциях, поскольку большинство публикаций сосредоточено на крупных этнических группах, в то время как коренные народы России, в том числе популяции Ангаро-Енисейского региона, остаются недостаточно изученными, что ограничивает возможность разработки для них персонализированных подходов к диагностике и лечению заболеваний.

В отличие от расчета частоты распространенности генотипов и аллелей изолированных полиморфизмов генов, расчет гаплотипов полиморфизмов генов предрасположенности к бронхиальной астме важен для выявления синергетических эффектов, так как комбинации аллелей в гап-

типе часто воздействуют на функцию белка неаддитивным образом (Беляева, 2020), а также для персонализации терапии, поскольку учет гаплотипа позволяет оптимизировать прогноз ответа на лечение (Ouyang, Krontiris, 2006). Кроме того, определение гаплотипов как этноспецифичных профилей риска позволяет характеризовать региональные особенности заболеваемости и ее профилактики (Терещенко, Смольникова, 2020).

Одними из ключевых генов предрасположенности к БА являются *IL13* и *ADAM33*.

Интерлейкин-13 (IL-13) – центральный медиатор синтеза иммуноглобулина Е (IgE); он регулирует степень аллергического воспаления и способствует избыточному образованию слизи, в том числе при БА (Gao et al., 2017). Периостин, индуцируемый IL-13 (Krasilnikova et al., 2020), модулирует воспаление и ремоделирование дыхательных путей (Izuhara et al., 2016), способствуя эпителиально-мезенхимальному переходу и фиброзу (Sidhu et al., 2010). При повышенной экспрессии IL-13 увеличивается риск развития аллергической БА, что показано на популяциях азиатов и европеоидов (Resende et al., 2017; Смольникова и др., 2023), однако в саудовской популяции, например, значимой связи не выявлено (Halwani et al., 2018).

Минорный аллель А полиморфизма rs20541 (G>A), расположенный в 4-м экзоне гена *IL13* (5q31), ассоциирован с повышенным уровнем общего IgE в сыворотке крови, увеличением концентрации сывороточного IL-13 и белка периостина (Hafez et al., 2022). Значимость этого полиморфизма гена *IL13* подтверждена в популяционных исследованиях населения РФ. Так, в республике Башкортостан полиморфные варианты *IL13*, *IL4* и *CCL11* показаны как значимые факторы риска развития БА (Карунас и др., 2012). Аллель G rs20541 *IL13* чаще встречается у детей с астмой казахской национальности и этнической группы хань (Китай) (Bai et al., 2023). Носители аллеля G данного полиморфизма лучше отвечают на комбинированную терапию будесонид/флутиказон пропионат при лечении умеренной и тяжелой астмы (Liu et al., 2020). У корейских детей – носителей аллеля A rs20541 *IL13* выявлен повышенный уровень общего IgE и больший показатель максимального падения ОФВ₁ (maximum percent fall in FEV₁) при бронхоспазме, индуцированном физическими упражнениями (exercise-induced bronchoconstriction, EIB), по сравнению с гомозиготами GG.

Редкий аллель Т полиморфизма rs1295686 *IL13* ассоциирован с повышенным риском развития бронхиальной астмы, однако точный молекулярный механизм не полностью изучен (Halwani et al., 2018). В саудовской популяции генотипы СТ и ТТ повышают риск развития астмы в доминантной модели наследования (Halwani et al., 2018).

Однонуклеотидный полиморфизм rs1800925 (C>T) расположен в области промотора гена *IL13*. Наличие аллеля Т rs1800925 обуславливает сверхэкспрессию интерлейкина-13, вероятно, вследствие усиления связывания ядерных белков в этом сайте (van der Pouw Kraan et al., 1999; Gaceja et al., 2023). Выявлена ассоциация аллеля Т rs1800925 *IL13* с лучшим ответом на лечение лекарственным препаратом монтелукаст (Kang et al., 2008).

Показано, что гаплотип СТА, состоящий из рискованных аллелей полиморфизмов *IL13* (rs1881457-C, rs1800925-T, rs20541-A), чаще наблюдается у лиц, не ответивших на лечение монтелукастом (Kang et al., 2008). Носители гаплотипа CGTG *IL13* (rs762534, rs20541, rs1295686, rs1800925) имеют низкий риск развития БА в саудовской популяции, тогда как CATG и CATA – более высокий, хотя данный результат не имеет статистической значимости (Halwani et al., 2018).

Белок ADAM33 принадлежит к семейству металлопротеиназ, содержащих домены дезинтегрин и металлопротеиназы. Он играет критическую роль в ремоделировании дыхательных путей за счет протеазной активности (осуществляет расщепление белков внеклеточного матрикса, что влияет на структуру бронхов), адгезивной функции (участвует в клеточно-матриксных взаимодействиях через домен дезинтегрин) и особой локализации в фибробластах легких и гладкомышечных клетках бронхов (Camoretti-Mercado, Lockey, 2021). Изменения активности белка ADAM33, который кодируется полиморфным геном *ADAM33*, приводят к ремоделированию дыхательных путей и значительно увеличивают риск развития БА у детей (Lambrecht, Hammad, 2012; Sun et al., 2017). Помимо этого, ADAM33 принимает участие в активации цитокинов, продуцируемых Th2-клетками (Zheng et al., 2015). Повышенная экспрессия ADAM33 способствует формированию эозинофильного/типа 2 воспалительного эндотипа астмы, являющегося наиболее тяжелым и устойчивым к лечению (Sunadome et al., 2017). Экспрессия ADAM увеличивается в человеческих фибробластах *in vitro* у пациентов с астмой при воздействии интерлейкина 4 (IL-4) и IL-13 в зависимости от времени и концентрации. У больных астмой IL-4 и IL-13 могут значительно повышать экспрессию мРНК ADAM33 в фибробластах человека в зависимости от концентрации и времени (Jie et al., 2009).

Аллельный вариант А полиморфизма rs44707 (G>A) *ADAM33* (20p13) изменяет конформацию дезинтегринового домена, нарушая адгезивные свойства белка ADAM33 (Van Eerdewegh et al., 2002). Для популяции ли (Китай) показано, что аллель А rs44707 *ADAM33* значительно чаще встречается среди пациентов с БА по сравнению с контрольной группой (Shen et al., 2017). В метаанализе (4096 пациентов с БА и 3767 лиц контрольной группы) не выявлено значимой ассоциации между полиморфизмом rs44707 *ADAM33* и риском развития БА как в общей группе, так и при анализе подгрупп по этнической принадлежности. При этом анализ по возрасту показал, что аллель А и генотипы AA+GA ассоциированы с астмой у детей (Li et al., 2019).

Редкий аллель А полиморфизма rs2280090 *ADAM33* (G>A) связан с повышенным риском развития БА и ускоренным снижением функции легких у детей в Китае (Li et al., 2019), эта ассоциация подтверждена в метаанализе (Sun et al., 2017). В бенгальской популяции (Индия) носители генотипа GG rs2280090 *ADAM33* и гаплотипа GGA (rs2280090, rs44707, rs3918396) имеют повышенный риск развития астмы (Sultana et al., 2023), тогда как, например, в популяции пенджабцев (Пакистан) значимых ассоциаций

не выявлено, при этом показано уникальное сильное сцепленное аллельное совместное наследование в популяции (Ghani et al., 2019).

Аллель G полиморфизма rs2787094 (G>C) *ADAM33* усиливает связывание транскрипционных факторов и экспрессию *ADAM33* в бронхиальной стенке (Holgate et al., 2006; Li et al., 2019). У китайских пациентов с БА генотипы CG и GG rs2787094 *ADAM33* ассоциированы почти с двукратным увеличением риска развития астмы у детей (Qu et al., 2011) и в популяции ли (о. Хайнань, Китай) (Shen et al., 2017). Такая же ассоциация выявлена в иранской когорте (Shahhosseini, Zare, 2023). В индонезийской популяции связи rs2787094 с БА не показано (Viyati et al., 2023). В метаанализе (7109 пациентов с БА и 7794 лица контрольной группы) не обнаружено значимой связи между полиморфизмом rs2787094 *ADAM33* и БА, однако при анализе подгрупп по этнической принадлежности риск развития астмы существует у европеоидов, а по возрасту – у взрослых (Li et al., 2019).

При анализе гаплотипов выявлено, что гаплотипы с кодировкой H1 (rs511898-T, rs2280089-G, rs2280090-G, rs2280091-A, rs2787094-G, rs612709-G), H3 (rs511898-C, rs2280089-G, rs2280090-G, rs2280091-A, rs2787094-G, rs612709-G), H5 (rs511898-T, rs2280089-A, rs2280090-G, rs2280091-A, rs2787094-C, rs612709-G) и H8 (rs511898-C, rs2280089-G, rs2280090-G, rs2280091-A, rs2787094-C, rs612709-G), содержащие рисковые аллели полиморфизмов гена *ADAM33*, повышают риск развития детской астмы в два раза (Китай) (Qu et al., 2011).

Учитывая ограниченность данных по гаплотипам и их роли в предрасположенности к БА в мировых и российских популяциях, анализ комбинаций аллелей генов, регулирующих иммунный ответ (*IL13*) и ремоделирование дыхательных путей (*ADAM33*), является перспективным направлением исследований. В связи с этим, а также с учетом выраженной этнической специфичности ассоциаций полиморфизмов генов с заболеваниями, целью настоящей работы был сравнительный анализ гаплотипических комбинаций в генах *IL13* (rs20541, rs1800925, rs1295686) и *ADAM33* (rs2280090, rs2787094, rs44707) между этническими группами для выявления потенциальных популяционно-специфичных генетических маркеров в локусах, ассоциированных с бронхиальной астмой.

Материал и методы

Проведено генетическое исследование подростков Восточной Сибири в возрасте от 12 до 18 лет. Национальность подростков верифицировалась по национальности обоих родителей и определялась как русские ($n = 293$), тувинцы ($n = 158$), хакасы ($n = 73$). Демографические данные (возраст, пол и национальность родителей) были взяты из опросных листов, собранных в рамках темы государственного задания НИИ медицинских проблем Севера (2018–2020 гг.).

Предметом исследования служила ДНК, выделенная из слюны. Образцы слюны забирали в «Устройства для сбора и сохранения ДНК слюны» (Norgen Biotek, Канада). Экстракция ДНК выполнена с использованием набора

реагентов DIAtom™ DNA Prep 100 (ООО «Лаборатория Изоген», Россия). Концентрацию ДНК измеряли на флуориметре Qubit 4.0 (Thermo Fisher Scientific, США). Генотипирование полиморфизмов *IL13* (rs20541, rs1800925, rs1295686) и *ADAM33* (rs2280090, rs2787094, rs44707) произведено методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) с использованием олигонуклеотидных праймеров, флуоресцентно-меченых зондов TaqMan (ООО «ДНК-синтез», Россия) и прибора RotorGene Q 6plex (QIAGEN, Германия).

Исследование одобрено этическим комитетом ФИЦ «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (протокол № 6 от 06.12.2012). Получено письменное информированное согласие на проведение исследования от родителей.

Частоту встречаемости анализируемых признаков выражали в абсолютных и относительных величинах. Статистически значимыми считались различия на уровне $p < 0.05$. Статистическую обработку данных осуществляли в программной среде RStudio 4.3.2 (Posit, США). Частоты генотипов анализировали при помощи специализированного пакета “SNPassoc”. Анализ гаплотипов и оценку наличия неравновесия по сцеплению между исследованными полиморфизмами генов проводили в пакете “haplo.stats” для R. Применяли ЕМ-анализ (expectation-maximization – поиск оценок максимума правдоподобия) с расчетом LR (likelihood ratio test – тест отношений правдоподобия), df (degrees of freedom – число степеней свободы), D' (D prime, стандартизированный коэффициент неравновесия по сцеплению) и r^2 (квадрат коэффициента корреляции Пирсона). Распределение генотипов по полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди–Вайнберга с помощью критерия χ^2 . Популяционно-генетический анализ распределения изучаемых в работе гаплотипов с мировыми выполняли путем сравнения с данными проекта 1000 геномов (1000 Genomes). Эталонные частоты гаплотипов для локусов *IL13* и *ADAM33* были загружены с использованием ресурса LDlink (LDhap) (<https://ldlink.nih.gov/ldhap?ref=82878>) для когорт CEU (Utah residents from North and West Europe) и CHB (Han Chinese in Beijing, China).

Результаты

В результате анализа показано распределение частот гаплотипов полиморфных генов *IL13* и *ADAM33* в популяциях русских, тувинцев и хакасов. В гаплотипическую комбинацию гена *IL13* включены полиморфизмы rs20541, rs1295686 и rs1800925, *ADAM33* – rs44707, rs2280090 и rs2787094.

Данные о распределении частот гаплотипов полиморфизмов гена *IL13* (rs20541, rs1295686 и rs1800925) представлены в табл. 1. У всех обследованных групп самым распространенным был гаплотип GCC (русские – 37.5 %, тувинцы – 49.4 %, хакасы – 31.5 %). Этот гаплотип состоит из диких аллельных вариантов трех изученных полиморфизмов. Вторым по распространенности у русских был гаплотип АТТ (29.4 %), тогда как у тувинцев и хакасов таким гаплотипом являлся АТС (21.5 и 31.5 % соответственно).

Таблица 1. Распределение частот гаплотипов для гена *IL13* (rs20541, rs1295686 и rs1800925), % (n)

Порядок SNP в комбинации и нуклеотидные замены	Гаплотип	Группы сравнения			<i>p</i>
		Русские (n = 293) (1)	Тувинцы (n = 158) (2)	Хакасы (n = 73) (3)	
rs20541 (G>A) + rs1295686 (C>T) + rs1800925 (C>T)	ATT	29.4 (86)	17.1 (27)	23.3 (17)	1.2 < 0.001
	ATC	11.9 (35)	21.5 (34)	31.5 (23)	1.3 < 0.001
	ACT	2.4 (7)	0.6 (1)	0.0 (0)	2.3 < 0.001
	ACC	3.4 (10)	7.6 (12)	1.4 (1)	
	GTT	4.1 (12)	0.0 (0)	1.4 (1)	
	GTC	2.0 (6)	3.2 (5)	2.7 (2)	
	GCT	9.2 (27)	0.6 (1)	8.2 (6)	
	GCC	37.5 (110)	49.4 (78)	31.5 (23)	

Примечание. Нулевые значения частот встречаемости гаплотипов в таблице не приведены.

Гаплотип ATT, состоящий из редких аллельных вариантов rs20541 + rs1295686 + rs1800925 *IL13*, значимо чаще встречается среди русских по сравнению с тувинцами и хакасами (29.4 % против 17.1 и 23.3 % соответственно).

Для оценки наличия неравновесия по сцеплению между исследованными локусами был использован ЕМ-анализ, по результатам которого выявлено статистически достоверное наличие неравновесия по сцеплению между полиморфизмами rs1295686, rs1800925 и rs20541 *IL13* (табл. 2).

Показано значимое отклонение от равновесия по сцеплению во всех трех популяциях ($p < 0.0001$). Наиболее выраженное общее неравновесие наблюдается у русских ($LR = 345.81$), тогда как у хакасов данный показатель почти в 3.5 раза ниже, что говорит о популяционных различиях в структуре гаплотипов. Наибольшие межэтнические различия выявлены для пары rs20541 и rs1800925. Так, у тувинцев наблюдается сильное сцепление ($D' = 0.90$), указывающее на формирование устойчивого гаплотипного блока, у хакасов этот показатель ниже ($D' = 0.36$), что свидетельствует о частичной утрате связи между аллелями. Противоположная картина получена для пары rs1295686 и rs1800925, где максимальное значение D' выявлено у тувинцев ($D' = 0.86$). Показано, что только у хакасов в паре rs20541 и rs1295686 коэффициент корреляции ($r^2 = 0.82$) превышает порог сильной корреляции ($r^2 > 0.8$), что позволяет рассматривать эти полиморфизмы как взаимозаменяемые маркеры в исследованиях. У русских и тувинцев данный показатель находится на уровне умеренной корреляции (0.63 и 0.69 соответственно), что не позволяет полностью замещать один полиморфизм другим. У хакасов выявлен низкий коэффициент корреляции для пар полиморфизмов с участием rs1800925 (0.06 и 0.07), что ограничивает возможность использования этого локуса как взаимозаменяемого маркера риска других полиморфизмов в данной популяции. При этом у тувинцев полиморфизм rs1800925 демонстрирует сильное сцепление с другими полиморфизмами, что свидетельствует о формировании гаплотипного блока, включающего все исследованные полиморфизмы *IL13*.

Таблица 2. Анализ неравновесия по сцеплению полиморфизмов гена *IL13* у русских, тувинцев и хакасов

Показатель	Русские	Тувинцы	Хакасы
LR	345.81	204.21	94.76
df	4.0	3.0	4.0
<i>p</i>	<0.0001	<0.0001	<0.0001
rs20541 против rs1295686			
D'	0.80	0.89	0.93
r^2	0.63	0.69	0.82
<i>p</i>	<0.0001	<0.0001	<0.0001
rs20541 против rs1800925			
D'	0.52	0.90	0.36
r^2	0.23	0.25	0.06
<i>p</i>	<0.0001	<0.0001	0.0046
rs1295686 против rs1800925			
D'	0.58	0.86	0.41
r^2	0.29	0.26	0.07
<i>p</i>	<0.0001	<0.0001	0.0015

В табл. 3 представлены частоты гаплотипов *ADAM33* (rs44707, rs2280090 и rs2787094). Среди русских наиболее часто встречаются гаплотипы GGG (24.9 %) и GGC (22.2 %), тогда как у тувинцев и хакасов – только гаплотип GGC (42.4 и 35.6 % соответственно). Вторым по распространенности у тувинцев и хакасов является гаплотип TGG (27.8 и 24.7 % соответственно). Распространенность гаплотипа TGC у русских ниже относительно тувинцев и хакасов (8.5 % против 14.6 и 13.7 % соответственно). И наоборот, комбинация TAG в популяции русских встречается чаще по сравнению с тувинцами и хакасами (11.3 % против 3.8 и 6.8 % соответственно). Гаплотип GAC значимо чаще встречается среди русских (4.8 %) по сравнению с хакасами и тувинцами (1.4 и 0.0 %).

Таблица 3. Распределение частот гаплотипов для гена *ADAM33* (rs44707, rs2280090 и rs2787094), % (n)

Порядок SNP в комбинации и нуклеотидные замены	Гаплотип	Группы сравнения			p
		Русские (n = 293) (1)	Тувинцы (n = 158) (2)	Хакасы (n = 73) (3)	
rs44707 (T>G) + rs2280090 (G>A) + rs2787094 (G>C)	GAC	4.8 (14)	0.0 (0)	1.4 (1)	1.2 < 0.001
	GAG	5.5 (16)	1.9 (3)	1.4 (1)	1.3 < 0.001
	GGC	22.2 (65)	42.4 (67)	35.6 (26)	2.3 < 0.001
	GGG	24.9 (73)	8.9 (14)	12.3 (9)	
	TAC	2.0 (6)	0.6 (1)	4.1 (3)	
	TAG	11.3 (33)	3.8 (6)	6.8 (5)	
	TGC	8.5 (25)	14.6 (23)	13.7 (10)	
	TGG	20.8 (61)	27.8 (44)	24.7 (18)	

Примечание. Нулевые значения частот встречаемости гаплотипов в таблице не приведены.

Таблица 4. Анализ неравновесия по сцеплению полиморфизмов гена *ADAM33* у русских, тувинцев и хакасов

Показатель	Русские	Тувинцы	Хакасы
LR	59.43	50.80	22.21
df	3.0	2.0	3.0
p	<0.0001	<0.0001	<0.0001
rs44707 против rs2280090			
D'	0.92	1.0	1.0
r ²	0.07	0.02	0.03
p	<0.0001	0.02	0.04
rs44707 против rs2787094			
D'	0.43	0.53	0.51
r ²	0.09	0.23	0.26
p	<0.0001	<0.0001	<0.0001
rs2280090 против rs2787094			
D'	1.0	1.0	1.0
r ²	0.04	0.02	0.03
p	<0.0001	0.0111	0.0349

Для оценки наличия неравновесия по сцеплению между исследованными локусами применяли ЕМ-анализ, по результатам которого было выявлено статистически достоверное наличие неравновесия по сцеплению между полиморфизмами rs44707, rs2280090 и rs2787094 *ADAM33* (табл. 4).

Выявлено значимое отклонение от равновесия по сцеплению во всех исследованных популяциях ($p < 0.0001$). Наиболее выраженное общее неравновесие наблюдается у русских (LR = 59.43), у хакасов данный показатель почти в 2.7 раза ниже. Для пары полиморфизмов rs2280090 и rs2787094 во всех популяциях зафиксировано полное неравновесие по сцеплению ($D' = 1.0$). Соответственно, аллели этих локусов всегда наследуются вместе, что свидетельствует о формировании устойчивого гаплотипного

блока. Аналогичные результаты показаны для пары полиморфизмов rs44707 и rs2280090 (у русских $D' = 0.92$, у тувинцев и хакасов $D' = 1.0$). Иные результаты получены для полиморфизмов rs44707 и rs2787094: значения D' находятся в диапазоне умеренного сцепления (русские – 0.43, тувинцы – 0.53, хакасы – 0.51), указывая на частичную рекомбинацию между этими локусами. Стоит отметить соотношение показателей D' и r^2 . Несмотря на полное сцепление rs2280090 и rs2787094, значения r^2 ниже порога умеренной корреляции ($r^2 > 0.33$), что не позволяет в исследованиях использовать эти маркеры риска как взаимозаменяемые. Наиболее высокие значения r^2 для пары rs44707 и rs2787094 выявлены у хакасов (0.26) и тувинцев (0.23), тогда как у русских этот показатель существенно ниже (0.09), что свидетельствует о популяционных различиях в сбалансированности частот аллелей полиморфизмов гена *ADAM33*.

Распределение частот гаплотипов *IL13* и *ADAM33* в выборках русских, тувинцев и хакасов существенно отличалось от представленных для эталонных популяций CEU и CHB. Исследованные в нашей работе популяции не показали полного соответствия с европейским (CEU) или восточноазиатским (CHB) профилем (табл. 5).

Обсуждение

В настоящей работе проведен сравнительный анализ частоты распространенности гаплотипов полиморфных генов *IL13* (rs20541, rs1295686 и rs1800925) и *ADAM33* (rs44707, rs2280090 и rs2787094) в популяциях русских, тувинцев и хакасов.

Гаплотип АТТ («рисковый») объединяет редкие аллели полиморфизмов rs20541-А, rs1295686-Т и rs1800925-Т гена *IL13*. Данный гаплотип состоит из функционально значимых вариантов, которые опосредуют усиление воспаления, а также способствуют гиперпродукции слизи (Gaceja et al., 2023). В частности, наличие аллеля Т rs20541 обуславливает повышение аффинности лиганда IL-13 к рецептору, что, в свою очередь, приводит к гиперпродукции IgE и периостина (Halwani et al., 2018; Hafez et al., 2022). В то же время аллель Т rs1295686 ассоциирован с увели-

Таблица 5. Распределение частот гаплотипов *IL13* (rs20541, rs1295686 и rs1800925) и *ADAM33* (rs44707, rs2280090 и rs2787094) в европейской (CEU) и восточноазиатской (CHB) популяциях, % (n)

<i>IL13</i>				<i>ADAM33</i>			
CEU		CHB		CEU		CHB	
CCG	72.3 (143)	CCG	66.5 (137)	GGT	38.9 (77)	CGG	35.4 (73)
TTA	12.6 (25)	CTA	16.5 (34)	GGG	25.8 (51)	GGT	30.1 (62)
CTA	10.1 (20)	TTA	15 (31)	CGG	14.1 (28)	GGG	20.8 (43)
TCG	5.0 (10)	TCG	1.5 (3)	GAT	12.1 (24)	GAT	7.7 (16)
		CCA	0.5 (1)	CGT	8.6 (17)	CGT	3.0 (6)
				CAT	0.5 (1)	GAG	1.5 (3)
						CAT	1.0 (2)
						CAG	0.5 (1)

чением синтеза IL-13 за счет повышения транскрипционной активности гена *IL13* (Halwani et al., 2018). Наличие аллеля T rs1800925 связывают со снижением аффинности IL-13 к рецептору и повышением концентрации IL-13 в крови (Arima et al., 2002). Таким образом, рисковый гаплотип АТТ характеризуется сочетанием повышенной экспрессии гена *IL13* с высоким сродством к рецептору, что приводит к гиперреактивности бронхов и эозинофильному воспалению.

Согласно полученным нами данным, существуют статистически значимые отличия в частоте распространенности рискового гаплотипа АТТ у русских (29.4 %), тувинцев (17.1 %) и хакасов (23.3 %), что согласуется с известными популяционными особенностями распределения отдельных аллелей *IL13*. Так, в саудовской популяции пациентов с БА тоже преобладают редкие аллели полиморфизмов rs20541 и rs1295686, однако их низкая частота встречаемости в общей популяции ограничивает статистическую мощность исследования (Halwani et al., 2018). Кроме того, гаплотипы CATG и CATA (rs762534, rs20541, rs1295686, rs1800925) гена *IL13*, содержащие в себе гаплотипы АТС и АТТ изученных нами полиморфизмов, демонстрируют тенденцию к ассоциации с повышенным риском развития БА в саудовской популяции (Halwani et al., 2018). Гаплотип CGTG (rs762534, rs20541, rs1295686, rs1800925) показывает протективный эффект развития БА в саудовской популяции (Halwani et al., 2018).

Важно отметить, что хотя CGTG гаплотип содержит минорный рисковый аллель Т полиморфизма rs1295686, ассоциированный с воспалением дыхательных путей, его сочетание с аллелем G rs20541 нивелирует риск, что подчеркивает эпистатическое действие локусов, при котором происходит модулирование последствий аллеля T rs1295686 аллелем G rs20541. Следует отметить, что гаплотип CTA (rs1881457, rs1800925, rs20541) гена *IL13* у корейских детей с БА ассоциирован с резистентностью к терапии монтелукастом (антагонист лейкотриеновых рецепторов) (Kang et al., 2008). Ключевым фактором в этом сочетании выступает рисковый аллель Т полиморфизма rs1800925, вызывающий сверхэкспрессию IL-13. В китайской популяции носители гаплотипов, которые включали

аллель Т rs20541 и аллель Т rs1800925, обладали значительно повышенной концентрацией IgE в пуповинной крови, что прогнозирует развитие астмы в детском возрасте (Hua et al., 2021).

Таким образом, в русской популяции отмечается более высокая частота гаплотипов, включающих редкие аллели исследованных полиморфизмов гена *IL13*, что может указывать на повышенную генетическую предрасположенность к развитию БА в этой группе по сравнению с тувинцами и хакасами. Интересно, что у хакасов и тувинцев частота гаплотипа АТС гена *IL13*, содержащего два из трех изученных аллелей, ассоциированных, по данным литературы, с БА, в два-три раза выше, чем у русских. Отсутствие в составе этого гаплотипа аллеля T rs1800925, который в ряде исследований рассматривается как один из ключевых маркеров риска БА, позволяет предположить, что функциональное значение гаплотипа может быть иным. Вопрос о его вкладе в предрасположенность к заболеванию требует дальнейшего изучения в рамках исследований типа «случай-контроль» с участием больных БА из данных этнических групп.

Гаплотип GAC (rs44707-G, rs2280090-A, rs2787094-C) гена *ADAM33* сочетает рисковые редкие аллельные варианты изученных полиморфизмов, ассоциированные с изменением структурных и функциональных свойств белка ADAM33. В частности, наличие аллеля G rs44707 обуславливает повышенную транскрипционную активность, что приводит к гиперпродукции ADAM33 в клетках тканей дыхательных путей (Xue et al., 2013). В свою очередь, аллель А rs2280090 влияет на процессы фосфорилирования белка ADAM33, изменяя его протеолитическую активность и способность опосредовать процессы ремоделирования дыхательных путей. Аллель С rs2787094 ассоциирован с усилением экспрессии *ADAM33*, что способствует процессам гипертрофии гладких мышц бронхов (Li et al., 2019). По результатам нашего исследования, рисковый гаплотип GAC *ADAM33* статистически значимо чаще встречается у русских (4.8 %) по сравнению с хакасами (1.4 %) и тувинцами (0.0 %). Полученные данные согласуются с известными литературными источниками. Так, в исследовании (Zhou et al., 2012) другой гаплотип (H5) гена

ADAM33, также включающий редкие аллели в локусах rs2280090 и rs44707 (в иной комбинации), ассоциирован с двукратным повышением риска БА у детей популяции хань в Китае. Учитывая более высокую частоту выявленного нами гаплотипа GAC в русской популяции, можно предположить, что особенности распределения вариантов гена *ADAM33* потенциально могут вносить вклад в межэтнические различия в распространенности БА, ранее отмеченные для населения Восточной Сибири (Коноплева и др., 2017; Афоничева и др., 2025a).

Согласно полученным нами данным, гаплотип GGG гена *ADAM33* чаще встречается у русских (24.9 %), чем у тувинцев и хакасов (8.9 и 12.3 %). Этот гаплотип, закодированный как "H1" (rs2280090-G + rs2787094-G + rs44707-G), в северокитайской популяции ассоциирован с тяжелой степенью астмы у детей (Qu et al., 2011). Поскольку носители редких аллелей G полиморфизма rs44707 и A полиморфизма rs2787094 *ADAM33* имеют большую чувствительность к аллергенам, выраженное снижение функции легких (Sleziak et al., 2024; Афоничева и др., 2025b), мы предполагаем, что риск развития обострений БА у русских определенно выше, чем у остальных исследованных в работе популяций. Необходимо учесть, что низкая частота встречаемости гаплотипа GGG *ADAM33* в популяциях тувинцев и хакасов ограничивает статистическую мощность анализа их ассоциации с заболеванием.

У тувинцев и хакасов гаплотип GGC, содержащий два из трех изученных рисков вариантов полиморфизмов генов *ADAM33*, встречается значимо чаще, чем у русских. Ввиду отсутствия в составе данного гаплотипа аллеля A rs2280090 *ADAM33*, который рассматривается в литературе как маркер предрасположенности к БА, мы предполагаем, что функциональные эффекты гаплотипа GGC могут отличаться от эффектов гаплотипов с полным набором «рисковых» аллелей. Тем не менее остается открытым вопрос о клинической значимости этого гаплотипа и его вкладе в предрасположенность к развитию БА у тувинцев и хакасов.

Установленное нами сильное неравновесие по сцеплению между изученными локусами генов *IL13* и *ADAM33* подтверждает, что аллельные варианты исследованных полиморфизмов генов наследуются в виде гаплотипических блоков. Данный результат обосновывает рассмотрение комбинаций вариантов полиморфизмов в виде гаплотипов. В нашей работе показаны популяционные различия в распределении частот гаплотипов, что свидетельствует как о разном уровне LD у русских, тувинцев и хакасов, так и о наличии дрейфа генов.

Расхождение в распределении гаплотипов локусов *IL13* и *ADAM33* между данными наших выборок и популяциями CEU и CHB указывает на уникальную генетическую структуру исследованных этнических групп.

Заключение

В результате проведенного анализа впервые определены особенности распределения гаплотипов генов *IL13* и *ADAM33* в популяциях русских, тувинцев и хакасов. Выявлены статистически значимые различия в частотах га-

плотипов, включающих аллели полиморфизмов, которые, по данным литературы, ассоциированы с предрасположенностью к БА. Установлено, что гаплотипы гена *IL13*, содержащие редкие («рисковые») аллели, встречаются в русской популяции с более высокой частотой по сравнению с тувинцами и хакасами. Также нами показано, что «рисковый» гаплотип GAC гена *ADAM33* значимо чаще встречается у русских, чем у хакасов и тувинцев.

Выявленные в ходе работы различия в распределении гаплотипов могут отражать генетические особенности изучаемых нами популяций, потенциально влияющие на межпопуляционные различия в распространенности БА, однако для подтверждения этой гипотезы необходимы исследования с дизайном «случай-контроль» в каждой из анализируемых этнических групп. Полученные данные подчеркивают многофакторность БА и необходимость учета этногеографических особенностей при изучении генетической подверженности к заболеванию. Для подтверждения наших выводов и уточнения роли выявленных гаплотипов в развитии БА необходимы функциональные эксперименты с расширением выборок.

Список литературы / References

- Афоничева К.В., Милейко А.Г., Терещенко С.Ю., Смольникова М.В. Варианты генов *IL4* (rs2243250, rs2070874) и *IL13* (rs1800925) в этнических группах Восточной Сибири. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2025a;45(3):53-60. doi 10.18699/SSMJ20250305
- [Afonicheva K.V., Mileyko A.G., Tereshchenko S.Yu., Smolnikova M.V. Variants of *IL4* (rs2243250, rs2070874) and *IL13* (rs1800925) genes in ethnic groups of Eastern Siberia. *Sibirskij Nauchnyj Medicinskij Zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2025a;45(3):53-60. doi 10.18699/SSMJ20250305 (in Russian)]
- Афоничева К.В., Терещенко С.Ю., Смольникова М.В. Распространенность аллельных вариантов *ADAM33* (rs2280090) и *ADRB2* (rs1042714) в популяциях Сибири. *Генетика*. 2025b;61(7):100-105. doi 10.31857/S0016675825070089
- [Afonicheva K.V., Tereshchenko S.Yu., Smolnikova M.V. Prevalence of allele variants of *ADAM33* (rs2280090) and *ADRB2* (rs1042714) in Siberian populations. *Russ J Genet*. 2025b;61(7):885-890. doi 10.1134/S1022795425700401]
- Беляева Т.М. Изучение ассоциаций гаплотипов полиморфизма гена *FLG* с развитием хронической истинной экземы у мужчин. *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2020; 6(2):160-171. doi 10.18413/2658-6533-2020-6-2-0-2
- [Belyaeva T.M. Study of associations of haplotypes of *FLG* gene polymorphism with the development of chronic true eczema in men. *Res Results Biomed*. 2020;6(2):160-171. doi 10.18413/2658-6533-2020-6-2-0-2 (in Russian)]
- Быстрицкая Е.В., Биличенко Т.Н. Обзор общей заболеваемости населения Российской Федерации бронхиальной астмой. *Пульмонология*. 2022;32(5):651-660. doi 10.18093/0869-0189-2022-32-5-651-660
- [Bystritskaya E.V., Bilichenko T.N. The review of the bronchial asthma morbidity in the population of the Russian Federation. *Pulmonologiya*. 2022;32(5):651-660. doi 10.18093/0869-0189-2022-32-5-651-660 (in Russian)]
- Карунас А.С., Федорова Ю.Ю., Рамазанова Н.Н., Галимова Е.С., Гималова Г.Ф., Гурьева Л.Л., Левашева С.В., Бикташева А.Р., Мухтарова Л.А., Загидуллин Ш.З., Эткина Э.И., Хуснутдинова Э.К. Исследование роли полиморфных вариантов генов цитокинов в развитии бронхиальной астмы в Республике Башкортостан. *Пульмонология*. 2012;5:37-40. doi 10.18093/0869-0189-2012-0-5-37-40

- [Karunas A.S., Fedorova Yu.Yu., Ramazanov N.N., Galimova E.S., Gimalova G.F., Guryeva L.L., Levasheva S.V., Biktasheva A.R., Mukhtarova L.A., Zagidullin Sh.Z., Etkina E.I., Khusnutdinova E.K. Evaluation of a role of cytokine gene polymorphisms in development of bronchial asthma in the Republic of Bashkortostan. *Pulmonologiya*. 2012;5:37-40. doi 10.18093/0869-0189-2012-0-5-37-40 (in Russian)]
- Коноплева О.С., Смольникова М.В., Смирнова С.В., Горбачева Н.Н., Терещенко С.Ю. Гены иммунного ответа в патогенезе атопической бронхиальной астмы у детей Восточно-Сибирского региона. *Цитокины и воспаление*. 2017;16(3):39-41
- [Konopleva O.S., Smolnikova M.V., Smirnova S.V., Gorbacheva N.N., Tereshchenko S.Yu. Genes of the immune response in the pathogenesis of atopic bronchial asthma in children of the East Siberian region. *Cytokines and Inflammation*. 2017;16(3):39-41 (in Russian)]
- Малярчук Б.А. Генетические особенности метаболизма липидов и углеводов у арктических народов. *Биохимия*. 2024;89(7):1184-1193. doi 10.31857/S0320972524070032
- [Malyarchuk B.A. Genetic features of lipid and carbohydrate metabolism in Arctic populations. *Biochemistry (Moscow)*. 2024;89(7):1192-1201. doi 10.1134/S0006297924070034]
- Малярчук Б.А., Литвинов А.Н. Полиморфизм локуса rs1421085 гена *FTO* в популяциях человека: геногеографический аспект. *Генетика*. 2025;61(4):86-93. doi 10.31857/S0016675825040098
- [Malyarchuk B.A., Litvinov A.N. Polymorphism of the rs1421085 locus of the *FTO* gene in human populations: genogeographic aspect. *Russ J Genet*. 2025;61(4):453-459. doi 10.1134/S1022795424701850]
- Малярчук Б.А., Деренко М.В., Денисова Г.А., Литвинов А.Н., Дамбуева И.К. Полиморфизм генов *FADS* и история формирования коренного населения Сибири. *Генетика*. 2024;60(2):70-77. doi 10.31857/S0016675824020073
- [Malyarchuk B.A., Derenko M.V., Denisova G.A., Litvinov A.N., Dambueva I.K. *FADS* gene polymorphism and the history of the formation of the indigenous populations of Siberia. *Russ J Genet*. 2024;60(2):199-209. doi 10.1134/S1022795424020091]
- Смольникова М.В., Терещенко С.Ю. Интернет-зависимость у подростков: поиск генетических ассоциаций. *Медицинская генетика*. 2020;19(4):46-48. doi 10.25557/2073-7998.2020.04.46-48
- [Smolnikova M.V., Tereshchenko S.Yu. Internet addiction in adolescents: the search for genetic associations. *Med Genet*. 2020;19(4):46-48. doi 10.25557/2073-7998.2020.04.46-48 (in Russian)]
- Смольникова М.В., Малинчик М.А., Терещенко С.Ю. Полиморфизм гена маннозосвязывающей лектин-ассоциированной сериновой протеазы (*MASP2*) у коренных популяций российских арктических территорий. *Инфекция и иммунитет*. 2022;12(3):543-550. doi 10.15789/2220-7619-GPO-1712
- [Smolnikova M.V., Malinchik M.A., Tereshchenko S.Y. Gene polymorphism of mannose-binding lectin-associated serine protease (*MASP2*) in indigenous populations of the Russian Arctic Territories. *Russ J Infect Immun*. 2022;12(3):543-550. doi 10.15789/2220-7619-GPO-1712 (in Russian)]
- Смольникова М.В., Каспаров Э.В., Малинчик М.А., Копылова К.В. Генетические маркеры бронхиальной астмы у детей: предрасположенность к вариантам течения заболевания. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023;27(4):393-400. doi 10.18699/VJGB-23-47
- [Smolnikova M.V., Kasparov E.W., Malinchik M.A., Kopylova K.V. Genetic markers of children asthma: predisposition to disease course variants. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii* = *Vavilov J Genet Breed*. 2023;27(4):393-400. doi 10.18699/VJGB-23-47]
- Терещенко С.Ю., Смольникова М.В. Полиморфизм гена маннозосвязывающего лектина у коренных популяций территорий Арктической зоны Российской Федерации. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2020;24(8):868-875. doi 10.18699/VJ20.685
- [Tereshchenko S.Yu., Smolnikova M.V. Polymorphism of the mannose-binding lectin gene in the Arctic indigenous populations of the Russian Federation. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii* = *Vavilov J Genet Breed*. 2020;24(8):868-875. doi 10.18699/VJ20.685 (in Russian)]
- Федорова Ю.Ю., Карунас А.С., Мурзина Р.Р., Савельева О.Н., Гималова Г.Ф., Гатиятуллин Р.Ф., Эткина Э.И., Хуснутдинова Э.К. Ассоциация аллельных вариантов генов, участвующих в метаболизме глюкокортикостероидов, с развитием бронхиальной астмы. *Генетика*. 2019;55(12):1424-1432. doi 10.1134/S001667581912004X
- [Fedorova Y.Y., Karunas A.S., Murzina R.R., Savelieva O.N., Gimalova G.F., Gatiyatullin R.F., Etkina E.I., Khusnutdinova E.K. Association between allelic variants of the genes involved in glucocorticoids metabolism and asthma. *Russ J Genet*. 2019;55(12):1520-1527. doi 10.1134/S1022795419120044]
- Akhmerova Y.N., Shpakova T.A., Grammatikati K.S., Mitrofanov S.I., Kazakova P.G., Mkrtchian A.A., Zemsky P.Y., ... Yudin V.S., Keskinnov A.A., Kraevoy S.A., Yudin S.M., Skvortsova V.I. Genetic variants associated with bronchial asthma specific to the population of the Russian Federation. *Acta Naturae*. 2023;15(1):31-41. doi 10.32607/actanaturae.11853
- Arima K., Umeshita-Suyama R., Sakata Y., Akaiwa M., Mao X.-Q., Enomoto T., Dake Y., ... Adra C.N., Hamasaki N., Hopkin J.M., Shirakawa T., Izuhara K. Upregulation of IL-13 concentration in vivo by the *IL13* variant associated with bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;109(6):980-987. doi 10.1067/mai.2002.124656
- Bai S., Lu J., Hua L., Liu Q., Chen M., Gu Y., Zhang J., Ma D., Bao Y. Prediction of asthma using a four-locus gene model including *IL13*, *IL4*, *FCER1B*, and *ADRB2* in children of Kazak nationality. *Ital J Pediatr*. 2023;49(1):162. doi 10.1186/s13052-023-01564-y
- Camoretti-Mercado B., Lockey R.F. Airway smooth muscle pathophysiology in asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2021;147(6):1983-1995. doi 10.1016/j.jaci.2021.03.035
- Ferreira M.A.R., Mathur R., Vonk J.M., Szwajda A., Brumpton B., Granell R., Brew B.K., ... Karlsson R., Hinds D.A., Paternoster L., Koppelman G.H., Almqvist C. Genetic architectures of childhood- and adult-onset asthma are partly distinct. *Am J Hum Genet*. 2019;104(4):665-684. doi 10.1016/j.ajhg.2019.02.022
- Gaceja K.V., Ancheta Z.F.R., Buna A.C.A., Clarendio S.M.S., Garrido M.A.R., Ramos J.D.A. Association of interleukin-13 gene single nucleotide polymorphism rs1800925 with allergic asthma in Asian population: a meta-analysis. *Asia Pac Allergy*. 2023;13(4):148-157. doi 10.5415/apallergy.000000000000119
- Gao M., Liu L.-X., Wu F.-L., Zhang X., Li Y.-Y., Shi T., Li D.-Z., Han T.-T. The changes of Th17/Treg and related cytokines: IL-17, IL-23, IL-10, and TGF- β in respiratory syncytial virus bronchiolitis rat model. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2017;16(5):386-395
- Ghani M.U., Sabar M.F., Bano I., Shahid M., Akram M., Khalid I., Maryam A., Khan M.U. Inheritance pattern of rs2280089, rs2280090, rs2280091 SNP variants in Punjabi population and association with asthma disease. *CHEST*. 2019;155(4):168A. doi 10.1016/j.chest.2019.02.162
- Gusareva E.S., Ghosh A.G., Kharkov V.N., Khor S.-S., Zarubin A., Moshkov N., Kalsi N., ... Nakagome S., Tatarinova T.V., Stepanov V.A., Schuster S.C., Kim H.L. From North Asia to South America: tracing the longest human migration through genomic sequencing. *Science*. 2025;388(6748):eadk5081. doi 10.1126/science.adk5081
- Hafez R.A., Hassan M.E., Haggag M.G., Atef N., Abdallah A.L., Gerages M.A. Association of interleukin 13 rs20541 gene polymorphism and serum periostin with asthma and allergic conjunctivitis among Egyptian patients. *J Asthma Allergy*. 2022;15:971-982. doi 10.2147/JAA.S373098
- Halwani R., Vazquez-Tello A., Kenana R., Al-Otaibi M., Alhasan K.A., Shakoor Z., Al-Muhsen S. Association of IL-13 rs20541 and rs1295686 variants with symptomatic asthma in a Saudi Ara-

