

ISSN 0042-1324

Том 143, Номер 1

Январь - Февраль 2023



УСПЕХИ СОВРЕМЕННОЙ БИОЛОГИИ



www.sciencejournals.ru



СОДЕРЖАНИЕ

Том 143, номер 1, 2023

Метаболизм триптофана: новый взгляд на роль триптофановых производных в организме человека <i>О. П. Шатова, А. В. Шестопалов</i>	3
Роль $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов в патогенезе аутоиммунных заболеваний с поражением кожи <i>Е. В. Сорокина, И. В. Бишева, Н. В. Мишина, В. Н. Столпникова</i>	16
Состояние системы гемостаза в условиях иммобилизационного стресса на фоне экспериментального метаболического синдрома <i>М. Е. Григорьева, Т. Ю. Оберган, А. В. Коробовский</i>	22
Изменения активных и невозбудимых смежных нервных мембран после электроактивации <i>О. С. Сотников</i>	29
Изменения состояния жизненно важных систем организма при Long-COVID-19 <i>Б. И. Кузник, К. Г. Шаповалов, Н. И. Чалисова</i>	38
Направленная эволюция кариотипа обыкновенной бурозубки <i>Sorex araneus</i> (Mammalia) <i>В. Н. Орлов, И. А. Кришук, Е. В. Черепанова, Ю. М. Борисов</i>	52
О биологической роли ацетилирования/деацетилирования гистонов в процессе прорастания зародышей растений <i>Г. Х. Вафина, Е. Е. Ступак</i>	68
Проблема происхождения субгеномов В, А, D пшеницы мягкой <i>Triticum aestivum</i> L.: старые факты и новые доказательства <i>А. Р. Кулуев, Б. Р. Кулуев, А. В. Чемерис</i>	77
Карельская береза: загадки остаются <i>Л. В. Ветчинникова, А. Ф. Титов</i>	91

Contents

Vol. 143, No. 1, 2023

Tryptophan Metabolism: A New Look at the Role of Tryptophan Derivatives in the Human Body <i>O. P. Shatova, A. V. Shestopalov</i>	3
Role of $\gamma\delta$ T Lymphocytes in the Pathogenesis of Autoimmune Diseases with Skin Lesions <i>E. V. Sorokina, I. V. Bisheva, N. V. Mishina, V. N. Stolpnikova</i>	16
The State of the Haemostasis System under Conditions of Immobilization Stress against the Background of Experimental Metabolic Syndrome <i>M. E. Grigorjeva, T. Y. Obergan, A. V. Korobovsky</i>	22
Changes in Active and Non-Excitable Adjacent Nerve Membranes after Electroactivation <i>O. S. Sotnikov</i>	29
Changes of Organism Life Important System State by Long-COVID-19 <i>B. I. Kuznik, K. G. Shapovalov, N. I. Chalisova</i>	38
Channelized Karyotype Evolution of the Common Shrew <i>Sorex araneus</i> (Mammalia) <i>V. N. Orlov, I. A. Kryshchuk, E. V. Cherepanova, Yu. M. Borisov</i>	52
On the Biological Role of Histone Acetylation/Deacetylation in the Process of Plant Germination <i>G. H. Vafina, E. E. Stupak</i>	68
The Problem of the Origin of Subgenomes B, A, D of Bread Wheat <i>Triticum aestivum</i> L.: Old Facts and New Evidences <i>A. R. Kuluev, B. R. Kuluev, A. V. Chemeris</i>	77
Curly Birch: Some Secrets Remain <i>L. V. Vetchinnikova, A. F. Titov</i>	91

УДК 57.021

МЕТАБОЛИЗМ ТРИПТОФАНА: НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА РОЛЬ ТРИПТОФАНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА

© 2023 г. О. П. Шатова^{1, *}, А. В. Шестопапов^{1, 2}

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

²НМИЦ Детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России, Москва, Россия

*e-mail: shatova.op@gmail.com

Поступила в редакцию 04.07.2022 г.

После доработки 21.07.2022 г.

Принята к публикации 25.07.2022 г.

В современной научной литературе пристальное внимание уделяется биологической роли катаболизма триптофана как в норме, так и при различных патологиях. Все больше появляется сообщений, что катаболиты триптофанового обмена играют сигнальную роль в организме человека и в микробном сообществе кишечника. Активно изучаются рецепторы и сигнальные пути в организме человека так называемых триптофановых сигнальных молекул (ТриСМ), их клеточные мишени, физиологические и метаболические эффекты. В настоящее время установлено, что практически все катаболиты триптофанового обмена являются сигнальными молекулами. Многие из них реализуют свою сигнальную роль через арил-углеводородные рецепторы (AhR). Доминантный путь обмена триптофана для организма человека — это кинурениновый путь, который является источником универсальных сигнальных молекул — кинуренина, хинолиновой и кинуреновой кислот. Индолный путь катаболизма триптофана, главный для микробиоты, за исключением реакций образования индолов в иммунокомпетентных клетках, является источником межцарственных и межвидовых сигнальных молекул — индола и его производных: индол-3-пирувата, индол-3-лактата, индол-3-ацетата, индол-3-пропионата, индол-3-акрилата, индол-3-бутирата и индол-3-ацетальдегида. Серотонин и мелатонин являются также универсальными сигнальными молекулами и широко изучены при различных заболеваниях нервной системы.

Ключевые слова: триптофан, сигнальные молекулы, кинурениновый путь, индолы, микробиота кишечника

DOI: 10.31857/S0042132423010076, **EDN:** HLAM1Y

ВВЕДЕНИЕ

Источником L-триптофана (Три) в организме человека могут быть пища, микробиотический синтез и реутилизация собственных аминокислот в результате распада белков и пептидов. Однако, общепринято считать, что основное количество Три поступает в организм человека именно с пищевыми нутриентами (Gao et al., 2020). Синтез Три в организме человека не происходит, и данная аминокислота является для *Homo sapiens* незаменимой — эссенциальной (Badawy, 2019). Три является единственной аминокислотой, которая связывается с альбумином в плазме, при этом примерно 10–15% общего количества Три плазмы находится в свободной форме и 85–90% транспортируется в связанном с альбуминами состоянии, причем эти два состояния существуют в равновесии (Gao et al., 2020). Это может быть связано с тем, что Три метаболизируется организмом чело-

века до большого количества различных сигнальных молекул (Kumar et al., 2021). Видимо с этим связана способность Три транспортироваться через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) только в свободной форме с помощью конкурентного и неспецифического переносчика аминокислот L-типа. Попадая в центральную нервную систему (ЦНС), Три действует как предшественник нескольких метаболических путей, включая общий синтез белка, синтез серотонина/мелатонина и выработку кинуренина (Jones et al., 2013).

Общеизвестно, что кишечный микробиом и диета значимо влияют на метаболизм хозяина, и многие метаболические и физиологические процессы в значительной степени модулируются низкомолекулярными метаболитами (Cénit et al., 2014). Метаболизм Три через кинурениновый путь (КП) участвует в регуляции иммунитета, функции нейронов и в гомеостазе кишечника (Platten et al., 2019).