- bian population. *J Asthma*. 2018;55(10):1157-1165. doi 10.1080/02770903.2017.1400047
- Hernandez-Pacheco N., Pino-Yanes M., Flores C. Genomic predictors of asthma phenotypes and treatment response. *Front Pediatr*. 2019;7:6. doi 10.3389/fped.2019.00006
- Holgate S.T., Yang Y., Haitchi H.-M., Powell R.M., Holloway J.W., Yoshisue H., Pang Y.Y., Cakebread J., Davies D.E. The genetics of asthma: *ADAM33* as an example of a susceptibility gene. *Proc Am Thorac Soc*. 2006;3(5):440-443. doi 10.1513/pats.200603-026AW
- Hua L., Liu Q., Li J., Zuo X., Chen Q., Li J., Wang Y., ... Chen Y., Zhong W., Zhang J., Zhang J., Bao Y. Gene-gene and gene-environment interactions on cord blood total IgE in Chinese Han children. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2021;17(1):69. doi 10.1186/s13223-021-00571-0
- Izuhara K., Conway S.J., Moore B.B., Matsumoto H., Holweg C.T.J., Matthews J.G., Arron J.R. Roles of periostin in respiratory disorders. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016;193(9):949-956. doi 10.1164/rccm.201510-2032PP
- Jie Z., Jin M., Cai Y., Bai C., Shen Y., Yuan Z., Hu Y., Holgate S. The effects of Th2 cytokines on the expression of *ADAM33* in allergen-induced chronic airway inflammation. *Respir Physiol Neurobiol*. 2009;168(3):289-294. doi 10.1016/j.resp.2009.07.019
- Kang M.-J., Lee S.-Y., Kim H.-B., Yu J., Kim B.-J., Choi W.-A., Jang S.-O., Hong S.-J. Association of IL-13 polymorphisms with leukotriene receptor antagonist drug responsiveness in Korean children with exercise-induced bronchoconstriction. *Pharmacogenet Genomics*. 2008;18(7):551-558. doi 10.1097/FPC.0b013e3282fe94c5
- Krasilnikova S.V., Tush E.V., Frolov P.A., Ovsyannikov D.Y., Terentyeva A.B., Kubysheva N.I., Eliseeva T.I. Periostin as a biomarker of allergic inflammation in atopic bronchial asthma and allergic rhinitis (a pilot study). *Mod Technol Med*. 2020;12(5):37-44. doi 10.17691/stm2020.12.5.04
- Lambrecht B.N., Hammad H. The airway epithelium in asthma. *Nat Med*. 2012;18(5):684-692. doi 10.1038/nm.2737
- Li H., Yan L., Wang K., Li X., Liu H., Tan W. Association between *ADAM33* polymorphisms and asthma risk: a systematic review and meta-analysis. *Respir Res*. 2019;20(1):38. doi 10.1186/s12931-019-1006-1
- Liu L., Yue D., Hu L., Wang F., Huang Y., Liao Y. Relationship between interleukin-13 rs20541 single nucleotide polymorphisms and therapeutic efficacy in children with asthma. *J Int Med Res*. 2020;48(6):030006052092917. doi 10.1177/0300060520929179
- Nie W., Zhu Z., Pan X., Xiu Q. The interleukin-4-589C/T polymorphism and the risk of asthma: a meta-analysis including 7,345 cases and 7,819 controls. *Gene*. 2013;520(2):22-29. doi 10.1016/j.gene.2013.02.027
- Ouyang C., Krontiris T.G. Identification and functional significance of SNPs underlying conserved haplotype frameworks across ethnic populations. *Pharmacogenet Genomics*. 2006;16(9):667-682. doi 10.1097/01.fpc.0000220569.82842.9b
- Pividori M., Schoettler N., Nicolae D.L., Ober C., Im H.K. Shared and distinct genetic risk factors for childhood-onset and adult-onset asthma: genome-wide and transcriptome-wide studies. *Lancet Respir Med*. 2019;7(6):509-522. doi 10.1016/S2213-2600(19)30055-4
- Qu S., Sun D., Wang Y., Zhang C., Lv Y., Yao L. Association of *ADAM33* polymorphisms with childhood asthma in a northern Chinese population. *Exp Mol Pathol*. 2011;91(3):775-779. doi 10.1016/j.yexmp.2011.09.001
- Resende E.P., Todo-Bom A., Loureiro C., Mota Pinto A., Oliveiros B., Mesquita L., Silva H.C. Asthma and rhinitis have different genetic profiles for *IL13*, *IL17A* and *GSTP1* polymorphisms. *Rev Port Pneumol*. 2017;23(1):10-16. doi 10.1016/j.rppnen.2016.06.009
- Shahhosseini S., Zare M. Association of rs2787094 in *ADAM33* and rs11650354 in *TBX21* gene polymorphisms with asthma in Iranian patients. *Iran South Med J*. 2023;25(6):489-504. doi 10.61186/ismj.25.6.489
- Shen B., Lin R., Wang C.-C., Rei J., Sun Y., Yang Y.-L., Lin Y.-Y. *ADAM33* gene polymorphisms identified to be associated with asthma in a Chinese Li population. *Biomed Rep*. 2017;6(3):323-328. doi 10.3892/br.2017.854
- Sidhu S.S., Yuan S., Innes A.L., Kerr S., Woodruff P.G., Hou L., Muller S.J., Fahy J.V. Roles of epithelial cell-derived periostin in TGF- β activation, collagen production, and collagen gel elasticity in asthma. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107(32):14170-14175. doi 10.1073/pnas.1009426107
- Sleziak J., Gawor A., Błażejewska M., Antosz K., Gomułka K. *ADAM33*'s role in asthma pathogenesis: an overview. *Int J Mol Sci*. 2024;25(4):2318. doi 10.3390/ijms25042318
- Sultana S., Banerjee P., Ganai I., Laha A., Sultana N., Biswas H., Saha N.C., Moitra S., Podder S. Polymorphism in *ADAM33* gene associated with asthmatics in West Bengal, India – an investigation by in-silico analysis. *World Allergy Organ J*. 2023;16(11):100834. doi 10.1016/j.waojou.2023.100834
- Sun F.J., Zou L.Y., Tong D.M., Lu X.Y., Li J., Deng C.B. Association between *ADAM* metalloproteinase domain 33 gene polymorphism and risk of childhood asthma: a meta-analysis. *Braz J Med Biol Res*. 2017;50(10):e6148. doi 10.1590/1414-431X20176148
- Sunadome H., Matsumoto H., Petrova G., Kanemitsu Y., Tohda Y., Horiguchi T., Kita H., ... Tamari M., Yokoyama T., Niimi A., Izuhara K., Mishima M. *IL4Ra* and *ADAM33* as genetic markers in asthma exacerbations and type-2 inflammatory endotype. *Clin Exp Allergy*. 2017;47(8):998-1006. doi 10.1111/cea.12927
- van der Pouw Kraan T., van Veen A., Boeijs L.C.M., van Tuyt S.A.P., de Groot E.R., Stapel S.O., Bakker A., Verweij C.L., Aarden L.A., van der Zee J.S. An IL-13 promoter polymorphism associated with increased risk of allergic asthma. *Genes Immun*. 1999;1(1):61-65. doi 10.1038/sj.gene.6363630
- Van Eerdewegh P., Little R.D., Dupuis J., Del Mastro R.G., Falls K., Simon J., Torrey D., ... Rorke S., Clough J.B., Holloway J.W., Holgate S.T., Keith T.P. Association of the *ADAM33* gene with asthma and bronchial hyperresponsiveness. *Nature*. 2002;418(6896):426-430. doi 10.1038/nature00878
- Viyati K., Prayuni K., Zulhamidah Y., Razari I., Yuliwulandari R. Association between rs2787094 genetic variants in *ADAM33* gene and asthma in Indonesian population: preliminary study. *Makara J Health Res*. 2023;27(3):149-153. doi 10.7454/msk.v27i2.1431
- Xue W., Han W., Zhou Z.-S. *ADAM33* polymorphisms are associated with asthma and a distinctive palm dermatoglyphic pattern. *Mol Med Rep*. 2013;8(6):1795-1800. doi 10.3892/mmr.2013.1733
- Zheng W., Wang L., Su X., Hu X.F. Association between V4 polymorphism in the *ADAM33* gene and asthma risk: a meta-analysis. *Genet Mol Res*. 2015;14(1):989-999. doi 10.4238/2015.February.6.2
- Zhou J., Sun D., Xu L., Sun L., Fu S., Li Y. *ADAM33* as a psoriasis susceptibility gene in the Han population of northeastern China. *Dermatology*. 2012;223(4):356-362. doi 10.1159/000335417

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 01.12.2025. После доработки 20.03.2026. Принята к публикации 21.04.2026.

doi 10.18699/vjgb-26-80

Унаследованная и соматическая компоненты в патогенетике многофакторных заболеваний

М.С. Назаренко ^{1, 2} , А.А. Слепцов ^{1, 2}, В.П. Пузырев ¹¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, Томск, Россия² Тюменский кардиологический научный центр – филиал Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, Тюмень, Россия maria.nazarenko@medgenetics.ru

Аннотация. Хорошо известно, что патогенез многофакторных заболеваний определяется сложным и нелинейным взаимодействием генетической предрасположенности, эпигенетических модификаций и факторов внешней среды. Однако помимо унаследованных генетических вариантов, важную роль в развитии патологического фенотипа играют соматические мутации, образуя клеточно-специфичные генетические ландшафты и влияя на регионарную предрасположенность органов-мишеней, возраст манифестации и вариабельность клинических проявлений. Таким образом, согласно современным представлениям, многофакторные заболевания формируются в результате совместного влияния унаследованных герминативных вариантов и соматических мутаций, приобретенных в течение жизни, взаимодействие которых реализуется через клеточно-специфичные молекулярные сети. В связи с этим в обзоре последовательно рассматриваются основные факторы, классические и современные модели сложных патологических фенотипов, а также достижения и перспективы анализа наследуемых генетических вариантов в отношении многофакторных заболеваний. Роль соматических мутаций в формировании патологии обсуждается на примере онтогенеза атеросклероза и концепции атеро-онкологии через оценку соматической вариабельности генома в гладкомышечных клетках атеросклеротической бляшки, когда последовательное накопление «драйверных» мутаций дает селективное преимущество и запускает процесс клональной эволюции в тканевом микроокружении. Отдельное внимание уделено описанию концепции «парадоминантного» наследования – особой форме менделевской передачи сложных признаков, сочетающей унаследованную предрасположенность и соматические мутации, возникающие на ранних стадиях онтогенеза. На основе анализа современных данных нами предлагается интегративная гипотеза, постулирующая, что унаследованные генетические варианты формируют общеорганизменный фон предрасположенности к многофакторным заболеваниям, в то время как соматические мутации, возникающие и селективно увеличивающиеся в специфических клеточных компартаментах органов-мишеней, являются критичным событием, объясняющим топическую специфичность, временную динамику (возраст манифестации) и вариабельность тяжести клинического фенотипа. Новая парадигма предиктивной медицины в отношении многофакторных заболеваний основывается на комплексной характеристике континуума генетических вариантов (унаследованных и соматических), анализе их взаимодействия с клеточно-специфичными молекулярными сетями и переходе от популяционных оценок риска к каузальным моделям индивидуального патогенеза.

Ключевые слова: патогенетика; многофакторные заболевания; омнигенная модель; атеросклероз; злокачественные новообразования; герминальные варианты; соматические мутации

Для цитирования: Назаренко М.С., Слепцов А.А., Пузырев В.П. Унаследованная и соматическая компоненты в патогенетике многофакторных заболеваний. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2026;30(5):792-802. doi 10.18699/vjgb-26-80

Финансирование. Работа выполнена при частичной поддержке внутреннего гранта Томского НИМЦ «Клональный гемопоз неопределенного потенциала как фактор риска хронической сердечной недостаточности: роль соматических мутаций и системного воспаления» и дополнения к Федеральному соглашению о субсидиях № 075-03-2026-698/7.

Inherited and somatic components in the pathogenetics of common diseases

M.S. Nazarenko ^{1, 2} , A.A. Sleptcov ^{1, 2}, V.P. Puzyrev ¹¹ Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia² Tyumen Cardiology Research Center – Branch of the Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tyumen, Russia maria.nazarenko@medgenetics.ru

Abstract. It is known that the pathogenesis of common diseases (CDs) is determined by a complex and nonlinear interaction of genetic predisposition, epigenetic modifications, and environmental factors. However, in addition to inherited genetic variants, somatic mutations play a key role in the pathological phenotype, shaping cell-type-specific genetic landscapes and influencing regional predisposition of target organs, age of onset, and variability in clinical manifestations. Thus, according

to current concepts, CDs develop as a result of the combined influence of inherited germline variants and somatic mutations acquired during life, the interaction of which is realized through cell-specific molecular networks. Therefore, this review sequentially examines the main factors, classical and modern models of complex pathological phenotypes, as well as the achievements and prospects of analyzing inherited genetic variants in relation to CDs. The role of somatic mutations in the development of pathology is discussed using the example of atherosclerosis ontogenesis and the concept of athero-oncology through the assessment of somatic genomic variability in smooth muscle cells of atherosclerotic plaques, where the sequential accumulation of “driver” mutations confers a selective advantage and triggers clonal evolution in the tissue microenvironment. Special attention is given to the concept of “paradominant” inheritance – a special form of non-Mendelian transmission of complex traits that combines inherited predisposition and somatic mutations that arise early in ontogenesis. Based on an analysis of current data, we propose an integrative hypothesis postulating that inherited genetic variants form a body-wide predisposition to CDs, while somatic mutations, arising and selectively increasing in specific cellular compartments of target organs, are critical events explaining the regional specificity, temporal dynamics (age of onset), and variability in the severity of the clinical phenotype. A new paradigm for predictive medicine for CDs is based on a comprehensive characterization of the continuum of genetic variants (inherited and somatic), an analysis of their interactions with cell-specific molecular networks, and a transition from population-based risk assessments to causal models of individual pathogenesis.

Key words: pathogenetics; common diseases; omnigenic model; atherosclerosis; cancer; germinal variants; somatic mutations

For citation: Nazarenko M.S., Sleptcov A.A., Puzyrev V.P. Inherited and somatic components in the pathogenetics of common diseases. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii* = *Vavilov J Genet Breed*. 2026;30(5):792-802. doi 10.18699/vjgb-26-80

Введение

Патогенетика представляет собой дисциплину, которая исследует этиологическую роль наследственных факторов и молекулярно-генетические механизмы инициации, развития и прогрессии патологических процессов, фокусируясь на причинных путях трансформации генетической предрасположенности в клинический фенотип заболевания (Пузырев, Кучер, 2011). Исследование данной трансформации базируется на интегративном анализе генетических вариантов, эпигенетических модификаций и сетей межгенных взаимодействий. Более того, патогенетика включает в себя описание процессов, происходящих на всех уровнях организации жизни, начиная с молекулярно-клеточного и вплоть до популяционно-видового, в контексте адаптации к окружающей среде.

Фундаментальной целью патогенетики в медицине является установление причинных связей между генетическими вариантами и патологическими фенотипами, что создает основу для разработки патогенетически обоснованных стратегий диагностики, таргетной терапии и превентивных вмешательств (Пузырев, Кучер, 2011). Наибольшие успехи в этой области знаний достигнуты в отношении моногенных и хромосомных заболеваний. Однако патогенетика многофакторных заболеваний (МФЗ) в значительной степени остается недостаточно изученной областью.

С началом эры полногеномных исследований формально-генетический подход к изучению МФЗ, базировавшийся на оценках наследуемости, полученных при обследовании близнецов и семей, был дополнен парадигмой медицинской геномики. Новая парадигма была направлена на идентификацию конкретных генетических локусов и структурных вариантов, ассоциированных с предрасположенностью к МФЗ с эволюционной и онтогенетической точек зрения (Пузырев, Кучер, 2011).

Последующий методологический сдвиг, ознаменовавший переход от каталогизации ассоциаций к построению причинных моделей, потребовал конвергенции данных

полногеномного секвенирования, функциональной геномики и системной биологии. Это позволило перейти к интерпретации выявленных генетических ассоциаций через призму клеточно-специфичных регуляторных сетей, эпигенетических механизмов и иерархии патофизиологических путей, определяющих траекторию развития заболевания.

Конвергенция методологических подходов сформировала современную парадигму патогенетики МФЗ, в которой критическое значение придается не только спектру, но и онтогенетическому происхождению генетических вариантов, которые подразделяются на унаследованные по герминальной линии и возникающие *de novo* в результате соматических мутаций, что определяет их принципиально различный вклад в пенетрантность, возраст манифестации и клинический полиморфизм заболевания.

В связи с этим цель настоящего обзора состоит в рассмотрении унаследованной и соматической компоненты в патогенетике МФЗ.

Широко распространенные болезни: факторы и модели

Согласно современным представлениям, МФЗ являются результатом сложных нелинейных взаимодействий в системе «геном–эпигеном–среда». Интенсивность изучения каждого из этих компонентов исторически варьирует и детерминирована уровнем развития молекулярно-биологических и биоинформатических технологий, что определяет смену доминирующих исследовательских парадигм в данной области, последовательно смещающих фокус с классической генетики на комплексный анализ полигенных сетей и их взаимодействия с факторами среды.

Идентификация локусов предрасположенности к МФЗ эволюционирует от парадигм, основанных на анализе генов-кандидатов и полногеномном поиске ассоциаций (genome-wide association studies, GWAS) с помощью микрочипов, до популяционно-специфичного анализа данных полногеномного секвенирования с детекцией полного

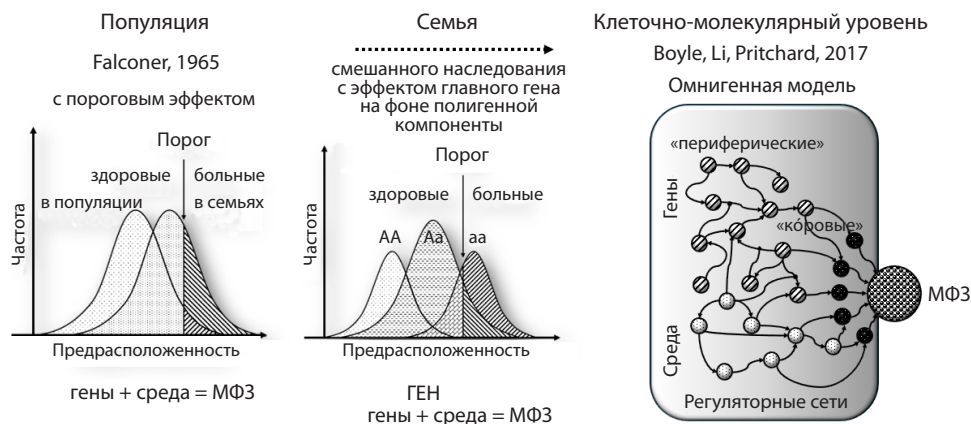


Рис. 1. Эволюция моделей наследования многофакторных заболеваний (МФЗ).

спектра вариантов (от частых до уникальных) в сочетании с методами функциональной геномики *in vivo* и *in vitro*, а также дополняется картами эпигеномных аннотаций для предсказания клеточно-специфичных регуляторных эффектов и установления причинных генов.

Важным аспектом в понимании связи генотипа и фенотипа МФЗ является оценка влияния генетических вариантов на регуляцию или экспрессию генов в различных клетках/тканях, что может быть выполнено с помощью биоинформатического анализа *in silico* или через объединение GWAS и эпигеномных/транскриптомных данных, в том числе выполненных на уровне отдельных клеток.

Центральное понятие в изучении МФЗ – генетическая предрасположенность, определяемая как интегральная вероятностная мера, которая количественно отражает вклад полигенного груза, унаследованных редких вариантов высокой пенетрантности и модулирующего влияния средовых факторов в индивидуальный профиль риска развития заболевания, описываемый с помощью функций распределения вероятности для различных клинических фенотипов с учетом временной динамики их манифестации.

Согласно устоявшимся моделям, формирование предрасположенности к МФЗ описывается в рамках полигенной архитектуры, предполагающей аддитивное действие многочисленных генетических вариантов (полигены) с малыми эффектами, либо олигогенной архитектуры, характеризующейся наличием ограниченного числа генов-драйверов со значительным эффектом на пенетрантность. Для обеих архитектур учитывается модифицирующее влияние дополнительных генетических и эпигенетических факторов, определяющих возраст манифестации и выраженность клинического фенотипа (рис. 1).

В соответствии с полигенной моделью, генетическая предрасположенность носит вероятностный, а не детерминированный характер, смещая популяционное распределение риска. В то время как манифестация патологии происходит при превышении индивидуального порога устойчивости, обусловленного истощением компенсаторных резервов организма.

В настоящее время одной из влиятельных гипотез в понимании сложной генетической архитектуры МФЗ

стала омнигенная модель (Boyle et al., 2017) (см. рис. 1). Согласно данной концепции, обширный репертуар генетических вариантов, проявляющих преимущественно цисрегуляторные эффекты, модулирует экспрессию генов, функционирующих на периферии патогенетических путей. Эти дисрегулированные транскрипционные программы интегрируются посредством сложных трансрегуляторных сетей, конвергируя в измененной активности ограниченного числа высококонсервативных «коровых» (от англ. “core” – ядро, центр) генов, непосредственно детерминирующих ключевые патофизиологические процессы. Необходимо подчеркнуть, что сама дихотомия «коровых» и «периферических» генов является функциональной и контекстно-зависимой, а не строго структурной категорией, поскольку один и тот же ген может выступать в роли «корового» в одной тканеспецифичной сети и «периферического» – в другой. Статистически значимые ассоциации в GWAS преимущественно обнаружены для «периферических» генов в силу их большей популяционной частоты, полигенной природы и ограниченной статистической мощности исследований для детекции эффектов редких вариантов в локусах «коровых» генов.

Омнигенная модель предлагает единое объяснение для ключевых особенностей генетической архитектуры МФЗ, включая высокую полигенность, преобладание вариантов с малыми эффектами, широко распространенную плейотропию, а также критическую важность регуляторных взаимодействий, опосредованных транскрипционными сетями. Данная модель претендует на роль концептуального сдвига в интерпретации генетической архитектуры МФЗ, предлагая механистическое объяснение полигенности через призму регуляторной конвергенции. Однако ее полная верификация требует перехода от корреляционных карт экспрессии к прямому экспериментальному установлению причинно-следственных связей (например, с применением методов менделевской рандомизации или геномного редактирования) внутри этих сетей, а также учета вклада нетранскрипционных механизмов, таких как посттрансляционные модификации и метаболический контроль.

Несмотря на свою эвристическую ценность, омнигенная модель, будучи упрощенным представлением, оставляет

ряд фундаментальных вопросов, требующих разрешения: каковы объективные молекулярно-биологические и функциональные критерии для стратификации генов на «кóровые» и «периферические» и их валидной идентификации в различных тканях и на разных онтогенетических стадиях; являются ли патогенетически релевантные регуляторные сети сугубо внутриклеточными образованиями или же они принципиально включают в себя межклеточные сигнальные каскады, формирующие тканевый контекст заболевания; а также каким образом количественно определить вклад конвергирующих регуляторных влияний по сравнению с прямыми причинными эффектами в конкретных клеточных типах. Кроме того, модель в ее текущей формулировке не в полной мере учитывает роль пространственной организации хроматина и межклеточных коммуникаций в формировании интегрального патогенетического контекста.

Наследуемый геном и многофакторные заболевания

Современные исследования генетической архитектуры МФЗ, использующие в качестве исходного этапа методологию полногеномного поиска ассоциаций (GWAS), кумулятивно идентифицировали обширный репертуар статистически значимых ассоциаций между генетическими вариантами, главным образом однонуклеотидными полиморфизмами (single nucleotide polymorphism, SNP), и заболеваниями, каталогизированными в репозиториях типа NHGRI-EBI GWAS Catalog (<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>). Анализ полученных данных выявил ключевые особенности таких ассоциаций.

Подавляющее большинство идентифицированных генетических ассоциаций характеризуются малыми величинами эффекта, увеличивая отношение шансов (odds ratio, OR) развития заболевания в диапазоне 1.1–1.5, что соответствует относительному увеличению риска на 10–50 %. Как правило, отдельный частый генетический вариант (MAF > 1–5 %) объясняет лишь малую долю наследуемости для большинства МФЗ, что ограничивает его клиническую полезность в качестве изолированного прогностического биомаркера.

В настоящее время проводятся когортные и проспективные исследования, направленные на уточнение этих рисков и разработку методов генетической рискометрии. Для повышения статистической мощности GWAS и минимизации систематических ошибок, обусловленных популяционной стратификацией, критически важным является формирование крупных, фенотипически и генотипически хорошо охарактеризованных когорт с учетом этнического происхождения индивидов, что необходимо также для разработки и калибровки шкал полигенного риска (polygenic risk scores, PRS), релевантных для конкретных популяций, поскольку различия в частотах аллелей и структуре гаплотипов между популяциями ограничивают применимость шкал, созданных на иной генетической основе.

В Российской Федерации наиболее активно в области разработки популяционно-специфичных PRS работают научные коллективы под руководством ведущих ученых –

академика АН РБ Э.К. Хуснутдиновой, академика РАН О.М. Драпкиной, академика РАН М.И. Воеводы, докторов медицинских наук А.В. Полоникова, А.Н. Мешкова, М.И. Чурносова и А.О. Кибитова, доктора биологических наук В.Е. Голимбет, а также коллектив исследователей из ФГБУ «ЦСП» ФМБА России.

Установлено, что комбинации (ансамбли) аллельных вариантов различных генов могут существенно увеличивать риск развития заболеваний и вероятность осложненного течения. Совокупный эффект таких полигенных комбинаций, агрегируемый в PRS, может объяснять значительную долю наследуемости для ряда МФЗ, однако их вклад существенно варьирует между патологиями и зависит от этнического состава изучаемой популяции. Значительная часть наследуемости МФЗ остается необъясненной в рамках модели частых генетических вариантов («недостающая наследуемость»), что, по современным представлениям, связано с комбинированным вкладом спектра редких генетических вариантов, структурных перестроек, эпистатических взаимодействий, а также с ограничениями самих статистических моделей оценки наследуемости, не полностью учитывающих вклад соматического мутагенеза и неточностей фенотипирования.

Методы полногеномного (whole genome sequencing, WGS) и полноэкзомного (whole exome sequencing, WES) секвенирования являются ключевыми для идентификации спектра редких и уникальных вариантов, включая однонуклеотидные варианты (single nucleotide variant, SNV) и вариации по числу копий участков ДНК (copy number variation, CNV). Для оценки их вклада в «недостающую наследуемость» и установления ассоциации с заболеванием применяются специализированные статистические подходы, такие как тест искажения передачи (transmission disequilibrium test, TDT) для анализа *de novo* мутаций и методы агрегации вариантов (burden test, SKAT), оценивающие совокупный эффект редких аллелей в рамках гена или биологического пути.

Варианты, ассоциированные с МФЗ, расположены в ядерном и митохондриальном геномах, что подчеркивает сложность функциональных взаимодействий, лежащих в основе патогенеза соответствующих заболеваний. Генетические исследования выявили широко распространенную плейотропию, при которой отдельные генетические локусы и конкретные варианты ассоциированы с риском развития нескольких различных по клиническим проявлениям МФЗ, что является молекулярной основой, наблюдаемой в клинике генетической корреляции между заболеваниями и такими феноменами, как синтропия (коморбидность) (Брагина, Пузырев, 2023). Эти находки свидетельствуют о наличии общих молекулярных механизмов в патогенезе различных МФЗ и открывают новые перспективы для понимания их генетической архитектуры.

Результаты GWAS демонстрируют, что большинство значимых SNP локализовано в некодирующих регионах генома, обогащенных эпигенетическими маркерами активных регуляторных элементов, таких как энхансеры и промоторы, что указывает на преобладание опосредованных механизмов их влияния на риск МФЗ через аллель-

специфичное изменение связывания транскрипционных факторов и последующую дисрегуляцию экспрессии генов-мишеней, а не через прямое изменение структуры белков. При этом интерпретация их функциональной значимости требует осторожности ввиду потенциального неравновесного сцепления с причинными вариантами, включая редкие или структурные.

Несмотря на большое количество выявленных ассоциаций, «причинные» или «драйверные» генетические варианты в отношении МФЗ часто остаются неизвестными. В связи с этим основу современного изучения патогенеза МФЗ составляет интегративный системно-биологический подход, направленный на построение причинно-следственных моделей через совместный анализ данных мультиомиксных уровней. Ключевым методологическим вызовом остается не просто интеграция разнородных данных (геном, эпигеном, транскриптом, протеом, метаболом, экспозом), а установление временной последовательности и иерархии молекулярных событий в патогенетическом каскаде, а также учет пространственной организации генома и внутриклеточных компартментов, которые определяют специфичность молекулярных взаимодействий.

Связь между генетическими вариантами и МФЗ анализируется не только для отдельных нозологий, но и для их сочетаний (синтропия) или несочетаний (дистропия), включая дизисом – совокупность всех болезней, рассматриваемых через призму их генетического родства и общности молекулярных сетей (Брагина, Пузырёв, 2023). Однако для точной количественной оценки дизисома требуются более сложные метрики, чем простое перечисление общих генетических локусов.

Обобщения в рамках исследования феномена сочетания болезней позволяют приблизиться к систематизации и естественной классификации болезней, базирующейся не на органном или симптоматическом принципе, а на общности лежащих в их основе молекулярных сетей и патогенетических путей, что открывает перспективы для разработки принципиально новых терапевтических стратегий, нацеленных не на отдельные нозологии, а на ключевые узлы, общие для нескольких заболеваний.

Стратегия деконволюции молекулярно-генетических механизмов МФЗ требует интегративного анализа, так называемого интегративного профилирования (integrative profiling), широкого спектра генетических вариантов (SNV, CNV, мобильные элементы), эпигенетических ландшафтов (метилирование ДНК, гистоновые модификации, доступность хроматина) и профилей экспрессии генов, полученных с разрешением на уровне отдельных клеток и пространственно-временной организации в тканях органов-мишеней с использованием методов single-cell multi-omics и spatial transcriptomics.

Статистический анализ таких разреженных данных и идентификация биологически значимых паттернов остаются нетривиальной методологической задачей. Ключевым этапом является интеграция данных GWAS с мультиомиксными профилями релевантных клеточных типов для статистического вывода «причинных» генов и клеточ-

но-специфичных регуляторных путей. Успешность этого подхода принципиально зависит от полноты и точности клеточных атласов и аннотаций функциональных геномных элементов для конкретных тканей человека, поскольку некорректные или неполные референсные данные могут привести к искаженным выводам о причинности.

Исторически большинство исследований генетики МФЗ фокусировалось на анализе герминативных вариантов, преимущественно SNP, в легкодоступных суррогатных тканях, таких как периферическая кровь, что вводит существенные ограничения вследствие недоучета тканевой и клеточной специфичности молекулярных процессов, а также динамики транскрипционных и эпигенетических состояний в онтогенезе. Эти работы базируются на предположении о генетической идентичности большинства клеток тела человека и их стабильности в онтогенезе. Этот традиционный подход, однако, принципиально игнорирует растущий массив данных, подчеркивающих значимый вклад соматических мутаций в патогенез МФЗ, который проявляется через формирование мозаичных генетических ландшафтов в тканях-мишенях (нарушение функций тканеспецифичных пулов клеток) и может существенно модифицировать фенотип, предопределенный герминативными вариантами. Рассмотрим роль соматических мутаций в формировании МФЗ на примере онтогенеза атеросклероза.

Соматическая вариабельность генома в гладкомышечных клетках атеросклеротической бляшки

Патогенез атеросклероза, рассматриваемый сквозь призму клональной экспансии соматических клеток, несущих патогенные генетические варианты, в стенке артерии, демонстрирует концептуальные параллели с моделью канцерогенеза, где последовательное накопление «драйверных» мутаций дает селективное преимущество и запускает процесс клональной эволюции в тканевом микроокружении. Хорошо известно, что атеросклероз и злокачественные новообразования имеют много общего, начиная с длительного инкубационного периода, факторов риска и заканчивая схожими молекулярно-клеточными процессами и механизмами (Baylis et al., 2023).

На молекулярном уровне это сходство манифестирует в общности характеристик микроокружения, включая хроническое неразрешающееся воспаление, гипоксию, ангиогенез и ремоделирование внеклеточного матрикса, а также в фундаментальных клеточных фенотипах, таких как метаболический сдвиг в сторону аэробного гликолиза, резистентность к апоптотическим сигналам, нарушение механизмов клеточного старения, уклонение от иммунного надзора через механизмы, аналогичные опухолевому (экспрессия CD47, дефектный эффероцитоз), эпителиально-мезенхимальный переход, повышенная инвазивность и, что наиболее важно, клональная экспансия, движимая соматическими мутациями (DiRenzo et al., 2017).

Открытие моноклональности гладкомышечных клеток (ГМК) в атеросклеротических бляшках послужило основанием для гипотезы, рассматривающей атерогенез как

неопластический процесс, в котором серия соматических «драйверных» мутаций, например, в генах, регулирующих клеточный цикл (*TP53*, *NOTCH1*), обуславливает клональную экспансию клеток, обладающих селективным преимуществом (Benditt E., Benditt J., 1973). Согласно данной гипотезе, инициация и прогрессия атеросклеротической бляшки связаны с накоплением соматических мутаций, индуцированных как эндогенными процессами (окислительный стресс, ошибки репликации), так и экзогенными факторами (химические мутагены, онкогенные вирусы), что создает молекулярную основу для клональной эволюции в стенке сосуда. Несмотря на то что моноклональная теория атерогенеза была сформулирована достаточно давно, лишь с 2015 г. начали встречаться экспериментальные работы, в которых уделяется внимание ее проверке.

Валидация моноклональной гипотезы атеросклероза стала возможной с появлением высокоразрешающих методов, таких как трассировка клеточных линий (lineage tracing) на животных моделях, а также применение мультиомиксного анализа на уровне отдельных клеток (single-cell multi-omics: scRNA-seq, scATAC-seq) в сочетании с технологиями пространственной транскриптомики (spatial transcriptomics). Эти подходы позволяют не только визуализировать клональную архитектуру бляшки, но и устанавливать прямые причинно-следственные связи между конкретными соматическими мутациями, клональной динамикой и патогенными транскриптомными программами, выявляя, таким образом, последовательность клеточно-молекулярных событий в развитии заболевания.

Применение комплексного методологического подхода позволило установить, что фенотипически измененные ГМК в атеросклеротических бляшках аккумулируют онкогенные «драйверные» мутации и демонстрируют свойства, аналогичные опухолевым клеткам, включая нарушения контроля клеточного цикла и механизмов апоптоза. Эти данные предоставляют прямые экспериментальные доказательства в поддержку гипотезы о глубокой общности фундаментальных молекулярно-клеточных механизмов, лежащих в основе атерогенеза и канцерогенеза.

В атеросклеротических бляшках в ГМК и их производных наблюдается кумуляция окислительного повреждения ДНК, что служит источником соматических мутаций и ведет к нарастанию геномной нестабильности, коррелирующей со степенью трансдифференцировки ГМК в макрофагоподобные и мезенхимальные состояния. Фенотипически измененные ГМК несут соматические вариации числа копий (CNV), затрагивающие онкогены (*EGFR*, *KRAS*) и гены-супрессоры опухолей (*FAT1*, *UBR5*), а также гены, ассоциированные с ишемической болезнью сердца (*CCM2*, *PALLD*), причем спектр этих aberrаций перекрывается с таковым при солидных опухолях. Онкогенная мутация *KrasG12D* ускоряет фенотипическое переключение ГМК и способствует прогрессированию атеросклероза (Pan et al., 2024).

Согласно современной парадигме, зрелые ГМК в ответ на патогенные стимулы подвергаются дедифференцировке и дают начало олигоклональным популяциям. Мигрируя из меди в интиму, эти клоны формируют фиброзную

покрышку бляшки, однако дальнейшая их судьба гетерогенна: часть клонов подвергается трансдифференцировке в макрофагоподобные фенотипы, способствующие воспалению и дестабилизации, тогда как другие приобретают остеогенные свойства, ведущие к кальцификации, что в совокупности и определяет структурную целостность и склонность атеросклеротической бляшки к разрыву. Клональная экспансия ГМК представляет собой динамический патологический процесс, который на ранних стадиях атерогенеза может способствовать формированию стабилизирующей фиброзной покрышки. В то же время накопление в этих клонах дополнительных соматических мутаций и провоспалительных трансдифференцировочных программ приводит к дестабилизации атеросклеротической бляшки, повышая риск ее разрыва и острых сосудистых событий.

Молекулярной основой клональной экспансии ГМК может служить существование в сосудистой стенке дискретных субпопуляций клеток-предшественников, которые характеризуются уникальными транскриптомными и эпигенетическими ландшафтами, предопределяющими их повышенную пролиферативную компетенцию и устойчивость к апоптозу в условиях атерогенного стресса. В частности, экспериментально продемонстрировано, что субпопуляция C3high Sca1+ ГМК функционирует как ключевой регуляторный узел: она не только стимулирует автономную пролиферацию ГМК посредством аутокринных сигнальных путей, но и опосредует рекрутирование и функциональное перепрограммирование макрофагов в направлении провоспалительного фенотипа, характеризующегося нарушением способности к эффероцитозу, тем самым усиливая воспалительный ответ и усугубляя повреждение ткани (Dobnikar et al., 2018).

Альтернативная модель предполагает, что, хотя все ГМК меди изначально обладают пролиферативным потенциалом, клональная динамика определяется селекцией субпопуляций, приобретающих селективное преимущество через соматические мутации, обеспечивающие гиперпролиферацию и уклонение от эффероцитоза. Параллельно селективное преимущество может достигаться за счет повышенной толерантности к патологической среде, характеризующейся метаболическим стрессом и воспалением, или через механизмы латерального торможения, при которых доминантный клон активно подавляет соседние клетки посредством короткодистантных (юкстакринных) сигнальных факторов (Luo et al., 2023).

Накопленные данные свидетельствуют, что вклад собственно структурных мутаций в изменение фенотипа ГМК может быть ограничен, в то время как эпигенетическое перепрограммирование, включающее изменения в метилировании ДНК и модификациях гистонов, может выступать в качестве альтернативного или синергичного механизма, лежащего в основе клональной экспансии ГМК. В этом случае клональность ГМК может частично объясняться динамическими изменениями в архитектуре хроматина, что способствует их дезадаптивной реакции на стресс, вызванный воспалением. При этом транскрипционный фактор ATF3 идентифицирован как ключевой репрессор

перехода ГМК в воспалительный фенотип. Его защитная функция реализуется не через активацию противовоспалительных программ, а через прямое подавление провоспалительных сигнальных путей, в частности, за счет ингибирования каскада активации системы комплемента (Wang et al., 2022).

Молекулярные механизмы клональной экспансии ГМК могут опосредоваться межклеточными взаимодействиями в системе макрофаги–ГМК, причем миелоидные клетки, несущие функциональные нарушения (такие как снижение экспрессии эпигенетического регулятора TET2 и интегрин $\beta 3$), создают провоспалительную среду через гиперактивацию сигнального пути TNF, что в конечном счете способствует не олигоклональности, а поликлональной пролиферации клеток-предшественников ГМК и формированию более обширных атеросклеротических поражений (Kabir et al., 2023).

Гетерогенность транскрипционных профилей ГМК, детерминированная их эмбриональным происхождением (Dobnikar et al., 2018), может лежать в основе вариабельного потенциала к клональной экспансии в различных сегментах артериального русла, что, в свою очередь, может объяснять региональную предрасположенность к формированию патологических очагов. Существует гипотеза, что клональная экспансия клеток сосудов, включая ГМК, эндотелиальные клетки и макрофаги, при различных васкулопатиях (атеросклероз, аневризма, легочная гипертензия, кавернозная мальформация головного мозга) может регулироваться консервативными молекулярными путями, общими для разных нозологических форм (Lin et al., 2023). Данные пути, вероятно, интегрируются с фундаментальными онтогенетическими программами, определяющими пролиферативный и пластический потенциал самих клеток.

Более того, показано, что эпигеномный ландшафт, в частности профиль доступности хроматина, в отдельных клетках (ГМК, фибробластах, эндотелии) различных сегментов восходящей аорты детерминирован их эмбриональным происхождением, причем данные онтогенетически унаследованные регуляторные домены пространственно колокализуются с локусами генетического риска сердечно-сосудистых заболеваний, идентифицированными в полногеномных анализах ассоциаций (GWAS). В частности, установлено, что у мыши в норме транскриптомный и эпигеномный ландшафты отдельных клеток артерий (ГМК, фибробластов и эндотелиальных клеток) зависят от их типа и сосудистого русла, а участки «открытого хроматина» обогащены генами риска сердечно-сосудистых заболеваний человека (Weldy et al., 2025).

Предполагают, что специфические для определенного типа клеток и сосудистых участков энхансеры генов транскрипционных факторов развития (*Tbx20*, *Hand2*, *Gata4* и *Hoxb*) являются ключевым элементом в интерпретации сложных генетических факторов риска патологии артерий, трансформируя унаследованные полиморфизмы в клеточно-специфичные патологические программы (Weldy et al., 2025). При аневризме/диссекции и атеросклерозе восходящей аорты у человека наблюдаются разнонаправленные

сдвиги в паттернах метилирования ДНК в регуляторных областях, ассоциированных с генами транскрипционных факторов *NR2F1* и *TBX20*, играющих ключевую роль в эмбриональном развитии сосудов, что указывает на реактивацию онтогенетических программ в патогенезе данных заболеваний (Королёва и др., 2024).

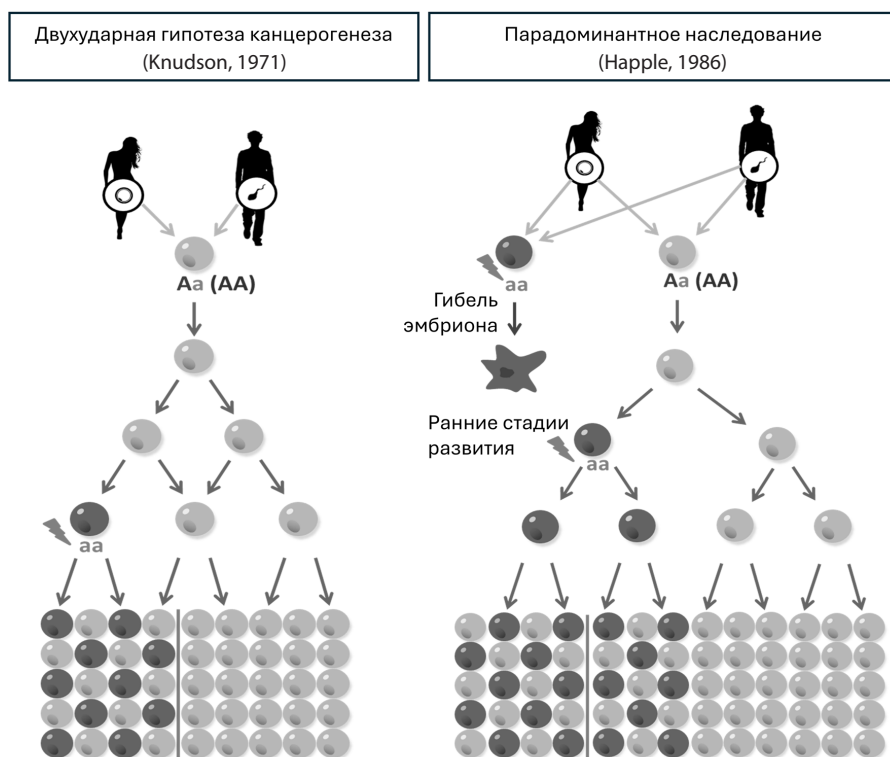
Таким образом, кумулятивное и динамическое взаимодействие множества генетических и эпигенетических факторов, воздействующее на клеточно-молекулярные системы на протяжении всего онтогенеза, формирует патологический контекст, благоприятствующий возникновению коморбидности между заболеваниями. В этом контексте соматические варианты, включающие как структурные геномные изменения, так и стойкие эпигенетические перепрограммирования, выступают в качестве универсальных механизмов модификации клеточного фенотипа и интеграции патогенных влияний.

Соматические мутации идентифицируются не только в паренхиматозных клетках органов-мишеней при МФЗ, но и в гемопоэтических клетках, где они проявляются в виде клонального гемопоэза (clonal hematopoiesis, CH). Особый клинико-биологический статус имеет феномен клонального гемопоэза неопределенного потенциала (clonal hematopoiesis of indeterminate potential, CHIP), характеризующийся наличием «драйверной» мутации при отсутствии диагностических критериев гематологического новообразования (Jaiswal et al., 2014). Интенсивное изучение CHIP выявило его роль в качестве системного провоспалительного фактора, опосредующего влияние соматического мозаицизма на патогенез широкого спектра МФЗ через секрецию провоспалительных цитокинов мутантными клонами макрофагов и других миелоидных производных (Schuermans, Honigberg, 2025).

Детальные молекулярно-клеточные механизмы между CHIP и столь широким спектром МФЗ еще предстоит выяснить. Концепция «парадоминантности», при которой соматическая мутация, возникающая на фоне унаследованной гетерозиготной мутации в том же гене (например, *TET2*, *DNMT3A*), приводит к полной потере функции и манифестации патологического фенотипа, служит важным связующим звеном между классической генетикой и генетикой соматических клеток. Она предлагает механистическое объяснение для случаев с неполной пенетрантностью и мозаичной экспрессивностью, которые не укладываются в традиционные модели наследования, и может быть особенно релевантна для генов, гомозиготная инактивация которых летальна на ранних стадиях развития.

Концепция «парадоминантного» наследования в отношении многофакторных заболеваний

«Парадоминантное» наследование представляет собой особую форму неменделевской передачи признаков, сочетающую унаследованную предрасположенность и соматические мутации, возникающие в ходе онтогенеза (Happle, 1991, 1993). В отличие от классических менделевских моделей, данный механизм предполагает, что патологический фенотип манифестирует только при комбинации унаследованной герминативной мутации в гетерозиготном



Назаренко М.С. и др. Вариабельность генома соматических клеток при многофакторных заболеваниях человека. *Медицинская генетика*. 2017;16(12):4-8

Рис. 2. Молекулярные механизмы соматических мутаций.

состоянии и последующей соматической мутации, приводящей к потере гетерозиготности (loss of heterozygosity, LOH) для дикого типа аллеля в клетках-предшественниках, что способствует клональной экспансии клеток с биаллельной инактивацией гена. Конституциональная гомозиготность по таким мутациям, как правило, эмбрионально летальна (рис. 2), что объясняет сохранение этих аллелей в популяции в гетерозиготном состоянии и их способность проявляться фенотипически исключительно через соматические события.

Ключевой особенностью «парадоминантного» наследования является формирование мозаичного генотипа в результате потери гетерозиготности в части соматических клеток на ранней стадии развития зародыша. Интересно, что у нескольких членов одной семьи подобные мозаичные изменения могут возникать независимо, создавая видимость аутосомно-доминантного наследования, хотя его механизм принципиально иной. Это явление и легло в основу термина «парадоминантность».

В отличие от модели Кнудсона, где конституциональная гетерозиготность по нелетальным мутациям создает предрасположенность к опухолям, парадоминантность характеризуется конституциональной гетерозиготностью именно по эмбрионально летальным мутациям, что исключает менделевское наследование и проявляется исключительно через соматический мозаицизм. При этом соматическое событие, в качестве которого чаще всего выступает пострепликативная митотическая рекомбинация, происходит на ранней стадии эмбриогенеза. Конкретная

временная точка возникновения мутации детерминирует размер и тканевую распространенность клона, определяя не только мозаичный паттерн распределения аномальных клеток, но и масштаб вовлечения тканей и органов в патологический процесс, что напрямую влияет на тяжесть клинических проявлений (Happle, 2009).

Первоначально данная концепция была предложена для объяснения патогенеза ряда дерматологических синдромов, таких как синдром МакКьюна–Олбрайта и пигментный невус Беккера (Happle, 1991, 1993). Хрестоматийным примером является патогенез мультифокальных венозных мальформаций, где биаллельные соматические мутации в гене рецепторной тирозинкиназы *TEK*, возникающие на фоне унаследованной зародышевой мутации p.R849W, приводят к автономной активации рецептора и локальной клональной экспансии эндотелиальных клеток, что подчеркивает необходимость таргетного анализа соматических вариантов непосредственно в патологических тканях (Limaye et al., 2009). Дальнейшие исследования позволили установить роль «парадоминантного» наследования и при других патологиях, включая атеросклероз (см. рис. 2).

Можно ожидать, что современные исследования, использующие высокоразрешающие методы секвенирования и анализа мозаицизма, позволят обозначить вклад «парадоминантных» механизмов в развитие МФЗ, особенно в случаях со спорадическим возникновением, семейным накоплением и мозаичным характером поражения органов, которые не находят объяснения в рамках классических моделей наследования.

Трансляционный потенциал в практику исследований многофакторных заболеваний

Современный этап развития генетического тестирования, который выявляет наследственную предрасположенность к МФЗ, характеризуется его постепенной интеграцией в клиническую практику. Разработка популяционно-специфичных полигенных шкал риска PRS, основанных на полногеномных данных, позволяет проводить стратификацию индивидов в когортах для предиктивной оценки риска развития МФЗ, их осложнений и потенциального ответа на фармакотерапию, однако их широкое клиническое использование ограничено низкой воспроизводимостью предсказательной силы при применении в генетически отличных популяциях.

При выполнении WES или WGS когорт с МФЗ анализ редких генетических вариантов у отдельных индивидов способствует идентификации новых молекулярных мишеней для лекарственной терапии. Более того, объединение частых и редких генетических вариантов в единую модель связано с улучшением точности в прогнозировании риска МФЗ (Fiziev et al., 2023).

Интеграция так называемых негенетических детерминант МФЗ, включая эпигенетические маркеры, показатели экспосомы, а также их комплексные взаимодействия, анализируемые в рамках мультиомиксных подходов и анализа коморбидных паттернов, в единые предиктивные модели обладает значительным, хотя и методологически более сложным потенциалом для трансляции в клиническую практику по сравнению с чисто генетическими шкалами.

Понимание частоты, спектра СНР и механизмов его формирования при МФЗ важно для разработки новых стратегий к скринингу, индивидуальной оценке риска и реализации программ диагностики и лечения. Например, индивидуальный прогноз пациента формируется путем интеграции традиционных факторов риска и его клинического статуса с молекулярными характеристиками СНР. Ключевое значение имеют тип соматической мутации и VAF. Пациенту с мутацией в гене *TET2* с VAF > 10 % и пограничным 10-летним риском сердечно-сосудистых осложнений показана агрессивная превентивная стратегия. Она включает модификацию образа жизни, а также интенсивную гиполипидемическую и антигипертензивную терапию. Индивидам с мутацией в гене *DNMT3A* и низким 10-летним риском развития ССЗ такие вмешательства не показаны. Поскольку в настоящее время нет рандомизированных клинических исследований с участием пациентов с СНР, терапевтическая тактика базируется на принципе совместного принятия решений, когда врач и пациент совместно взвешивают потенциальную пользу профилактики и риск нежелательных явлений (Oren, Libby, 2025). Не столь очевидна трансляция в практику результатов фундаментальных исследований по выяснению роли соматических генетических вариантов в клетках органов-мишеней при МФЗ.

Таргетное воздействие на патогенетические механизмы, лежащие в основе клональной экспансии, представляет собой перспективное, но методологически сложное направ-

ление для разработки новых терапевтических стратегий при МФЗ. К числу таких подходов относятся селективное устранение мутантных клонов гемопоэтических стволовых клеток, например, с помощью сенолитиков, модуляция провоспалительного фенотипа клонов гладкомышечных клеток или ингибирование специфических медиаторов воспаления, продуцируемых этими клонами.

Доказательством принципиальной возможности таргетной терапии служит атеропротективный эффект, наблюдаемый для некоторых противоопухолевых агентов. К ним относятся блокада сигнального пути «не ешь меня» с помощью анти-CD47 антител для усиления эффероцитоза апоптотических клеток бляшки (Kojima et al., 2016; Tao et al., 2020), ингибирование пролиферации клонов ГМК с помощью третиноина (Pan et al., 2020), а также использование селективной уязвимости ГМК с нарушением репарации ДНК к ингибиторам PARP, таким как нирапариб (Pan et al., 2024). Эти находки открывают перспективы для репозиционирования онкологических препаратов в кардиологии.

Заключение

Эволюция патогенетики МФЗ демонстрирует сдвиг от идентификации ассоциированных локусов к системной функциональной характеристике клеточных фенотипов, обусловленных этими генетическими вариантами, в рамках клеточно-специфичных молекулярных сетей, что знаменует переход от генетической ассоциации к причинному пониманию патогенеза.

Патогенез многофакторных заболеваний характеризуется полиэтиологичностью и реализуется через нелинейные динамические взаимодействия между генетической предрасположенностью, эпигенетическими модификациями и факторами внешней среды, формируя сложные причинно-следственные сети. В связи с этим прогресс в предикции, диагностике, лечении и профилактике МФЗ в контексте персонализированной медицины требует не просто накопления данных, а разработки принципиально новых вычислительных и концептуальных моделей, способных интегрировать разнородные причинные факторы и их нелинейные взаимодействия на различных уровнях биологической организации – от молекулярного до организменного, для построения предсказательных динамических моделей индивидуального патогенеза.

Соматические мутации, формирующие мозаичные генетические ландшафты (соматический мозаицизм) на уровне внутри- и межтканевой гетерогенности, в совокупности с ткане- и клеточно-специфичными эпигенетическими программами выступают в качестве ключевых модификаторов пенетрантности, экспрессивности и клинического полиморфизма при МФЗ. Поскольку груз и спектр соматических мутаций, включая «драйверные» события, аккумулируется в тканеспецифичной манере на протяжении жизни в процессе онтогенеза, данный процесс представляет собой универсальный механизм, объясняющий такие фундаментальные характеристики МФЗ, как регионарная предрасположенность органов-мишеней и вариабельная экспрессивность у разных индивидов. При

этом пространственное распределение и клиническая манифестация мутаций критически зависят от локальных селективных процессов и скорости клеточного обновления в каждой конкретной ткани.

Наибольшие успехи в характеристике частоты и спектра соматических мутаций на молекулярно-клеточном уровне в клетках и тканях органов-мишеней при «неопухоловых» МФЗ достигнуты для ГМК при атеросклерозе артерий. Ключевыми нерешенными задачами остаются систематическая идентификация и функциональная верификация полного репертуара «драйверных» соматических мутаций, определение вклада структурных вариантов и мобильных элементов в патогенез, а также полномасштабная характеристика частоты и спектра соматического мозаицизма в различных клеточных типах (популяциях макрофагов, эндотелиоцитах, гладкомышечных клетках, нейронах) при широком круге МФЗ.

Генотип-специфичные паттерны клонального гемопоэза (CHIP), детерминированные мутациями в различных генах-«драйверах» (*TET2*, *DNMT3A*, *JAK2*, *ASXL1*), ассоциированы с дивергентными профилями риска сердечно-сосудистых заболеваний, что указывает на необходимость разработки таргетных терапевтических интервенций. Исследования на клеточных и мышиных моделях, в частности с использованием трансплантации костного мозга от мутантных животных, подтверждают причинно-следственную связь между CHIP и сердечно-сосудистыми заболеваниями. Данная связь реализуется через комплекс изменений, включающий потерю баланса между самообновлением, пролиферацией и дифференцировкой гемопоэтических стволовых клеток, активацию в клонах провоспалительных и профибротических механизмов, а также повышение устойчивости клонов к внешним воздействиям. Применение этих знаний в отношении человека требует учета принципиальных различий в продолжительности жизни, метаболизме и иммунной системе между модельными организмами и человеком.

На основе анализа современных данных нами предлагается интегративная гипотеза, постулирующая, что унаследованные генетические варианты формируют общепрограммированный фон предрасположенности к МФЗ, тогда как соматические мутации, возникающие и селективно увеличивающиеся в специфических клеточных компартментах органов-мишеней, являются важным событием, объясняющим топическую специфичность, временную динамику (возраст манифестации) и вариабельность тяжести клинического фенотипа.

В качестве патогенетической иллюстрации такой взаимосвязи выступает локус 9p21, содержащий гены-супрессоры опухолей *CDKN2A* и *CDKN2B*. Унаследованные варианты в этом локусе, ассоциированные с риском ИБС, создают состояние гаплонедостаточности, что проявляется в ослаблении контроля за клеточным циклом и репарацией ДНК в гладкомышечных клетках сосудистой стенки. Однако для реализации полного патогенного потенциала этой предрасположенности требуется дополнительное событие, такое как соматическая инактивация оставшего-

ся аллеля. Эта изначальная уязвимость и составляет суть «пермиссивной среды», поскольку повышает вероятность того, что соматическое событие (такое как потеря гетерозиготности по оставшемуся дикому аллелю) приведет не к гибели клетки, а к ее селективному преимуществу и последующей клональной экспансии, окончательно инактивирующей опухолесупрессорный локус и фиксирующей пролиферативный фенотип.

Более того, в атеросклеротически пораженных сосудах активация провоспалительного фенотипа ГМК ассоциирована с ремоделированием эпигенома, в частности со снижением доступности промотора гена *ATF3*, который является ключевым транскрипционным репрессором воспаления. Примечательно, что герминативные варианты в локусе *ATF3* тоже ассоциированы с риском ИБС по данным GWAS (Wang et al., 2022). Совместное наличие наследственной предрасположенности и приобретенной эпигенетической дисрегуляции в одном и том же молекулярном узле подчеркивает принцип конвергенции разнородных патогенных воздействий на ключевые регуляторные элементы, что может служить общей моделью для объяснения патогенеза ряда МФЗ. Данный принцип конвергенции демонстрирует, что патогенез МФЗ определяется не простой суммой независимых факторов, а их нелинейным динамическим взаимодействием, при котором унаследованные варианты создают контекст, определяющий специфику ответа на приобретенные эпигенетические изменения, формируя уникальный патологический профиль для каждого индивида.

Таким образом, если существенная доля популяционной наследуемости МФЗ объясняется спектром частых унаследованных генетических вариантов, то редкие, в особенности соматические, мутации вносят критический вклад в индивидуальный риск, модулируя пенетрантность наследственной предрасположенности и определяя специфику патологического фенотипа на уровне тканей и органов. Следовательно, исчерпывающая характеристика континуума генетических вариантов, охватывающего как унаследованные полиморфизмы, так и соматические мутации, приобретенные в течение жизни, в их динамическом взаимодействии с клеточно-специфичными молекулярными сетями в норме и при патологии, формирует новую парадигму предиктивной медицины. Данная парадигма знаменует собой переход от популяционных вероятностных оценок риска к каузальным моделям индивидуального патогенеза, основанным на принципах клональной соматической эволюции.

Список литературы / References

- Брагина Е.Ю., Пузырев В.П. Генетическая канва герменевтики феномена сочетания болезней человека. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023;27(1):7-17. doi 10.18699/VJGB-23-03 [Bragina E.Yu., Puzyrev V.P. Genetic outline of the hermeneutics of the diseases connection phenomenon in human. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii* = *Vavilov J Genet Breed*. 2023;27(1):7-17. doi 10.18699/VJGB-23-03]
- Королёва Ю.А., Гончарова И.А., Зарубин А.А., Шипулина С.А., Слепцов А.А., Панфилов Д.С., Козлов Б.Н., Назаренко М.С. Разнонаправленное изменение уровня метилирования CpG-сайтов

- в 5' регионе гена *TBX20* в восходящей аорте при атеросклерозе и аневризме. *Генетика*. 2024;60(7):100-106. doi 10.31857/S0016675824070091
- [Koroleva Iu.A., Goncharova I.A., Zarubin A.A., Shipulina S.A., Sleptsov A.A., Panfilov D.S., Kozlov B.N., Nazarenko M.S. Methylation levels in the 5' region of the *TBX20* gene in the ascending aorta change in opposite direction in atherosclerosis and aneurysm. *Russ J Genet*. 2024;60(7):977-981. doi 10.1134/S102279542470042X]
- Пузырев В.П., Кучер А.Н. Эволюционно-онтогенетические аспекты патогенетики хронических болезней человека. *Генетика*. 2011;47(12):1573-1585
- [Puzyrev V.P., Kucher A.N. Evolutionary ontogenetic aspects of pathogenetics of chronic human diseases. *Russ J Genet*. 2011; 47(12):1395-1405. doi 10.1134/S102279541112012X]
- Baylis R.A., Gao H., Wang F., Bell C.F., Luo L., Björkegren J.L.M., Leeper N.J. Identifying shared transcriptional risk patterns between atherosclerosis and cancer. *iScience*. 2023;26(9):107513. doi 10.1016/j.isci.2023.107513
- Benditt E.P., Benditt J.M. Evidence for a monoclonal origin of human atherosclerotic plaques. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1973;70(6):1753-1756. doi 10.1073/pnas.70.6.1753
- Boyle E.A., Li Y.I., Pritchard J.K. An expanded view of complex traits: from polygenic to omnigenic. *Cell*. 2017;169(7):1177-1186. doi 10.1016/j.cell.2017.05.038
- DiRenzo D., Owens G.K., Leeper N.J. "Attack of the Clones": commonalities between cancer and atherosclerosis. *Circ Res*. 2017; 120(4):624-626. doi 10.1161/CIRCRESAHA.116.310091
- Dobnikar L., Taylor A.L., Chappell J., Oldach P., Harman J.L., Oerton E., Dzierzak E., Bennett M.R., Spivakov M., Jørgensen H.F. Disease-relevant transcriptional signatures identified in individual smooth muscle cells from healthy mouse vessels. *Nat Commun*. 2018;9(1):4567. doi 10.1038/s41467-018-06891-x
- Fiziev P.P., McRae J., Ulirsch J.C., Dron J.S., Hamp T., Yang Y., Wain-schtein P., ... Marques-Bonet T., Rehm H.L., O'Donnell-Luria A., Khera A.V., Farh K.K. Rare penetrant mutations confer severe risk of common diseases. *Science*. 2023;380(6648):eabo1131. doi 10.1126/science.abo1131
- Happle R. The McCune-Albright syndrome: a lethal gene surviving by mosaicism. *Clin Genet*. 1986;29(4):321-324. doi 10.1111/j.1399-0004.1986.tb01261.x
- Happle R. Allelic somatic mutations may explain vascular twin nevi. *Hum Genet*. 1991;86(3):321-322. doi 10.1007/BF00202421
- Happle R. Mosaicism in human skin. Understanding the patterns and mechanisms. *Arch Dermatol*. 1993;129(11):1460-1470
- Happle R. Monoallelic expression on autosomes may explain an unusual heritable form of pigmentary mosaicism: a historical case revisited. *Clin Exp Dermatol*. 2009;34(7):834-837. doi 10.1111/j.1365-2230.2009.03543.x
- Jaiswal S., Fontanillas P., Flannick J., Manning A., Grauman P.V., Mar B.G., Lindsley R.C., ... Atzmon G., Wilson J.G., Neuberg D., Altshuler D., Ebert B.L. Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes. *N Engl J Med*. 2014;371(26):2488-2498. doi 10.1056/NEJMoa1408617
- Kabir I., Zhang X., Dave J.M., Chakraborty R., Qu R., Chandran R.R., Ntokou A., ... Hwa J., Kluger Y., Martin K.A., Fernández-Hernan-do C., Greif D.M. The age of bone marrow dictates the clonality of smooth muscle-derived cells in atherosclerotic plaques. *Nat Aging*. 2023;3(1):64-81. doi 10.1038/s43587-022-00342-5
- Knudson A.G. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1971;68(4):820-823. doi 10.1073/pnas.68.4.820
- Kojima Y., Volkmer J.P., McKenna K., Civelek M., Lusis A.J., Miller C.L., Drenzo D., ... Maegdefessel L., Matic L.P., Hedin U., Weissman I.L., Leeper N.J. CD47-blocking antibodies restore phagocytosis and prevent atherosclerosis. *Nature*. 2016;536(7614):86-90. doi 10.1038/nature18935
- Limaye N., Wouters V., Uebelhoer M., Tuominen M., Wirkkala R., Mul-iken J.B., Eklund L., Boon L.M., Vikkula M. Somatic mutations in angiopoietin receptor gene *TEK* cause solitary and multiple sporadic venous malformations. *Nat Genet*. 2009;41(1):118-124. doi 10.1038/ng.272
- Lin A., Brittan M., Baker A.H., Dimmeler S., Fisher E.A., Sluimer J.C., Misra A. Clonal expansion in cardiovascular pathology. *JACC Basic Transl Sci*. 2023;9(1):120-144. doi 10.1016/j.jacbts.2023.04.008
- Luo L., Fu C., Bell C.F., Wang Y., Leeper N.J. Role of vascular smooth muscle cell clonality in atherosclerosis. *Front Cardiovasc Med*. 2023;10:1273596. doi 10.3389/fcvm.2023.1273596
- Oren O., Libby P. Incorporating management of clonal hematopoiesis of indeterminate potential into cardiovascular practice. *Circulation*. 2025;152(14):975-977. doi 10.1161/CIRCULATIONAHA.125.075769
- Pan H., Xue C., Auerbach B.J., Fan J., Bashore A.C., Cui J., Yang D.Y., ... Califano A., Sims P.A., Zhang H., Li M., Reilly M.P. Single-cell genomics reveals a novel cell state during smooth muscle cell phenotypic switching and potential therapeutic targets for atherosclerosis in mouse and human. *Circulation*. 2020;142(21): 2060-2075. doi 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.048378
- Pan H., Ho S.E., Xue C., Cui J., Johanson Q.S., Sachs N., Ross L.S., Li F., Solomon R.A., Connolly E.S., Jr., Patel V.I., Maegdefessel L., Zhang H., Reilly M.P. Atherosclerosis is a smooth muscle cell-driven tumor-like disease. *Circulation*. 2024;149(24):1885-1898. doi 10.1161/CIRCULATIONAHA.123.067587
- Schuermans A., Honigberg M.C. Clonal haematopoiesis in cardiovascular disease: prognostic role and novel therapeutic target. *Nat Rev Cardiol*. 2025;22(11):845-856. doi 10.1038/s41569-025-01148-9
- Tao W., Yurdagul A., Jr., Kong N., Li W., Wang X., Doran A.C., Feng C., Wang J., Islam M.A., Farokhzad O.C., Tabas I., Shi J. siRNA nanoparticles targeting CaMKII γ in lesional macrophages improve atherosclerotic plaque stability in mice. *Sci Transl Med*. 2020;12(553):eaay1063. doi 10.1126/scitranslmed.aay1063
- Wang Y., Gao H., Wang F., Ye Z., Mokry M., Turner A.W., Ye J., ... Björkegren J.L.M., Pasterkamp G., Miller C.L., Ross E.G., Leeper N.J. Dynamic changes in chromatin accessibility are associated with the atherogenic transitioning of vascular smooth muscle cells. *Cardio-vasc Res*. 2022;118(13):2792-2804. doi 10.1093/cvr/cvab347
- Weldy C.S., Kundu S., Monteiro J., Gu W., Pedroza A.J., Dalal A.R., Worssam M.D., ... Fischbein M.P., Engreitz J., Kundaje A.B., Cheng P.P., Quertermous T. Epigenomic landscape of single vascular cells reflects developmental origin and disease risk loci. *Mol Syst Biol*. 2025;21(11):1522-1546. doi 10.1038/s44320-025-00140-2

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 26.12.2025. После доработки 05.05.2026. Принята к публикации 08.05.2026.

doi 10.18699/vjgb-26-81

Анализ влияния интронных вариантов с.940+3_940+6del, с.941-3C>G и с.2389+5G>A гена *LDLR* на сплайсинг пре-мРНК с использованием системы минигенов

В.Ю. Данильченко ^{1#} , Д.Е. Иваношук ^{1#}, О.В. Тимощенко ², Е.А. Панина ¹, П.С. Орлов ¹, Е.В. Шахтшнейдер ¹

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Федерального исследовательского центра Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

 danilchenko_valeri@mail.ru

Аннотация. Семейная гиперхолестеринемия (СГХС) – аутосомно-кодминантное заболевание, характеризующееся нарушением выведения липопротеинов низкой плотности из кровотока, выраженным повышением уровня общего холестерина и холестерина липопротеинов низкой плотности в крови и ранним развитием атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний. СГХС является наиболее распространенным моногенным заболеванием у человека. Самые частые причины развития заболевания – мутации в трех генах: *LDLR* (OMIM: 143890), *APOB* (OMIM: 107730) и *PCSK9* (OMIM: 607786). Более 80 % случаев СГХС обусловлено патогенными вариантами гена *LDLR*, локализованного на хромосоме 19. У 25–75 % пациентов с фенотипом СГХС патогенный вариант в указанных генах не обнаруживается. Полноэкзомное и таргетное секвенирование генов *LDLR*, *APOB*, *PCSK9*, *LDLRAP1* было проведено у пациентов с фенотипом СГХС с последующим подтверждением выявленных вариантов секвенированием по методу Сэнгера. У трех неродственных пробандов обнаружены интронные варианты гена *LDLR*, для которых ранее не проводилась функциональная верификация. Целью работы стала функциональная оценка *in vitro* влияния трех интронных вариантов гена *LDLR* (NM_000527.5: с.940+3_940+6del, с.941-3C>G, с.2389+5G>A) на процесс сплайсинга с использованием генетических конструкций – минигенов. Для функциональной верификации *in vitro* были созданы минигены, включающие исследуемые экзоны с фланкирующими интронными областями. Анализ сплайсинга проводили в клеточных линиях HEK293 и HeLa. В результате анализа подтвержден патогенный эффект всех трех выявленных вариантов на сплайсинг пре-мРНК. Делеция четырех нуклеотидов с.940+3_940+6del приводила к образованию двух aberrантных транскриптов – включению шести нуклеотидов интрона 6, а также к полному удержанию интронной последовательности минигена. Вариант с.941-3C>G обуславливал потерю акцепторного сайта сплайсинга и активацию криптического, с включением нуклеотидов интрона 6. Замена с.2389+5G>A приводила к пропуску экзона 16. Функциональный анализ *in vitro* – ключевой инструмент молекулярной верификации интронных вариантов с неопределенной клинической значимостью и в совокупности с клиническими данными помогает в установлении окончательного диагноза.

Ключевые слова: семейная гиперхолестеринемия; ген *LDLR*; интронные варианты; минигены; функциональный анализ; NGS

Для цитирования: Данильченко В.Ю., Иваношук Д.Е., Тимощенко О.В., Панина Е.А., Орлов П.С., Шахтшнейдер Е.В. Анализ влияния интронных вариантов с.940+3_940+6del, с.941-3C>G и с.2389+5G>A гена *LDLR* на сплайсинг пре-мРНК с использованием системы минигенов. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2026;30(5):803-813. doi 10.18699/vjgb-26-81

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке бюджетного проекта № FWNR-2026-0027 Института цитологии и генетики СО РАН. Работы по генной инженерии и с клеточными линиями выполнялись на базе ЦКП клеточных технологий Института цитологии и генетики СО РАН и финансировались в рамках проекта № FWNR-2026-0024.

In vitro analysis of the effects of intronic variants с.940+3_940+6del, с.941-3C>G, and с.2389+5G>A in the *LDLR* gene on pre-mRNA splicing using a minigene assay

V.Yu. Danilchenko ^{1#} , D.E. Ivanoshchuk ^{1#}, O.V. Timoshchenko ², E.A. Panina ¹, P.S. Orlov ¹, E.V. Shakhtshneider ¹

¹ Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

² Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

 danilchenko_valeri@mail.ru

© Данильченко В.Ю., Иваношук Д.Е., Тимощенко О.В., Панина Е.А., Орлов П.С., Шахтшнейдер Е.В., 2026

Авторы внесли равный вклад в эту работу.

Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0

Abstract. Familial hypercholesterolemia (FH) is an autosomal codominant disorder characterized by impaired clearance of low-density lipoproteins from the bloodstream, markedly elevated plasma total cholesterol and low density lipoprotein cholesterol levels, and early onset of atherosclerosis and cardiovascular disease. FH is one of the most common monogenic disorders in humans. The majority of FH cases are caused by pathogenic variants in three genes: *LDLR* (OMIM: 143890), *APOB* (OMIM: 107730), and *PCSK9* (OMIM: 607786). More than 80 % of FH cases are associated with mutations in the *LDLR* gene, located on chromosome 19. In 25–75 % of patients with a clinical FH phenotype, no pathogenic variant is identified in these genes. Whole-exome sequencing and targeted gene panel sequencing of the *LDLR*, *APOB*, *PCSK9*, and *LDLRAP1* genes were performed in patients with an FH phenotype, followed by confirmation of the identified variants by Sanger sequencing. Three unrelated probands were found to carry intronic *LDLR* variants for which functional evidence was previously unavailable. The aim of this study was to functionally assess *in vitro* the effects of three intronic *LDLR* variants (NM_000527.5: c.940+3_940+6del, c.941-3C>G, and c.2389+5G>A) on pre-mRNA splicing using a minigene assay. Minigene constructs encompassing target exons with flanking intronic sequences were generated and transfected into the HEK293 and HeLa cell lines. The deleterious effect of all three variants on pre-mRNA splicing was confirmed. The four-nucleotide deletion c.940+3_940+6del resulted in two aberrant transcripts: inclusion of six nucleotides from intron 6 and complete retention of the minigene intronic sequence. The c.941-3C>G variant caused loss of the canonical acceptor splice site and activation of a cryptic site, with inclusion of intronic nucleotides from intron 6. The c.2389+5G>A variant resulted in exon 16 skipping. Functional *in vitro* analysis is a key tool for the molecular verification of intronic variants of uncertain clinical significance and, in conjunction with clinical data, supports the establishment of a definitive molecular diagnosis.

Key words: familial hypercholesterolemia; *LDLR* gene; intronic variants; minigenes; functional analysis; NGS

For citation: Danilchenko V.Yu., Ivanoshchuk D.E., Timoshchenko O.V., Panina E.A., Orlov P.S., Shakhtshneider E.V. *In vitro* analysis of the effects of intronic variants c.940+3_940+6del, c.941-3C>G, and c.2389+5G>A in the *LDLR* gene on pre-mRNA splicing using a minigene assay. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii* = *Vavilov J Genet Breed.* 2026;30(5): 803-813. doi 10.18699/vjgb-26-81

Введение

Семейная гиперхолестеринемия (СГХС) – наследственное заболевание, характеризующееся нарушением выведения липопротеинов низкой плотности из кровотока, выраженным повышением уровня общего холестерина в плазме крови и ранним развитием атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний (Austin et al., 2004; Nordestgaard et al., 2013). СГХС является моногенным заболеванием с преимущественно аутосомно-кодминантным типом наследования, при котором количество патогенных аллелей определяет тяжесть клинических проявлений (Freiberger, 2026).

Распространенность гетерозиготной формы этого заболевания в общей популяции составляет приблизительно один случай на 311 человек, что делает СГХС одним из наиболее распространенных наследственных заболеваний человека (Hu et al., 2020). Длительная гиперхолестеринемия ведет к преждевременному атеросклерозу и ранним сердечно-сосудистым осложнениям. Своевременная молекулярно-генетическая диагностика помогает верифицировать диагноз и выбрать оптимальную терапию, что способствует снижению смертности от последствий атеросклероза (Ahmad et al., 2026).

Наиболее частые причины развития заболевания – мутации в трех генах: *LDLR* (рецептор липопротеинов низкой плотности, OMIM: 143890), *APOB* (аполипопротеин В, OMIM: 107730) и *PCSK9* (пропротеин-конвертаза субтилизин/кексин типа 9, OMIM: 607786). В 85–90 % молекулярно подтвержденных случаев СГХС причиной заболевания являются мутации в гене *LDLR*. Более 3000 патогенных вариантов этого гена описано у пациентов с нарушением липидного обмена (Ahmad et al., 2026). Ген *LDLR* (19p13.2) состоит из 18 экзонов и кодирует рецептор липопротеинов низкой плотности, состоящий из 860 аминокислот (Hobbs et al., 1990). Основная функция белка *LDLR* – удаление частиц липопротеинов низкой плотности посредством

связывания с аполипопротеином В-100 для обеспечения их лизосомальной деградации и поддержания гомеостаза холестерина в клетке и плазме крови (Brown, Goldstein, 1979; Südhof et al., 1985; Segrest et al., 2001).