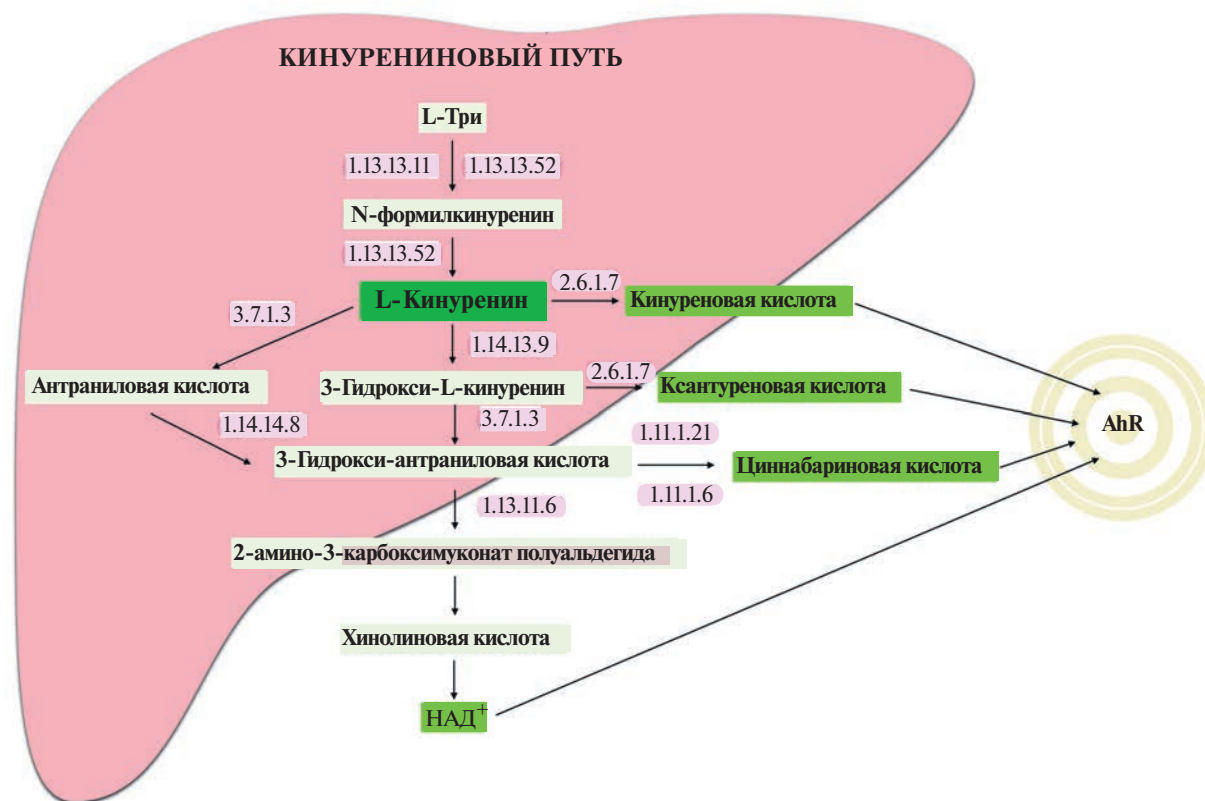


Рис. 1. Метаболизм Три по кинурениновому пути.

Продукция серотонина (5-гидрокситриптофана – 5-ГТ) нейронами ЦНС регулирует сон, настроение и аппетит, тогда как образование серотонина в кишечном тракте энтерохромаффинными клетками регулирует перистальтику кишечника и его проницаемость, а также иммунитет и воспалительную реакцию (Grifka-Walk et al., 2021). В кишечнике образуется множество различных микробных индольных катаболитов Три (МИКТ), которые являются лигандами арилгидрокарбоновых рецепторов (AhR) (Gutiérrez-Vázquez, Quintana, 2018; Vyhliđalová et al., 2020; Kumar et al., 2021) или пре-гнан X-рецепторов (PXR) (Venkatesh et al., 2014). К МИКТ относится индол и различные индольные производные, например: индол-3-пируват, индол-3-ацетат, индол-3-лактат, индол-3-пропионат, индол-3-карбоксальдегид, индол-3-ацетальдегид и др. (Vyhliđalová et al., 2020).

**КИНУРЕНИНОВЫЙ ПУТЬ –
ДОМИНАНТНЫЙ ПУТЬ ОБМЕНА
ДЛЯ *Homo sapiens* И ИСТОЧНИК
УНИВЕРСАЛЬНЫХ ТРИПТОФАНОВЫХ
СИГНАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ (ТриСМ)**

Более 90% всего Три окисляется в печени через КП (Cervenka et al., 2017). Некоторыми авто-

рами высказывается мнение, что до 95% поступившего в организм Три превращается в кинуренин клетками организма хозяина и только 1–2% Три утилизируется через серотониновый путь обмена (Hendrikx, Schnabl, 2019).

КП катаболизма Три (рис. 1) начинается с превращения Три в N-формил-кинуренин индол-амин-2,3-диоксигеназой (IDO, ЕС: 1.13.13.52) и в тот же метаболит триптофан-2,3-диоксигеназой (TDO, ЕС: 1.13.13.11); далее N-формил-кинуренин превращается в L-кинуренин арилформамидазой (ЕС: 3.5.1.9).

Далее L-кинуренин превращается кинуренин-3-монооксигеназой (ЕС: 1.14.13.9) в 3-гидрокси-L-кинуренин, а затем кинурениназой (ЕС: 3.7.1.3) 3-гидрокси-L-кинуренин и L-кинуренин превращаются в антранилат и 3-гидроксиантранилат. В свою очередь антранилат превращается в 3-гидроксиантранилат благодаря антранилат-3-монооксигеназе (ЕС: 1.14.14.8). 3-Гидроксиантранилат превращается в циннабариновую кислоту каталазой (ЕС: 1.11.1.6) или каталазой-пероксидазой (ЕС: 1.11.1.21). Далее кольцо 3-гидроксиантранилата раскрывается до 2-амино-3-карбоксимуконат полуальдегида 3-гидроксиантранилат-3,4-диоксигеназой (ЕС: 1.13.11.6), а затем спонтанно превраща-

ется в хинолиновую кислоту, которая далее с помощью фосфорибозилпирофосфата (ФРПФ) и хинолилат фосфорибозилтрансферазы (ЕС: 2.4.2.19) превращается в мононуклеотид никотиновой кислоты. Кроме того, L-кинуренин кинуренин-аминотрансферазой (КАТ, ЕС: 2.6.1.7) превращается в кинуреновую кислоту и этим же ферментом 3-гидрокси-L-кинуренин превращается в ксантуреновую кислоту. Далее хинолиновая кислота превращается в рибонуклеотид хинолиновой кислоты и уже затем в никотинамидадениндинуклеотид (НАД⁺) (Marszalek-Grabska et al., 2021). Среди метаболитов кинуренинового пути хинолиновая кислота, по-видимому, является одним из наиболее важных с точки зрения биологической активности (Jones et al., 2013).

КП играет основную роль во влиянии на доступность Три за счет клиренса избытка Три. Катаболизм Три по кинурениновому пути инициируется индукцией скорость-лимитирующих ферментов: IDO или TDO. Так IDO гиперэкспрессируется в различных органах и тканях: головном мозге, желудочно-кишечном тракте и печени, тогда как TDO экспрессируется только в печени (O'Mahony et al., 2015). Однако существуют работы, которые демонстрируют повсеместную экспрессию IDO и экспрессию TDO, кроме печени, еще в плаценте, гонадах и головном мозге (Cecchi et al., 2021).

Экспрессия IDO повсеместна (Cecchi et al., 2021) и зависит от уровня провоспалительных цитокинов в организме. Так, одним из самых мощных индукторов экспрессии IDO является интерферон γ (INF γ) (Wolf et al., 2004). Активность TDO регулируется доступностью триптофана, и при этом промотор данного регуляторного фермента содержит глюкокортикоид-чувствительный элемент в ДНК (GRE, glucocorticoid response element), соответственно экспрессия TDO зависит от уровня кортизола и его сигнального пути. Так, известно, что при стрессе происходит индукция экспрессии TDO (Cecchi et al., 2021).

Кинуренин является сигнальной молекулой, действуя через AhR, и имеет плеiotропные эффекты в зависимости от типа клеток, на которые оказывает свое действие (Cervenka et al., 2017). Кроме того, кинуренин может быть далее метаболизирован в биоактивные молекулы, которые также выполняют сигнальную функцию (Marszalek-Grabska et al., 2021). Существует значительное количество взаимодействий с микробиомом в отношении метаболитов Три. Микробиом кишечника может регулировать выработку метаболитов Три хозяина и может использовать как пищевой, так и синтезированный микроорганизмами Три для создания биогенных метаболитов. Производные Три, такие как индол, способны передавать сигналы ксенобиотическим рецепторам, включая AhR, вызывая толерогенные эффекты (Grifka-Walk et al., 2021).

Так, КП имеет два основных направления превращения. В физиологических условиях кинуренин преимущественно превращается в 3-гидроксикинуренин, а затем в 3-гидроксиантраниловую кислоту, хинолиновую кислоту и, наконец, в НАД⁺ (Cervenka et al., 2017). Остальной кинуренин в результате КАТ-реакции превращается в кинуреновую кислоту. Биологическая роль главных ТриСМ кинуренинового пути суммирована в табл. 1.

При воспалении провоспалительные цитокины шунтируют метаболизм Три в сторону образования кинуренина (Savitz, 2020). IDO активируется главным образом через INF γ -зависимый путь. Однако существуют и INF γ -независимые пути, например, через активацию TLR-4 (толл-подобного рецептора 4-го типа) (Connor et al., 2008) или через активацию IL-1R (рецептора интерлейкина 1 бета) (Zunszain et al., 2012). Важно отметить, что лептин также принимает участие в активации IDO. Таким образом, лептин повышает превращение Три в кинуренин и его производные (Mangge et al., 2014). Это может означать, что лептин также активирует нижестоящий метаболизм кинуренина. Однако это не всегда так. Например, повышающая регуляция IDO, вызванная острым воспалением, увеличивает уровни кинуренина и кинуреновой кислоты, но не влияет на уровень антраниловой кислоты в плазме крови у больных с пневмонией (Thomas et al., 2020). То есть не всегда понятна степень повышения различных катаболитов нисходящего пути катаболизма Три, а их вклад в регуляцию метаболизма может быть разнонаправленным, как например для хинолиновой и кинуреновой кислот (Agus et al., 2018). Следует отметить амбивалентную роль хинолиновой и кинуреновой кислот для нервной ткани, если кинуреновая кислота оказывает нейропротекторное действие, то хинолиновая кислота обладает нейротоксичностью и от соотношения этих метаболитов кинуренинового пути зависит развитие нейродегенеративных заболеваний (Vamos et al., 2009).

Известно, что Три и кинуренин могут проникать через ГЭБ. Так, около 60–80% кинуренина в головном мозге в физиологических условиях имеет внемозговое происхождение (Kita et al., 2002). Важно отметить, что КП играет решающую роль в энергетическом обмене клеток, так как необходим для образования НАД⁺. Поскольку во время иммунного ответа потребность в энергии существенно возрастает, КП является ключевым регулятором иммунной системы (Savitz, 2020). Существует так называемый кинурениновый переключатель, который означает, что в физиологическом состоянии весь Три, который не пошел на синтез белка в печени, метаболизируется до НАД⁺ или подвергается катаболизму до воды и углекислого газа. Тогда как при иммунной стимуляции в ткани

Таблица 1. Функции ключевых ТриСМ кинуренинового пути

Название ТриСМ	Рецептор ТриСМ	Эффект сигналинга	Источник
L-кинуренин	Является агонистом AhR	Связывается с AhR во многих иммунных клетках и подавляет иммунитет (иммунодепрессивное действие). Стимулирует апоптоз Т-клеток и индуцирует регуляторные Т-клетки (Treg). Является предшественником нейротоксических метаболитов (антраниловой и хинолиновой кислот). Также кинуренин обладает вазоактивными свойствами	Zádori et al., 2012; Marszalek-Grabska et al., 2021
3-гидрокси-L-кинуренин	АФК выполняют сигнальную роль в регуляции основных функций клетки	Генерирует свободные радикалы и оказывает токсическое действие на нервную ткань	Chen, Guillemin, 2009; Zádori et al., 2012
Кинуреновая кислота	Конкурентно ингибирует (антагонист) рецепторы глутамата (ионотропный рецептор глутамата, селективно связывающий N-метил-D-аспартат – NMDA)	Снижает активность в сайте коагониста глицина рецептора NMDA 5. Введение даже низких концентраций (наномолярный диапазон) кинуреновой кислоты в мозг снижает уровень глутамата на 30–40%. Имеет нейропротекторную и антиоксидантную функции. Также оказывает выраженное противосудорожное и седативное действие	Carpenedo et al., 2001; Chen Guillemin, 2009; Savitz, 2020
	Является негативным аллостерическим модулятором $\alpha 7$ -никотиновых рецепторов 7	Оказывает вазоактивное действие	
	Агонист рецептора, связанного с орфанным G-белком (GPR35)	Модулирует выработку цАМФ и ингибирует каналы Ca^{2+} N-типа симпатических нейронов и астроцитов	Guo et al., 2008
	Является агонистом AhR	Регулирует иммунный ответ за счет своего действия на терминацию высвобождения цитокинов в некоторых типах клеток, включая макрофаги	Opitz et al., 2011
	Агонист рецептора гидроксикарбоновой кислоты 3 (HCA3)	Данный рецептор является мембранным и ассоциирован с G-протеином	Tunaru et al., 2003
	Агонист мускариновых K^{+} -каналов	Замедление частоты сердечных сокращений	Chen, Guillemin, 2009
	Скавенджер реактивных форм кислорода (РФК)	Снижение окислительного стресса	Chen, Guillemin, 2009
Антраниловая кислота	Агонист фарнезоидных X-рецепторов (FXR)	Регулирует обмен глюкозы, желчных кислот и триглицеридов. Подавляет рост и размножение патогенов, в том числе имеет противовирусное действие	Silva et al., 2019

Таблица 1. Окончание

Название ТриСМ	Рецептор ТриСМ	Эффект сигналинга	Источник
3-гидроксиантраниловая кислота	Генерирует свободные радикалы	Внутри мозговое введение 3-гидроксиантраниловой кислоты приводит к снижению активности холинацетилтрансферазы, выполняет как прооксидантную, так и антиоксидантную функции, имеет противовоспалительное действие	Chen, Guillemin, 2009; Castro-Portuguez, Sutphin, 2020
Хинолиновая кислота	Является агонистом рецептора NMDA	Оказывает ингибирующее действие на обратный захват глутамата астроцитами, что приводит к эксайтотоксичности и вызывает гибель нейронов. Таким образом, оказывает нейротоксическое действие	Stone, Perkins, 1981
	Является агонистом AhR	Приводит к ингибированию активации инфламмасомы NLRP3 (Nod-подобного рецептора) и снижению воспаления в коже при псориазе	Marszalek-Grabska et al., 2021; Qiao et al., 2022
Ксантуреновая кислота		Ингибирует передачу сигналов инсулина/инсулиноподобного фактора роста 1 (ИФР-1) в островках поджелудочной железы	Castro-Portuguez, Sutphin, 2020
НАД ⁺	Является агонистом AhR	Участвует в воспалительной реакции	Marszalek-Grabska et al., 2021

легких происходит активация IDO, что способствует срабатыванию “кинуренинового переключателя”, и системный кинуренин начинают активно поглощать иммунокомпетентные клетки с целью гиперпродукции в них НАД⁺ и интенсификации энергетического обмена (Shestopalov et al., 2021).