У 25–75 % пациентов с фенотипом СГХС патогенный вариант в указанных генах не обнаруживается (Freiberger, 2026). Одной из причин является сложность клинической интерпретации вариантов, выходящих за пределы кодирующих последовательностей и канонических сайтов сплайсинга. Замены в позициях +1/+2 донорного и –1/–2 акцепторных сайтов нарушают сплайсинг пре-мРНК и, как правило, не вызывают затруднений при интерпретации. Варианты области сайта сплайсинга (splice region variant), а также синонимичные замены способны в различной степени нарушать распознавание донорных и акцепторных сайтов сплайсосома, активировать криптические сайты сплайсинга, вызывать пропуск экзона или удержание интрона, приводя к образованию aberrантных транскриптов и потере функции белка (Abramowicz, Gos, 2018). Результаты биоинформатических предсказаний для этих генетических вариантов нередко оказываются противоречивыми, а без функционального подтверждения большинство из них получает статус варианта неопределенной клинической значимости (Walker et al., 2023). Подобные варианты описаны в гене *LDLR* у пациентов с СГХС (Kulseth et al., 2010; Reeskamp et al., 2018, 2021), однако их функциональная верификация остается редкостью.

Для оценки влияния интронных вариантов на сплайсинг в генах со множественными экзонами часто применяется экспериментальный подход с использованием минигенных конструкций. Этот метод эффективен в условиях отсутствия доступной РНК пациентов и основан на анализе влияния варианта в клеточной культуре *in vitro* (Abramowicz, Gos, 2018).

Цель работы – функциональная оценка *in vitro* влияния трех интронных вариантов гена *LDLR* (c.940+3_940+6del,

с.941-3C>G, с.2389+5G>A), выявленных у пациентов с фенотипом семейной гиперхолестеринемии, на процесс сплайсинга с использованием генетических конструкций – минигенов.

Материалы и методы

Пациенты с семейной гиперхолестеринемией, включенные в исследование, были обследованы на базе клинко-диагностического отделения Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины – филиала Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук (НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН). Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом НИИТПМ (протокол № 68 от 4 июня 2019 г.). От каждого участника исследования либо от его родителя, или законного представителя получено письменное информированное согласие на обследование и участие в исследовании.

Диагноз семейной гиперхолестеринемии устанавливался с использованием клинко-лабораторных критериев Dutch Lipid Clinic Network (DLCN), представленных в табл. 1, и критериев Simon Broome Register (табл. 2). Сумма

баллов DLCN позволяет классифицировать пациента по категориям вероятности диагноза СГХС (см. табл. 1 и 2) (Ежов и др., 2019).

Диагноз устанавливается на основании суммы баллов, полученных в каждой группе. Внутри группы баллы не суммируются, учитывается только один признак, дающий максимальное количество баллов внутри каждой из групп.

Всем участникам проводили клиническое обследование, ультразвуковую диагностику, забор венозной крови для биохимического анализа (ОХС, ХС-ЛНП, ХС-ЛВП, ТГ, ИА, уровень глюкозы крови натощак) и молекулярно-генетическое исследование.

Геномная ДНК для последующего анализа была выделена из венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции (Sambrook, Russell, 2006).

Секвенирование экзона выполняли на платформе FASTASeq 300 (GeneMind Biosciences, Китай). Подготовка библиотек осуществлялась с использованием набора SG GM Ultra-96 (cat. no. #SG_GM_plus-96) (Raissol Bio, Россия). Обогащение экзомных регионов выполнялось с помощью коммерческого набора VANTS Target Capture Core Exome Panel (cat. no. NC001-01, Vazyme, Китай) в

Таблица 1. Критерии DLCN (Dutch Lipid Clinic Network) для диагностики гетерозиготной СГХС у взрослых (18 лет и старше)

Критерий	Балл
Семейный анамнез	
Родственник первой степени родства с ранним (у мужчин < 55 лет; у женщин < 60 лет) сердечно-сосудистым заболеванием атеросклеротического генеза (ИБС, атеротромботический ишемический инсульт, транзиторная ишемическая атака, периферический атеросклероз с атеросклеротическими бляшками, стенозирующими просвет сосуда ≥ 50 %) или	1
Родственник первой степени родства с ХС-ЛНП > 95-го перцентилля	
Родственник первой степени родства с ксантомами сухожилий и/или липоидной дугой роговицы или	2
Дети моложе 18 лет с ХС-ЛНП > 95-го перцентилля	
Индивидуальный анамнез	
У пациента ранняя (у мужчин < 55 лет; у женщин < 60 лет) ИБС	2
У пациента раннее (у мужчин < 55 лет; у женщин < 60 лет) развитие атеротромботического ишемического инсульта, транзиторная ишемическая атака или периферический атеросклероз с атеросклеротическими бляшками, стенозирующими просвет сосуда ≥ 50 %	1
Физикальное обследование	
Сухожильные ксантомы	6
Липоидная дуга роговицы в возрасте < 45 лет	4
Уровень ХС-ЛНП, ммоль/л	
≥ 8.5	8
6.5–8.4	5
5.0–6.4	3
4.0–4.9	1
Анализ ДНК	
Наличие патогенного или вероятно патогенного варианта нуклеотидной последовательности генов <i>LDLR</i> , <i>APOB</i> или <i>PCSK9</i>	8
Диагноз ставится на основании суммы баллов:	
определенная СГХС – > 8	
вероятная СГХС – 6–8	
возможная СГХС – 3–5	
маловероятная СГХС – ≤ 2	

Таблица 2. Критерии Саймона Брума (Simon Broome Registry)

Определенный диагноз «геСГХС»* ставится, если: ОХС > 6.7 ммоль/л или ХС-ЛНП > 4.0 ммоль/л у пациента младше 16 лет; или ОХС > 7.5 ммоль/л или ХС-ЛНП > 4.9 ммоль/л у пациента старше 16 лет плюс одно из нижеперечисленного: • наличие сухожильных ксантом у пациента или родственника 1-й степени родства (родители, дети, братья, сестры) или у родственника 2-й степени родства (дедушки, бабушки, дяди или тети) - и/или • позитивный тест ДНК-диагностики, подтверждающий наличие патогенного или вероятно патогенного варианта нуклеотидной последовательности в генах <i>LDLR</i>, <i>APOB</i> или <i>PCSK9</i>	Вероятный диагноз «геСГХС» ставится, если: ОХС > 6.7 ммоль/л или ХС-ЛНП > 4.0 ммоль/л у пациента младше 16 лет; или ОХС > 7.5 ммоль/л или ХС-ЛНП > 4.9 ммоль/л у пациента старше 16 лет, плюс одно из нижеперечисленного: • наличие инфаркта миокарда в анамнезе родственника 2-й степени родства до 50 лет, родственника 1-й степени родства до 60 лет - и/или • ОХС > 7.5 ммоль/л у пациента старше 16 лет 1-й или 2-й степени родства или повышение ОХС > 6.7 ммоль/л у пациента или родственника 1-й степени родства в возрасте менее 16 лет
---	---

* геСГХС – гетерозиготная семейная гиперхолестеринемия.

соответствии с протоколом производителя. В используемый набор были включены последовательности экзонов (~33.9 Мб) с ограниченным покрытием прилегающих интронных областей. Качество библиотек оценивали на платформе Qsep1 (BiOptic, Тайвань), концентрацию определяли с помощью флуориметра Qubit 2.0 (Thermo Fisher Scientific, США).

Биоинформационную обработку данных проводили с применением программного обеспечения NGS Wizard (Genomenal, версия 2.11.0, <https://genomenal.ru/>). Картирование на эталонный геном GRCh38 достигало 99.99 % с правильным парным выравниванием 99.98 %; процент дубликатов составил 4.82. Среднее покрытие на нуклеотид было 129×. Нумерация нуклеотидов и экзонов была основана на последовательности GenBank NM_000527.4.

Для анализа вариантов использовали следующие фильтры: качество генотипа ≥ 30 , глубина прочтения ≥ 10 , частота редкого (minor) аллеля согласно базе данных gnomAD (версия 3.2.1 и версия 4.1.1) (<https://gnomad.broadinstitute.org>) менее 0.01 %. Верификацию выявленных вариантов проводили методом прямого секвенирования по Сэнгеру с использованием генетического анализатора ГТЗ G08 («Генные технологии здоровья», Россия/Китай). Для пациента P03 поиск вариантов выполнен методом таргетного секвенирования с обогащением библиотек на основе гибридизационного захвата с помощью кастомного набора зондов (Roche, Basel, Швейцария) по протоколу, рекомендуемому производителем. Дизайн панели охватывал все экзоны, интроны, предполагаемые промоторные зоны и 5'-нетранслируемые области (5'UTR) четырех генов: *LDLR*, *APOB*, *PCSK9* и *LDLRAP1*. Секвенирование выполняли на платформе GS Junior (Roche).

Для оценки потенциального влияния вариантов гена *LDLR* на сплайсинг был проведен анализ *in silico* с использованием предсказательных программ Human Splicing Finder (<https://genomnis.com/hsf/>), SpliceAI (<https://spliceailookup.broadinstitute.org/>) и MaxEntScan (Shamsani et al., 2019).

Патогенность выявленных вариантов оценивали с помощью рекомендаций ACMG и поправок ClinGen Familial

Hypercholesterolemia Variant Curation Expert Panel (Richards et al., 2015; Chora et al., 2022).

Для создания минигенов были выбраны геномные участки гена *LDLR* (NG_009060.1), содержащие экзоны и фрагменты прилегающих интронных областей. В работе использован «вектор-ловушка» (exontrap) pET01 (MoBiTec GmbH, Германия). Для амплификации фрагментов гена *LDLR* с помощью программы Primer3Plus (<https://www.primer3plus.com/index.html>) были подобраны олигонуклеотиды (табл. 3). В качестве матрицы использованы образцы геномной ДНК пациентов с исследуемыми вариантами c.940+3_940+6del, c.941-3C>G, c.2389+5G>A.

Амплификацию проводили с применением подобранных праймеров и Q5 ДНК-полимеразы (New England Biolabs, США) с последующей реПЦР с праймерами, включающими сайты узнавания для эндонуклеаз рестрикции *BamHI*, *XbaI* на 5'-концах (см. табл. 3). ПЦР-продукты и вектор Exontrap pET01 обрабатывали эндонуклеазами рестрикции *BamHI*, *XbaI* (New England Biolabs). Полученные фрагменты были клонированы в вектор pET01 по соответствующим сайтам рестрикции с использованием ДНК-лигазы T4 («СибЭнзим», Россия). Затем проводили трансформацию генетических конструкций в *Escherichia coli*. Скрининг колоний, несущих генетические конструкции с исследуемыми вариантами и «диким типом», проводили с применением методов ПЦР со специфичными праймерами на плазмидную часть вектора pET01 (см. табл. 3), гель-электрофореза, секвенирования по методу Сэнгера. Плазмидную ДНК выделяли набором Plasmid Midiprep («Евроген», Россия). Полученные конструкции минигенов были секвенированы для проверки отсутствия дополнительных изменений последовательности.

Анализ влияния вариантов на сплайсинг проведен с использованием клеточной линии HEK293, а затем эксперимент повторили на клеточной линии HeLa. Клеточные линии культивировали в среде DMEM/F12 (Servicebio, Китай) с добавлением 10 % фетальной бычьей сыворотки (Cargicorn, Германия) и 2 мМ смеси антибиотиков пенициллина и стрептомицина (Cargicorn) при 37 °C в инкубаторе с 5 % CO₂. Трансфекцию клеточных линий

Таблица 3. Праймеры, используемые для амплификации фрагментов гена *LDLR*

Амплифицируемый фрагмент	Последовательность праймеров	Размер продукта, п. н.	Сайт рестрикции
Праймеры для амплификации фрагментов гена <i>LDLR</i>			
Экзон 6	F: 5'-TAATGAATCCATTGCGATGCGTTCT-3' R: 5'-GGGCAGAGTGGAGTTCCCAAAA-3'	335	–
Экзон 7	F: 5'-GATGGGTAGGGGCCCGAGA-3' R: 5'-AAACTGAGGCATGAGGGGTTTGG-3'	250	–
Экзон 16	F: 5'-CCCGTGTGGCCTCTCACAGA-3' R: 5'-ATTCCACAGCACGGGACCCA-3'	455	–
Праймеры для молекулярного клонирования			
Экзон 6	F: 5'-TAATGGATCCATTGCGATGCGTTCT-3' R: 5'-GGGCTCTAGAGAGTTCCCAAAA-3'	335	<i>Bam</i> HI <i>Xba</i> I
Экзон 7	F: 5'-GATGGGATCCGGGCCCGAGA-3' R: 5'-AAACTCTAGAATGAGGGGTTTGG-3'	250	<i>Bam</i> HI <i>Xba</i> I
Экзон 16	F: 5'-CCCGGGATCCCTCTCACAGA-3' R: 5'-ATTCTCTAGAACGGGACCCA-3'	455	<i>Bam</i> HI <i>Xba</i> I
Праймеры на последовательность вектора pET01			
кДНК	cDNA primer 1: 5'-GATCCACGATGC-3'	–	–
Экзоны pET01	F: 5'-GATGGATCCGCTTCTGCCCC-3' R: 5'-CTCCGGGCCACCTCCAGTGCC-3'	246	<i>Bam</i> HI <i>Sma</i> I

Примечание. 5'-концы, содержащие сайты узнавания для эндонуклеаз рестрикции, подчеркнуты.

минигенами с исследуемыми вариантами и соответствующими дикими типами проводили в 6-луночных планшетах (Eppendorf, Германия) с использованием Lipofectamine 3000 (Thermo Fisher Scientific) в соответствии с инструкцией производителя.

Через 48 ч из клеток выделяли общую РНК с помощью набора RNA solo («Евроген»). Выделенную РНК обрабатывали ДНКазой RQ1 RNase-Free DNase (Promega, США) и затем синтезировали кДНК с использованием набора MMLV RT («Евроген») с праймером, специфичным для плазмидной области вектора pET01 (см. табл. 3). Далее с применением полученной кДНК в качестве матрицы проводили амплификацию фрагментов, соответствующих минигенам, с помощью праймеров, специфичных для экзонов вектора pET01 (см. табл. 3). Продукты ПЦР анализировали методом электрофореза в 3 % агарозном геле. Нуклеотидная последовательность каждого фрагмента была подтверждена секвенированием по методу Сэнгера.

Создание, редактирование и аннотирование нуклеотидных и белковых последовательностей осуществляли с помощью программы Unipro UGENE 53.1 (Okonechnikov et al., 2012).

Результаты

В результате исследования у трех неродственных пробандов с клинической картиной СГХС идентифицированы варианты гена *LDLR*, предположительно влияющие на сплайсинг пре-мРНК (табл. 4): с.940+3_940+6del, затрагивающий донорный сайт сплайсинга интрона 6, с.941-3C>G, затрагивающий акцепторный сайт сплайсинга интрона 6, и с.2389+5G>A, локализованный в донорном сайте сплайсинга интрона 16. Функциональная верификация данных вариантов в доступной литературе не описана.

Пробанд P01, мужчина 1989 года рождения (36 лет на момент обследования) с выраженной гиперхолестеринемией: уровень общего холестерина (ОХС) составил 9.0 ммоль/л, холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП) – 7.2 ммоль/л. Уровень триглицеридов (ТГ) – 1.1 ммоль/л, холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП) – 1.3 ммоль/л, что соответствует типичному липидному профилю при семейной гиперхолестеринемии, характеризующемуся выраженным повышением уровня ОХС и ХС ЛНП (оптимальные значения ОХС менее 5.0 ммоль/л, ХС ЛНП – менее 3.0 ммоль/л у пациентов без дополнительных факторов риска) и нормальных значениях ТГ (менее 1.7 ммоль/л).

Семейный анамнез отягощен: у родной сестры пробанда (38 лет на момент обследования) зафиксирован значительно повышенный уровень общего холестерина – 10.0 ммоль/л. У отца также отмечалась гиперхолестеринемия, но данные его лабораторных обследований были недоступны. По шкале DLCN у пробанда 7 баллов, что соответствует «вероятной СГХС» – 6–8 баллов (Ежов и др., 2019). Проведенный молекулярно-генетический анализ выявил у пробанда ранее описанный вариант NM_000527.5: с.940+3_940+6del (GRCh38: chr19:11107514 GGTGA>G) в гене *LDLR*. Отец и сестра пробанда не были обследованы на наличие этого варианта из-за отсутствия их образцов ДНК. Вариант отсутствовал в общей популяции согласно базе данных gnomAD, но был ранее описан у пациентов с семейной гиперхолестеринемией (Rieck et al., 2020; Semenova et al., 2020; Miroshnikova et al., 2021; Nazarenko et al., 2023). На основе критериев ACMG/ClinGen вариант с.940+3_940+6del был классифицирован как вариант с неизвестной клинической значимостью (PM2, PP3, PP4).

Таблица 4. Результаты анализа *in silico* влияния вариантов гена *LDLR* на сплайсинг

Вариант (локализация в гене <i>LDLR</i>)	Геномная координата GRCh38.p14: NC_000019.10	Human Splicing Finder (HSF)	SpliceAI*	MaxEntScan**
c.940+3_940+6del (rs2077315885) интрон 6	19:11107514 GGTGA>G	Потеря донорного сайта сплайсинга: потенциальное изменение сплайсинга (HSF, MaxEnt) Новый донорный сайт сплайсинга: активация скрытого донорного сайта. Потенциальное изменение сплайсинга (HSF)	0.87 Потеря донорного сайта 0.45 Образование нового донорного сайта	Var/Wt < 0 (–0.63) Существенное ослабление донорного сайта
c.941-3C>G (rs2515989714) интрон 6	19:11110649 C>G	Потеря акцепторного сайта сплайсинга: потенциальное изменение сплайсинга (MaxEnt)	0.37 Потеря акцепторного сайта	Var/Wt < 0.0 (–1.18) Существенное ослабление акцепторного сайта
c.2389+5G>A (rs879255191) интрон 16	19:11128090 G>A	Потеря донорного сайта сплайсинга: потенциальное изменение сплайсинга (HSF, MaxEnt)	0.41 Потеря донорного сайта	Var/Wt = 0.50 Ослабление донорного сайта

* Значение дельта-оценки ≥ 0.80 соответствует высокой точности предсказания влияния варианта на сплайсинг; ** значение соотношения Var/Wt < 0.8 свидетельствует в пользу патогенности варианта, оценка ≥ 1.0 – в пользу доброкачественности варианта (Chora et al., 2022).

Вариант NM_000527.5: c.941-3C>G (GRCh38: chr19:11110649 C>G) интрона 6 гена *LDLR* был обнаружен у пробанда P02 и ее матери. Пробанд P02, женщина 2001 года рождения (22 года на момент обследования), максимальный уровень ОХС составил 7.8 ммоль/л, ХС ЛПНП – 5.5 ммоль/л, что превышает 95-й перцентиль референсных значений для женщин этой возрастной группы (Ежов и др., 2019). Семейный анамнез отягощен: у отца клиника ишемической болезни сердца (ИБС) с 45 лет, в 50 лет перенес острый инфаркт миокарда (ОИМ) и операцию коронарного шунтирования, у матери – повышение ОХС до 8 ммоль/л, принимает гиполипидемическую терапию, у родного брата – значительное повышение ОХС до 10 ммоль/л.

При ультразвуковом исследовании брахиоцефальных артерий и артерий нижних конечностей атеросклеротических изменений не выявлено. По критериям DLCN пробанд набрал 4 балла, что соответствует «возможной СГХС» (3–5 баллов). Вариант отсутствовал в общей популяции согласно базе данных gnomAD. Другие члены семьи не были доступны для обследования. Вариант ранее был описан у лиц с семейной гиперхолестеринемией в Испании (Martín-Campos et al., 2018) и России (Meshkov et al., 2021). На основе критериев ACMG/ClinGen вариант c.941-3C>G классифицирован как вариант с неизвестной клинической значимостью (PM2, PP3, PP1_Supporting).

У пробанда P03, 43 года на момент обследования, нами ранее был идентифицирован вариант, локализованный в донорном сайте сплайсинга NM_000527.5: c.2389+5G>A (GRCh38 19:11128090 G>A) интрона 16 гена *LDLR* (Шахтшнейдер и др., 2017). Пробанд с детства страдал артериальной гипертензией, а в 2011 г. перенес ОИМ. Лабораторные данные выявили повышение ОХС до 11.5 ммоль/л, ХС-ЛНП 10.12 ммоль/л, ХС-ЛВП 0.89 ммоль/л, ТГ 1.08 ммоль/л. Семейный анамнез отягощен по ранней ИБС: отец перенес ОИМ в 45 лет, трое братьев отца – ОИМ в возрасте 50–53 года, старший брат пробанда страдал гиперхолестеринемией и ИБС и был

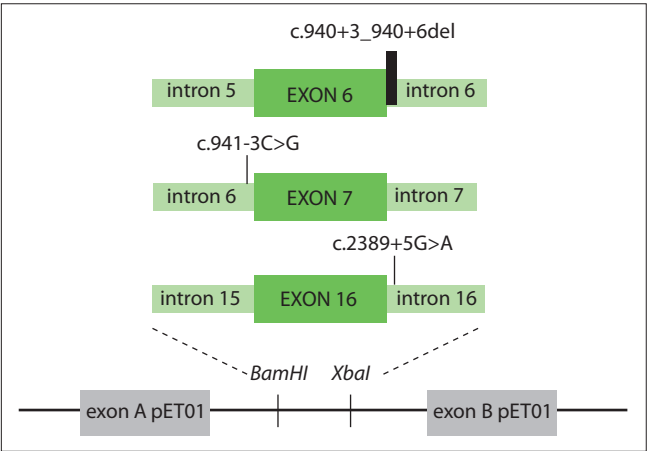


Рис. 1. Схематичное представление минигенов с вариантами c.940+3_940+6del, c.941-3C>G, c.2389+5G>A.

Фрагменты вектора pET01 показаны серым цветом; фрагменты гена *LDLR* – зеленым. *Bam*HI и *Xba*I – сайты узнавания эндонуклеаз рестрикции.

носителем такого же варианта. Диагноз: определенная семейная гиперхолестеринемия (по критериям DLCN 17 баллов). При каскадном скрининге вариант был обнаружен у двух из трех дочерей пробанда (7–8 лет), у которых также зафиксирована гиперхолестеринемия (ХС-ЛНП 4.28–4.69 ммоль/л). В популяционной базе gnomAD (версия 4.1.1) описан с частотой 0.0001239 %, гомозиготы не зарегистрированы. Вариант ранее был описан у лиц с семейной гиперхолестеринемией (Semenova et al., 2020). По критериям ACMG/ClinGen, вариант c.2389+5G>A был классифицирован как вариант с неизвестной клинической значимостью (PM2, PP1_Moderate, PP3, PP4).

На основании данных анализа *in silico* для вариантов гена *LDLR*: c.940+3_940+6del, c.941-3C>G, c.2389+5G>A (табл. 4) были созданы минигены, каждый из которых включал один экзон и фланкирующие его интронные области (рис. 1). Для минигена с вариантом c.940+3_940+6del

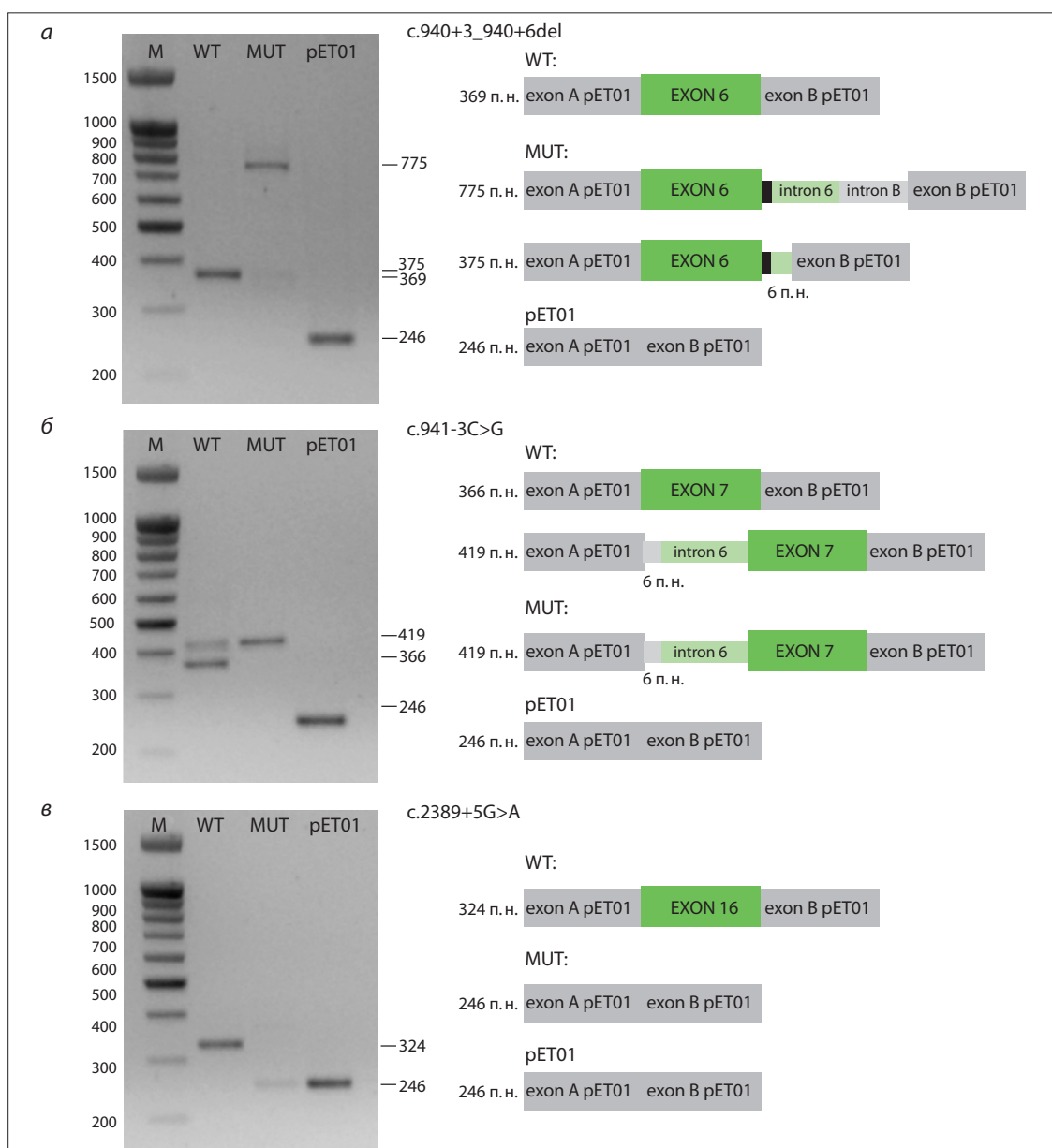


Рис. 2. Результаты анализа *in vitro* минигенов с вариантами с.940+3_940+6del, с.941-3C>G, с.2389+5G>A и соответствующих минигенов дикого типа (WT).

Визуализация фрагментов минигенов в 3 % агарозном геле и схематичное представление результатов сплайсинга. Фрагменты вектора pET01 показаны серым цветом, фрагменты гена *LDLR* – зеленым. *а* – минигены, несущие мутантный (MUT) вариант с.940+3_940+6del и WT; *б* – миниген MUT с.941-3C>G и WT; *в* – миниген MUT с.2389+5G>A и WT; pET01 – пустой вектор pET01; M – 100 + 1500 п.н. маркер. Получено на клеточной линии HEK293.

интронные области составили 116 и 96 п.н., а для варианта с.941-3C>G – всего 51 и 79 п.н., так как интроны гена *LDLR* на 65 % состоят из Alu-повторов (Amsellem et al., 2002).

Вариант с.940+3_940+6del является делецией четырех нуклеотидов с +1 до +4 позиции интрона 6 и, согласно анализу *in silico*, приводит к потере канонического донорного сайта и активации скрытого сайта сплайсинга (см. табл. 4). В результате проверки *in vitro* в минигене с «диким типом» детектирован один продукт размером 369 п.н., соответствующий «правильному» сплайсингу, а именно варианту мРНК, в котором полностью удалены интроны

и сохранен экзон 6. При анализе минигена с вариантом с.940+3_940+6del наблюдалось два основных продукта различной длины (775 и 375 п.н.). Фрагмент 775 п.н. характеризует потерю донорного сайта сплайсинга и включение в мРНК последовательности интрона 6 гена *LDLR* и интрона вектора pET01. При наличии фрагмента размером 375 п.н. происходит потеря канонического сайта и активация скрытого сайта сплайсинга, что приводит к включению шести нуклеотидов интронной области (интрон 6) (рис. 2, *а*). В результате анализа *in vitro* показан патогенный эффект варианта с.940+3_940+6del, приводящий к aberrantному сплайсингу.

Вариант c.941-3C>G локализуется в –3 позиции интрона 6 гена *LDLR*, и в результате анализа *in silico* этого варианта были получены неоднозначные предсказания (см. табл. 4). При анализе *in vitro* в минигене с «диким типом» выявлено два фрагмента, один из которых соответствует «правильному» сплайсингу (366 п. н.), а второй фрагмент содержит химерный интрон, состоящий из шести нуклеотидов интрона вектора pET01 и полностью сохранившегося интрона 6 гена *LDLR* (419 п. н.) (см. рис. 2, б). Сохранение интрона 6 в минигене «дикого типа» может быть обусловлено особенностью конструкции. В минигене с мутантным вариантом c.941-3C>G обнаружен один фрагмент, который также включал в себя химерный интрон (шесть нуклеотидов вектора pET01 и весь интрон 6 гена *LDLR*) (см. рис. 2, б). Таким образом, анализ *in vitro* подтвердил, что наличие варианта c.941-3C>G приводит к потере канонического акцепторного сайта сплайсинга и активации скрытого сайта сплайсинга.

Вариант c.2389+5G>A расположен за пределами канонического сайта сплайсинга в +5 позиции интрона 16. Проведение анализа *in vitro* подтвердило предсказанный эффект *in silico* варианта c.2389+5G>A на сплайсинг (см. табл. 4), а именно потерю канонического донорного сайта сплайсинга. При анализе минигена с вариантом c.2389+5G>A выявлен основной продукт размером 246 п. н., что соответствует пустому вектору pET01 (см. рис. 2, в). Анализ *in vitro* подтвердил патогенный эффект варианта c.2389+5G>A на сплайсинг.

С учетом возможной клеточной специфичности регуляции сплайсинга (Cooper, 2005) эксперимент был повторен на клеточной линии HeLa. Результаты, полученные на этой клеточной линии, полностью воспроизводили данные, полученные на клеточной линии HEK293.

Результаты анализа *in vitro* были использованы для реклассификации трех исследованных вариантов согласно критериям патогенности ACMG (Richards et al., 2015) и ClinGen Familial Hypercholesterolemia Variant Curation Expert Panel (Chora et al., 2022). Данные анализа минигенов, несущих варианты c.940+3_940+6del, c.941-3C>G, c.2389+5G>A, подтвердили aberrантный сплайсинг и были использованы как вспомогательное доказательство патогенности (PS3_Supporting).

Варианты c.940+3_940+6del и c.941-3C>G описаны у пациентов с ГХХС в нескольких независимых исследованиях (Martín-Campos et al., 2018; Rieck et al., 2020; Semenova et al., 2020; Meshkov et al., 2021; Miroshnikova et al., 2021; Nazarenko et al., 2023). Тем не менее применение ген-специфических критериев ClinGen (Chora et al., 2022) показывает, что совокупность накопленных доказательств остается недостаточной для реклассификации в категорию вероятно патогенных. В соответствии с критериями ACMG/AMP варианты c.940+3_940+6del (PM2, PS3_Supporting, PP4) и c.941-3C>G (PM2, PS3_Supporting, PP1_Supporting) сохраняют статус вариантов неопределенной клинической значимости.

Вариант c.2389+5G>A был реклассифицирован из варианта неопределенной клинической значимости в веро-

ятно патогенный вариант на основании критериев PM2, PS3_Supporting, PP1_Moderate, PP4.

Обсуждение

В работе представлены результаты анализа *in vitro* влияния трех интронных вариантов гена *LDLR* (c.940+3_940+6del, c.941-3C>G, c.2389+5G>A) на сплайсинг с использованием вектора – «ловушки экзонов» (exon-trap).

Канонические сайты сплайсинга определяют экзон-интронные границы, являются эволюционно консервативными и распознаются сплайсосомой. Любые вариации в последовательностях канонических сайтов могут привести к изменениям взаимодействия между пре-мРНК и субъединицами сплайсосомы (Abramowicz, Gos, 2018). Распознавание 5'-конца сайта сплайсинга субъединицей U1 snRNP осуществляется путем спаривания 5'-конца U1 snRNA с последовательностью пре-мРНК в позициях от –3 до +6 относительно экзон-интронной границы (Malard et al., 2022). Сохранение канонического GT-динуклеотида само по себе не является надежным предиктором эффективности донорного сайта. Определяющим фактором служит термодинамика формирования дуплекса U1 snRNA:5' ss, в котором наличие определенного нуклеотида в позиции +3 и глубже вносит существенный вклад в стабильность дуплекса и силу донорного сайта (Malard et al., 2022).

Вариант c.940+3_940+6del приводит к делеции четырех нуклеотидов, затрагивающих канонический донорный сайт сплайсинга (delG₊₁T₊₂G₊₃A₊₄). В результате такого перераспределения нуклеотидов в интроне в позициях +1 и +2 сохраняется консенсусная последовательность GT, тогда как в позициях +3 и +4 формируется измененный мотив (G₊₁T₊₂C₊₃T₊₄). В результате анализа *in vitro* варианта c.940+3_940+6del подтверждено повреждающее влияние на сплайсинг пре-мРНК. Идентифицировано два aberrантных транскрипта. В первом случае происходило включение шести нуклеотидов интронной области гена *LDLR*, что, по данным анализа *in silico*, приводит к сдвигу рамки считывания и образованию преждевременного стоп-кодона в 371 аминокислотной позиции.

Во втором варианте наблюдалось полное удержание интронной последовательности в транскрипте (интрон 6 гена *LDLR* и интрон вектора pET01), что, по всей видимости, приведет к синтезу белка с измененной аминокислотной последовательностью или его деградации. Для подтверждения предполагаемых последствий требуются дополнительные исследования на белковом уровне.

Подобные варианты в гене *LDLR* описаны ранее. Интронный вариант c.1358+3_1358+8del приводит к делеции шести нуклеотидов в позициях +1...+6 при сохраненном GT на +1 и +2 и описан у пробанда с фенотипом семейной гиперхолестеринемии. Несмотря на то что функциональные исследования не проводились, сегрегационные данные говорят о том, что вариант, вероятно, является патогенным (Marduel et al., 2010).

Варианты, локализованные в интронной позиции +5, при стандартном анализе нередко классифицируются как варианты неопределенной клинической значимости

(variant of uncertain significance). Однако позиция +5 донорного сайта участвует в связывании с 5'-концом U1 snRNA и является одной из детерминант силы донорного сайта. Замена в этой позиции может привести к снижению эффективности распознавания сайта сплайсинга сплайсосома (Malard et al., 2022).

Ранее было исследовано влияние нескольких вариантов гена *LDLR*, локализованных в +5 интронной позиции, на процесс сплайсинга. Так, наличие варианта с.1186+5G>A (интрон 8) приводит к потере донорного сайта сплайсинга и включению интрона 8 в состав мРНК, что приводит к деградации мРНК по механизму нонсенс-опосредованного распада (nonsense-mediated mRNA decay, NMD) (Etchebarria et al., 2012). При наличии вариантов с.1586+5G>A и с.2140+5G>A были обнаружены небольшие количества мутантных транскриптов и отсутствие влияния на активность белка (Bourbon et al., 2009; Holla et al., 2009). В нашем исследовании замена G на A (с.2389+5G>A) приводила к удалению экзона 16 из транскрипта, и дальнейший анализ *in silico* предсказал делецию аминокислотных остатков с 771-й по 796-ю позицию и образование белка усеченной длины.

Акцепторный сайт сплайсинга характеризуется высококонсервативными нуклеотидами в позициях –2, –1, которые распознаются малой субъединицей U2AF35, тогда как большая субъединица U2AF65 связывается с полипиримидиновым трактом, расположенным выше этих динуклеотидов. Вариабельные позиции вблизи сайта AG, включая –3, могут влиять на силу сайта, поскольку определяют аффинность связывания U2AF-гетеродимера с пре-мРНК (Jenkins et al., 2013; Voith von Voithenberg et al., 2016).

Интронная позиция –3 не является консервативной, однако ее функциональная значимость подтверждена экспериментально. Показано, что мутации в этой позиции составляют около 4 % от всех описанных нарушений в акцепторных сайтах в генах наследственных заболеваний и приводят к активации скрытых сайтов сплайсинга или же удержанию интрона *in vivo* (Vorechovsky, 2006). В нашем исследовании при наличии варианта с.941-3C>G происходит потеря канонического сайта и включение части нуклеотидов интрона 6. Замена цитозина на гуанин в позиции –3 нарушает пиримидиновый состав, характерный для области, прилегающей к акцепторному AG-динуклеотиду.

Поскольку U2AF65 распознает полипиримидиновый тракт выше AG, введение пуринового нуклеотида в непосредственной близости от сайта, вероятно, ослабляет эффективность связывания U2AF-гетеродимера и вызывает активацию криптического сайта сплайсинга. В зависимости от нуклеотидного окружения возможны различные нарушения. Показано, что наличие варианта с.2312-3C>A в интроне 15 у пациентов с СГХС приводит к разрушению 3'-акцепторного сайта сплайсинга и удалению экзона 16 из зрелой мРНК (Liguori et al., 2001). А. Benito-Vicente с коллегами показали (2015), что при наличии варианта с.818-3C>G в интроне 5 происходит включение двух нуклеотидов интрона 5 в мРНК, что, предположительно,

приводит к образованию преждевременного стоп-кодона в аминокислотной позиции 274. Полученные нами данные согласуются с этими наблюдениями.

По данным R. Chong с коллегами (2019), среди вариантов с повреждающим эффектом на сплайсинг (3.8 % от всех проанализированных замен в базе ExAC) 83 % локализовано вне канонических позиций ± 1.2 и равномерно распределено в экзонах и интронах. В работе Ø.L. Holla с коллегами (2009) функциональный анализ 18 интронных вариантов показал, что 14 из них (78 %) оказывают значимый эффект на сплайсинг. Эти данные в совокупности с нашими результатами по гену *LDLR* подчеркивают, что варианты, расположенные за пределами канонических динуклеотидов, нередко являются функционально значимыми, однако без подтверждения *in vitro* сохраняют статус вариантов неопределенной клинической значимости.

Функциональный анализ *in vitro* влияния вариантов на сплайсинг – необходимое, но не всегда достаточное условие для реклассификации варианта с неизвестной клинической значимостью в категорию вероятно патогенных или вероятно доброкачественных. Как показано в настоящей работе, функционально подтвержденный абберантный сплайсинг повышает доказательную базу патогенности, однако итоговая классификация определяется совокупностью критериев ACMG/AMP в рамках ген-специфических правил FH VCEP ClinGen (Chora et al., 2022). Таким образом, функциональный анализ с использованием минигенов является необходимым инструментом верификации патогенности интронных вариантов гена *LDLR*, расположенных вне канонических сайтов сплайсинга, в том числе для установления молекулярного диагноза у пациентов с фенотипом СГХС (Blakes et al., 2022).

Заключение

В настоящем исследовании продемонстрировано, что все три интронных варианта гена *LDLR*, с.940+3_940+6del, с.941-3C>G и с.2389+5G>A, оказывают выраженное повреждающее влияние на сплайсинг пре-мРНК в системе минигенов, приводя к потере канонических сайтов сплайсинга, активации криптических сайтов и формированию абберантных транскриптов. Полученные данные говорят о необходимости проведения функционального анализа для подтверждения патогенности вариантов, оценка которых *in silico* дает противоречивые результаты.

Список литературы / References

- Ежов М.В., Бажан С.С., Ершова А.И., Мешков А.Н., Соколов А.А., Кухарчук В.В., Гуревич В.С., ... Балахонова Т.В., Филиппов А.Е., Ахмеджанов Н.М., Александрова О.Ю., Липовецкий Б.М. Клинические рекомендации по семейной гиперхолестеринемии. *Атеросклероз*. 2019;15(1):58-98
[Ezhov M.V., Bazhan S.S., Ershova A.I., Meshkov A.N., Sokolov A.A., Kukharchuk V.V., Gurevich V.S., ... Balakhonova T.V., Filippov A.E., Akhmedjanov N.M., Aleksandrova O.Yu., Lipovetskiy B.M. Clinical guidelines for familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2019;15(1):58-98 (in Russian)]
Шахтштейндер Е.В., Иванощук Д.Е., Макаренкова К.В., Орлов П.С., Тимощенко О.В., Бажан С.С., Никитин Ю.П., Воевода М.И. Каскадный генетический скрининг в диагностике гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии: клинический случай.

- Российский кардиологический журнал*. 2017;22(6):178-179. doi 10.15829/1560-4071-2017-6-178-179 [Shakhshneider E.V., Ivanoshchuk D.E., Makarenkova K.V., Orlov P.S., Timoshchenko O.V., Bazhan S.S., Nikitin Yu.P., Voevoda M.I. Cascade genetic screening in diagnostics of heterozygous familial hypercholesterolemia: clinical case. *Rossiiskii Kardiologicheskii Zhurnal = Russian Journal of Cardiology*. 2017;22(6):178-179. doi 10.15829/1560-4071-2017-6-178-179 (in Russian)]
- Abramowicz A., Gos M. Splicing mutations in human genetic disorders: examples, detection, and confirmation. *J Appl Genet*. 2018;59(3): 253-268. doi 10.1007/s13353-018-0444-7
- Ahmad Z., Agarwala A., Cuchel M., Barton Duell P., Hegele R.A., Hudgins L., Jamison A., ... Soffer D.E., Warden B.A., Weintraub W.S., Williams L., Goldberg A.C. Update on familial hypercholesterolemia: an expert clinical consensus from the National Lipid Association. *J Clin Lipidol*. 2026;20(4):708-737. doi 10.1016/j.jacl.2026.01.011
- Amsellem S., Briffaut D., Carrié A., Rabès J.P., Girardet J.P., Fredenrich A., Moulin P., Krempf M., Reznik Y., Viallettes B., de Gennes J.L., Brukert E., Benlian P. Intronic mutations outside of *Alu*-repeat-rich domains of the *LDL* receptor gene are a cause of familial hypercholesterolemia. *Hum Genet*. 2002;111(6):501-510. doi 10.1007/s00439-002-0813-4
- Austin M.A., Hutter C.M., Zimmern R.L., Humphries S.E. Genetic causes of monogenic heterozygous familial hypercholesterolemia: a HuGE prevalence review. *Am J Epidemiol*. 2004;160(5):407-420. doi 10.1093/aje/kwh236
- Benito-Vicente A., Alves A.C., Etxebarria A., Medeiros A.M., Martin C., Bourbon M. The importance of an integrated analysis of clinical, molecular, and functional data for the genetic diagnosis of familial hypercholesterolemia. *Genet Med*. 2015;17(12):980-988. doi 10.1038/gim.2015.14
- Blakes A.J.M., Wai H.A., Davies I., Moledina H.E., Ruiz A., Thomas T., Bunyan D., ... Douglas A.G.L.; Genomics England Research Consortium, Splicing and Disease Working Group; Whiffin N., Baralle D., Lord J. A systematic analysis of splicing variants identifies new diagnoses in the 100,000 Genomes Project. *Genome Med*. 2022;14(1):79. doi 10.1186/s13073-022-01087-x
- Bourbon M., Duarte M.A., Alves A.C., Medeiros A.M., Marques L., Soutar A.K. Genetic diagnosis of familial hypercholesterolemia: the importance of functional analysis of potential splice-site mutations. *J Med Genet*. 2009;46(5):352-357. doi 10.1136/jmg.2007.057000
- Brown M.S., Goldstein J.L. Receptor-mediated endocytosis: insights from the lipoprotein receptor system. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1979;76(7):3330-3337. doi 10.1073/pnas.76.7.3330
- Chong R., Insigne K.D., Yao D., Burghard C.P., Wang J., Hsiao Y.E., Jones E.M., Goodman D.B., Xiao X., Kosuri S. A multiplexed assay for exon recognition reveals that an unappreciated fraction of rare genetic variants cause large-effect splicing disruptions. *Mol Cell*. 2019;73(1):183-194.e8. doi 10.1016/j.molcel.2018.10.037
- Chora J.R., Iacocca M.A., Tichý L., Wand H., Kurtz C.L., Zimmermann H., Leon A., ... Hegele R.A., Freiburger T., Knowles J.W., Bourbon M.; ClinGen Familial Hypercholesterolemia Expert Panel. The Clinical Genome Resource (ClinGen) Familial Hypercholesterolemia Variant Curation Expert Panel consensus guidelines for *LDLR* variant classification. *Genet Med*. 2022;24(2):293-306. doi 10.1016/j.gim.2021.09.012
- Cooper T.A. Use of minigene systems to dissect alternative splicing elements. *Methods*. 2005;37(4):331-340. doi 10.1016/j.ymeth.2005.07.015
- Etxebarria A., Palacios L., Stef M., Tejedor D., Uribe K.B., Oleaga A., Irigoyen L., Torres B., Ostolaza H., Martin C. Functional characterization of splicing and ligand-binding domain variants in the *LDL* receptor. *Hum Mutat*. 2012;33(1):232-243. doi 10.1002/humu.21630
- Freiburger T. Update on genetics of familial hypercholesterolemia. *Curr Opin Lipidol*. 2026;37(2):38-44. doi 10.1097/MOL.0000000000001027
- Hobbs H.H., Russell D.W., Brown M.S., Goldstein J.L. The *LDL* receptor locus in familial hypercholesterolemia: mutational analysis of a membrane protein. *Annu Rev Genet*. 1990;24:133-170. doi 10.1146/annurev.ge.24.120190.001025
- Holla Ø.L., Nakken S., Mattingsdal M., Ranheim T., Berge K.E., Defesche J.C., Leren T.P. Effects of intronic mutations in the *LDLR* gene on pre-mRNA splicing: comparison of wet-lab and bioinformatics analyses. *Mol Genet Metab*. 2009;96(4):245-252. doi 10.1016/j.ymgme.2008.12.014
- Hu P., Dharmayat K.I., Stevens C.A.T., Sharabiani M.T.A., Jones R.S., Watts G.F., Genest J., Ray K.K., Vallejo-Vaz A.J. Prevalence of familial hypercholesterolemia among the general population and patients with atherosclerotic cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis. *Circulation*. 2020;141(22):1742-1759. doi 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.044795
- Jenkins J.L., Agrawal A.A., Gupta A., Green M.R., Kielkopf C.L. U2AF65 adapts to diverse pre-mRNA splice sites through conformational selection of specific and promiscuous RNA recognition motifs. *Nucleic Acids Res*. 2013;41(6):3859-3873. doi 10.1093/nar/gkt046
- Kulseth M.A., Berge K.E., Bogsrud M.P., Leren T.P. Analysis of *LDLR* mRNA in patients with familial hypercholesterolemia revealed a novel mutation in intron 14, which activates a cryptic splice site. *J Hum Genet*. 2010;55(10):676-680. doi 10.1038/jhg.2010.87
- Liguori R., Bianco A.M., Argiriou A., Paucillo P., Giannino A., Rubba P., De Simone V. *LDL* receptor cDNA sequence analysis in familial hypercholesterolemia patients: 5 novel mutations with high prevalence in families originating from southern Italy. *Hum Mutat*. 2001;17(5):433. doi 10.1002/humu.1122
- Malard F., Mackereth C.D., Campagne S. Principles and correction of 5'-splice site selection. *RNA Biol*. 2022;19(1):943-960. doi 10.1080/15476286.2022.2100971
- Marduel M., Carrié A., Sassolas A., Devillers M., Carreau V., Di Filippo M., Erlich D., ... Junien C.; French ADH Research Network; Boileau C., Varret M., Rabès J.P. Molecular spectrum of autosomal dominant hypercholesterolemia in France. *Hum Mutat*. 2010;31(11): E1811-E1824. doi 10.1002/humu.21348
- Martín-Campos J.M., Plana N., Figueras R., Ibarretxe D., Caixàs A., Esteve E., Pérez A., ... Pintó X., Masana L., Julve J., Blanco-Vaca F.; Xarxa d'Unitats de Lipids i Arteriosclerosi (XULA). Autosomal dominant hypercholesterolemia in Catalonia: correspondence between clinical-biochemical and genetic diagnostics in 967 patients studied in a multicenter clinical setting. *J Clin Lipidol*. 2018;12(6):1452-1462. doi 10.1016/j.jacl.2018.09.002
- Meshkov A., Ershova A., Kiseleva A., Zotova E., Sotnikova E., Petukhova A., Zharikova A., ... Makarov V., Kukharchuk V., Boytsov S., Yudin S., Drapkina O. The *LDLR*, *APOB*, and *PCSK9* variants of index patients with familial hypercholesterolemia in Russia. *Genes (Basel)*. 2021;12(1):66. doi 10.3390/genes12010066
- Miroshnikova V.V., Romanova O.V., Ivanova O.N., Fedyakov M.A., Panteleeva A.A., Barbitoff Y.A., Muzalevskaya M.V., ... Guseva D.M., Pchelina S.N., Glotov A.S., Zakharova E.Y., Glotov O.S. Identification of novel variants in the *LDLR* gene in Russian patients with familial hypercholesterolemia using targeted sequencing. *Biomed Rep*. 2021;14(1):15. doi 10.3892/br.2020.1391
- Nazarenko M.S., Sleptcov A.A., Zarubin A.A., Salakhov R.R., Shevchenko A.I., Tmoyan N.A., Elisaphenko E.A., Zubkova E.S., Zheltyshcheva N.V., Ezhov M.V., Kukharchuk V.V., Parfyonova Yu.V., Zakian S.M., Zakharova I.S. Calling and phasing of single-nucleotide and structural variants of the *LDLR* gene using Oxford Nanopore MinION. *Int J Mol Sci*. 2023;24(5):4471. doi 10.3390/ijms24054471
- Nordestgaard B.G., Chapman M.J., Humphries S.E., Ginsberg H.N., Masana L., Descamps O.S., Wiklund O., ... Stalenhoef A.F., Stroes E., Taskinen M.R., Tybjaerg-Hansen A.; European Atherosclerosis Society Consensus Panel. Familial hypercholesterolemia is underdiagnosed and undertreated in the general population:

- guidance for clinicians to prevent coronary heart disease: consensus statement of the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J*. 2013;34(45):3478-3490. doi 10.1093/eurheartj/ehz273
- Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics*. 2012;28(8):1166-1167. doi 10.1093/bioinformatics/bts091
- Reeskamp L.F., Hartgers M.L., Peter J., Dallinga-Thie G.M., Zuurbier L., Defesche J.C., Grefhorst A., Hovingh G.K. A deep intronic variant in *LDLR* in familial hypercholesterolemia. *Circ Genom Precis Med*. 2018;11(12):e002385. doi 10.1161/CIRCGEN.118.002385
- Reeskamp L.F., Balvers M., Peter J., van de Kerkhof L., Klaaijzen L.N., Motazacker M.M., Grefhorst A., van Riel N.A.W., Hovingh G.K., Defesche J.C., Zuurbier L. Intronic variant screening with targeted next-generation sequencing reveals first pseudoexon in *LDLR* in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2021;321:14-20. doi 10.1016/j.atherosclerosis.2021.02.003
- Richards S., Aziz N., Bale S., Bick D., Das S., Gastier-Foster J., Grody W.W., Hegde M., Lyon E., Spector E., Voelkerding K., Rehm H.L. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17(5):405-424. doi 10.1038/gim.2015.30
- Rieck L., Bardey F., Grenkowitz T., Bertram L., Helmuth J., Mischung C., Spranger J., Steinhagen-Thiessen E., Bobbert T., Kassner U., Demuth I. Mutation spectrum and polygenic score in German patients with familial hypercholesterolemia. *Clin Genet*. 2020;98(5):457-467. doi 10.1111/cge.13826
- Sambrook J., Russell D.W. Purification of nucleic acids by extraction with phenol:chloroform. *CSH Protoc*. 2006;2006(1):pdb.prot4455. doi 10.1101/pdb.prot4455
- Segrest J.P., Jones M.K., De Loof H., Dashti N. Structure of apolipoprotein B-100 in low density lipoproteins. *J Lipid Res*. 2001;42(9):1346-1367. doi 10.1016/S0022-2275(20)30267-4
- Semenova A.E., Sergienko I.V., García-Giustiniani D., Monserrat L., Popova A.B., Nozadze D.N., Ezhov M.V. Verification of underlying genetic cause in a cohort of Russian patients with familial hypercholesterolemia using targeted next generation sequencing. *J Cardiovasc Dev Dis*. 2020;7(2):16. doi 10.3390/jcdd7020016
- Shamsani J., Kazakoff S.H., Armean I.M., McLaren W., Parsons M.T., Thompson B.A., O'Mara T.A., Hunt S.E., Waddell N., Spurdle A.B. A plugin for the Ensembl Variant Effect Predictor that uses MaxEntScan to predict variant spliceogenicity. *Bioinformatics*. 2019;35(13):2315-2317. doi 10.1093/bioinformatics/bty960
- Südhof T.C., Goldstein J.L., Brown M.S., Russell D.W. The LDL receptor gene: a mosaic of exons shared with different proteins. *Science*. 1985;228(4701):815-822. doi 10.1126/science.2988123
- Voith von Voithenberg L., Sánchez-Rico C., Kang H.S., Madl T., Zanier K., Barth A., Warner L.R., Sattler M., Lamb D.C. Recognition of the 3' splice site RNA by the U2AF heterodimer involves a dynamic population shift. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2016;113(46):E7169-E7175. doi 10.1073/pnas.1605873113
- Vorechovsky I. Aberrant 3' splice sites in human disease genes: mutation pattern, nucleotide structure and comparison of computational tools that predict their utilization. *Nucleic Acids Res*. 2006;34(16):4630-4641. doi 10.1093/nar/gkl535
- Walker L.C., de la Hoya M., Wiggins G.A.R., Lindy A., Vincent L.M., Parsons M.T., Canson D.M., ... Pesaran T., Karam R., Harrison S.M., Spurdle A.B.; ClinGen Sequence Variant Interpretation Working Group. Using the ACMG/AMP framework to capture evidence related to predicted and observed impact on splicing: recommendations from the ClinGen SVI Splicing Subgroup. *Am J Hum Genet*. 2023;110(7):1046-1067. doi 10.1016/j.ajhg.2023.06.002

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 22.05.2026. После доработки 22.06.2026. Принята к публикации 29.06.2026.

doi 10.18699/vjgb-26-82

Новый вариант c.1185_1196dup (p.(Gly396_Ser399dup)) в гене *SLC26A4*, ассоциированный с рецессивно наследуемой тугоухостью

М.В. Зыцарь ^{1, 2#}, В.Ю. Данильченко ^{1, 2#}, А.А. Бондарь ³, К.Е. Орищенко ^{1, 2}, О.А. Посух ^{1, 2}

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

³ Институт химической биологии и фундаментальной медицины им. Д.Г. Кнорре Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

 zytzar@bionet.nsc.ru

Аннотация. Патогенные варианты в гене *SLC26A4* (solute carrier family 26, member 4) – частая причина наследственной потери слуха. Ген *SLC26A4* кодирует трансмембранный белок пендрин из семейства анионных транспортеров SLC26, с преимущественной экспрессией в тканях внутреннего уха, щитовидной железы и почек. Патогенные *SLC26A4*-варианты вызывают несиндромальную рецессивно наследуемую потерю слуха (DFNB4) и синдром Пендреда (сенсоневральная тугоухость и дисфункция щитовидной железы). Во многих исследованиях при анализе гена *SLC26A4*, наряду с пациентами, у которых обнаружено два рецессивных патогенных *SLC26A4*-варианта (M2-пациенты) и может быть поставлен точный молекулярно-генетический диагноз, часто выявляется группа пациентов только с одним патогенным *SLC26A4*-вариантом (M1-пациенты), что создает диагностическую проблему. Наличие M1-пациентов может отражать не обнаруженные рутинными методами диагностики вариации числа копий (CNV, делеции/дупликации в гене) *SLC26A4*. Цель работы – поиск делеций/дупликаций в гене *SLC26A4* методом MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) у 13 пациентов, относящихся к коренному населению Республики Тыва (Южная Сибирь), у которых при изучении этиологии наследственной потери слуха был найден только один патогенный *SLC26A4*-вариант (M1-пациенты). В результате MLPA-анализа и молекулярного клонирования в образцах ДНК трех M1-пациентов из двух родственных тувинских семей обнаружен новый вариант – тандемная дупликация 12 нуклеотидов (c.1185_1196dup) в экзоне 10 гена *SLC26A4*, которая является внутрирамочной инсерцией, приводящей к включению четырех дополнительных аминокислотных остатков Gly-Phe-Phe-Ser (p.(Gly396_Ser399dup)) в высококонсервативном районе белка пендрин. Большая часть предсказательных программ прогнозирует повреждающее воздействие варианта c.1185_1196dup на структуру и функцию белка пендрин. В пользу патогенности свидетельствует его сегрегация с патологией слуха в родословной пациентов, у которых он найден в компаунд-гетерозиготном состоянии с патогенными *SLC26A4*-вариантами, а также его отсутствие в контрольной выборке тувинцев и мировых базах геномных данных. Для подтверждения потенциально негативных эффектов нового варианта c.1185_1196dup (p.(Gly396_Ser399dup)) и его ассоциации с патологией слуха необходимы функциональные *in vitro* исследования.

Ключевые слова: потеря слуха; патогенные варианты гена *SLC26A4*; метод MLPA; инделы

Для цитирования: Зыцарь М.В., Данильченко В.Ю., Бондарь А.А., Орищенко К.Е., Посух О.А. Новый вариант c.1185_1196dup (p.(Gly396_Ser399dup)) в гене *SLC26A4*, ассоциированный с рецессивно наследуемой тугоухостью. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2026;30(5):814-823. doi 10.18699/vjgb-26-82

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке бюджетного проекта FWNR-2026-0027 Института цитологии и генетики СО РАН и гранта Министерства науки и высшего образования РФ FSUS-2024-0018.

A novel variant c.1185_1196dup (p.(Gly396_Ser399dup)) in the *SLC26A4* gene associated with recessive hearing loss

M.V. Zytzar ^{1, 2#}, V.Yu. Danilchenko ^{1, 2#}, A.A. Bondar ³, K.E. Orishchenko ^{1, 2}, O.L. Posukh ^{1, 2}

¹ Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

³ Knorre Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

 zytzar@bionet.nsc.ru

Abstract. Pathogenic variants in the *SLC26A4* gene (solute carrier family 26, member 4) are a common cause of inherited hearing loss. The *SLC26A4* gene encodes the transmembrane protein pendrin, a member of the SLC26 anion transporter family, with predominant expression in the inner ear, thyroid, and kidney tissues. Pathogenic *SLC26A4* variants cause nonsyndromic recessive hearing loss (DFNB4) and Pendred syndrome (sensorineural hearing loss and thyroid dysfunction). In many studies analyzing the *SLC26A4* gene, along with patients who have two recessive pathogenic

© Зыцарь М.В., Данильченко В.Ю., Бондарь А.А., Орищенко К.Е., Посух О.А., 2026

Авторы внесли равный вклад в эту работу.

Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0

SLC26A4 variants (M2 patients) and an accurate molecular genetic diagnosis can be made, a group of patients with only one pathogenic *SLC26A4* variant (M1 patients) is often identified, which creates a diagnostic problem. The presence of M1 patients may reflect copy number variations (CNVs, deletions/duplications) in the *SLC26A4* gene that are not detected by routine diagnostic methods. The aim of the study is to search for deletions/duplications in the *SLC26A4* gene using the MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) method in thirteen patients belonging to the indigenous people of the Tyva Republic (Southern Siberia), in whom only one pathogenic *SLC26A4* variant (M1 patients) was identified during the study of the etiology of hereditary hearing loss. As a result of MLPA analysis and molecular cloning in DNA samples of three M1 patients from two related Tuvanian families, a novel variant was revealed – tandem duplication of twelve nucleotides (c.1185_1196dup) in exon 10 of the *SLC26A4* gene. This variant is an in-frame insertion resulting in the inclusion of four additional amino acid residues Gly-Phe-Phe-Ser (p.(Gly396_Ser399dup)) in a highly conserved region of the pendrin protein. Most predictive programs predict the damaging effect of the c.1185_1196dup variant on the structure and function of the pendrin protein. The pathogenicity of the c.1185_1196dup variant is supported by its segregation with hearing pathology in the pedigree of patients in whom it was found in a compound heterozygous state with pathogenic *SLC26A4* variants, as well as its absence in a control sample of Tuvinians and in the world genomic databases. Functional *in vitro* studies are needed to confirm the potentially deleterious effects of the novel c.1185_1196dup (p.(Gly396_Ser399dup)) variant and its association with hearing pathology.

Key words: hearing loss; *SLC26A4*; pathogenic variants of the *SLC26A4* gene; MLPA method; indels

For citation: Zysar M.V., Danilchenko V.Yu., Bondar A.A., Orishchenko K.E., Posukh O.L. A novel variant c.1185_1196dup (p.(Gly396_Ser399dup)) in the *SLC26A4* gene associated with recessive hearing loss. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektzii* = *Vavilov J Genet Breed.* 2026;30(5):814-823. doi 10.18699/vjgb-26-82

Введение

Наследственная потеря слуха является моногенным заболеванием с уникально высокой гетерогенностью генетического контроля и может быть изолированной или же быть одним из клинических признаков значительного числа различных синдромов. В настоящее время, согласно базе данных Hereditary Hearing Loss Homepage (<https://hereditaryhearingloss.org>, 8 апреля 2026 г.), известно, что патогенные варианты более чем в 150 различных генах, включая гены митохондриальной ДНК, ассоциированы с несиндромальными (изолированными) формами потери слуха, имеющими различные типы наследования: аутосомно-доминантное (DFNA-локусы), аутосомно-рецессивное (DFNB-локусы) и X-сцепленное (DFNX-локусы). Патогенные варианты в гене *GJB2* (gap junction protein, beta-2, 13q12.11, OMIM #121011), кодирующем трансмембранный белок коннексин 26, приводят к несиндромальной аутосомно-рецессивной глухоте, тип 1A (DFNB1A, OMIM #220290) – одной из наиболее распространенных форм потери слуха во многих популяциях (Del Castillo F., Del Castillo I., 2017). Второй по распространенности причиной наследственной потери слуха, по крайней мере, в азиатских популяциях, считаются патогенные варианты в гене *SLC26A4* (solute carrier family 26, member 4, 7q22.3, OMIM #605646) (Park et al., 2003; Albert et al., 2006; Yuan et al., 2009; Du et al., 2013; Tsukada et al., 2015; Koohiyan, 2019; Lee et al., 2023).

Ген *SLC26A4* кодирует белок пендрин, принадлежащий к семейству анионных транспортеров SLC26, который преимущественно экспрессируется в тканях внутреннего уха, щитовидной железы и почек и участвует в транспорте различных анионов (Everett et al., 1997; Mount, Romero, 2004). В тканях внутреннего уха пендрин поддерживает гомеостаз эндолимфы, обеспечивая обмен анионами $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$, а в клетках щитовидной железы он опосредует отток I^- из фолликулярных клеток щитовидной железы в просвет фолликулов (Everett et al., 1997; Wangemann et al., 2007; Tesolin et al., 2021). Патогенные *SLC26A4*-варианты,

нарушая структуру и функции белка пендрин, могут вызывать как несиндромальную рецессивно наследуемую потерю слуха (DFNB4, OMIM #600791), так и синдром Пендреда (Pendred syndrome, OMIM #274600), который сочетает сенсоневральную тугоухость и дисфункцию щитовидной железы (зоб). Важный клинический признак *SLC26A4*-обусловленной потери слуха – расширенный вестибулярный водопровод преддверия (EVA, enlarged vestibular aqueduct, OMIM #603545) и другие аномалии структур внутреннего уха, выявляемые с помощью компьютерной томографии (КТ) височных костей.

Для пациентов с патогенными *SLC26A4*-вариантами характерна широкая вариабельность клинических симптомов: манифестация потери слуха может быть врожденной или возникать в более старшем возрасте; степень проявления – от умеренных нарушений слуховой функции до полной глухоты, часто со значимой прогрессией; выраженность аномалий структур внутреннего уха может широко варьировать, также как начало и степень дисфункции щитовидной железы при синдроме Пендреда (Wangemann et al., 2007; Griffith, Wangemann, 2011; Mey et al., 2019; Roesch et al., 2021; Honda, Griffith, 2022).

Скрининг патогенных *SLC26A4*-вариантов – важная часть молекулярно-генетической диагностики нарушений слуховой функции и наиболее актуален у пациентов с EVA и другими аномалиями органа слуха. Тем не менее, несмотря на многочисленные исследования, вклад гена *SLC26A4* в этиологию нарушений слуха, по-видимому, все еще недостаточно точно оценен: отмечается значительная вариабельность как в доле пациентов с двумя рецессивными патогенными *SLC26A4*-вариантами (*SLC26A4*-биаллельные пациенты, или M2-пациенты), так и в доле пациентов, у которых был обнаружен только один патогенный *SLC26A4*-вариант (*SLC26A4*-моноаллельные пациенты, или M1-пациенты) (Azaiez et al., 2007; Choi B. et al., 2009; Chattaraj et al., 2013; Pique et al., 2014; Rose et al., 2017; Smits et al., 2022; Tian et al., 2024). Кроме того, у значительного числа пациентов с клиническими призна-

ками, присущими *SLC26A4*-обусловленной потере слуха, патогенные варианты этого гена не были обнаружены (M0-пациенты). Такая вариабельность в результатах диагностики может быть обусловлена гетерогенностью исследуемых когорт пациентов в разных исследованиях, которые различались как по числу, так и по критериям включения пациентов в обследование; возможным участием других генов и/или факторов среды (Yang et al., 2007, 2009; Pique et al., 2014; Chattaraj et al., 2017; Chao et al., 2019; Smits et al., 2022); различными методами анализа гена *SLC26A4*, начиная от рутинного таргетного скрининга наиболее распространенных патогенных вариантов и до тщательного изучения кодирующей и прилегающих интронных областей или всей последовательности гена с помощью секвенирования и/или различных NGS-технологий. В этой связи предполагается, что существенное число M1-пациентов, сообщаемое во многих исследованиях, может отражать потенциальное наличие еще не обнаруженных патогенных вариантов или же различных вариаций числа копий (CNVs, Copy Number Variations) в последовательности гена *SLC26A4*.

Известно, что CNVs (делеции/дупликации от 50–100 п. н. до нескольких млн п. н.) становятся причинами возникновения многих генетических заболеваний, включая наследственную потерю слуха (Zhang et al., 2009; Stankiewicz, Lupski, 2010; Shearer et al., 2014; Rentas, Abou Tayoun, 2021; Royer-Bertrand et al., 2021).

Среди различных методов и подходов, используемых в последние годы для обнаружения делеций/дупликаций, одним из перспективных является метод мультиплексной амплификации лигированных зондов (MLPA, Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) (Schouten et al., 2002; Stuppia et al., 2012). В основе метода лежит гибридизация двух частей зонда с целевой последовательностью ДНК и их лигирование с дальнейшей амплификацией с использованием универсальных флуоресцентно меченных праймеров. Каждый амплифицированный продукт имеет уникальную длину, что позволяет дифференцировать множественные фрагменты с помощью капиллярного электрофореза. Уровень сигнала каждого ПЦР-продукта определяется количеством копий анализируемого фрагмента ДНК и, таким образом, сопоставление полученных сигналов с сигналами от эталонных последовательностей позволяет детектировать нарушения копийности в том или ином регионе генома.

К настоящему времени в гене *SLC26A4* с помощью различных молекулярно-генетических методов, включая MLPA, обнаружено несколько крупных делеций, затрагивающих от одного до нескольких экзонов (Park et al., 2003; Hu H. et al., 2007; Pera et al., 2008; Anwar et al., 2009; Pique et al., 2014; Pang et al., 2015; Cirello et al., 2018; Lin et al., 2019; Tian et al., 2024). И хотя в большинстве исследований показано, что доля CNVs в *SLC26A4*-обусловленной потере слуха невысока и не превышает нескольких процентов, поиск CNVs рекомендуется как один из этапов диагностики у пациентов с неустановленным диагнозом, особенно в когортах пациентов, у которых найден только один *SLC26A4*-патогенный вариант (M1-пациенты).

В ходе изучения этиологии наследственной потери слуха у коренного населения Республики Тыва (Южная Сибирь) у существенной части тувинских пациентов (62/220, 28.2 %) были обнаружены биаллельные патогенные варианты гена *SLC26A4* в гомозиготном или компаунд-гетерозиготном состоянии (M2-пациенты), что позволило установить молекулярно-генетический диагноз «рецессивно наследуемая потеря слуха, обусловленная патогенными вариантами гена *SLC26A4*». Наряду с этим, у 13 пациентов был выявлен только один патогенный *SLC26A4*-вариант (M1-пациенты) (Danilchenko et al., 2021). Цель данной работы – поиск делеций/дупликаций в гене *SLC26A4* с применением метода MLPA в группе M1-пациентов, имеющих только один патогенный вариант этого гена.

Материалы и методы

Анализируемые выборки

MLPA-анализ был выполнен у 13 тувинских пациентов, у которых после проведения первичного анализа (Danilchenko et al., 2021) был выявлен только один рецессивный патогенный вариант гена *SLC26A4* (M1-пациенты). Скрининг варианта c.1185_1196dup, обнаруженного впервые, проводился в контрольной выборке здоровых индивидов без нарушений слуха, стратифицированной по этнической принадлежности (тувинцы) ($n = 129$).

Экспериментальные методы

Мультиплексная амплификация лигированных зондов (MLPA, Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification). Для поиска делеций/дупликаций в гене *SLC26A4* применялся метод MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) с использованием набора SALSA MLPA Probemix P280-B4 *SLC26A4* (MRC-Holland, Нидерланды), содержащего 24 зонда: 21 зонд для каждого экзона гена *SLC26A4* и 3 зонда для точковых мутаций: c.707T>C, IVS8+1G>A (c.1001+1G>A) и c.1246A>C. MLPA-анализ проводили согласно протоколу производителя. Полученные MLPA-продукты разделяли капиллярным электрофорезом на генном анализаторе 3130XL (Applied Biosystems, США). Анализ полученных данных проводили с помощью программного обеспечения Coffalyser.Net (<https://www.mrcholland.com/>).

Молекулярное клонирование. Для молекулярного клонирования в качестве матрицы были использованы образцы ДНК пациентов с новым вариантом c.1185_1196dup (экзон 10) гена *SLC26A4*. Амплификацию фрагментов ДНК, содержащих экзон 10, проводили с использованием специфичных праймеров 5'-ACCTCTAGAAGATGGTATGGCGT-3' и 5'-GCTAGGATCCGTGCGAGCCTTCCT-3', включающих на 5'-концах сайты узнавания эндонуклеаз рестрикции *XbaI* и *BamHI* соответственно. ПЦР-продукты и плазмидный вектор pUC18 обрабатывали эндонуклеазами рестрикции *XbaI* и *BamHI* (New England Biolabs, США) с последующей очисткой ПЦР-продуктов на магнитных частицах Agencourt Ampure XP (Beckman Coulter, США) и выделением вектора pUC18 из 1 % агарозного геля с использованием набора QIAEX II Gel Extraction Kit

(Qiagen, Нидерланды). Полученный ПЦР-продукт клонировали в подготовленный вектор pUC18 с использованием Т4 ДНК лигазы (СибЭнзим, Россия). Лигазную смесь очищали на колонках Cleanup S-Cap (Евроген, Россия), а затем использовали для трансформации *E. coli* XL1-blue методом электропорации. Для отбора рекомбинантных клонов, несущих целевой фрагмент ДНК, через 14–16 ч после трансформации проводили ПЦР-скрининг колоний с использованием праймеров 5'-GTGGAATTGTGAGCGGATAAC-3' и 5'-TCCCAGTCACGACGTTGTAAG-3'. Нуклеотидную последовательность вставки подтверждали секвенированием по методу Сэнгера.

Секвенирование по методу Сэнгера. Для амплификации и последующего секвенирования экзона 10 гена *SLC26A4* в образцах ДНК пациентов использовали праймеры 5'-GAGCAGATATAGCATTTGATGATGAGATG-3' и 5'-CTCGGTGCGAGCCTTCCT-3'. ПЦР-продукты очищали на магнитных частицах Agencourt Ampure XP с последующим проведением реакции секвенирования с использованием набора BigDye Terminator V.3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США). Продукты реакции Сэнгера очищали гель-фильтрацией на колонках с Sephadex G-50 medium (GE Healthcare, США) и анализировали на генетическом анализаторе ABI 3130XL (Applied Biosystems, США).

Скрининг нового варианта с.1185_1196dup в контрольной выборке. Амплификацию фрагмента экзона 10 гена *SLC26A4* в образцах ДНК индивидуумов из контрольной выборки проводили с использованием праймеров 5'-GACCTCTCTCAGATGGTATGGCGT-3' и 5'-CTCGGTGCGAGCCTTCCT-3'. ПЦР-продукты разделяли в 4 % агарозном геле (wt/wt – 395 п. н., с.1185_1196dup/wt – 395 и 407 п. н.).

Работы по генной инженерии проводили на базе Сектора клеточных технологий Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск). Секвенирование по методу Сэнгера и анализ продуктов МЛПА-анализа осуществляли в ЦКП «Геномика» (Институт химической биологии и фундаментальной медицины им. Д.Г. Кнорре СО РАН, Новосибирск).

Биоинформатический анализ

Биоинформатический анализ функционального эффекта нового варианта с.1185_1196dup на структуру и функцию белка пендрин проводили с помощью предсказательных программ: Mutation Taster2021 (<https://www.genecascade.org/MutationTaster2021/>) (Steinhaus et al., 2021), PROVEAN (<http://provean.jcvi.org>) (Choi Y. et al., 2012, 2015), SIFT (https://siftdata.org/www/SIFT_indels2.html) (Hu J. et al., 2013), VEST-Indel / CRAVAT (<https://cravat.us/CRAVAT/>) (Douville et al., 2015), MutPred-Indel (<https://mutpred2.mutdb.org/mutpredindel/>) (Pagel et al., 2019). Моделирование вторичной структуры белка пендрин проведено на биоинформатической платформе I-TASSER (<https://aideepmed.com/I-TASSER/>) (Zheng et al., 2021, 2026; Zhou et al., 2022). Визуализация структуры белка пендрин выполнена с помощью программы DeepView / Swiss-PdbViewer v4.1.0 (<http://www.expasy.org/spdbv/>) (Guex, Peitsch, 1997).

Результаты

Анализ гена *SLC26A4* методом МЛПА выполнен у 13 туvinских пациентов, у которых был найден только один рецессивный патогенный вариант этого гена (М1-пациенты). Метод МЛПА позволяет обнаруживать изменения числа копий (делеции и дупликации) в определенных регионах генома. У трех М1-пациентов было обнаружено сходное изменение копийности участка в районе экзона 10: соотношение с зондом 09251-L09442 из набора SALSA МЛПА Probemix P280-B4 *SLC26A4* составило ~ 0.5 (рис. 1, а). В дальнейшем, для детального изучения образцов ДНК этих пациентов, было проведено молекулярное клонирование фрагментов экзона 10 в плазмидный вектор pUC18 с последующим секвенированием по методу Сэнгера. Анализ нуклеотидной последовательности клонированных фрагментов выявил дупликацию 12 нуклеотидов AGGATTCTTCTC (с.1185_1196dup) на одном из аллелей (см. рис. 1, б).

Наблюдаемое при МЛПА-анализе изменение копийности в образцах с вариантом с.1185_1196dup по отношению к зонду 09251-L09442 отображается как гетерозиготная делеция (~0.5) (см. рис. 1, а). В состав зонда 09251-L09442 (184 п. н.) входят два олигонуклеотида 5'-TCTCAGGATTCT-3' и 5'-TCTCTTGTGTTT-3', непосредственно гибридизующихся с целевой последовательностью в гене *SLC26A4*, 5'- и 3'-концы которых находятся рядом друг с другом (TCTCAGGATTCT-TCTCTTGTGTTT), что необходимо для их последующего лигирования (см. рис. 1, в). Оказалось, что последовательность AGGATTCTTCTC, дублированная при варианте с.1185_1196dup, входит в состав зонда 09251-L09442 (см. рис. 1, в). При гетерозиготном состоянии варианта с.1185_1196dup сигнал от зонда детектируется только с аллеля дикого типа (wt), это связано с тем, что дупликация с.1185_1196dup приводит к увеличению расстояния между двумя частями зонда, что делает их дальнейшее лигирование и амплификацию невозможными. Отсутствие сигнала зонда с мутантного аллеля (с.1185_1196dup) отражается в снижении количества копий целевой последовательности до уровня 0.5, маскирующим фактическое наличие дупликации (см. рис. 1, а). Известно, что одним из ограничений применения метода МЛПА являются ситуации, когда какие-либо вариации в различных областях исследуемых генов локализованы непосредственно в последовательности зонда. Это препятствует гибридизации зондов и/или их дальнейшему лигированию, что приводит к ложноположительному изменению флуоресцентного сигнала и, соответственно, к некорректной интерпретации полученных результатов. В таких случаях рекомендуется продолжить исследования с использованием других методов (Schouten et al., 2002; Stuppia et al., 2012; Varga et al., 2012). В нашей работе при проведении МЛПА-анализа обнаружено три образца ДНК с нарушением копийности (~0.5) в области экзона 10 гена *SLC26A4*. Последующий детальный анализ с применением молекулярного клонирования и секвенирования позволил идентифицировать это нарушение как гетерозиготную дупликацию 12 нуклеотидов (с.1185_1196dup). Оказалось, что обнаруженный

Биоинформатическая оценка функционального эффекта нового варианта с.1185_1196dup гена *SLC26A4*

Предсказательные программы	Оценка потенциального эффекта (пороговое значение)	Литературный источник
Mutation Taster21 (https://www.genecascade.org/MutationTaster2021/)	Нейтральный / Benign	Steinhaus et al., 2021
PROVEAN (http://provean.jcvi.org)	Патогенный / Deleterious –10.34 (< –2.5)	Choi Y. et al., 2012, 2015
SIFT (https://siftb.org/www/SIFT_indels2.html)	Повреждающий / Damaging 0.826 (> 0)	Hu J. et al., 2013
VEST-indel (https://cravat.us/CRAVAT/)	Патогенный / Pathogenic 0.99 (pathogenic ≥ 0.5, benign < 0.5)	Douville et al., 2015
MutPred-Indel (https://mutpred2.mutdb.org/mutpredindel/)	Патогенный / Pathogenic 0.81601 (pathogenic ≥ 0.5, benign < 0.5)	Pagel et al., 2019

Для оценки потенциального функционального эффекта варианта с.1185_1196dup (p.(Gly396_Ser399dup)) на структуру и функцию белка пендрин использовали несколько биоинформатических предсказательных программ (см. таблицу). Их выбор обусловлен наличием алгоритмов, позволяющих оценивать последствия инделов (indels, инсерции/делеции), поскольку существующие инструменты прогнозирования в основном сосредоточены на изучении эффектов однонуклеотидных вариантов (SNVs, single-nucleotide variants). Большая часть из использованных нами программ предсказала повреждающий эффект варианта с.1185_1196dup на структуру и функции белка пендрин (см. таблицу).

Обсуждение

В результате MLPA-анализа у трех М1-пациентов из двух родственных тувинских семей найден новый вариант NM_000441.2: с.1185_1196dup – тандемная дупликация 12 нуклеотидов в экзоне 10 гена *SLC26A4*. Этот вариант можно отнести к классу инсерций, не вызывающих сдвиг рамки считывания (in-frame insertions), которая приводит к включению четырех дополнительных аминокислотных остатков Gly-Phe-Phe-Ser (p.(Gly396_Ser399dup)) в трансмембранном домене 9 (TM9) белка пендрин (см. рис. 1 и 2). Вариант с.1185_1196dup не обнаружен в контрольной выборке тувинцев (n = 129), а также не зарегистрирован ни в одной из мировых баз геномных данных (dbSNP, gnomAD, ClinVar).

В настоящее время общее количество всех известных вариаций в последовательности гена *SLC26A4* (21 экзон), занимающей около 57 т.п.о. геномной ДНК (GRCh38, NC_000007.14, 7:107,660,828-107,717,809), превышает 37000 (the Deafness Variation Database: <https://deafnessvariationdatabase.org/genes/SLC26A4>, май 2026 г.). Только около 6–7 % (~2500 вариантов) из них классифицировано, согласно современным рекомендациям (Richards et al., 2015), как «патогенный» / «вероятно патогенный» / «нейтральный» / «вероятно нейтральный», а статус остальных вариантов пока не определен. К категориям «патогенный» и «вероятно патогенный» отнесено более 800 вариантов, ассоциированных с широким фенотипическим спектром

проявлений нарушений слуховой функции. Значительную долю (~25 %) патогенных вариантов в кодирующих областях гена составляют небольшие (от одного до нескольких нуклеотидов) инсерции или делеции, приводящие к сдвигу рамки считывания (frameshift variants), образованию нового стоп-кодона и преждевременной терминации синтеза белка. Гораздо более редкими, обнаруженными только у единичных пациентов с потерей слуха, являются внутрирамочные инделы (in-frame insertions/deletions), не вызывающие сдвиг рамки считывания и приводящие к изменению длины белка пендрин (the Deafness Variation Database: <https://deafnessvariationdatabase.org/genes/SLC26A4>, май 2026 г.).