За пределами иммунной системы экспрессия генов КП наиболее высока в печени, почках и поджелудочной железе. Утилизация Три в этих органах контролируется экспрессией TDO (Labadie et al., 2019). Однако именно печень является основным местом синтеза НАД⁺ *de novo* из Три (Castro-Portuguez, Sutphin, 2020).

Интересным является тот факт, что любой метаболит, образованный из Три, да и сам Три, являются сигнальными молекулами. Кинуренин является универсальной сигнальной молекулой, так как образуется и в организме хозяина (*Homo sapiens*), и в микроорганизмах кишечника/других локализаций организма. Кроме того, к универсальным сигнальным молекулам относятся антраниловая и хинолиновая кислоты, а также метаболит серотонинового пути катаболизма Три – серотонин (Agus et al., 2018).

Так, некоторые ТриСМ формируют узлы связи сигнальной трансдукции между различными царствами живых организмов. В организме человека кинуренин оказывает свое действие через

AhR (Szelest et al., 2021). Сигнальный путь AhR играет важную роль в регуляции иммунных реакций, ксенопротекции (Bock, 2017), регенерации, росте и дифференцировке клеток, развитии органов, патогенезе метаболических заболеваний, а также канцерогенезе (Vyhlídalová et al., 2020). AhR связывает различные лиганды – это не только индолы. К ним можно отнести: флавоноиды, полифенолы, а также синтетические полициклические ароматические углеводороды и диоксиноподобные соединения. AhR представляет собой цитозольный фактор транскрипции, связанный с несколькими ко-шаперонами, который обычно неактивен. После связывания лиганда с химическими веществами, такими как 2,3,7,8-тетрахлордибензо-п-диоксин (TCDD), шапероны диссоциируют, в результате чего AhR перемещается в ядро и димеризуется с ядерным транслокатором AhR (ARNT, aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator), что приводит к изменениям в транскрипции соответствующих генов (Sun et al., 2020).

Установлено, что производные антраниловой кислоты (антранилата) являются сильными агонистами фарнезоидных X-рецепторов (FXR). При этом известно, что FXR представляет собой ядерный рецептор, гиперэкспрессируемый в печени, желчном пузыре, кишечнике, почках и надпочечниках. Он регулирует важную физиологическую роль в различных метаболических путях, участву-

ющих в гомеостазе желчных кислот, триглицеридов и глюкозы (Chen et al., 2016).

Микробиота организма человека участвует в преобразовании антранилата в хинолиновые регуляторы *quorum sensing* (*QS*) (Sas et al., 2018). Количественный анализ полимеразной цепной реакции в реальном времени (qRT-PCR) показал, что добавление экзогенной антраниловой кислоты ингибирует уровни экспрессии компонентов пути — цАМФ-протеинкиназы А у микроорганизмов. При этом антраниловая кислота ингибирует половое спаривание *S. scitamineum* и морфологический переход посредством интерференции между царствами. В своем исследовании авторы демонстрируют, что именно антраниловая кислота, а не ее метаболиты оказывают такой ингибиторный эффект. Антраниловая кислота способствует патогенности *R. solanacearum* и контролирует уровни экспрессии широкого спектра различных генов. Дифференциально экспрессируемые антранилатом гены были связаны с рядом биологических функций, включая подвижность и прикрепление клеток, устойчивость к стрессу, вирулентность, регуляцию транскрипции, синтез мембранных компонентов, мембранный транспорт, множественную лекарственную устойчивость, детоксикацию и передачу сигнала (Song et al., 2020). Установлено, что помимо диффузионных сигнальных факторов (DSF), антраниловая кислота также играет ключевое значение во внутривидовой передаче сигналов, выполняет важную функцию в межвидовой и межцарственной коммуникациях (Deng et al., 2014).

Хинолиновая кислота является важным агонистом рецепторов NMDA (N-метил-D-аспартата), характеризуя эксайтотоксический механизм при секреции в высоких концентрациях и обладая нейротоксическим действием (Behl et al., 2021). Результаты показали, что хинолиновая кислота вызывает изменения в продукции РФК, уровнях нитритов, активности антиоксидантных ферментов, содержании глутатиона и повреждении белков и липидов (Ferreira et al., 2022).

Очень важным вопросом является проницаемость ГЭБ для ТриСМ. Так установлено, что через ГЭБ проходят Три, кинуренин, 3-гидроксикинуренин и циннабаринавая кислота. Предшественником последней является 3-гидроксиантранилат, и данная кислота также является ТриСМ, а ее рецептором является AhR (Marszalek-Grabska et al., 2021). Можно со всей определенностью говорить, что именно проницаемость ГЭБ для различных ТриСМ определяет их регуляторные эффекты в нервной ткани.

Так, содержание в головном мозге кинуренина напрямую зависит от его содержания в сыворотке крови. При этом сывороточный кинуренин имеет как экзогенное, так и эндогенное происхождение.

Экзогенный кинуренин поступает в организм человека с некоторыми пищевыми продуктами (мед, молоко, грибы, тыква, кунжут и ферментированная пища, например кефир, йогурт, пиво, квас, вино), а также синтезируется микроорганизмами кишечника. Эндогенный кинуренин образуется преимущественно печенью и иммунными клетками (Marszalek-Grabska et al., 2021). Недавняя работа освещает высокое содержание кинуренина в грудном молоке, и авторы приходят к мысли, что кинуренин и его метаболиты отвечают как за развитие моторных двигательных навыков, так и оказывают заметное воздействие на психоэмоциональную сферу потомства (Marszalek-Grabska et al., 2022).

ИНДОЛЬНЫЙ ПУТЬ: МЕХАНИЗМ КОЭВОЛЮЦИИ ОРГАНИЗМА ХОЗЯИНА И МИКРОБИОТЫ, ОБЕСПЕЧЕННЫЙ ПРОДУКЦИЕЙ МЕЖЦАРСТВЕННЫХ/МЕЖВИДОВЫХ ТриСМ

В настоящее время вполне очевидно, что присутствие микроорганизмов в организме хозяина влияет на эволюцию животных и спецификацию клеточных судеб, включая и клетки нервной системы (Wei et al., 2021). Большая часть Три, образующегося в результате переваривания белков, всасывается в тонкой кишке и транспортируется в различные органы для преобразования в эндогенные лиганды AhR, такие как ксантуреновая кислота, кинуренин и кинуреновая кислота (Roager, Licht, 2018). Однако значительная часть Три достигает толстой кишки, где под влиянием микробиотических ферментов Три метаболизируется микроорганизмами с образованием индола и его производных (Roager, Licht, 2018).