Белок пендрин, кодируемый геном *SLC26A4*, относится к большому семейству SLC26 (SLC26A1-11), опосредующих транспорт различных анионов. Точная молекулярная структура пендрина человека в настоящее время еще не определена, но изучена для белка пендрин и ряда других членов семейства SLC26 у некоторых млекопитающих, имеющих значительное сходство с пендрином человека (Walter et al., 2019; Liu et al., 2023; Takahashi, Homma, 2024; Wang et al., 2024). По современным представлениям, основанным на данных криоэлектронной микроскопии (cryo-EM) белка пендрин млекопитающих (*Mus musculus*, *Sus scrofa*) (Liu et al., 2023; Takahashi, Homma, 2024; Wang et al., 2024), пендрин человека является гомодимером, каждый протомер которого содержит 14 трансмембранных сегментов, представляющих собой α-спирали (TM1–TM14), за которыми следует С-концевой цитоплазматический домен, содержащий STAS-домен (the Sulfate Transporter and Anti-Sigma factor antagonist domain), функция которого пока не ясна полностью. Трансмембранная часть пендрина (TM1–TM14) принимает складчатую инвертированную структуру, образованную сегментами TM1–TM7 и TM8–TM14. Сегменты TM1–TM4 и TM8–TM11 формируют основной транспортный домен (core domain), который содержит два сайта связывания анионов и непосредственно отвечает за перенос субстратов. Сегменты TM5–TM7 и TM12–TM14 образуют меньший по размеру скаффолд-домен (scaffold domain, или gate domain), выполняющий структурную роль, поддерживая

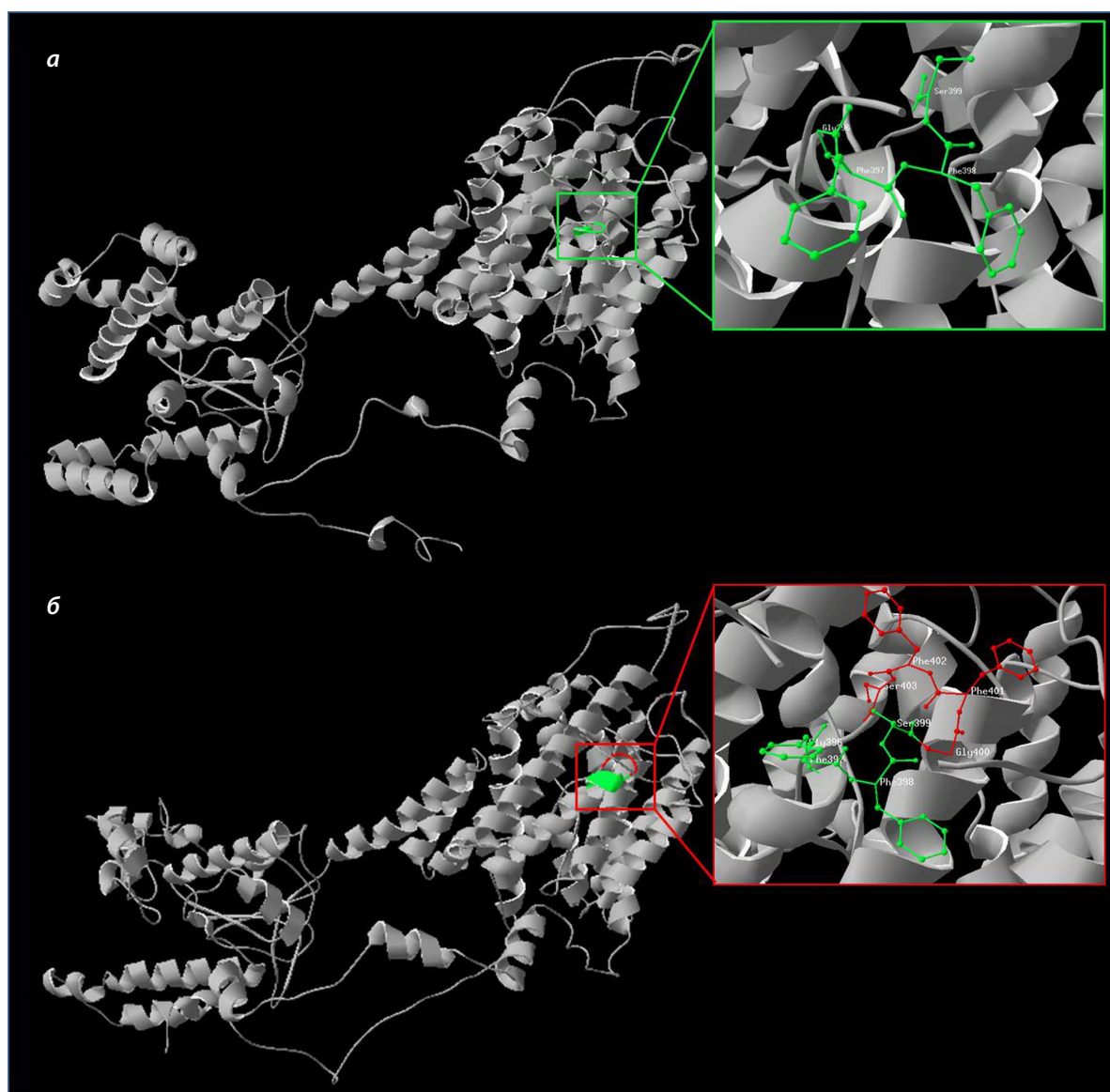


Рис. 2. Схематичное представление вторичной структуры белка пендрин и фрагментов его аминокислотной последовательности.

а – нормальная последовательность 396Gly-397Phe-398Phe-399Ser (показана зеленым цветом); *б* – дублированная последовательность Gly396_Ser399dup (показана красным цветом).

и координируя работу транспортного домена (см. детали в работах (Liu et al., 2023; Wang et al., 2024).

Инсерция четырех аминокислотных остатков в результате нового варианта c.1185_1196dup (p.(Gly396_Ser399dup)) происходит в трансмембранном сегменте TM9, занимающем центральное положение (аминокислотные позиции 385–405) в последовательности белка пендрин (780 аминокислотных остатков). TM9, а также следующие за ним трансмембранные сегменты, являются высококонсервативными районами белка (рис. 3), о консервативности которых свидетельствует также значительное число обнаруженных в этих районах патогенных или вероятно патогенных *SLC26A4*-вариантов, приводящих к замене аминокислотных остатков (the Deafness Variation Database:

<https://deafnessvariationdatabase.org/genes/SLC26A4>, май 2026 г.).

Таким образом, «сдвиг» аминокислотной последовательности в случае варианта p.(Gly396_Ser399dup), возникающий в трансмембранном сегменте TM9 и приводящий к увеличению длины белка пендрин с 780 до 784 аминокислотных остатков, вероятно, может изменять вторичную структуру белка, что влечет за собой нарушение или полную утрату функции транспорта анионов.

В отличие от инделов со сдвигом рамки считывания (frameshift indels), в результате которых обычно происходит преждевременное завершение трансляции и потеря функции белка, внутрирамочные инделы (in-frame indels) приводят к изменению длины белка, оставляя при этом

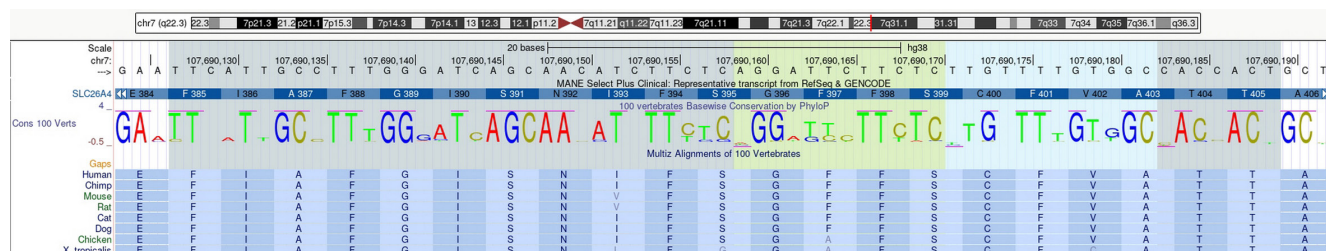


Рис. 3. Множественное выравнивание последовательности белка пендрин, выполненное в геномном браузере UCSC (<https://genome.ucsc.edu/>).

Последовательность TM9 (аминокислотные позиции 385–405, согласно UniProt: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/O43511/entry>) показана серым цветом. Нуклеотидная и аминокислотная последовательности «дикого типа» выделены зеленым цветом, место вставки дуплицированной последовательности в случае варианта с.1185_1196dup (p.(Gly396_Ser399dup)) – голубым цветом.

нижележащую аминокислотную последовательность незатронутой. Чем больше размер таких инделов и чем более эволюционно консервативны аминокислотные остатки в районе индела, тем более существенным может быть его негативный эффект на структуру и функции белка. Эффекты внутрирамочных инделов часто трудно предсказать, поскольку существующие биоинформатические прогностические инструменты, в основном, разработаны для оценки миссенс-вариантов, приводящих к замене аминокислотных остатков, хотя алгоритмы прогнозирования эффектов внутрирамочных инделов постоянно совершенствуются (Pagel et al., 2019; Cannon et al., 2023; Abderrazzaq et al., 2026). Согласно разработанным рекомендациям (Richards et al., 2015) для внутрирамочных инделов, приводящих к синтезу белка измененной длины, с учетом того, что инделы находятся в неповторяющихся консервативных районах белка, может быть применен умеренный критерий патогенности (PM4, pathogenicity moderate). Большая часть предсказательных программ, использованных при оценке нового варианта с.1185_1196dup (p.(Gly396_Ser399dup)), прогнозирует его повреждающее воздействие на структуру и функцию белка пендрина (см. таблицу). В пользу патогенности этого варианта свидетельствует также его сегрегация с потерей слуха у трех тувинских пациентов, у которых он был найден в компаунд-гетерозиготном состоянии с другими известными патогенными вариантами гена *SLC26A4* (см. рис. 1, д), а также его отсутствие в мировых базах геномных данных (dbSNP, gnomAD, ClinVar). Ограничением настоящей работы является отсутствие функциональных *in vitro* исследований для выяснения механизма потенциальных негативных эффектов варианта с.1185_1196dup (p.(Gly396_Ser399dup)) на структуру и функции белка пендрина. В дальнейшем мы планируем провести такие исследования на основе экспериментальных платформ, созданных с учетом трансмембранной локализации белка пендрина и его функционирования в качестве анионного транспортера.

Заключение

Постановка точного диагноза у пациентов с одним выявленным патогенным рецессивным аллелем гена *SLC26A4* (M1-пациенты) связана с определенными трудностями.

Стандартные методы молекулярно-генетической диагностики не всегда позволяют обнаружить все вариации в последовательности этого гена. Применение метода MLPA для повторного анализа гена *SLC26A4* у 13 M1-пациентов позволило выявить у трех из них не описанный ранее вариант с.1185_1196dup, представляющий собой внутрирамочную инсерцию 12 нуклеотидов, приводящую к включению четырех дополнительных аминокислотных остатков Gly-Phe-Phe-Ser (p.(Gly396_Ser399dup)) в высококонсервативном районе белка пендрина. Совокупность полученных данных о новом варианте с.1185_1196dup, включая его сегрегацию с потерей слуха, согласованные прогностические оценки, полученные с помощью различных биоинформатических инструментов, и отсутствие в мировых базах данных, свидетельствует в пользу его вероятной патогенности. Тем не менее для подтверждения потенциально негативного эффекта нового варианта с.1185_1196dup (p.(Gly396_Ser399dup)) необходимы функциональные *in vitro* исследования.

Список литературы / References

- Abderrazzaq H., Singh M., Babb L., Bergquist T., Brenner S.E., Pejaver V., O'Donnell-Luria A., Radivojac P., ClinGen Computational Working Group and ClinGen Variant Classification Working Group. Calibration of in-frame indel variant effect predictors for clinical variant classification. *bioRxiv* [Preprint]. 2026. doi 10.64898/2026.04.15.718599
- Albert S., Blons H., Jonard L., Feldmann D., Chauvin P., Loundon N., Sergeant-Allaoui A., ... Petit C., Garabédian E.N., Couderc R., Marlin S., Denoyelle F. *SLC26A4* gene is frequently involved in non-syndromic hearing impairment with enlarged vestibular aqueduct in Caucasian populations. *Eur J Hum Genet.* 2006;14(6):773-779. doi 10.1038/sj.ejhg.5201611
- Anwar S., Riazuddin S., Ahmed Z.M., Tasneem S., Ateeq-ul-Jaleel, Khan S.Y., Griffith A.J., Friedman T.B., Riazuddin S. *SLC26A4* mutation spectrum associated with DFNB4 deafness and Pendred's syndrome in Pakistanis. *J Hum Genet.* 2009;54(5):266-270. doi 10.1038/jhg.2009.21
- Azaiez H., Yang T., Prasad S., Sorensen J.L., Nishimura C.J., Kimberling W.J., Smith R.J. Genotype-phenotype correlations for *SLC26A4*-related deafness. *Hum Genet.* 2007;122(5):451-457. doi 10.1007/s00439-007-0415-2
- Cannon S., Williams M., Gunning A.C., Wright C.F. Evaluation of *in silico* pathogenicity prediction tools for the classification of small in-frame indels. *BMC Med Genomics.* 2023;16(1):36. doi 10.1186/s12920-023-01454-6

- Chao J.R., Chattaraj P., Munjal T., Honda K., King K.A., Zalewski C.K., Chien W.W., Brewer C.C., Griffith A.J. *SLC26A4*-linked CEVA haplotype correlates with phenotype in patients with enlargement of the vestibular aqueduct. *BMC Med Genet.* 2019;20(1):118. doi 10.1186/s12881-019-0853-4
- Chattaraj P., Reimold F.R., Muskett J.A., Shmukler B.E., Chien W.W., Madeo A.C., Pryor S.P., Zalewski C.K., Butman J.A., Brewer C.C., Kenna M.A., Alper S.L., Griffith A.J. Use of *SLC26A4* mutation testing for unilateral enlargement of the vestibular aqueduct. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg.* 2013;139(9):907-913. doi 10.1001/jamaoto.2013.4185
- Chattaraj P., Munjal T., Honda K., Rendtorff N.D., Ratay J.S., Muskett J.A., Rizzo D.S., Roux I., Gertz E.M., Schäffer A.A., Friedman T.B., Morell R.J., Tranebjærg L., Griffith A.J. A common *SLC26A4*-linked haplotype underlying non-syndromic hearing loss with enlargement of the vestibular aqueduct. *J Med Genet.* 2017; 54(10):665-673. doi 10.1136/jmedgenet-2017-104721
- Choi B.Y., Madeo A.C., King K.A., Zalewski C.K., Pryor S.P., Muskett J.A., Nance W.E., Butman J.A., Brewer C.C., Griffith A.J. Segregation of enlarged vestibular aqueducts in families with non-diagnostic *SLC26A4* genotypes. *J Med Genet.* 2009;46(12):856-861. doi 10.1136/jmg.2009.067892
- Choi Y., Sims G.E., Murphy S., Miller J.R., Chan A.P. Predicting the functional effect of amino acid substitutions and indels. *PLoS One.* 2012;7(10):e46688. doi 10.1371/journal.pone.0046688
- Choi Y., Chan A.P. PROVEAN web server: a tool to predict the functional effect of amino acid substitutions and indels. *Bioinformatics.* 2015;31(16):2745-2747. doi 10.1093/bioinformatics/btv195
- Cirello V., Giorgini V., Castronovo C., Marelli S., Mainini E., Sironi A., Recalcati M.P., Pessina M., Giardino D., Larizza L., Persani L., Finelli P., Russo S., Fugazzola L. Segmental maternal UPD of chromosome 7q in a patient with Pendred and Silver Russell syndromes-like features. *Front Genet.* 2018;9:600. doi 10.3389/fgene.2018.00600
- Danilchenko V.Y., Zytsar M.V., Maslova E.A., Bady-Khoo M.S., Barashkov N.A., Morozov I.V., Bondar A.A., Posukh O.L. Different rates of the *SLC26A4*-related hearing loss in two indigenous peoples of Southern Siberia (Russia). *Diagnostics (Basel).* 2021;11(12): 2378. doi 10.3390/diagnostics11122378
- Del Castillo F.J., Del Castillo I. DFNB1 non-syndromic hearing impairment: Diversity of mutations and associated phenotypes. *Front Mol Neurosci.* 2017;10:428. doi 10.3389/fnmol.2017.00428
- Douville C., Masica D.L., Stenson P.D., Cooper D.N., Gygax D.M., Kim R., Ryan M., Karchin R. Assessing the pathogenicity of insertion and deletion variants with the variant effect scoring tool (VEST-indel). *Hum Mutat.* 2015;37(1):28-35. doi 10.1002/humu.22911
- Du W., Guo Y., Wang C., Wang Y., Liu X. A systematic review and meta-analysis of common mutations of *SLC26A4* gene in Asian populations. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2013;77(10):1670-1676. doi 10.1016/j.ijporl.2013.07.023
- Everett L.A., Glaser B., Beck J.C., Idol J.R., Buchs A., Heyman M., Adawi F., Hazani E., Nassir E., Baxevanis A.D., Sheffield V.C., Green E.D. Pendred syndrome is caused by mutations in a putative sulphate transporter gene (PDS). *Nat Genet.* 1997;17(4):411-422. doi 10.1038/ng1297-411
- Griffith A.J., Wangemann P. Hearing loss associated with enlargement of the vestibular aqueduct: mechanistic insights from clinical phenotypes, genotypes, and mouse models. *Hear Res.* 2011;281(1-2): 11-17. doi 10.1016/j.heares.2011.05.009
- Guex N., Peitsch M.C. SWISS-MODEL and the Swiss-PdbViewer: an environment for comparative protein modeling. *Electrophoresis.* 1997;18(15):2714-2723. doi 10.1002/elps.1150181505
- Honda K., Griffith A.J. Genetic architecture and phenotypic landscape of *SLC26A4*-related hearing loss. *Hum Genet.* 2022;141(3-4):455-464. doi 10.1007/s00439-021-02311-1
- Hu H., Wu L., Feng Y., Pan Q., Long Z., Li J., Dai H., Xia K., Liang D., Niikawa N., Xia J. Molecular analysis of hearing loss associated with enlarged vestibular aqueduct in the mainland Chinese: a unique *SLC26A4* mutation spectrum. *J Hum Genet.* 2007;52(6):492-497. doi 10.1007/s10038-007-0139-0
- Hu J., Ng P.C. SIFT Indel: predictions for the functional effects of amino acid insertions/deletions in proteins. *PLoS One.* 2013;8(10): e77940. doi 10.1371/journal.pone.0077940
- Koohiyan M. A systematic review of *SLC26A4* mutations causing hearing loss in the Iranian population. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2019;125:1-5. doi 10.1016/j.ijporl.2019.06.012
- Lee Y.H., Tsai C.Y., Lu Y.S., Lin P.H., Chiang Y.T., Yang T.H., Hsu J.S., Hsu C.J., Chen P.L., Liu T.C., Wu C.C. Revisiting genetic epidemiology with a refined targeted gene panel for hereditary hearing impairment in the Taiwanese population. *Genes (Basel).* 2023;14(4):880. doi 10.3390/genes14040880
- Lin Y.H., Wu C.C., Lin Y.H., Lu Y.C., Chen C.S., Liu T.C., Chen P.L., Hsu C.J. Targeted next-generation sequencing facilitates genetic diagnosis and provides novel pathogenetic insights into deafness with enlarged vestibular aqueduct. *J Mol Diagn.* 2019;21(1):138-148. doi 10.1016/j.jmoldx.2018.08.007
- Liu Q., Zhang X., Huang H., Chen Y., Wang F., Hao A., Zhan W., ... Li G.L., Zhang W., Shu Y., Sun L., Chen Z. Asymmetric pendrin homodimer reveals its molecular mechanism as anion exchanger. *Nat Commun.* 2023;14(1):3012. doi 10.1038/s41467-023-38303-0
- Mey K., Muhamad A.A., Tranebjærg L., Rendtorff N.D., Rasmussen S.H., Bille M., Cayé-Thomasen P. Association of *SLC26A4* mutations, morphology, and hearing in pendred syndrome and NSEVA. *Laryngoscope.* 2019;129(11):2574-2579. doi 10.1002/lary.27319
- Mount D.B., Romero M.F. The SLC26 gene family of multifunctional anion exchangers. *Pflugers Arch.* 2004;447(5):710-721. doi 10.1007/s00424-003-1090-3
- Page K.A., Antaki D., Lian A., Mort M., Cooper D.N., Sebat J., Iakoucheva L.M., Mooney S.D., Radivojac P. Pathogenicity and functional impact of non-frameshifting insertion/deletion variation in the human genome. *PLoS Comput Biol.* 2019;15(6):e1007112. doi 10.1371/journal.pcbi.1007112
- Pang X., Chai Y., He L., Chen P., Wang X., Li L., Jia H., Wu H., Yang T. A 7666-bp genomic deletion is frequent in Chinese Han deaf patients with non-syndromic enlarged vestibular aqueduct but without biallelic *SLC26A4* mutations. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2015; 79(12):2248-2252. doi 10.1016/j.ijporl.2015.10.015
- Park H.J., Shaukat S., Liu X.Z., Hahn S.H., Naz S., Ghosh M., Kim H.N., ... Usami S.I., Nance W.E., Wilcox E.R., Riazuddin S., Griffith A.J. Origins and frequencies of *SLC26A4* (PDS) mutations in east and south Asians: global implications for the epidemiology of deafness. *J Med Genet.* 2003;40(4):242-248. doi 10.1136/jmg.40.4.242
- Pera A., Villamar M., Viñuela A., Gandía M., Medà C., Moreno F., Hernández-Chico C. A mutational analysis of the *SLC26A4* gene in Spanish hearing-impaired families provides new insights into the genetic causes of Pendred syndrome and DFNB4 hearing loss. *Eur J Hum Genet.* 2008;16(8):888-896. doi 10.1038/ejhg.2008.30
- Pique L.M., Brennan M.L., Davidson C.J., Schaefer F., Greinwald J. Jr., Schrijver I. Mutation analysis of the *SLC26A4*, *FOXI1* and *KCNJ10* genes in individuals with congenital hearing loss. *PeerJ.* 2014;2: e384. doi 10.7717/peerj.384
- Rentas S., Abou Tayoun A. Utility of droplet digital PCR and NGS-based CNV clinical assays in hearing loss diagnostics: current status and future prospects. *Expert Rev Mol Diagn.* 2021;21(2):213-221. doi 10.1080/14737159.2021.1887731
- Richards S., Aziz N., Bale S., Bick D., Das S., Gastier-Foster J., Grody W.W., Hegde M., Lyon E., Spector E., Voelkerding K., Rehm H.L.; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015;17(5):405-424. doi 10.1038/gim.2015.30
- Roesch S., Rasp G., Sarikas A., Dossena S. Genetic determinants of non-syndromic enlarged vestibular aqueduct: A review. *Audiol Res.* 2021;11(3):423-442. doi 10.3390/audiolres11030040

- Rose J., Muskett J.A., King K.A., Zalewski C.K., Chattaraj P., Butman J.A., Kenna M.A., Chien W.W., Brewer C.C., Griffith A.J. Hearing loss associated with enlarged vestibular aqueduct and zero or one mutant allele of *SLC26A4*. *Laryngoscope*. 2017;127(7):E238-E243. doi 10.1002/lary.26418
- Royer-Bertrand B., Cisarova K., Niel-Buttschi F., Mittaz-Crettol L., Fodstad H., Superti-Furga A. CNV detection from exome sequencing data in routine diagnostics of rare genetic disorders: opportunities and limitations. *Genes (Basel)*. 2021;12(9):1427. doi 10.3390/genes12091427
- Schouten J.P., McElgunn C.J., Waaijer R., Zwiijnenburg D., Diepvens F., Pals G. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Res*. 2002;30(12):e57. doi 10.1093/nar/gnf056
- Shearer A.E., Kolbe D.L., Azaiez H., Sloan C.M., Frees K.L., Weaver A.E., Clark E.T., Nishimura C.J., Black-Ziegelbein E.A., Smith R.J. Copy number variants are a common cause of non-syndromic hearing loss. *Genome Med*. 2014;6(5):37. doi 10.1186/gm554
- Smits J.J., de Bruijn S.E., Lanting C.P., Oostrik J., O'Gorman L., Mantere T.; DOOFNL Consortium; ... Hoischen A., Pegge S.A.H., Neveling K., Pennings R.J.E., Kremer H. Exploring the missing heritability in subjects with hearing loss, enlarged vestibular aqueducts, and a single or no pathogenic *SLC26A4* variant. *Hum Genet*. 2022; 141(3-4):465-484. doi 10.1007/s00439-021-02336-6
- Stankiewicz P., Lupski J.R. Structural variation in the human genome and its role in disease. *Annu Rev Med*. 2010;61:437-455. doi 10.1146/annurev-med-100708-204735
- Steinhaus R., Proft S., Schuelke M., Cooper D.N., Schwarz J.M., Seelow D. MutationTaster2021. *Nucleic Acids Res*. 2021;49(W1): W446-W451. doi 10.1093/nar/gkab266
- Stuppia L., Antonucci I., Palka G., Gatta V. Use of the MLPA assay in the molecular diagnosis of gene copy number alterations in human genetic diseases. *Int J Mol Sci*. 2012;13(3):3245-3276. doi 10.3390/ijms13033245
- Takahashi S., Homma K. The molecular principles underlying diverse functions of the SLC26 family of proteins. *J Biol Chem*. 2024; 300(5):107261. doi 10.1016/j.jbc.2024.107261
- Tesolin P., Fiorino S., Lenarduzzi S., Rubinato E., Cattaruzzi E., Ammar L., Castro V., Orzan E., Granata C., Dell'Orco D., Morgan A., Giroto G. Pendred syndrome, or not Pendred syndrome? That is the question. *Genes (Basel)*. 2021;12(10):1569. doi 10.3390/genes12101569
- Tian Y., Liu M., Lu Y., Zhao X., Yan Z., Sun Y., Ma J., Tang W., Wang H., Xu H. Exonic deletions and deep intronic variants of the *SLC26A4* gene contribute to the genetic diagnosis of unsolved patients with enlarged vestibular aqueduct. *Hum Mutat*. 2024;2024:8444122. doi 10.1155/2024/8444122
- Tsukada K., Nishio S.Y., Hattori M., Usami S. Ethnic-specific spectrum of *GJB2* and *SLC26A4* mutations: their origin and a literature review. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2015;124(Suppl. 1):61S-76S. doi 10.1177/0003489415575060
- Varga R.E., Mumtaz R., Jahic A., Rudenskaya G.E., Sánchez-Ferreiro E., Auer-Grumbach M., Hübner C.A., Beetz C. MLPA-based evidence for sequence gain: pitfalls in confirmation and necessity for exclusion of false positives. *Anal Biochem*. 2012;421(2):799-801. doi 10.1016/j.ab.2011.12.002
- Walter J.D., Sawicka M., Dutzler R. Cryo-EM structures and functional characterization of murine *Slc26a9* reveal mechanism of uncoupled chloride transport. *eLife*. 2019;8:e46986. doi 10.7554/eLife.46986
- Wang L., Hoang A., Gil-Iturbe E., Laganowsky A., Quick M., Zhou M. Mechanism of anion exchange and small-molecule inhibition of pendrin. *Nat Commun*. 2024;15(1):346. doi 10.1038/s41467-023-44612-1
- Wangemann P., Nakaya K., Wu T., Maganti R.J., Itza E.M., San-neman J.D., Harbidge D.G., Billings S., Marcus D.C. Loss of cochlear HCO₃⁻ secretion causes deafness via endolymphatic acidification and inhibition of Ca²⁺ reabsorption in a Pendred syndrome mouse model. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2007;292(5):F1345-F1353. doi 10.1152/ajprenal.00487.2006
- Yang T., Vidarsson H., Rodrigo-Blomqvist S., Rosengren S.S., Enerback S., Smith R.J. Transcriptional control of *SLC26A4* is involved in Pendred syndrome and nonsyndromic enlargement of vestibular aqueduct (*DFNB4*). *Am J Hum Genet*. 2007;80(6):1055-1063. doi 10.1086/518314
- Yang T., Gurrola J.G. II, Wu H., Chiu S.M., Wangemann P., Snyder P.M., Smith R.J. Mutations of *KCNJ10* together with mutations of *SLC26A4* cause digenic nonsyndromic hearing loss associated with enlarged vestibular aqueduct syndrome. *Am J Hum Genet*. 2009;84(5):651-657. doi 10.1016/j.ajhg.2009.04.014
- Yuan Y., You Y., Huang D., Cui J., Wang Y., Wang Q., Yu F., Kang D., Yuan H., Han D., Dai P. Comprehensive molecular etiology analysis of nonsyndromic hearing impairment from typical areas in China. *J Transl Med*. 2009;7:79. doi 10.1186/1479-5876-7-79
- Zhang F., Gu W., Hurles M.E., Lupski J.R. Copy number variation in human health, disease, and evolution. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2009;10:451-481. doi 10.1146/annurev.genom.9.081307.164217
- Zheng W., Zhang C., Li Y., Pearce R., Bell E.W., Zhang Y. Folding non-homologous proteins by coupling deep-learning contact maps with I-TASSER assembly simulations. *Cell Rep Methods*. 2021;1(3): 100014. doi 10.1016/j.crmeth.2021.100014
- Zheng W., Wuyun Q., Li Y., Liu Q., Zhou X., Peng C., Zhu Y., Freddolino L., Zhang Y. Deep-learning-based single-domain and multidomain protein structure prediction with D-I-TASSER. *Nat Biotechnol*. 2026;44(4):641-653. doi 10.1038/s41587-025-02654-4
- Zhou X., Zheng W., Li Y., Pearce R., Zhang C., Bell E.W., Zhang G., Zhang Y. I-TASSER-MTD: a deep-learning-based platform for multi-domain protein structure and function prediction. *Nat Protoc*. 2022;17(10):2326-2353. doi 10.1038/s41596-022-00728

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 27.05.2026. После доработки 08.07.2026. Принята к публикации 14.07.2026.

doi 10.18699/vjgb-26-83

The *APOE* ϵ 2 allele is associated with risk of neovascular age-related macular degeneration in a Russian cohort

O.S. Kozhevnikova ¹, I.F. Nikulich ^{2, 3}, A.S. Derbeneva ^{2, 3}, V.A. Devyatkin ¹, N.G. Kolosova ¹, A.Zh. Fursova ^{1, 2, 3} 

¹ Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

² State Novosibirsk Regional Clinical Hospital, Novosibirsk, Russia

³ Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

 anzhellafursova@yandex.ru

Abstract. Age-related macular degeneration (AMD) is a progressive disease that leads to blindness and is the cause of visual impairment in an aging population. Apolipoprotein E (ApoE) is one of the key proteins in lipoprotein metabolism. ApoE is expressed in the retina and is found in drusen in AMD patients. ApoE isoforms are significant genetic determinants of AMD risk ($\epsilon 2 > \epsilon 3 > \epsilon 4$), wherein the effects of *APOE* alleles vary by ethnic group. *APOE* genotype may also influence response to treatment. Here we examine the effect of *APOE* alleles on the risk of neovascular AMD and response to anti-VEGF treatment in patients from the population of Western Siberia. Genotyping of the rs429358 and rs7412 polymorphisms of the *APOE* gene was carried out in patients with neovascular AMD ($n = 315$) and the control group ($n = 317$) using allele-specific PCR. To assess the association of *APOE* alleles with treatment response, 275 patients were categorized into three groups of treatment response (good, weak, no response) after three loading injections of aflibercept. We revealed a significant association between the $\epsilon 2$ allele and neovascular AMD: carriers of $\epsilon 2$ had a 1.5-fold higher risk of AMD compared with carriers of other allelic variants (OR = 1.536; 95% CI: 1.075–2.195). The results indicate a moderate association of the $\epsilon 2$ allele with the development of neovascular AMD in the Russian population. However, no association was found between *APOE* genotype and short-term response to anti-VEGF therapy.

Key words: age-related macular degeneration; *APOE*; rs429358; rs7412; response to anti-VEGF

For citation: Kozhevnikova O.S., Nikulich I.F., Derbeneva A.S., Devyatkin V.A., Kolosova N.G., Fursova A.Zh. The *APOE* $\epsilon 2$ allele is associated with risk of neovascular age-related macular degeneration in a Russian cohort. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov J Genet Breed.* 2026;30(5):824-829. doi 10.18699/vjgb-26-83

Funding. This work was supported by Russian Science Foundation grant No. 26-25-20004.

Аллель *APOE* $\epsilon 2$ ассоциирован в российской когорте с риском неоваскулярной возрастной макулярной дегенерации

О.С. Кожевникова ¹, И.Ф. Никулич ^{2, 3}, А.С. Дербенёва ^{2, 3}, В.А. Девяткин ¹, Н.Г. Колосова ¹, А.Ж. Фурсова ^{1, 2, 3} 

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Государственная Новосибирская областная клиническая больница, Новосибирск, Россия

³ Новосибирский государственный медицинский университет, Новосибирск, Россия

 anzhellafursova@yandex.ru

Аннотация. Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) – прогрессирующее нейродегенеративное заболевание сетчатки, которое становится основной причиной снижения и потери зрения людьми старшего возраста. Аполипопротеин Е (АпоЕ) – один из ключевых белков липидного метаболизма, который экспрессируется в сетчатке и обнаруживается в друзах у пациентов с ВМД. Изоформы АпоЕ являются значимыми генетическими детерминантами риска ВМД ($\epsilon 2 > \epsilon 3 > \epsilon 4$), при этом эффекты аллелей *APOE* различаются в зависимости от этнической группы. Генотип *APOE* также может влиять на ответ на лечение. В данном исследовании мы оценили влияние аллелей *APOE* на риск неоваскулярной ВМД и ответ на анти-VEGF-терапию у пациентов из населения Западной Сибири. Генотипирование полиморфизмов rs429358 и rs7412 гена *APOE* проведено у пациентов с неоваскулярной ВМД ($n = 315$) и в контрольной группе ($n = 317$) с использованием аллель-специфической ПЦР. Для оценки связи аллелей *APOE* с ответом на лечение 275 пациентов были разделены на три группы по степени ответа на лечение (хороший, слабый, отсутствие ответа) после трех нагрузочных инъекций афлиберцепта. Мы выявили значимую ассоциацию между аллелем $\epsilon 2$ и неоваскулярной ВМД: у носителей $\epsilon 2$ риск развития ВМД был в 1.5 раза выше по сравнению с носителями других аллельных вариантов (ОШ = 1.536; 95 % ДИ: 1.075–2.195). Результаты указывают на умеренную связь аллеля $\epsilon 2$ с развитием неоваскулярной ВМД в российской популяции. Однако не обнаружено ассоциации между генотипами *APOE* и краткосрочным ответом на анти-VEGF-терапию.

Ключевые слова: возрастная макулярная дегенерация; *APOE*; rs429358; rs7412; ответ на анти-VEGF-терапию

Introduction

Age-related macular degeneration (AMD) is a progressive multifactorial blinding disease, representing the leading cause of visual impairment in an aging population. AMD is characterized by atrophy of the retinal pigment epithelium (RPE), accumulation of drusen, inflammation, and photoreceptor loss in the macular region of the eye. Genetic susceptibility, along with age and lifestyle, constitute the primary risk factor of AMD, and can influence the disease phenotype and treatment outcome. Among multiple genes and/or single nucleotide polymorphisms (SNPs) associated with AMD, genome-wide association studies have identified lipid metabolism pathway genes, contributions of rare and common variants of which are highlighted in a large genome-wide association study (Fritsche et al., 2016; Fernández-Vega et al., 2020).

Accordingly, numerous data confirm the involvement of lipid metabolism violations in the pathogenesis of AMD including: (1) drusen, the hallmark histopathologic feature of AMD, are composed of lipids; (2) polymorphisms of genes involved in lipid homeostasis are associated with increased odds of AMD; (3) metabolomics studies show that patients with AMD have alterations in metabolites from lipid pathways, and (4) alterations in serum lipid profiles as a reflection of systemic dyslipidemia are associated with AMD (Lin et al., 2022). Apolipoprotein E (ApoE) is a transport protein of lipid and cholesterol, playing a pivotal role in lipid metabolism in the peripheral circulation, in the brain and in the re-innervation process following nervous system injury. ApoE has the ability to bind to membrane receptors, mediating lipid transfer between circulating lipoproteins and tissues. Additionally, ApoE nonspecifically binds to lipophilic inflammatory components, contributing to their clearance and participating in the innate immune response (Huebbe, Rimbach, 2017).

Three major isoforms are known to exist in the ApoE protein. ApoE2, ApoE3, and ApoE4 are the products of three alleles ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$, and $\epsilon 4$) at a single gene locus defined by two SNPs (rs429358 and rs7412): ApoE3 has cysteine in position 112, and arginine, in position 158, ApoE2 has cysteine in both positions, and ApoE4 has arginine in both positions (Arg112, Cys158 configuration is extremely rare). There are six genotypes in the general population: three homozygous (*APOE* $\epsilon 2/\epsilon 2$, *APOE* $\epsilon 3/\epsilon 3$, and *APOE* $\epsilon 4/\epsilon 4$) and three heterozygous (*APOE* $\epsilon 2/\epsilon 3$, *APOE* $\epsilon 2/\epsilon 4$, and *APOE* $\epsilon 3/\epsilon 4$). The $\epsilon 3$ allele is the most common and is found in 77 % of the general population. Meanwhile, the $\epsilon 2$ allele is found in 8 % of the general population, and the $\epsilon 4$ allele is found in 15 % of the general population. However, the frequency of *APOE* alleles varies between different ethnic groups (Chan et al., 2023).

The *APOE* gene is a major genetic risk factor for development of both AMD and late-onset Alzheimer's disease (AD) – the leading cause of dementia in the elderly. Despite the different clinical manifestations of these diseases, growing evidence suggests that they share common pathways in their pathogenesis including inflammation, oxidative stress, and impaired autophagy. It is also worth noting that ApoE is a ubiquitous component of drusen, a hallmark of early AMD, and abundantly present in amyloid plaques in the AD brain

(Wisniewski, Drummond, 2020). There are many data indicating that ApoE variants that have a protective association against AD are also associated with a simultaneous high risk of AMD. Therefore, it is known that the $\epsilon 4$ allele reduces the risk of AMD and at the same time is the major risk factor for AD. On the contrary, individuals with the $\epsilon 2$ allele have a higher risk of AMD but a reduced risk of AD (Liuska et al., 2023).

There are, however, conflicting results. Recently, Fernández-Vega et al. (2020) described a protective role the *APOE* $\epsilon 2$ allele has against wet AMD in the Northern Spanish population. A meta-analysis integrating several recent large-sample studies to verify the effect of *APOE* polymorphisms on AMD subtypes revealed a significantly protective role of $\epsilon 4$ on each subtype of AMD, but no supportive evidence of the association of $\epsilon 2$ with AMD (Xiying et al., 2017). On the contrary, according to the data of Gupta and Chawla (2025), the *APOE* $\epsilon 4$ allele may be a risk factor for AMD in the Indian population. At the same time in a large, longitudinal cohort of more than 100 000 Europeans, Rasmussen et al. (2023) revealed that the $\epsilon 2$ allele has an effect on AMD and confirmed an increased risk of AMD in people with this genotype. No evidence was received to support an association of *APOE* gene polymorphisms with early or exudative AMD in the Chinese (Sun et al., 2011) and Brazilian populations (Viturino et al., 2021). According to data of Adams et al. (2012), in the Australian population, associations of $\epsilon 2\epsilon 2$ and $\epsilon 2\epsilon 4$ with early AMD varied by smoking status.

These results demonstrate the importance of potential modifiers of association between *APOE* polymorphism and AMD and highlight its significant effects on this association that should be taken into account in further studies. Thus, the association of the $\epsilon 2$ allele with AMD is controversial, and their roles in different subtypes of the disease need to be properly explored in different populations for a better understanding of AMD pathophysiology. Our goal was to study the effect of *APOE* alleles on the risk of developing AMD and response to anti-VEGF treatment in patients of Russian ethnicity from the Western Siberian population.

Materials and methods

Study population and ethical approval. This study was conducted at the Ophthalmology Department of the Novosibirsk Regional Clinical Hospital (clinical assessment) and the Institute of Cytology and Genetics, SB RAS (genetic analysis). The study was performed in accordance with the tenets of the Declaration of Helsinki and was approved by the local Ethics Committee. All participants provided written informed consent.

The study included 315 patients diagnosed with neovascular age-related macular degeneration (nAMD) and a control group of 317 individuals without AMD. Inclusion criteria for the nAMD group were: age over 50 years, a diagnosis of nAMD with active macular neovascularization confirmed by the presence of subretinal and/or intraretinal fluid on optical coherence tomography (OCT), and provision of informed consent. A subgroup of 275 treatment-naïve patients was selected for the anti-VEGF therapy response analysis. Exclu-

Table 1. The frequency of genotypes and alleles of the *APOE* gene in the nAMD and control groups

Group	Genotypes						Alleles		
	$\epsilon 2/\epsilon 2$	$\epsilon 2/\epsilon 3$	$\epsilon 2/\epsilon 4$	$\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 3/\epsilon 4$	$\epsilon 4/\epsilon 4$	$\epsilon 2$	$\epsilon 3$	$\epsilon 4$
nAMD									
<i>n</i>	8	60	7	199	38	3	83	496	51
%	2.94	22.06	2.57	73.16	13.97	1.10	0.13	0.79	0.08
Control									
<i>n</i>	4	43	6	225	36	3	57	529	48
%	1.59	17.13	2.39	89.64	14.34	1.20	0.09	0.83	0.08

sion criteria were: a history of laser coagulation, previous intravitreal pharmacotherapy, geographic atrophy, signs of intraocular inflammation, or any prior vitreoretinal surgery.

The control group consisted of individuals over 50 years of age with no clinical signs of AMD (e. g., soft or hard drusen, geographic atrophy, RPE detachment, macular fibrosis, or pigmentary abnormalities). Patients with senile cataract were included in the control group.

Clinical examination and anti-VEGF treatment protocol. Peripheral blood samples were collected from all participants in the morning after fasting into EDTA-containing vacuum tubes. Patients in the therapy subgroup (*n* = 275) received three loading doses of aflibercept (0.5 mg/0.05 mL) administered intravitreally at 4-week intervals. Injections were performed under topical epibulbar anesthesia (Alcaine) using a 27-gauge needle inserted at least 3 mm from the limbus. Treatment efficacy was assessed through clinical and instrumental examination before the initiation of therapy and after the third loading dose. This included: best-corrected visual acuity (BCVA) measured using an ETDRS (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study) chart, central retinal thickness (CRT) measured by optical coherence tomography (OCT). The treatment response was classified by clinicians at the Novosibirsk Regional Clinical Hospital as optimal (good), partial (weak), or no response, based on the dynamics of BCVA and CRT changes, approximating the criteria proposed by Amoaku et al. (2015).

DNA extraction and *APOE* genotyping. Genomic DNA was isolated from whole blood using a diaGene (Russia) DNA extraction kit according to the manufacturer’s protocol. DNA samples were diluted to a concentration of 8 ng/ μ L and stored at -20°C . *APOE* genotyping for the rs429358 and rs7412 polymorphisms was performed using the allele-specific PCR with the TaqMan probes method described by Zhong et al. (2016). The genotyping assay comprised three separate reactions to identify the $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, and $\epsilon 4$ alleles. Each 25 μ L PCR reaction mixture contained: 12.5 μ L of 2 $\times$ BioMaster HS-qPCR mix (Biolabmix, Russia), containing HS-Taq DNA polymerase, dNTPs, PCR buffer, and Mg^{2+} , 0.5 μ g of each forward and reverse *APOE* primer, *APOE* TaqMan probe, genomic DNA template, water to a final volume of 25 μ L. The amplification protocol was as follows: initial polymerase activation at 95°C for 5 min, 40 cycles of denaturation at 95°C for 15 s, and annealing/extension at 64°C for 1 min.

Statistical analysis was performed using StatTech v. 4.0.6 (StatTech LLC, Russia). The normality of quantitative data distribution was assessed using the Kolmogorov–Smirnov test. Data are presented as mean (M) $\pm$ standard deviation (SD) or median (Me) with interquartile range (Q1–Q3) and 95% confidence intervals (95% CI), as appropriate. Categorical data are described using absolute values and percentages. Comparisons of percentages in contingency tables were performed using Pearson’s chi-square test. A *p*-value of < 0.05 was considered statistically significant.

Results

APOE genotype and allele distribution

Genotyping of the *APOE* gene polymorphisms (rs429358 and rs7412) was performed in 315 patients with neovascular age-related macular degeneration (nAMD) and 317 control subjects using the allele-specific PCR method described by Zhong et al. (2016). The genotype distributions for both polymorphisms were in Hardy–Weinberg equilibrium in all groups.

The frequencies of the resulting ApoE isoforms ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$) are summarized in Table 1. The overall allelic and genotypic frequencies of the rs429358 and rs7412 variants did not differ significantly between the nAMD and control groups in a logistic regression analysis adjusted for age and sex.

However, a subsequent analysis focusing on the ApoE isoforms revealed a significant association. The frequency of the $\epsilon 2$ allele was significantly higher in nAMD patients compared to the control group (0.13 vs. 0.09, *p* = 0.018, likelihood ratio chi-square test). Carriers of the $\epsilon 2$ allele had a 1.5-fold increased risk of nAMD compared to carriers of other allelic variants (OR = 1.536; 95% CI: 1.075–2.195) (Table 2). These results indicate a moderate association of the *APOE* $\epsilon 2$ allele with nAMD development in the Russian population.

Table 2. Analysis of the association of carriage of the $\epsilon 2$ allele with the risk of AMD

Group	Allele <i>APOE</i>			Odds ratio	CI (95%)
	$\epsilon 2$	$\epsilon 3$	$\epsilon 4$		
nAMD, <i>n</i> = 315	83	547		1.536	(1.075–2.195)
Control, <i>n</i> = 317	57	577			

Association between *APOE* genotype and treatment response

The association between *APOE* genotype and variability in treatment response was assessed in a cohort of 275 nAMD patients (275 eyes). Patient clinical characteristics are presented in Table 3. The majority of patients presented with type 1 (occult) macular neovascularization (52.4 %, *n* = 144), followed by type 2 (44.0 %, *n* = 121) and type 3 (3.6 %, *n* = 10).

Following three loading doses of anti-VEGF therapy, patients were categorized based on treatment response: 221 (80.4 %) had an optimal response, 41 (14.9 %) had a partial response, and 13 (4.7 %) were non-responders. No statistically significant associations were found between the type of response and patient sex or age (*p* > 0.05).

At diagnosis, the median central retinal thickness (CRT) was 294 μm (IQR: 238–399 μm). After three loading doses, 269 patients (97.8 %) showed a reduction in CRT, with a median decrease of 22 % to 236 μm (IQR: 213–267 μm). A positive dynamic in best-corrected visual acuity (BCVA) was observed in 167 eyes (60.7 %). The median BCVA improved from 32 letters (IQR: 30–50) at baseline to 60 letters (IQR: 35–75) in the optimal response group after loading doses. A significant increase in BCVA and a reduction in CRT were observed in the early treatment phase (*p* < 0.05). However, at baseline, there were no statistically significant differences in BCVA (*p* = 0.306) or CRT (*p* = 0.928) between patients who later demonstrated an optimal response and those with a partial or absent response.

We hypothesized that *APOE* genotype might influence interindividual variability in response to therapy. However, Pearson’s chi-square analysis showed no significant association between the studied *APOE* alleles or genotypes and the type of response to anti-VEGF therapy (Table 4).

Discussion

This is the first study to investigate the association of *APOE* ε2, ε3, and ε4 alleles with both the risk of AMD and the response to anti-VEGF therapy in a Russian population from Western Siberia. Our findings confirm a significant association between the *APOE* ε2 allele and an increased risk of developing neovascular AMD. However, we found no statistically significant link

Table 3. Clinical characteristics of patients

Parameter	Clinical characteristics
Number of patients, <i>n</i>	275
Age, years	72 [64; 78]
Gender, <i>n</i> (%)	
Women	194 (70.5)
Men	81 (29.5)
MNV type, <i>n</i> (%)	
MNV 1	144 (52.4)
MNV 2	121 (44.0)
MNV 3	10 (3.6)
BCVA, letters	50 [30; 62]
BCVA after 3 IVI, letters	60 [35; 70]
BCVA gain after 3 IVI	
Positive	167 (60.7)
No gain	83 (30.2)
Negative	25 (9.1)
CRT initial, mkm	303 [264; 366]
CRT after treatment, mkm	240 [215; 281]
CRT change after 3-IVI, <i>n</i> (%)	
Increase	6 (2.2)
Decrease	269 (97.8)
Type of response to treatment, <i>n</i> (%)	
No response	13 (4.7)
Weak response	41 (14.9)
Good response	221 (80.4)

between *APOE* polymorphisms and the short-term anatomical and functional response to anti-VEGF treatment after the loading phase. Previously, the ApoE ε2/ε3/ε4 isoforms have been reported to be associated with the risk of developing AMD: in several studies, the ε4 allele was associated with a decreased risk, and the ε2 allele, with an increased risk (Adams et al., 2012).

Apolipoprotein E is a key protein in lipoprotein metabolism. It exists in three major isoforms, defined by amino acid substitutions at positions Cys112Arg and Arg158Cys, which are determined by two single-nucleotide polymorphisms (rs429358

Table 4. Distribution of *APOE* genotypes and alleles in groups with different therapeutic outcomes of anti-VEGF therapy

Parameter		Type of response to treatment			<i>p</i> -value
		No response	Weak	Good	
<i>APOE</i> genotypes, <i>n</i> (%)	ε2/ε2	0 (0.0)	0 (0.0)	7 (100.0)	0.326
	ε2/ε3	1 (2.0)	8 (15.7)	42 (82.4)	
	ε2/ε4	1 (12.5)	3 (37.5)	4 (50.0)	
	ε3/ε3	8 (4.7)	28 (16.3)	136 (79.1)	
	ε3/ε4	3 (8.8)	2 (5.9)	29 (85.3)	
	ε4/ε4	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (100.0)	
<i>APOE</i> alleles, <i>n</i> (%)	ε2	2 (15.4)	11 (26.8)	53 (24.0)	0.392
	ε3	8 (61.5)	28 (68.3)	136 (61.5)	
	ε4	3 (23.1)	2 (4.9)	32 (14.5)	

and rs7412). These ApoE isoforms are encoded by three alleles: $\epsilon 2$ (rs429358*T/rs7412*T), $\epsilon 3$ (rs429358*T/rs7412*C), and $\epsilon 4$ (rs429358*C/rs7412*C). ApoE is expressed in the retina and has been identified within drusen in AMD patients (Abyadeh et al., 2023). In numerous population-based studies, the *APOE* $\epsilon 4$ variant has been associated with a protective effect against AMD, whereas the $\epsilon 2$ allele has been linked to an increased risk of the disease (Hu et al., 2021).

The pivotal role of anti-VEGF agents in managing neovascular AMD is undeniable, having revolutionized the prevention of severe vision loss. Nonetheless, a subset of patients, approximately 10–30 % (Fursova et al., 2023), exhibit a suboptimal response and continue to experience vision deterioration. The underlying causes for this treatment resistance remain unclear, with genetic predisposition considered a potential determinant (Kozhevnikova et al., 2023).

Given the high prevalence of AMD and the substantial socio-economic burden associated with long-term anti-VEGF therapy, the ability to predict treatment outcomes is of paramount clinical importance. We hypothesized that *APOE* genotype could influence the considerable individual variability in treatment response. This premise is supported by several international studies investigating the association between ApoE and AMD biomarkers (Gupta, Chawla, 2025). However, an analysis of the relationship between *APOE* genotype, the risk of neovascular AMD, and the response to anti-VEGF therapy had not been previously conducted within a Russian population.

We focused on the short-term response following the initial loading doses of anti-VEGF therapy, as this period is considered a critical window for assessing the maximum potential morphological and functional response. Analyzing this phase was hypothesized to best reveal the extent of genetic influence on subsequent long-term outcomes. While some studies have demonstrated that the most significant improvements occur within the first three months of treatment, our investigation in the West Siberian cohort did not identify *APOE* genotype as a significant predictor of outcome at this stage. This lack of association concerning the treatment response contrasts with findings from other studies. For instance, research by Wickremasinghe et al. (2011) and Bakbak et al. (2016) reported that the *APOE* $\epsilon 4$ allele was linked to better visual outcomes following anti-VEGF treatment. The disparity between our results and those in the literature could be attributed to several factors. The ethnic variation in *APOE* allele and genotype distribution is well-documented, suggesting that the relationship between *APOE* and AMD pathophysiology may be population-specific (Ramadan et al., 2019).

Furthermore, the influence of ApoE might become apparent only over a longer observation period or under different treatment regimens, such as personalized dosing protocols, as suggested by other authors. Another critical consideration is the treatment initiation timeline. A significant delay often exists between diagnosis and the start of therapy, which can drastically diminish the potential for visual improvement and might obscure underlying pharmacogenetic associations (Kozhevnikova et al., 2023).

The biological plausibility of ApoE's role in AMD is supported by its involvement in lipid metabolism. ApoE is detected in drusen, the earliest hallmarks of AMD, and is crucial for lipid transport across cell membranes, being highly expressed by the retinal pigment epithelium (RPE) (Anderson et al., 2001). Evidence from murine models indicates that the $\epsilon 2$ allele is associated with age-related accumulation of subretinal phagocytes and exacerbated choroidal neovascularization, while the $\epsilon 4$ allele shows protective effects (Levy et al., 2015). This aligns with population studies where the $\epsilon 4$ allele often confers a protective effect against AMD development, and $\epsilon 2$ increases risk, a pattern consistent with our findings regarding disease susceptibility (Adams et al., 2012).

APOE polymorphisms can influence treatment outcomes in AMD patients. In patients with neovascular AMD, the presence of the *APOE* $\epsilon 4$ allele conferred significantly better visual outcomes after anti-VEGF treatment (Wickremasinghe et al., 2011). The results of a study by Bakbak et al. (2016) also showed improvement of visual activity in AMD patients carrying the $\epsilon 4$ allele and indicated an association between the $\epsilon 4$ allele and visual improvement in AMD patients using ranibizumab, whereas no association with treatment was observed for the $\epsilon 2$ allele.

Conclusion

Our study revealed a statistically significant association between the $\epsilon 2$ allele of *APOE* and the development of neovascular AMD in the Russian population of Western Siberia. No association was found between *APOE* genotype and short-term response to anti-VEGF therapy (after three intravitreal injections). Considering the rising prevalence of AMD, further pharmacogenetic studies are essential to elucidate potential genetic markers that could guide personalized treatment strategies.

References

- Abyadeh M., Gupta V., Paulo J.A., Sheriff S., Shadfar S., Fitzhenry M., Amirkhani A., Gupta V., Salekdeh G.H., Haynes P.A., Graham S.L., Mirzaei M. Apolipoprotein ϵ in brain and retinal neurodegenerative diseases. *Aging Dis.* 2023;14(4):1311-1330. doi 10.14336/AD.2023.0312-1
- Adams M.K., Simpson J.A., Richardson A.J., English D.R., Aung K.Z., Makeyeva G.A., Guymer R.H., Giles G.G., Hopper J., Robman L.D., Baird P.N. Apolipoprotein E gene associations in age-related macular degeneration: the Melbourne Collaborative Cohort Study. *Am J Epidemiol.* 2012;175(6):511-518. doi 10.1093/aje/kwr329
- Amoaku W.M., Chakravarthy U., Gale R., Gavin M., Ghanchi F., Gibson J., Harding S., Johnston R.L., Kelly S.P., Lotery A., Mahmood S., Menon G., Sivaprasad S., Talks J., Tufail A., Yang Y. Defining response to anti-VEGF therapies in neovascular AMD. *Eye (Lond.)*. 2015;29(6):721-731. doi 10.1038/eye.2015.48
- Anderson D.H., Ozaki S., Nealon M., Neitz J., Mullins R.F., Hageman G.S., Johnson L.V. Local cellular sources of apolipoprotein E in the human retina and retinal pigmented epithelium: implications for the process of drusen formation. *Am J Ophthalmol.* 2001;131(6):767-781. doi 10.1016/s0002-9394(00)00961-2
- Bakbak B., Ozturk B.T., Zamani A.G., Gonul S., Iyit N., Gedik S., Yildirim M.S. Association of apolipoprotein E polymorphism with intravitreal ranibizumab treatment outcomes in age-related macular degeneration. *Curr Eye Res.* 2016;41(6):862-866. doi 10.3109/02713683.2015.1067325

- Chan M.L., Meyer O.L., Farias S.T., Whitmer R.A., Rajan K., Olshchney J., Johnson D., Mungas D. APOE effects on late life cognitive trajectories in diverse racial/ethnic groups. *J Int Neuropsychol Soc.* 2023;29(2):126-135. doi 10.1017/S1355617722000030
- Fernández-Vega B., García M., Olivares L., Álvarez L., González-Fernández A., Artime E., Fernández-Vega Cueto A., Cobo T., Coca-Prados M., Vega J.A., González-Iglesias H. The association study of lipid metabolism gene polymorphisms with AMD identifies a protective role for APOE-E2 allele in the wet form in a Northern Spanish population. *Acta Ophthalmol.* 2020;98(3):e282-e291. doi 10.1111/aos.14280
- Fritsche L.G., Igl W., Bailey J.N., Grassmann F., Sengupta S., Bragg-Gresham J.L., Burdon K.P., ... Lee K.E., Hunter D.J., Sardell R.J., Mitchell P., Heid I.M. A large genome-wide association study of age-related macular degeneration highlights contributions of rare and common variants. *Nat Genet.* 2016;48(2):134-143. doi 10.1038/ng.3448
- Fursova A.Zh., Derbeneva A.S., Vasilyeva M.A., Nikulich I.F., Tarasov M.S., Gamza Yu.A., Chubar N.V., Gusarevich O.G., Dmitrieva E.I., Telegina D.V., Kozhevnikova O.S. Current data on the age-related macular degeneration pathophysiology: focus on growth factors and neurotrophins. *Adv Gerontol.* 2023;13:105-115. doi 10.1134/S2079057024600162
- Gupta D., Chawla S. Association of apolipoprotein E (APOE) gene polymorphism with age-related macular degeneration (AMD) in Indian patients. *Cureus.* 2025;17(6):e85441. doi 10.7759/cureus.85441
- Hu M.L., Quinn J., Xue K. Interactions between apolipoprotein E metabolism and retinal inflammation in age-related macular degeneration. *Life (Basel).* 2021;11(7):635. doi 10.3390/life11070635
- Huebbe P., Rimbach G. Evolution of human apolipoprotein E (APOE) isoforms: gene structure, protein function and interaction with dietary factors. *Ageing Res Rev.* 2017;37:146-161. doi 10.1016/j.arr.2017.06.002
- Kozhevnikova O.S., Fursova A.Z., Derbeneva A.S., Nikulich I.F., Devyatkin V.A., Kolosova N.G. Pharmacogenetic association between allelic variants of the autophagy-related genes and anti-vascular endothelial growth factor treatment response in neovascular age-related macular degeneration. *Biomedicines.* 2023;11(11):3079. doi 10.3390/biomedicines11113079
- Levy O., Lavalette S., Hu S.J., Housset M., Raoul W., Eandi C., Sahel J.A., Sullivan P.M., Guillonnet X., Sennlaub F. APOE isoforms control pathogenic subretinal inflammation in age-related macular degeneration. *J Neurosci.* 2015;35(40):13568-13576. doi 10.1523/JNEUROSCI.2468-15.2015
- Lin J.B., Halawa O.A., Husain D., Miller J.W., Vavvas D.G. Dyslipidemia in age-related macular degeneration. *Eye (Lond).* 2022;36(2):312-318. doi 10.1038/s41433-021-01780-y
- Liuska P.J., Rämö J.T., Lemmelä S., Kaarniranta K., Uusitalo H., Lahlata E., Daly M.J., Harju M., Palotie A., Turunen J.A.; for the FinnGen Study†. Association of *APOE* haplotypes with common age-related ocular diseases in 412,171 individuals. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2023;64(14):33. doi 10.1167/iovs.64.14.33
- Ramadan A., Foda B.M., Sabry N.A., Refaat O., Saleh A.A., Fawzy A. Association analysis of ApoE gene polymorphisms among Egyptian patients with Alzheimer's disease. *Gene Rep.* 2019;14:65-71. doi.org/10.1016/j.genrep.2018.10.017
- Rasmussen K.L., Tybjaerg-Hansen A., Nordestgaard B.G., Frikke-Schmidt R. Associations of Alzheimer disease-protective APOE variants with age-related macular degeneration. *JAMA Ophthalmol.* 2023;141(1):13-21. doi 10.1001/jamaophthalmol.2022.4602
- Sun E., Lim A., Liu X., Snellings T., Wang N., Liu N. Apolipoprotein E gene and age-related macular degeneration in a Chinese population. *Mol Vis.* 2011;17:997-1002
- Viturino M.G., Neto J.M., Bajano F.F., Costa S.M., Roque A.B., Borges G.F., Ananina G., Rim P.H., Medina F.M., Costa F.F., Vasconcellos J.P., Melo M.B. Evaluation of *APOE* polymorphisms and the risk for age-related macular degeneration in a Southeastern Brazilian population. *Exp Biol Med (Maywood).* 2021;246(10):1148-1155. doi 10.1177/1535370220985466
- Wickremasinghe S.S., Xie J., Lim J., Chauhan D.S., Robman L., Richardson A.J., Hageman G., Baird P.N., Guymer R. Variants in the *APOE* gene are associated with improved outcome after anti-VEGF treatment for neovascular AMD. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(7):4072-4079. doi 10.1167/iovs.10-6550
- Wisniewski T., Drummond E. APOE-amyloid interaction: therapeutic targets. *Neurobiol Dis.* 2020;138:104784. doi 10.1016/j.nbd.2020.104784
- Xiying M., Wenbo W., Wangyi F., Qinghuai L. Association of apolipoprotein E polymorphisms with age-related macular degeneration subtypes: an updated systematic review and meta-analysis. *Arch Med Res.* 2017;48(4):370-377. doi 10.1016/j.arcmed.2017.08.002
- Zhong L., Xie Y.Z., Cao T.T., Wang Z., Wang T., Li X., Shen R.C., Xu H., Bu G., Chen X.F. A rapid and cost-effective method for genotyping apolipoprotein E gene polymorphism. *Mol Neurodegener.* 2016;11:2. doi 10.1186/s13024-016-0069-4

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received May 13, 2026. Revised June 14, 2026. Accepted June 25, 2026.

doi 10.18699/vjgb-26-84

Выявление потенциальных генов-мишеней малых некодирующих фрагментов тРНК трематод среди дифференциально экспрессирующихся генов моноцитов человека

Е.А. Лишай ^{1, 2} , М.Ю. Пахарукова ^{1, 2}

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

 lishai.ekaterina@gmail.com

Аннотация. РНК-интерференция – эволюционно консервативный механизм посттранскрипционной регуляции генов, представленный у всех видов живых организмов, в настоящее время актуален для многих направлений молекулярной медицины, включая диагностику и новые подходы к иммуномодуляции. В последнее время появляется все больше данных об участии внеклеточных везикул и их компонентов в контексте взаимодействия между паразитом и хозяином. Трематода *Opisthorchis felinus*, паразитирующая в желчных протоках человека, вызывает описторхоз, что сопровождается хроническим воспалением и рядом неблагоприятных последствий. Длительное выживание паразита, вероятно, связано с иммуномодуляцией хозяина. Однако механизм влияния везикул трематод на моноциты человека неизвестен. Целью настоящей работы было найти потенциальные гены-мишени фрагментов тРНК трематод в геноме человека и проанализировать их представленность среди дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) в транскриптоме моноцитов человека линии THP-1. В результате поиска генов-мишеней для восьми наиболее представленных фрагментов тРНК *O. felinus* было выявлено 1299 потенциальных генов, которые могут быть мишенями в моноцитах человека. Семь кДНК библиотек клеточной культуры моноцитов человека линии THP-1 до и после обработки выделенными везикулами взрослой особи *O. felinus* были просеквенированы методом парных прочтений 2×150 пар оснований (технология DNBseq, BGI, Китай), получено около 43.8 млн прочтений на библиотеку. Среди 1484 ДЭГ в моноцитах было обнаружено 159 генов-мишеней фрагментов тРНК везикул, экспрессия которых значимо менялась при обработке экзосомо-подобных везикул (ЭПВ). Выявленные потенциальные гены-мишени относились к путям, связанным с регуляцией клеточного цикла и клеточной гибели (контроль целостности ДНК (M16357), переход из фазы G1 в фазу S (M2074), апоптоз (M15303) и программируемая клеточная гибель (M27436)), иммунного ответа (путь моноцитов (M4956), дифференцировка мононуклеарных макрофагов (M25144), презентация антигена через MHC-1 (M1066), процессинг антигена через протеасому (M1070)). Вероятно, фрагменты тРНК трематоды *O. felinus* могут вносить вклад в регуляцию этих процессов в моноцитах хозяина.

Ключевые слова: описторхоз; тРНК; экзосомо-подобные везикулы; РНК-интерференция; транскриптомика; моноциты человека

Для цитирования: Лишай Е.А., Пахарукова М.Ю. Выявление потенциальных генов-мишеней малых некодирующих фрагментов тРНК трематод среди дифференциально экспрессирующихся генов моноцитов человека. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2026;30(5):830-838. doi 10.18699/vjgb-26-84

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (№ 24-44-00048).

Благодарности. Биоинформатический анализ проведен с использованием вычислительных ресурсов Центра коллективного пользования «Биоинформатика» ИЦиГ СО РАН (FWNR-2026-0027).

Identification of potential target genes of the trematode transport RNA-derived small RNAs among differentially expressed genes of human monocytes

E.A. Lishai ^{1, 2} , M.Y. Pakharukova ^{1, 2}

¹ Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

 lishai.ekaterina@gmail.com

Abstract. RNA interference is an evolutionarily conserved mechanism of post-transcriptional gene expression regulation present in all living organisms. It is highly relevant to multiple areas of molecular medicine, including diagnostics and novel immunomodulatory approaches. Recent studies have increasingly highlighted the role of extracellular vesicles and their cargo in parasite-host interactions. The trematode *Opisthorchis felinus*, which parasitizes the human biliary tract,

causes opisthorchiasis, a disease associated with chronic inflammation and other hepatobiliary injuries. The long-term survival of the parasite is likely linked to modulation of host immune response. Nevertheless, the mechanism by which liver fluke vesicles affect human immune cells remains unclear. The aim of this study was to identify potential human gene targets of tRNA-derived small RNAs and to assess their enrichment among differentially expressed genes (DEGs) in the transcriptome of THP-1 human monocytes. Target prediction for eight most abundant *O. felinus* tRNA fragments identified 1299 potential target genes in human monocytes. Seven cDNA libraries prepared from THP-1 monocytes before and after treatment with vesicles from adult *O. felinus* were sequenced using paired-end 2 × 150 bp sequencing (DNBseq, BGI), yielding 43.8 million reads per library. Among 1484 DEGs, 159 predicted targets of tRNA-derived small RNAs showed significant expression changes upon vesicle treatment. These genes were associated with pathways involved in cell-cycle regulation and cell death, including DNA integrity control (M16357), G1/S transition (M2074), apoptosis (M15303), and programmed cell death (M27436), as well as immune-related pathways, including the monocyte pathway (M4956), mononuclear macrophage differentiation (M25144), MHC-I antigen presentation (M1066), and proteasome-mediated antigen processing (M1070). These findings suggest that *O. felinus* tRNA-derived small RNAs may contribute to the regulation of these processes in human monocytes.

Key words: opisthorchiasis; tRNA; exosome-like vesicles; RNA interference; transcriptomics; human monocytes

For citation: Lishai E.A., Pakharukova M.Y. Identification of potential target genes of the trematode transport RNA-derived small RNAs among differentially expressed genes of human monocytes. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii* = *Vavilov J Genet Breed*. 2026;30(5):830-838. doi 10.18699/vjgb-26-84

Введение

РНК-интерференция как инструмент посттрансляционной регуляции экспрессии генов – эволюционно консервативное и широко распространенное явление среди всех видов живых организмов. Активное исследование этого направления в генетике и молекулярной биологии подчеркивается актуальностью применения молекул некодирующих РНК в регуляции активности генов-мишеней, диагностике и иммуномодулировании. Многие малые некодирующие РНК, подавляющие экспрессию генов-мишеней на посттранскрипционном уровне, транспортируются внеклеточными везикулами. Роль малых РНК во взаимодействии между разными видами, в том числе в системе «паразит–хозяин», остается малоизученной. Перспективным объектом для таких исследований является эпидемиологически значимый вид трематод *Opisthorchis felinus*.

Opisthorchis felinus (Rivolta, 1884) паразитирует в желчных протоках рыбоядных млекопитающих, включая человека. Длительная инфекция приводит к хроническому воспалению и развитию неоплазии эпителия желчных протоков (Xia et al., 2015; Mordvinov et al., 2021; Lishai et al., 2024). При этом возможность длительного существования трематод в организме хозяина, вероятно, связана с модулированием иммунного ответа хозяина. С этим может быть связано снижение проявлений аутоиммунных заболеваний, таких как болезнь Крона или астма, при паразитарных инфекциях (Araújo et al., 2004; Saltykova et al., 2014).

Модулирование иммунного ответа, как и влияние на другие процессы в организме хозяина, в том числе приводящие к канцерогенным последствиям, невозможно без осуществления коммуникации между паразитом и хозяином. Одним из способов такой коммуникации могут быть внеклеточные везикулы, которые поглощаются клетками хозяина посредством различных механизмов. Например, холангиоциты человека используют клатрин-зависимый эндоцитоз для захвата экзосомо-подобных везикул (ЭПВ) *O. felinus* (Pakharukova et al., 2023). ЭПВ содержат различные биологически активные молекулы, в частности малые некодирующие РНК (мнРНК), включая тРНК.

Большой интерес для исследователей представляют фрагменты тРНК – малые РНК, полученные из тРНК (tRNA-derived small RNA, tsRNA), которые широко изучаются как новые регуляторные молекулы при различных заболеваниях (Prehn, Jirström, 2020; Chen et al., 2024; Strømme et al., 2024). Они входят в состав внеклеточных везикул, в частности ЭПВ различных паразитов, и могут влиять на клетки хозяина (Artuyants et al., 2020; Fontenla et al., 2022; Kusakisako et al., 2023).

Моноциты являются клетками врожденной иммунной системы и участвуют в первоначальном ответе на патогены (Passos et al., 2017). Внеклеточные везикулы, выделяемые паразитами, могут влиять на поляризацию моноцитов хозяина и продукцию ими цитокинов (Silverman et al., 2010; Lertjuthaporn et al., 2022; Norouzi et al., 2022; Khowawisetsut et al., 2023). Однако процессы, происходящие в моноцитах человека при воздействии ЭПВ трематоды *O. felinus*, остаются малоизученными. Кроме того, неизвестно, могут ли влиять на моноциты человека фрагменты тРНК, содержащиеся в ЭПВ трематоды.

Таким образом, цель работы – изучение влияния ЭПВ (*in vivo*) и входящих в их состав фрагментов тРНК (*in silico*) трематоды *O. felinus* на моноциты человека линии THP-1. Работа включала в себя секвенирование транскриптома моноцитов человека THP-1 после обработки ЭПВ *O. felinus* и идентификацию генов-мишеней фрагментов тРНК из ЭПВ трематоды среди обнаруженных дифференциально экспрессирующихся генов.

Материалы и методы

Животные. Для исследования использовали двухмесячных золотистых хомячков *Mesocricetus auratus* из вивария ИЦиГ СО РАН. Метацеркарии *O. felinus* были выделены по ранее описанной методике (Pakharukova et al., 2018, 2019) из речной рыбы (*Leuciscus idus*), выловленной в р. Оби рядом с г. Новосибирском. Хомяки были заражены перорально 75 метацеркариями на каждого. Взрослых трематод извлекали из желчных протоков хомячков через два месяца после заражения и промывали 10 раз стерильным физиологическим раствором (Pakharukova et al., 2018,

Последовательности фрагментов тРНК *O. felineus* и их представленность в ЭПВ *O. felineus*

Фрагмент тРНК	Последовательность	Представленность в ЭПВ <i>O. felineus</i> (%)
Asp-GTC-1	5'-TCCTCGGTGGTATAGTGGTGAGTATCTCCGCCTGTC-3'	13.82
Asp-GTC-2	5'-TCCTCGGTATAGTGGTGAGTATCTCCGCCTGTC-3'	7.16
Asp-GTC-3	5'-TCCTCGGTATAGTGGTGAGTATCTCCGCCTGTC-3'	2.86
His-GTG-1	5'-GGCCGTCGTAGTCTAGTGGTTAGGACATTGCGTT-3'	2.04
Ile-AAT-1	5'-GGGTCTGTAGCTCAGTTGGTTAGAGCGCAC-3'	4.70
Ile-AAT-2	5'-GGGTCTGTAGCTCAGTTGGTTAGAGCGCACC-3'	3.45
Ile-AAT-3	5'-GGGTCTGTAGCTCAGTTGGTTAGAGCGCA-3'	3.91
Tyr-GTA-1	5'-GGGTCGTTAGCTCAGCTGGTAGAGCAGCG-3'	3.74

2019). Исследования на животных одобрены Биоэтическим комитетом ИЦиГ СО РАН (№ 42 от 25.05.2018).

Выделение экзосомо-подобных везикул осуществляли из среды содержания 300 взрослых трематод (среда RPMI 1640, 1 % глюкозы, 100 ед./мл пенициллина G, 100 мкг/мл стрептомицина и 0.25 мкг/мл амфотерицина B), как описано ранее (Pakharukova et al., 2023).

Предсказание генов-мишеней фрагментов тРНК из ЭПВ *O. felineus*. В работе использовали описанные ранее фрагменты тРНК (Lishai, Pakharukova, 2026), полученные в результате секвенирования малых РНК из экзосомо-подобных везикул *O. felineus*. В частности, библиотеки малых РНК картировали на последовательности предсказанных тРНК из генома *O. felineus* (GCA_004794785.1) с помощью программы tRNAscan-SE 2.0 v.2.0.9 (Chan et al., 2021). Из 4523 полученных предсказанных последовательностей генов тРНК были удалены псевдогены (4276) и оставшиеся последовательности (247), определенные как гены тРНК. После картирования на гены тРНК были выбраны наиболее представленные последовательности для каждой изоакцепторной тРНК для каждой аминокислоты. В результате получено 50 последовательностей, на которые были снова картированы библиотеки малых РНК и определены наиболее представленные фрагменты тРНК (см. таблицу).

Для предсказания генов-мишеней фрагментов тРНК применяли сервис tRFtarget 2.0 (Li N. et al., 2024) (<http://trftarget.net/>), который использует комбинацию алгоритмов RNAhybrid (Rehmsmeier et al., 2004) и IntaRNA (Mann et al., 2017) и выдает те сайты связывания, которые определяются обоими алгоритмами и для которых свободная энергия меньше –15 ккал/моль. В качестве мишеней для фрагментов тРНК использовали последовательности 3'-нетранслируемых областей мРНК белок-кодирующих генов человека из базы Ensembl Genes 115 (Human Genes GRCh38.p14) (<https://www.ensembl.org/biomart/martview/330951e98fb906b5999fa97914e6118c>).

Из 220194 полученных транскриптов были удалены последовательности короче семи нуклеотидов, а также транскрипты, последовательности которых не известны. В результате осталось 196902 транскрипта (89 %), которые относились к 19082 генам.

Для анализа функционального обогащения в моноцитах человека из предсказанных генов-мишеней были удалены

гены, которые не экспрессируются в моноцитах и клетках крови (<https://www.proteinatlas.org/humanproteome/single+cell/immune+cell/monocytes>). Список удаленных генов представлен в Приложении 1¹. Анализ проводили с помощью R-пакетов msigdb v.1.18.0 (Bhuva et al., 2025) (Gene Ontology (GO) и Molecular Signatures Database (MsigDB_Curated)) и clusterProfiler v.4.18.4 (Yu et al., 2012). Для визуализации использовали R-пакет ggplot2 v.4.0.1 (<https://ggplot2.tidyverse.org/>), программы LibreOffice Calc v.24.2.7.2 (<https://www.libreoffice.org/discover/calc/>) и Inkscape v.1.4.2 (<https://inkscape.org/ru/>).

Получение транскриптомных данных моноцитов человека линии THP-1. Моноциты человека линии THP-1 культивировали в среде, содержащей RPMI 1640 (Gibco, США), 10 % FBS (Gibco), 100 ед./мл пенициллин (Sigma Aldrich, США), 10 мкг/мл стрептомицин (Sigma Aldrich) и 29.2 мкг/мл L-глутамин (Gibco). Клетки предварительно активировали до макрофаго-подобных клеток при помощи 100 нг/мл РМА (форбол-12-миристан-13-ацетат) (Solarbio, Китай) с последующей отмывкой в среде без РМА. Каждый этап длился 24 ч. Из клеток, обработанных ЭПВ *O. felineus* в концентрации 10 мкг/мл в течение суток, и необработанных клеток выделяли РНК с использованием набора Aurum Total RNA Extraction Kit (Bio-Rad, США). Качество образцов оценивали с помощью Agilent 2100 Bioanalyzer и набора Total RNA Nano Kit (Agilent Technologies, США).

Семь библиотек кДНК (4 образца РНК из необработанных клеток и 3 образца РНК из клеток, обработанных ЭПВ *O. felineus*) были сделаны в соответствии со стандартным протоколом New England Biolabs с применением наборов NEBNext Poly(A) mRNA Magnetic Isolation Module и NEBNext Ultra II Directional RNA Library Prep Kit for Illumina. Для селекции фрагментов ДНК по размеру использовали гранулы Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, США). После ПЦР-обогащения и проверки качества библиотек было проведено секвенирование методом парных прочтений 2 × 150 пар оснований на платформе DNBSec (BGI, Китай). Качество библиотек проверяли с использованием FastQC v.0.12.1 (<https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>). Данные секвенирования доступны в репозитории NCBI BioProject (PRJNA1429255).

¹ Приложения см. по адресу: <https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2026-30/appx43.xlsx>

Биоинформатический анализ транскриптомных данных. Библиотеки были картированы на референсный геном человека GRCh38.p14 (GCA_000001405.29) с помощью программы STAR v.2.7.10a (Dobin et al., 2013).

Для анализа дифференциальной экспрессии генов при обработке моноцитов человека THP-1 применяли тест Вальда с порогом 0.05 из R-пакета DESeq2 v.1.50.2 (Love et al., 2014). Дифференциально экспрессирующимися генами (ДЭГ) считали гены, уровень экспрессии которых менялся более чем в 2 раза и скорректированное значение p было меньше 0.05 (поправка Бенджамини–Хохберга). Из матрицы транскриптов удаляли низкоэкспрессирующиеся гены (сумма значений экспрессии гена по всем библиотекам менее 24).

Анализ главных компонент проводили с применением матрицы экспрессии всех генов после трансформации (функция `vst()` с параметром `blind = F` из R-пакета DESeq2 v.1.50.2). Для анализа использовали функцию `prcomp()` из R-пакета stats v.4.5.2.

Анализ функционального обогащения путей проводили с помощью баз данных Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (на основе аннотации генома человека из R-пакета `org.Hs.eg.db` v.3.22.0) и Molecular Signatures Database (MsigDB) (R-пакет `msigdb` v.1.18.0) и R-пакета `clusterProfiler` v.4.18.4. Для визуализации результатов использовали LibreOffice Calc v.24.2.7.2 и Inkscape v.1.4.2. Для ДЭГ, являющихся генами-мишенями фрагментов

тРНК, анализ функционального обогащения проводился аналогично.

Для оценки значимости обогащения ДЭГ моноцитов человека THP-1 генами-мишенями фрагментов тРНК применяли тест хи-квадрат Пирсона с поправкой Йейтса из R-пакета stats v.4.5.2.

Для построения сети взаимодействий фрагментов тРНК с ДЭГ использовали программу Inkscape v.1.4.2.