Так, многие бактерии производят небольшие молекулы для мониторинга плотности популяции и таким образом регулируют свое коллективное поведение, этот процесс называется ощущением кворума — *QS*. При этом существует способность организма хозяина “прослушивать” бактериальную сигнализацию, что дает возможность тонко настраивать физиологически дорогостоящие иммунные реакции. В системном *QS* и межцарственном взаимодействии места в первом ряду отводятся для индольных сигнальных молекул — индолу и его производным: индол-3-пируват, индол-3-лактату, индол-3-ацетату, индол-3-пропионату, индол-3-акрилату, индол-3-бутирату и индол-3-ацетальдегиду.

Интересно, что индол-3-пируват может образовываться в оксидативной реакции (ЕС: 1.4.3.2) в дендритных клетках и макрофагах человека при лейкемии (Carbonnelle-Puscian et al., 2009). То есть индольный путь возможен не только в кишечнике благодаря микробиотическим реакциям.

Было показано, что индол-3-лактат является ингибитором КАТ I в нервной ткани человека, то есть бактериальный индол-3-лактат регулирует КП превращения Три в клетках организма хозяина. Примечательно, что у новорожденных детей *Bifidobacterium* в кишечнике образуют огромное количество индол-3-лактата, который, попадая в макроорганизм, отвечает за дифференцировку нервной ткани (Shestopalov et al., 2020a, 2020b). Кроме того, индол-3-лактат, индол-3-ацетат и индол-3-пропионат оказывают липотропное действие и препятствуют жировой инфильтрации печени (Venkatesh et al., 2014). Индол-3-пропионат является очень важной ТриСМ, которая определяет проницаемость кишечника (Konopelski, Mogilnicka, 2022).

Индол оказывает сигнальное действие на L-клетки кишечника хозяина и регулирует секрецию глюкагоноподобного пептида 1-го типа (GLP-1) в них. Свои сигнальные эффекты на организм хозяина индол оказывает через механизм ингибирования потенциал-зависимых K^+ -каналов, что приводит к увеличению ширины потенциалов действия, запускаемых L-клетками и к усилению входа Ca^{2+} , тем самым резко стимулируя секрецию GLP-1. С другой стороны, индол замедляет продукцию АТФ, блокируя НАДН-дегидрогеназу, что приводит к длительному снижению секреции GLP-1 (Chimerel et al., 2014). Индол, как и многие производные индола, является агонистом AhR и таким образом регулирует экспрессию цитохромов и ксенопротекцию. Консервативные лиганды AhR, такие как индол, по-видимому, играют решающую роль не только в обнаружении ксенобиотических соединений, но также в идентификации и передаче сигналов, которые индуцируют гены, ответственные за оогенез, тем самым увеличивая плодовитость (Kumar et al., 2021). Интересно, что индол усиливает образование внешних мембранных микробиотических везикул (Díez-Sainz et al., 2021) и соответственно может позитивно влиять на транслокацию бактериальных ДНК в кровь.

Следует указать, что индол является наиболее распространенным МИКТ и образуется широким спектром бактерий, в том числе принадлежащих к родам *Escherichia*, *Bacteroides* и *Clostridium*. Эти бактерии используют триптофаназу (ЕС: 4.1.99.1) для расщепления триптофана на индол, пируват и аммиак, что приводит к средней концентрации индола в фекалиях человека от 0.25 до 1.2 мМ (Chimerel et al., 2014). Далее индол превращается монооксигеназой (ЕС: 1.1.14.16) в индоксил, в свою очередь индоксил превращается в ацетил-индоксил, а ацетил-индоксил превращается в ацетил-индоксил-оксидоредуктазой (ЕС: 1.7.3.2) метаболизируется до ацетил-исатина. Другой вариант индольного превращения для Три начинается с триптофан-

аминотрансферазной реакции (ЕС: 2.6.1.27), в результате которой образуется индол-3-пируват, далее индол-3-пируватредуктаза (ЕС: 1.1.1.110) превращает индол-3-пируват в индол-3-лактат, а затем индол-3-лактат превращается в индол-3-акрилат ферментом цинномоил-КоА:фенил-лактат-КоА-трансферазой (ЕС: 2.8.3.17), который затем превращается в индол-3-пропионат короткоцепочечной ацил-КоА дегидрогеназой (ЕС: 1.3.8.15). Следует отметить, что индол-3-пируват может превратиться в индол-3-ацетат — индол-3-пируват монооксигеназой (ЕС: 1.14.13.168) или индол-3-ацетальдегид индол-3-пируват декарбоксилазой (ЕС: 4.1.1.74). Также Три под воздействием триптофан-2-монооксигеназы (ЕС: 1.13.12.3) превращается в индол-3-ацетамид, а затем индол-3-ацетамид превращается амидазой (ЕС: 3.5.1.4) в индол-3-ацетат, а затем ацетальдегиддегидрогеназой (ЕС: 1.2.1.5) в индол-3-ацетальдегид, который далее превращается в индол-3-этанол индол-3-ацетальдегидредуктазой (ЕС: 1.1.1.190). При действии триптофандекарбоксилазы (ЕС: 4.1.1.28) Три превращается в триптамин (<https://www.genome.jp/kegg/pathway/map/map00380.html>) (рис. 2).

Именно индол, индол-3-ацетат и индол-3-лактат являются доминантными МИКТ в кишечнике человека (Shestopalov et al., 2021). Индол-3-ацетат значительно ослабляет продукцию медиаторов воспаления в макрофагах (Krishnan et al., 2019), имеет липостатический и гипохолестеринемический эффекты, которые реализует через AhR в организме хозяина. Через AhR действует и индол-альдегид, который также является метаболитом обмена Три микробиотического происхождения. Индолальдегид повышает продукцию интерлейкина-22 (IL-22) иммунными клетками (Roager, Licht, 2018). IL-22 стимулирует продукцию антимикробных белков дефензинов-2 и -3, в связи с чем данный цитокин вызывает значительный интерес в противовоспалительной и противоинфекционной иммунотерапии (Barthelemy et al., 2018).

Кроме того, установлено, что индол-3-пропионат и индол-3-ацетат обладают антиоксидантными свойствами. Также показано, что индол-3-пропионат уменьшает инсулинорезистентность и отрицательно коррелирует с развитием сахарного диабета 2-го типа. Это связано и с влиянием индол-3-пропионата на секрецию инсулина, и с влиянием индол-3-пропионата на инсулиночувствительность тканей (de Mello et al., 2017).

Очень важное значение для организма человека имеет индол-3-лактат. Данный метаболит Три также имеет микробное происхождение и принимает участие в нейритогенезе (Shestopalov et al., 2021). Было показано, что индол-3-лактат снижает воспаление в слизистой оболочке кишечника. Гиперпродукция данного метаболита преимущественно обеспечивается *Bifidobacterium*. Кроме того,