Результаты

Обработка моноцитов человека

THP-1 экзосомо-подобными везикулами *O. felinus* вызывает изменение экспрессии генов и активацию клеточных путей, связанных с иммунологическими реакциями и клеточным циклом

В результате секвенирования получено около 43.8 млн прочтений в среднем на одну библиотеку. Картирование библиотек на геном человека идентифицировало примерно 37 млн (84.63 %) уникально картированных прочтений (в среднем на библиотеку), при этом около 3.7 млн прочтений в среднем на библиотеку (8.63 %) картировано более одного раза.

Анализ главных компонент показал кластеризацию образцов в зависимости от способа обработки клеток (рис. 1, а). Выявлено 1484 дифференциально экспрессирующихся гена (экспрессия меняется более чем в 1.5 раза

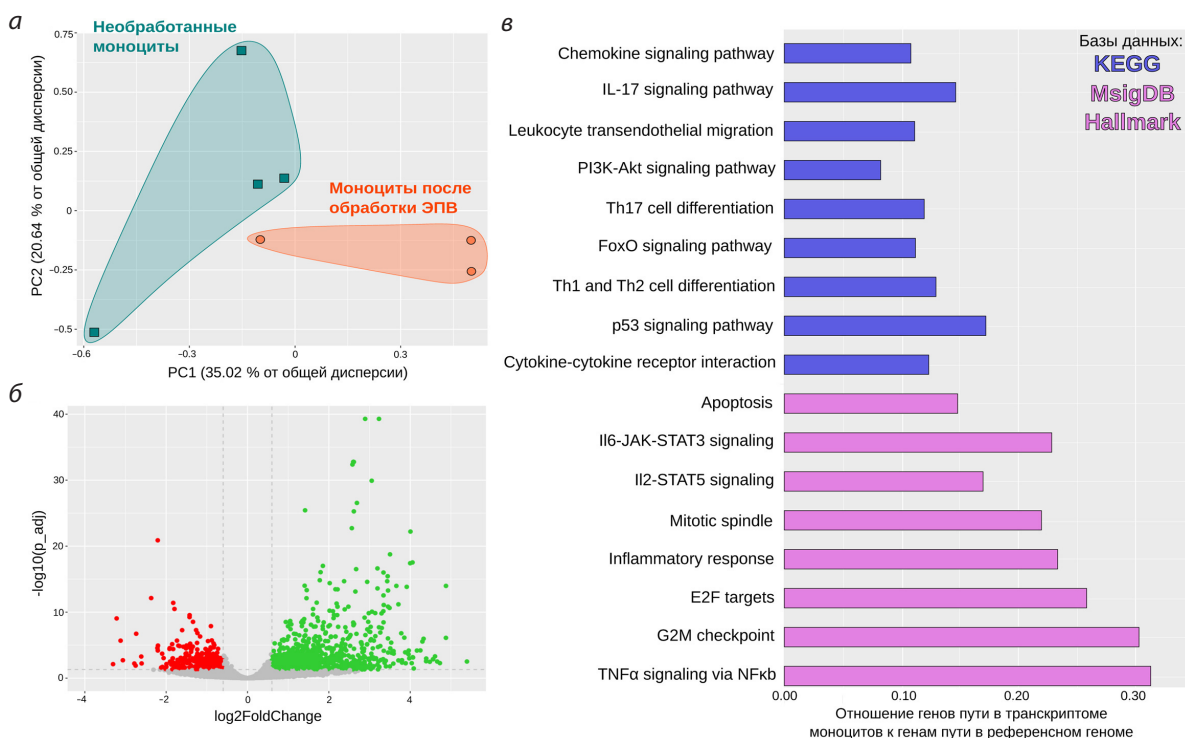


Рис. 1. Транскриптомный анализ моноцитов человека (линия THP-1) после обработки экзосомо-подобными везикулами *O. felinus*.

а – результаты анализа главных компонент; **б** – диаграмма Volcano распределения ДЭГ в экспериментальной группе по сравнению с необработанными моноцитами. Красным и зеленым цветом отмечены гены, для которых скорректированное значение $p < 0.05$ ($-\log_{10}(p_{\text{adj}}) > 1/3$) и экспрессия увеличивается более чем в 1.5 раза (зеленый цвет, $\log_2\text{FoldChange} > 0.6$) или снижается более чем в 1.5 раза (красный цвет, $\log_2\text{FoldChange} < -0.6$); **в** – анализ функционального обогащения ДЭГ по базам данных Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) и Molecular Signatures Database (MsigDB).

и скорректированное значение p меньше 0.05): 392 гена с пониженной экспрессией, 1092 гена с повышенной экспрессией (см. рис. 1, б) (Приложение 2). Более чем в 25 раз ($\log_2\text{FoldChange} > 4.6$) увеличивался уровень экспрессии генов *JCHAIN*, *LINC03063*, *CD8B2*, *MLC1*, *RNASE2*. Наиболее сильно, более чем в 6.9 раза ($\log_2\text{FoldChange} < 2.78$), снижался уровень экспрессии генов *LOC124902900*, *HBA1*, *HBA2*, *LOC124900173*, *LOC112268061*.

Анализ функционального обогащения ДЭГ проведен с использованием баз данных KEGG и MsigDB (набор Hallmark). По базе данных KEGG обнаружено 43 регуляторных пути (скорректированное значение $p < 0.05$) среди ДЭГ с повышенной экспрессией и 9 путей (скорректированное значение $p < 0.05$) среди ДЭГ с пониженной экспрессией. По базе данных MsigDB обнаружено восемь регуляторных путей (скорректированное значение $p < 0.05$) среди ДЭГ с повышенной экспрессией и один путь (скорректированное значение $p < 0.05$) среди ДЭГ с пониженной экспрессией. Данные представлены в Приложении 2.

Среди ДЭГ с повышенной экспрессией наблюдалось обогащение по путям, связанным с иммунологическими процессами (миграция лейкоцитов через эндотелий (hsa04670), Th17 дифференцировка (hsa04659), Th1 и Th2 дифференцировка (hsa04658), воспалительный ответ (M5932)), а также по путям, связанным с клеточным

циклом и клеточной гибелью (образование веретена деления при митозе (M5893), контрольная точка G2M (M5901), апоптоз (M5902), p53 сигнальный путь (hsa04115)) (см. рис. 1, в).

Предсказание генов-мишеней фрагментов тРНК *O. felinus* среди генов, экспрессирующихся в моноцитах человека

Для предсказания генов-мишеней использовали последовательности 3'-нетранслируемых областей мРНК белок-кодирующих генов в геноме человека (196902 последовательностей для 19082 генов). Для дальнейшей работы использовали гены, для которых хотя бы в одной последовательности 3'-нетранслируемой области был найден сайт связывания с каким-либо одним фрагментом тРНК. Определено 2145 генов-мишеней среди белок-кодирующих генов человека. Поскольку нас интересовало потенциальное действие фрагментов тРНК на моноциты человека, из списка предсказанных генов были удалены гены, не экспрессирующиеся в клетках крови и в моноцитах. В результате выявлено 1299 генов, которые могут быть мишенями для фрагментов тРНК *O. felinus* в моноцитах человека. Наибольшее количество генов-мишеней найдено для фрагмента тРНК Asp-GTC-3 (522 гена), а наименьшее (95 генов) – для His-GTG-1 (рис. 2, а) (Приложение 3).

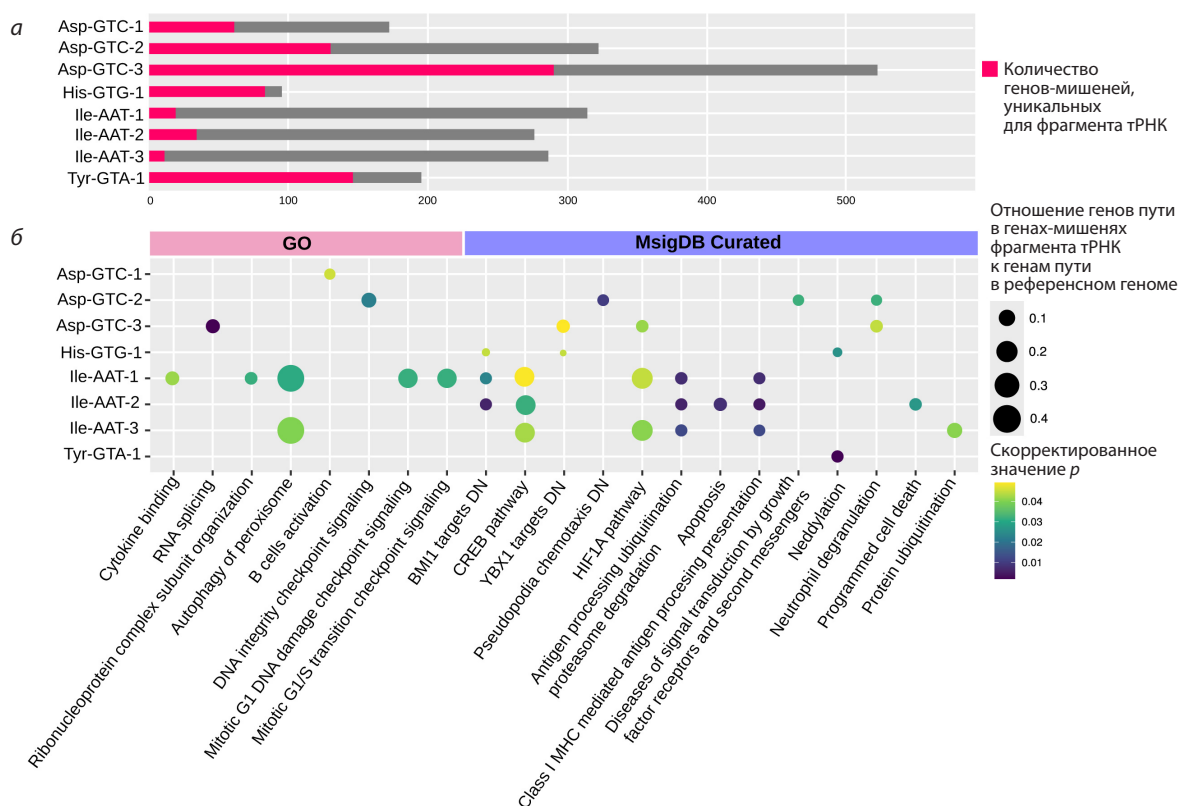


Рис. 2. Предсказание генов-мишеней фрагментов тРНК среди генов, экспрессирующихся в моноцитах человека.

а – количество генов-мишеней для каждого фрагмента тРНК. Розовым цветом отмечено количество генов, имеющих сайт связывания только с одним тРНК фрагментом, серым – количество генов, являющихся мишенями нескольких фрагментов тРНК; б – функциональное обогащение генов-мишеней каждого фрагмента тРНК по базам данных GO (Gene Ontology) и curated MsigDB (curated collection of the Molecular Signatures Database – База данных молекулярных сигнатур, регуляторные пути которой курируются и аннотируются вручную).

Наибольшее количество обогащенных путей выявлено для генов-мишеней фрагмента Ile-AAT-1: 15 регуляторных путей по базе MsigDB и 26 наборов генов по базе GO. Гены-мишени Asp-GTC-1 и Tyr-GTA-1 были обогащены по наименьшему количеству путей (два термина GO для 172 генов-мишеней Asp-GTC-1 и два пути MsigDB для 195 генов-мишеней Tyr-GTA-1). Интересно, что самый большой набор генов-мишеней был обогащен практически таким же количеством путей, как и самый маленький (18 путей для Asp-GTC-3 и 17 путей для His-GTG-1).

Гены-мишени в моноцитах человека были обогащены по путям, связанным с клеточным циклом и гибелью клетки (контроль клеточного цикла (M16357, GO:0044774, GO:0044819), программируемая гибель клеток (M27436, M15303)), иммунным ответом и воспалением (дегрануляция нейтрофилов (M27620), презентация антигена через МНС-1 (M1066), процессинг антигена через протеасому (M1070), активация В-клеток (M10657), связывание цитокинов (M18255)). Данные представлены в Приложении 3.

Таким образом, выявлено, что фрагменты тРНК из ЭПВ *O. felineus* имеют предсказанные сайты связывания в ге-

нах хозяина, продукты экспрессии которых вовлечены в важные клеточные процессы. Можно предполагать, что, участвуя в регуляции этих генов через малые некодирующие РНК в составе ЭПВ, трематоды могут быть способны влиять на активность иммунных клеток хозяина.

Поиск генов-мишеней фрагментов тРНК среди ДЭГ в моноцитах ТНР-1

Несмотря на то что моноциты человека ТНР-1 – широко используемая клеточная модель для изучения роли моноцитов в иммунных реакциях, существуют различия в экспрессии генов между первичными моноцитами и моноцитами ТНР-1 (Bosshart, Heinzelmann, 2016; Liu Y. et al., 2021). Поэтому для поиска генов-мишеней фрагментов тРНК среди ДЭГ в моноцитах ТНР-1 после обработки ЭПВ трематоды были выбраны все предсказанные гены-мишени (2145), а не только гены-мишени, экспрессирующиеся в моноцитах. Выявлено обогащение генами-мишенями набора ДЭГ (критерий хи-квадрат с поправкой Йейтса = 6.145, значение $p = 0.014$): из 1484 ДЭГ генами-мишенями были 159 генов. В результате для полученных генов была построена сеть взаимодействий (рис. 3) (Приложение 4).

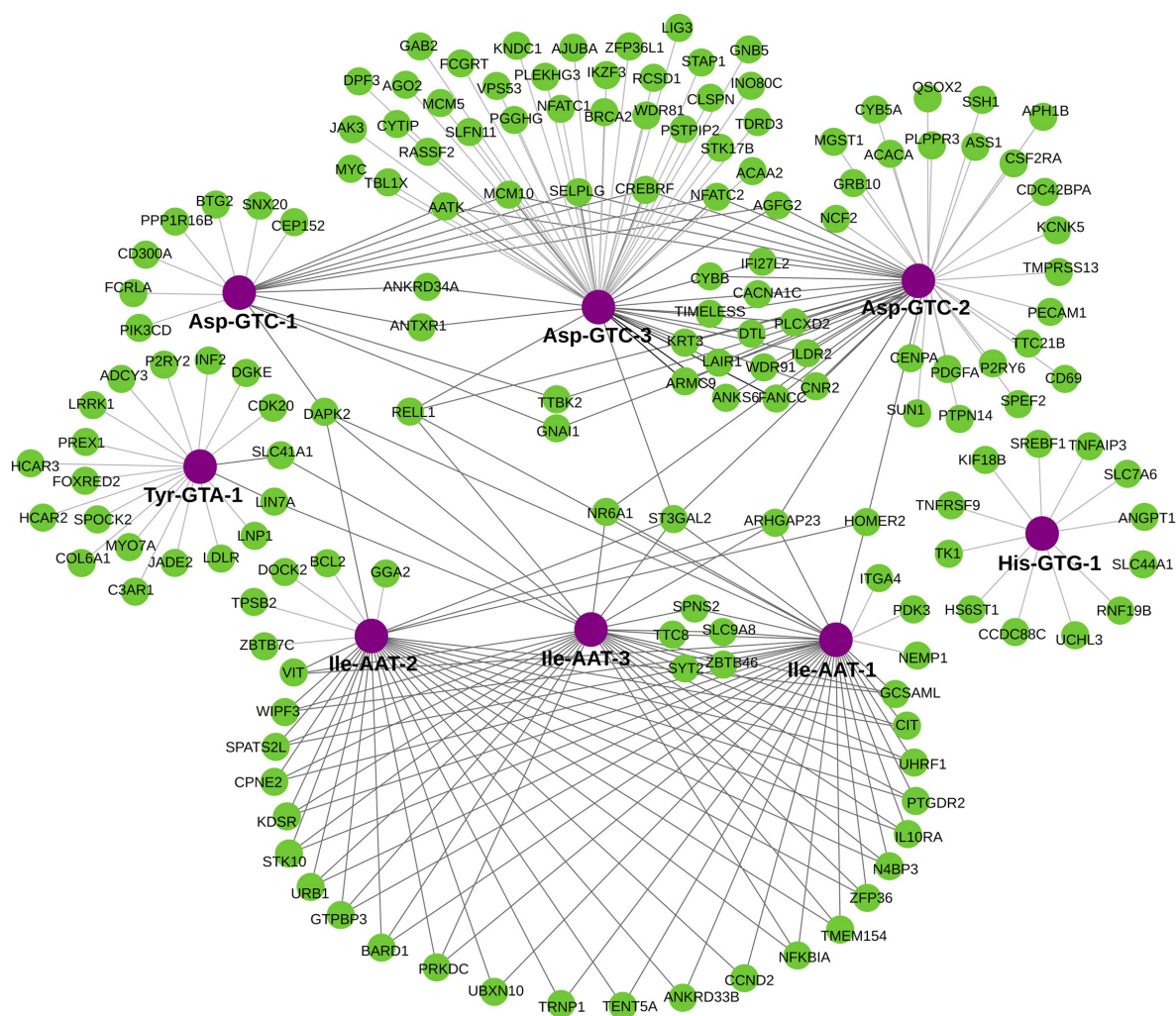


Рис. 3. Сеть взаимодействий между фрагментами тРНК и ДЭГ в моноцитах человека ТНР-1.

Гены-мишени, экспрессия которых значимо менялась при обработке моноцитов ТНР-1 ЭПВ *O. felinus*, относились к путям, связанным с регуляцией клеточного цикла и клеточной гибели (контроль целостности ДНК (M16357), переход из фазы G1 в фазу S (M2074), апоптоз (M15303) и программируемая клеточная гибель (M27436)), иммунного ответа (путь моноцитов (M4956), дифференцировка мононуклеарных макрофагов (M25144), презентация антигена через МНС-1 (M1066), процессинг антигена через протеасому (M1070)). Данные представлены в Приложении 4.

Обсуждение

Экзосомы и ЭПВ являются важным и консервативным элементом межклеточных коммуникаций у многих видов живых организмов, и только недавно началось изучение роли этих внеклеточных везикул в контексте взаимодействия между паразитом и хозяином. В состав везикул входят различные биологически активные молекулы, такие как белки, малые и длинные некодирующие РНК, мРНК, липиды (Zhang et al., 2022; Pakharukova et al., 2023).

Экзосомы паразитов способны проникать внутрь клеток хозяина и вызывать изменения в экспрессии генов и продукции секретируемых белков. Так, при обработке эпителиальных клеток шейки матки человека Ect1 E6/E7 экзосомами *Trichomonas vaginalis* усиливалась продукция провоспалительных цитокинов IL-6 и IL-8 (Twu et al., 2013). Макрофаги мыши RAW264.7 поглощали экзосомы *Toxoplasma gondii*, при этом отмечались увеличение продукции провоспалительных цитокинов IL-12, TNF α и IFN γ и снижение противовоспалительного цитокина IL-10 (Li Y. et al., 2018).

Для *Schistosoma japonicum* было изучено влияние экзосом на экспрессию генов в макрофагах мыши RAW264.7 и выявлено изменение экспрессии генов, относящихся к путям Rap1, TNF и Toll-подобных рецепторов, взаимодействия цитокинов с рецепторами цитокинов. При этом обработка входящими в состав экзосом микроРНК вызывала увеличение продукции TNF α этими клетками (Liu J. et al., 2019). В нашем случае при обработке активированных моноцитов человека ТНР-1 ЭПВ *O. felinus* мы наблюдали значимое увеличение экспрессии генов, относящихся к сигнальному пути TNF α и являющихся участниками провоспалительного ответа: *TNF*, *CCL2*, *CXCL2*, *CXCL3*, *IL6ST*, *NFKB2*, *REL*, *RELB*.

Интересно, что экзосомы *Fasciola hepatica* не вызывали повышения уровня продукции TNF α в моноцитах ТНР-1, но увеличивали уровень продукции TGF- β , NOS2 (Sánchez-López et al., 2023). Различия между ответом моноцитов ТНР-1 на ЭПВ *F. hepatica* и *O. felinus* соотносятся с исследованиями, где описано, что экскреторно-секреторный продукт и секретируемые белки *F. hepatica* смещают фенотип макрофагов в сторону противовоспалительного M2 фенотипа (Flynn et al., 2007; Figueroa-Santiago, Espino, 2014), тогда как воздействие взрослых трематод *Opisthorchis viverrini* и экскреторно-секреторный продукт *Clonorchis sinensis* – близкородственных видов *O. felinus*, способствует развитию провоспалительного M1 фенотипа (Hongsrichan et al., 2014; Kim et al., 2017). Однако до сих

пор неизвестно, какие именно молекулы, входящие в состав экскреторно-секреторного продукта этих трематод, могут обуславливать различия в иммунном ответе хозяина.

Малые РНК, происходящие из тРНК (tsRNAs), являются отдельным классом малых некодирующих РНК и входят в состав экзосом различных видов паразитов (Fontenla et al., 2022; Kusakisako et al., 2023; Natali et al., 2023), но их роль во взаимодействии между паразитом и хозяином до сих пор остается недостаточно изученной. На сегодняшний день нет данных об эффекте фрагментов тРНК из экзосом паразитов на клетки хозяина в экспериментах *in vivo* и *in vitro*.

Тем не менее фрагменты тРНК активно изучаются как маркеры различных заболеваний и новые регуляторные молекулы, в том числе и в иммунных клетках. Так, при колоректальном раке повышен уровень фрагментов тРНК (tRF-3022b, tRF-3030b и tRF-5008b) в экзосомах из плазмы крови; снижение уровня этих фрагментов приводит к остановке клеточного цикла в раковых клетках и индуцирует апоптоз. Фрагмент tRF-3022b может снижать поляризацию макрофагов M2, поскольку этот фрагмент тРНК связывается с фактором ингибирования макрофагов MIF (Lu et al., 2022). Фрагмент 5'-His-GUG повышен в моноцитах ТНР-1 и снижается при дифференцировке клеток в макрофаги. При этом макрофаги, трансфицированные этим фрагментом (т.е. с повышенным уровнем 5'-His-GUG), показывают снижение выживаемости при воздействии индуктором апоптоза (Jayaram et al., 2025).

Паразитарные фрагменты тРНК имеют сайты связывания с 3'-нетранслируемыми областями мРНК генов человека, но, вероятно, их действие будет зависеть от клеточного типа. В моноцитах человека гены-мишени фрагментов тРНК относятся к путям, связанным с клеточным циклом, гибелью клетки, иммунным ответом. Вероятно, трематоды способны влиять на эти процессы в иммунных клетках хозяина, секретируя ЭПВ с фрагментами тРНК.

Чтобы оценить возможное влияние фрагментов тРНК из ЭПВ на экспрессию их генов-мишеней, мы провели поиск генов-мишеней среди ДЭГ в моноцитах ТНР-1 после обработки ЭПВ *O. felinus* и выявили значимое обогащение. Экспрессия части генов-мишеней снижалась, но были и гены, экспрессия которых увеличивалась. Это может быть связано с неканоническими механизмами регуляции генов, как описано для микроРНК (Valinezhad et al., 2014).

Гены-мишени, экспрессия которых значимо менялась при обработке моноцитов ТНР-1 ЭПВ трематоды, относились к путям клеточного цикла и иммунного ответа. При этом пути во многом совпадали с обогащенными путями для всех генов-мишеней, экспрессирующихся в моноцитах и клетках крови. Вероятно, фрагменты тРНК паразита могут вносить некоторый вклад в регуляцию этих процессов в моноцитах хозяина, меняя уровень экспрессии небольшого количества генов.

Однако требуется проведение экспериментов *in vivo* с синтезированными аналогами фрагментов тРНК, чтобы подтвердить участие паразитарных РНК в регуляции этих процессов. Кроме того, поскольку в состав экскреторно-секреторного продукта и экзосомо-подобных ве-

зикул *O. felineus* входит спектр биологически активных соединений (Pakharukova et al., 2023), может происходить синергическое действие компонентов на клетки хозяина, поэтому необходимо изучать и другие типы биологически активных молекул, например микроРНК.

Заключение

Роль экзосомо-подобных везикул трематоды *O. felineus* в развитии иммунного ответа хозяина остается недостаточно изученной. В частности, неизвестна роль входящих в состав везикул малых некодирующих РНК, таких как фрагменты тРНК. В настоящее время эти молекулы активно изучаются в контексте различных заболеваний и как новые регуляторные молекулы.

В этом исследовании выполнен транскриптомный анализ моноцитов человека THP-1, обработанных экзосомо-подобными везикулами *O. felineus*, предсказаны гены-мишени известных фрагментов тРНК трематоды среди генов, экспрессирующихся в моноцитах человека, а также проведен поиск генов-мишеней среди дифференциально экспрессирующихся генов в моноцитах THP-1 после обработки экзосомо-подобными везикулами *O. felineus*.

В дальнейшем необходимо валидировать полученные результаты в экспериментах *in vivo*, включая: 1) исследование пролиферативной и миграционной активности, а также клеточного цикла клеток, обработанных синтезированными аналогами фрагментов тРНК; 2) проверку взаимодействия генов-мишеней с использованием репортерных конструкций, содержащих 3'-некодируемые области мРНК генов-мишеней; 3) оценку уровня экспрессии генов-мишеней на уровне мРНК (ПЦР в реальном времени) и белков (Вестерн-блот анализ).

Список литературы / References

- Araújo M.I., Hoppe B.S., Medeiros M. Jr, Carvalho E.M. *Schistosoma mansoni* infection modulates the immune response against allergic and auto-immune diseases. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2004;99(5): 27-32. doi 10.1590/s0074-02762004000900005
- Artuyants A., Campos T.L., Rai A.K., Johnson P.J., Dauros-Singorenko P., Phillips A., Simoes-Barbosa A. Extracellular vesicles produced by the protozoan parasite *Trichomonas vaginalis* contain a preferential cargo of tRNA-derived small RNAs. *Int J Parasitol*. 2020; 50(14):1145-1155. doi 10.1016/j.ijpara.2020.07.003
- Bhuva D., Smyth G., Garnham A. msigdb: an ExperimentHub package for the Molecular Signatures Database (MSigDB). R package version 1.18.0. 2025. doi 10.18129/B9.bioc.msigdb
- Bosshart H., Heinzelmann M. THP-1 cells as a model for human monocytes. *Ann Transl Med*. 2016;4(21):438. doi 10.21037/atm.2016.08.53
- Chan P.P., Lin B.Y., Mak A.J., Lowe T.M. tRNAscan-SE 2.0: improved detection and functional classification of transfer RNA genes. *Nucleic Acids Res*. 2021;49(16):9077-9096. doi 10.1093/nar/gkab688
- Chen W., Peng W., Wang R., Bai S., Cao M., Xiong S., Li Y., Yang Y., Liang J., Liu L., Yazdani H.O., Zhao Y., Cheng B. Exosome-derived tRNA fragments tRF-GluCTC-0005 promotes pancreatic cancer liver metastasis by activating hepatic stellate cells. *Cell Death Dis*. 2024;15(1):102. doi 10.1038/s41419-024-06482-3
- Dobin A., Davis C.A., Schlesinger F., Drenkow J., Zaleski C., Jha S., Batut P., Chaisson M., Gingeras T.R. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics*. 2013;29(1):15-21. doi 10.1093/bioinformatics/bts635
- Figueroa-Santiago O., Espino A.M. *Fasciola hepatica* fatty acid binding protein induces the alternative activation of human macrophages. *Infect Immun*. 2014;82(12):5005-5012. doi 10.1128/IAI.02541-14
- Flynn R.J., Irwin J.A., Olivier M., Sekiya M., Dalton J.P., Mulcahy G. Alternative activation of ruminant macrophages by *Fasciola hepatica*. *Vet Immunol Immunopathol*. 2007;120(1-2):31-40. doi 10.1016/j.vetimm.2007.07.003
- Fontenla S., Langleib M., de la Torre-Escudero E., Domínguez M.F., Robinson M.W., Tort J. Role of *Fasciola hepatica* small RNAs in the interaction with the mammalian host. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022;11:812141. doi 10.3389/fcimb.2021.812141
- Hongsrichan N., Intuyod K., Pinlaor P., Khoontawad J., Yongvanit P., Wongkham C., Roytrakul S., Pinlaor S. Cytokine/chemokine secretion and proteomic identification of upregulated annexin A1 from peripheral blood mononuclear cells cocultured with the liver fluke *Opisthorchis viverrini*. *Infect Immun*. 2014;82(5):2135-2147. doi 10.1128/IAI.00901-13
- Jayaram A., Galande S., Sharbati S., Deshpande D., Pawar K. Profile of tRNA-derived short non-coding RNAs during monocyte differentiation and their role in macrophage survival. *RNA Biol*. 2025;22(1): 1-9. doi 10.1080/15476286.2025.2525886
- Khowawisetsut L., Vimontpatanon S., Lekmanee K., Sawasdiopin H., Srimark N., Chotivanich K., Pattanapanyasat K. Differential effect of extracellular vesicles derived from *Plasmodium falciparum*-infected red blood cells on monocyte polarization. *Int J Mol Sci*. 2023;24(3): 2631. doi 10.3390/ijms24032631
- Kim E.M., Kwak Y.S., Yi M.H., Kim J.Y., Sohn W.M., Yong T.S. *Clonorchis sinensis* antigens alter hepatic macrophage polarization *in vitro* and *in vivo*. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(5):e0005614. doi 10.1371/journal.pntd.0005614
- Kusakisako K., Nakao R., Katakura K. Detection of parasite-derived tRNA and rRNA fragments in the peripheral blood of mice experimentally infected with *Leishmania donovani* and *Leishmania amazonensis* using next-generation sequencing analysis. *Parasitol Int*. 2023;93:102716. doi 10.1016/j.parint.2022.102716
- Lertjuthaporn S., Somkird J., Lekmanee K., Atipimonpat A., Sukapimrom K., Sawasdiopin H., Tiewcharoen S., Pattanapanyasat K., Khowawisetsut L. Extracellular vesicles from *Naegleria fowleri* induce IL-8 response in THP-1 macrophage. *Pathogens*. 2022;11(6): 632. doi 10.3390/pathogens11060632
- Li N., Yao S., Yu G., Lu L., Wang Z. tRFtarget 2.0: expanding the targetome landscape of transfer RNA-derived fragments. *Nucleic Acids Res*. 2024;52(5):345-350. doi 10.1093/nar/gkad815
- Li Y., Liu Y., Xiu F., Wang J., Cong H., He S., Shi Y., Wang X., Li X., Zhou H. Characterization of exosomes derived from *Toxoplasma gondii* and their functions in modulating immune responses. *Int J Nanomedicine*. 2018;13:467-477. doi 10.2147/IJN.S151110
- Lishai E., Pakharukova M. The liver fluke *Opisthorchis felineus* exosomal tRNA-derived small RNAs as potential mediators of host manipulation. *Biomolecules*. 2026;16(2):244. doi 10.3390/biom16020244
- Lishai E.A., Zaparina O.G., Kapushchak Y.K., Sripa B., Hong S.J., Cheng G., Pakharukova M.Y. Comparative liver transcriptome analysis in hamsters infected with food-borne trematodes *Opisthorchis felineus*, *Opisthorchis viverrini*, or *Clonorchis sinensis*. *PLoS Negl Trop Dis*. 2024;18(12):e0012685. doi 10.1371/journal.pntd.0012685
- Liu J., Zhu L., Wang J., Qiu L., Chen Y., Davis R.E., Cheng G. *Schistosoma japonicum* extracellular vesicle miRNA cargo regulates host macrophage functions facilitating parasitism. *PLoS Pathog*. 2019; 15(6):e1007817. doi 10.1371/journal.ppat.1007817
- Liu Y., Li H., Czajkowsky D.M., Shao Z. Monocytic THP-1 cells diverge significantly from their primary counterparts: a comparative examination of the chromosomal conformations and transcriptomes. *Hereditas*. 2021;158(1):43. doi 10.1186/s41065-021-00205-w
- Love M.I., Huber W., Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol*. 2014;15:550. doi 10.1186/s13059-014-0550-8

- Lu S., Wei X., Tao L., Dong D., Hu W., Zhang Q., Tao Y., Yu C., Sun D., Cheng H. A novel tRNA-derived fragment tRF-3022b modulates cell apoptosis and M2 macrophage polarization via binding to cytokines in colorectal cancer. *J Hematol Oncol.* 2022;15(1):176. doi 10.1186/s13045-022-01388-z
- Mann M., Wright P.R., Backofen R. IntaRNA 2.0: enhanced and customizable prediction of RNA-RNA interactions. *Nucleic Acids Res.* 2017;45(1):435-439. doi 10.1093/nar/gkx279
- Mordvinov V.A., Minkova G.A., Kovner A.V., Ponomarev D.V., Lvova M.N., Zapparina O., Romanenko S.A., Shilov A.G., Pakharukova M.Y. A tumorigenic cell line derived from a hamster cholangiocarcinoma associated with *Opisthorchis felinus* liver fluke infection. *Life Sci.* 2021;277:119494. doi 10.1016/j.lfs.2021.119494
- Natali L., Luna Pizarro G., Moyano S., de la Cruz-Thea B., Musso J., Rópolo A.S., Eichner N., Meister G., Musri M.M., Feliziani C., Touz M.C. The exosome-like vesicles of *Giardia* assemblages A, B, and E are involved in the delivering of distinct small RNA from parasite to parasite. *Int J Mol Sci.* 2023;24(11):9559. doi 10.3390/ijms24119559
- Norouzi M., Pirestani M., Arefian E., Dalimi A., Sadraei J., Mirjalali H. Exosomes secreted by *Blastocystis* subtypes affect the expression of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines (TNF α , IL-6, IL-10, IL-4). *Front Med.* 2022;9:940332. doi 10.3389/fmed.2022.940332
- Pakharukova M.Y., Pakharukov Y.V., Mordvinov V.A. Effects of miconazole/clotrimazole and praziquantel combinations against the liver fluke *Opisthorchis felinus* in vivo and in vitro. *Parasitol Res.* 2018;117(7):2327-2331. doi 10.1007/s00436-018-5895-6
- Pakharukova M.Y., Samsonov V.A., Serbina E.A., Mordvinov V.A. A study of tribendimidine effects in vitro and in vivo on the liver fluke *Opisthorchis felinus*. *Parasit Vectors.* 2019;12(1):23. doi 10.1186/s13071-019-3288-z
- Pakharukova M.Y., Savina E., Ponomarev D.V., Gubanov N.V., Zapparina O., Zakirova E.G., Cheng G., Tikhonova O.V., Mordvinov V.A. Proteomic characterization of *Opisthorchis felinus* exosome-like vesicles and their uptake by human cholangiocytes. *J Proteomics.* 2023;283-284:104927. doi 10.1016/j.jprot.2023.104927
- Passos L.S., Gazzinelli-Guimarães P.H., Oliveira Mendes T.A., Guimarães A.C., Silveira Lemos D.D., Ricci N.D., Gonçalves R., Bartholomeu D.C., Fujiwara R.T., Bueno L.L. Regulatory monocytes in helminth infections: insights from the modulation during human hookworm infection. *BMC Infect Dis.* 2017;17(1):253. doi 10.1186/s12879-017-2366-0
- Prehn J.H.M., Jirstrom E. Angiogenin and tRNA fragments in Parkinson's disease and neurodegeneration. *Acta Pharmacol Sin.* 2020;41(4):442-446. doi 10.1038/s41401-020-0375-9
- Rehmsmeier M., Steffen P., Hochsmann M., Giegerich R. Fast and effective prediction of microRNA/target duplexes. *RNA.* 2004;10(10):1507-1517. doi 10.1261/rna.5248604
- Saltykova I.V., Ogorodova L.M., Bragina E.Y., Puzyrev V.P., Freidin M.B. *Opisthorchis felinus* liver fluke invasion is an environmental factor modifying genetic risk of atopic bronchial asthma. *Acta Trop.* 2014;139:53-56. doi 10.1016/j.actatropica.2014.07.004
- Sánchez-López C.M., González-Arce A., Soler C., Ramírez-Toledo V., Trellis M., Bernal D., Marcilla A. Extracellular vesicles from the trematodes *Fasciola hepatica* and *Dicrocoelium dendriticum* trigger different responses in human THP-1 macrophages. *J Extracell Vesicles.* 2023;12(4):e12317. doi 10.1002/jev2.12317
- Silverman J.M., Clos J., Horakova E., Wang A.Y., Wiesig M., Kelly I., Lynn M.A., McMaster W.R., Foster L.J., Levings M.K., Reiner N.E. Leishmania exosomes modulate innate and adaptive immune responses through effects on monocytes and dendritic cells. *J Immunol.* 2010;185(9):5011-5022. doi 10.4049/jimmunol.1000541
- Strømme O., Heck K.A., Brede G., Lindholm H.T., Otterlei M., Arum C.J. tRNA-derived fragments as biomarkers in bladder cancer. *Cancers.* 2024;16(8):1588. doi 10.3390/cancers16081588
- Twu O., de Miguel N., Lustig G., Stevens G.C., Vashisht A.A., Wohlschlegel J.A., Johnson P.J. *Trichomonas vaginalis* exosomes deliver cargo to host cells and mediate host:parasite interactions. *PLoS Pathog.* 2013;9(7):e1003482. doi 10.1371/journal.ppat.1003482
- Valinezhad Orang A., Safaralizadeh R., Kazemzadeh-Bavili M. Mechanisms of miRNA-mediated gene regulation from common downregulation to mRNA-specific upregulation. *Int J Genomics.* 2014;2014:970607. doi 10.1155/2014/970607
- Xia J., Jiang S.C., Peng H.J. Association between liver fluke infection and hepatobiliary pathological changes: a systematic review and meta-analysis. *PloS One.* 2015;10(7):e0132673. doi 10.1371/journal.pone.0132673
- Yu G., Wang L.G., Han Y., He Q.Y. clusterProfiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters. *OMICS.* 2012;16(5):284-287. doi 10.1089/omi.2011.0118
- Zhang X., Duan S., Li X., Ding J., Zuo L., Sun B., Zhang X., Jiang X., Gao Y., Hu X., Han S. Differences in the secretory exosomes of *Clonorchis sinensis* adults at different incubation times. *Acta Trop.* 2022;234:106604. doi 10.1016/j.actatropica.2022.106604

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 31.10.2025. После доработки 04.03.2026. Принята к публикации 24.04.2026.

Прием статей через электронную редакцию на сайте <http://vavilov.elpub.ru/index.php/jour>
Предварительно нужно зарегистрироваться как автору, затем в правом верхнем углу страницы выбрать «Отправить рукопись». После завершения загрузки материалов обязательно выбрать опцию «Отправить письмо», в этом случае редакция автоматически будет уведомлена о получении новой рукописи.

«Вавиловский журнал генетики и селекции (Vavilov Journal of Genetics and Breeding)»
до 2011 г. выходил под названием «Информационный вестник ВОГиС»/
“The Herald of Vavilov Society for Geneticists and Breeding Scientists”.

Сетевое издание «Вавиловский журнал генетики и селекции (Vavilov Journal of Genetics and Breeding)» – реестровая запись СМЭ Эл № ФС77-85772, зарегистрировано Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций 14 августа 2023 г.

Издание включено ВАК Минобрнауки России в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, Белый список (уровень 1), Russian Science Citation Index, Российский индекс научного цитирования, ВИНТИ, Web of Science CC, Scopus, PubMed Central, DOAJ, ROAD, Ulrich's Periodicals Directory, Google Scholar.

Открытый доступ к полным текстам:
русскоязычная версия – на сайте <https://vavilovj-icg.ru/>
и платформе Научной электронной библиотеки, elibrary.ru/title_about.asp?id=32440
англоязычная версия – на сайте vavilov.elpub.ru/index.php/jour
и платформе PubMed Central, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/3805/>

При перепечатке материалов ссылка обязательна.

✉ email: vavilov_journal@bionet.nsc.ru

Издатель: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук»,
проспект Академика Лаврентьева, 10, Новосибирск, 630090.

Адрес редакции: проспект Академика Лаврентьева, 10, Новосибирск, 630090.

Секретарь по организационным вопросам С.В. Зубова. Тел.: (383)3634977.

Издание подготовлено информационно-издательским отделом ИЦиГ СО РАН. Тел.: (383)3634963*5218.

Начальник отдела: Т.Ф. Чалкова. Редакторы: В.Д. Ахметова, И.Ю. Ануфриева. Дизайн: А.В. Харкевич.

Компьютерная графика и верстка: Т.Б. Коняхина, О.Н. Савватеева.

.....
Дата выхода в свет 25.08.2026. Формат 60 × 84 1/8. Уч.-изд. л. 17.6.
.....