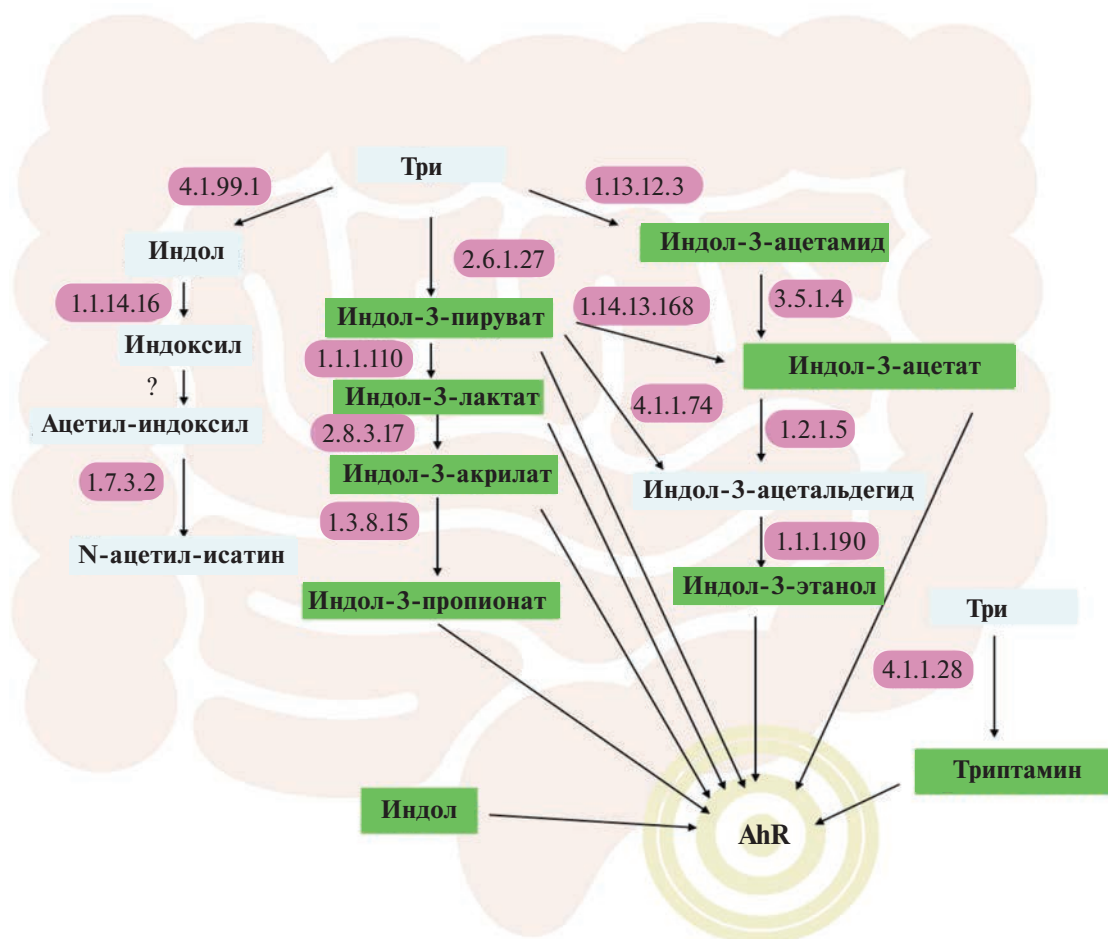


Рис. 2. Метаболизм Три по индольному пути.

индол-3-лактат индуцирует экспрессию ферментов антиоксидантной системы: супероксиддисмутазы и глутатионредуктазы (Ehrlich et al., 2020).

Установлено, что МИКТ регулируют активацию микроглии, а также продукцию трансформирующего фактора роста альфа (TGF α) и фактора роста эндотелия сосудов (VEGF-B), и это может модулировать программу транскрипции астроцитов и ограничивать воспаление в ЦНС (Sittipo et al., 2021).

Таким образом индол является основным метаболитом, продуцируемым микробиотой кишечника из Три. Показано, что именно индол влияет на нейрогенез и функцию мозга. Кроме того, производные индола, такие как триптамин, индол-3-ацетат и индол-3-пропионат могут пересекать ГЭБ и регулировать пролиферацию, дифференцировку и выживание нейронов посредством передачи сигналов AhR. Более того, анализ *in silico* показал, что различные метаболиты Три опосредуют ось микробиота—кишечник—мозг. Эти исследования демонстрируют, что метаболиты Три играют важную роль в ЦНС (Sittipo et al., 2021).

СЕРТОНИНОВЫЙ ПУТЬ ОБМЕНА Три: 90% СЫВОРОТОЧНОГО СЕРТОНИНА ЭНТЕРОЦИТАРНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

В результате декарбоксилирования Три бактериальной триптофандекарбоксилазой (ЕС: 4.1.1.28) образуется специфичная для микроорганизмов ТриСМ — триптамин. В то же время декарбоксилирование 5-гидрокситриптофана происходит в клетках человека и при этом образуется сигнальная молекула — серотонин (Agus et al., 2018). Триптамин при этом регулирует высвобождение серотонина энтерохромаффинными клетками кишечника, который в свою очередь стимулирует моторику желудочно-кишечного тракта, воздействуя на нейроны энтеральной нервной системы (Roager, Licht, 2018).

Серотонин является одним из главных метаболитов Три и регулирует очень многие физиологические функции, например, принимает участие в регуляции аппетита, секреции инсулина, гемостазе и поддержании тонуса сосудов (van Galen et al., 2018). Следует отметить, что образование более чем 90% серотонина в организме человека проис-

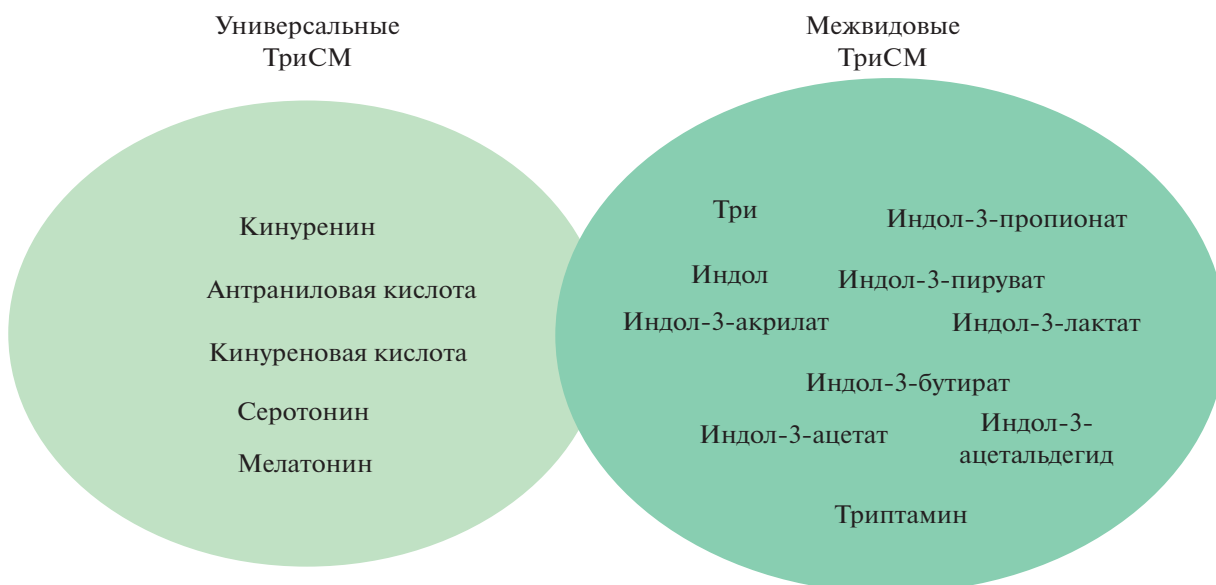


Рис. 3. Универсальные и межвидовые/межцарственные ТриСМ.

ходит именно в кишечнике в энтерохромаффинных клетках (Wang et al., 2020). Однако существует мнение, что ГЭБ непроницаем для данного медиатора, и его основная функция локализована в желудочно-кишечном тракте. Однако сообщалось, что серотонин увеличивает проницаемость ГЭБ, что косвенно влияет на функцию мозга (Abbott, 2000). Микробиота кишечника контролирует серотониновый путь метаболизма Три, благодаря образованию дезоксихолевои кислоты, которая обладает активирующим действием на синтез серотонина (триптофангидроксилаза-1, ЕС: 1.14.16.4) (Agus et al., 2018). Установлено, что у гнотобиотических мышей (безмикробных) было показано снижение серотонина как в толстой кишке, так и в сыворотке крови. Истощенные уровни серотонина представлялось возможным восстановить путем реколонизации несколькими штаммами бактерий, такими как консорциум спорообразующих видов. Кроме того, некоторые роды бактерий, такие как *Candida*, *Streptococcus*, *Escherichia*, *Enterococcus* и *Pseudomonas* могут продуцировать серотонин (Evrensel, Ceylan, 2015).

Серотонин модулирует несколько функций иммунных клеток и является известным мощным модулятором иммунных клеток при аутоиммунных заболеваниях посредством нескольких механизмов. Например, было показано, что серотонин подавляет экспрессию МНС класса II и антиген-презентирующую способность макрофагов. Серотонин также может снижать выработку провоспалительных цитокинов, таких как IL-6 и фактор некроза опухоли α (TNF- α), макрофагами и лимфоцитами (Sittipo et al., 2021).

Серотонин имеет очень важное значение в регуляции перистальтики кишечника и всасывании питательных веществ. Моносахариды пищи стимулируют синтез серотонина энтерохромаффинными клетками кишечника. Кроме того, микробиота кишечника продуцирует короткоцепочечные жирные кислоты, например бутират и ацетат, которые, помимо прочего, выполняют сигнальную функцию, индуцируя экспрессию триптофангидроксилазы-1 и продукцию серотонина в клетках кишечника (Maffei, 2021).

Дефицит периферического (кишечного) серотонина и нарушение серотонинергической сигнализации связан с ожирением (van Galen et al., 2021), компульсивным перееданием и развитием депрессии (McCuen-Wurst et al., 2018). Интересно, что синдром дефицита вознаграждения, который связан с дефицитом серотонина имеет патогенетическое значение в развитии саркопении и саркопенического ожирения. При этом именно саркопеническое ожирение является метаболически нездоровой формой ожирения и приводит к стимуляции неопластического роста (Blum et al., 2021).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Следует отметить, что метаболизм кинуренинов является высококонсервативным во всех эукариотических клетках — от дрожжей до человека (Castro-Portuguez, Sutphin, 2020). Кинурениновый путь имеет две основные ветви, заканчивающиеся продукцией нейроактивного метаболита кинуреновой кислоты или ключевой молекулы всего живого — НАД⁺. Очевидно, что каждая из ветвей более активна в разных тканях и типах кле-

ток, а при иммунной стимуляции срабатывает так называемый кинурениновый переключатель, который перенаправляет весь системный кинуренин на продукцию НАД⁺ в иммунных клетках. Важно отметить, что многие метаболиты кинуренинового пути обмена Три являются универсальными сигнальными молекулами (рис. 3).

Они регулируют многие клеточные функции и имеют разнообразный рецепторный аппарат для реализации своих эффектов как в организме человека, так и в симбиотических микроорганизмах. Регуляторная роль ТриСМ кинуренинового пути обмена сделала данный путь одной из основных потенциальных мишеней в изучении патогенеза нейродегенеративных заболеваний, опухолевого роста, развития метаболического синдрома, ожирения, сахарного диабета и старения.

В настоящее время до конца остается не известно, являются ли индольные производные Три исключительно метаболитами микробиотического происхождения. Так, из проанализированных нами литературных источников найдено, что индол-3-пропионат образуется в иммунных клетках (Shestopalov et al., 2021). Однако это происходит при лейкемии, и многие авторы склонны думать, что индольные метаболиты имеют исключительно микробиотическое происхождение (Wei et al., 2021). Кишечные микроорганизмы секретируют множество метаболитов, которые являются сигнальными молекулами, некоторые из них регулируют функцию клеток и проницаемость барьеров, включая ГЭБ. Важно отметить, что продукция микробиотических метаболитов очень динамична и высокоадаптивна к изменяющимся условиям и диетическим предпочтениям (Lee et al., 2015). Существует мнение, что индолы — это метаболиты микроорганизмов, которые они образуют из пищевого Три и с их помощью подавляют микробную репликацию (Lee et al., 2015). Остается не до конца понятно, метаболизируется ли по индольному пути тот Три, который могут продуцировать микроорганизмы кишечника и какой процент микробиотического Три может быть использован для продукции индольных метаболитов.

Серотонин вне сомнения продуцируется как организмом человека, так и микроорганизмами кишечника. Высокие концентрации серотонина продуцируют *Escherichia*, *Enterococcus* и *Pseudomonas* (Sittipo et al., 2021). Кишечный серотонин выполняет местную регуляторную функцию наравне с влиянием на системный сигнальный фон. Серотонин определяет проницаемость ГЭБ (Abbott, 2000) для сигнальных молекул кинуренинового и индольного путей обмена Три.

Следует резюмировать, что многие из метаболитов обмена Три являются сигнальными молекулами. Некоторые из них универсальны для многих живых организмов, часть из них являются межви-

довыми или межцарственными сигнальными молекулами. Большая часть ТриСМ оказывает свое регуляторное действие через AhR, но имеются и другие разнообразные варианты сигнальной трансдукции. Роль большинства из ТриСМ еще предстоит изучить. Более 100 лет прошло с момента открытия индола, но мы можем только частично оценить биологическую роль данного вещества. Очень многое требует дополнительного исследования. Однако с уверенностью можно утверждать, что современное понимание роли метаболитов Три очень сильно отличается от того, что мы представляли еще 10–15 лет тому назад.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Abbott N.J. Inflammatory mediators and modulation of blood-brain barrier permeability, cellular and molecular neurobiology // Cell Mol. Neurobiol. 2000. V. 20. P. 131–147.
<https://doi.org/10.1023/a:1007074420772>
- Agus A., Planchais J., Sokol H. Gut microbiota regulation of tryptophan metabolism in health and disease // Cell Host Microbe. 2018. V. 23. P. 716–724.
<https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.05.003>
- Badawy A.A. Tryptophan metabolism: a versatile area providing multiple targets for pharmacological intervention // Egypt. J. Basic Clin. Pharmacol. 2019. V. 9. Art. 101415.
<https://doi.org/10.32527/2019/101415>
- Barthelemy A., Sencio V., Soulard D. et al. Interleukin-22 immunotherapy during severe influenza enhances lung tissue integrity and reduces secondary bacterial systemic invasion // Infect. Immun. 2018. V. 86. P. e00706–17.
<https://doi.org/10.1128/IAI.00706-17>
- Behl T., Kaur I., Sehgal A. et al. The footprint of kynurenine pathway in neurodegeneration: janus-faced role in Parkinson's disorder and therapeutic implications // Int. J. Mol. Sci. 2021. V. 22. P. 6737.
<https://doi.org/10.3390/ijms22136737>
- Blum K., Gold M., Lianos-Gomez L. et al. Hypothesizing nutrigenomic-based precision anti-obesity treatment and prophylaxis: should we be targeting sarcopenia induced brain dysfunction? // Int. J. Environ. Res. Publ. Health. 2021. V. 18. P. 9774.
<https://doi.org/10.3390/ijerph18189774>
- Bock K.W. Human and rodent aryl hydrocarbon receptor (AHR): from mediator of dioxin toxicity to physiologic AhR functions and therapeutic options // Biol. Chem. 2017. V. 398. P. 455–464.
<https://doi.org/10.1515/hsz-2016-0303>

- Carbonnelle-Pusian A., Copie-Bergman C., Baia M. et al. The novel immunosuppressive enzyme IL411 is expressed by neoplastic cells of several B-cell lymphomas and by tumor-associated macrophages // *Leukemia*. 2009. V. 23. P. 952–960.
<https://doi.org/10.1038/leu.2008.380>
- Carpenedo R., Pittaluga A., Cozzi A. et al. Presynaptic kynurenate-sensitive receptors inhibit glutamate release // *Eur. J. Neurosci*. 2001. V. 13. P. 2141–2147.
<https://doi.org/10.1046/j.0953-816X.2001.01592.x>
- Castro-Portuguez R., Sutphin G.L. Kynurenine pathway, NAD⁺ synthesis, and mitochondrial function: targeting tryptophan metabolism to promote longevity and healthspan // *Experim. Gerontol*. 2020. V. 132. P. 110841.
<https://doi.org/10.1016/j.exger.2020.110841>
- Cecchi M., Paccosi S., Silvano A. et al. Dexamethasone induces the expression and function of tryptophan-2-3-dioxygenase in SK-Mel-28 melanoma cells // *Pharmaceuticals (Basel)*. 2021. V. 14 (3). P. 211.
<https://doi.org/10.3390/ph14030211>
- Cénit M.C., Matzaraki V., Tigchelaar E. et al. Rapidly expanding knowledge on the role of the gut microbiome in health and disease // *Biochim. Biophys. Acta – Mol. Basis Dis*. 2014. V. 1842. P. 1981–1992.
<https://doi.org/10.1016/j.bbdis.2014.05.023>
- Cervenka I., Agudelo L.Z., Ruas J.L. Kynurenines: tryptophan's metabolites in exercise, inflammation, and mental health // *Science*. 2017. V. 357. P. eaaf9794.
<https://doi.org/10.1126/science.aaf9794>
- Chen M., Yang X., Lai X. et al. Structural investigation for optimization of anthranilic acid derivatives as partial FXR agonists by *in silico* approaches // *Int. J. Mol. Sci*. 2016. V. 17. P. 536.
<https://doi.org/10.3390/ijms17040536>
- Chen Y., Guillemin G.J. Kynurenine pathway metabolites in humans: disease and healthy states // *Int. J. Tryptophan Res*. 2009. V. 2. P. 1–19.
<https://doi.org/10.4137/ijtr.s2097>
- Chimerel C., Emery E., Summers D. et al. Bacterial metabolite indole modulates incretin secretion from intestinal enteroendocrine L cells // *Cell Rep*. 2014. V. 9. P. 1202–1208.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.10.032>
- Connor T.J., Neasa S., Sullivan J. et al. Induction of indoleamine 2,3-dioxygenase and kynurenine 3-monooxygenase in rat brain following a systemic inflammatory challenge: a role for IFN-gamma? // *Neurosci. Lett*. 2008. V. 441 (1). P. 29–34.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.06.007>
- Deng Y., Lim A., Lee J. et al. Diffusible signal factor (DSF) quorum sensing signal and structurally related molecules enhance the antimicrobial efficacy of antibiotics against some bacterial pathogens // *BMC Microbiol*. 2014. V. 14. P. 51.
<https://doi.org/10.1186/1471-2180-14-51>
- Díez-Sainz E., Lorente-Cebrian S., Arana P. et al. Potential mechanisms linking food-derived microRNAs, gut microbiota and intestinal barrier functions in the context of nutrition and human health // *Front. Nutr*. 2021. V. 8. P. 586564.
<https://doi.org/10.3389/fnut.2021.586564>
- Ehrlich A.M., Pacheco A., Henrick B. et al. Indole-3-lactic acid associated with *Bifidobacterium*-dominated microbiota significantly decreases inflammation in intestinal epithelial cells // *BMC Microbiol*. 2020. V. 20. P. 356.
<https://doi.org/10.1186/s12866-020-02023-y>
- Evrensel A., Ceylan M.E. The gut-brain axis: the missing link in depression // *Clin. Psychopharmacol. Neurosci*. 2015. V. 13. P. 239–244.
<https://doi.org/10.9758/cpn.2015.13.3.239>
- Ferreira F.S., Santos T., Junior O. et al. Quinolinic acid impairs redox homeostasis, bioenergetic, and cell signaling in rat striatum slices: prevention by coenzyme Q10 // *Neurotox. Res*. 2022. V. 40. P. 473–484.
<https://doi.org/10.1007/s12640-022-00484-9>
- van Galen K.A., Horst K., Booij J. et al. The role of central dopamine and serotonin in human obesity: lessons learned from molecular neuroimaging studies // *Metabolism: Clin. Experim*. 2018. V. 85. P. 325–339.
<https://doi.org/10.1016/j.metabol.2017.09.007>
- van Galen K.A., Horst K.W., Serlie M.J. Serotonin, food intake, and obesity // *Obesity Rev*. 2021. V. 22. P. e13210.
<https://doi.org/10.1111/obr.13210>
- Gao K., Mu C., Farzi A. et al. Tryptophan metabolism: a link between the gut microbiota and brain // *Adv. Nutr*. 2020. V. 11. P. 709–723.
<https://doi.org/10.1093/advances/nmz127>
- Grifka-Walk H.M., Jenkins B.R., Kominsky D.J. Amino acid Trp: the far out impacts of host and commensal tryptophan metabolism // *Front. Immunol*. 2021. V. 12. P. 653208.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.653208>
- Guo J., Williams D., Puhl H. et al. Inhibition of N-type calcium channels by activation of GPR35, an orphan receptor, heterologously expressed in rat sympathetic neurons // *J. Pharmacol. Experim. Therap*. 2008. V. 324. P. 342–351.
<https://doi.org/10.1124/jpet.107.127266>
- Gutiérrez-Vázquez C., Quintana F.J. Regulation of the immune response by the aryl hydrocarbon receptor // *Immunity*. 2018. V. 48 (1). P. 19–33.
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.12.012>
- Hendrikx T., Schnabl B. Indoles: metabolites produced by intestinal bacteria capable of controlling liver disease manifestation // *J. Int. Med*. 2019. V. 286. P. 32–40.
<https://doi.org/10.1111/joim.12892>
- Jones S.P., Guillemin G.J., Brew B.J. The kynurenine pathway in stem cell biology // *Int. J. Tryptophan Res*. 2019. V. 6. P. 57–66.
<https://doi.org/10.4137/IJTR.S12626>
- Kita T., Morrison P., Heyes M. et al. Effects of systemic and central nervous system localized inflammation on the contributions of metabolic precursors to the L-kynurenine and quinolinic acid pools in brain // *J. Neurochem*. 2002. V. 82. P. 258–268.
<https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2002.00955.x>
- Konopelski P., Mogilnicka I. Biological effects of indole-3-propionic acid, a gut microbiota-derived metabolite, and its precursor tryptophan in mammals' health and disease // *Int. J. Mol. Sci*. 2022. V. 23. P. 1222.
<https://doi.org/10.3390/ijms23031222>
- Krishnan S., Ding Y., Saedi N. et al. Erratum: gut microbiota-derived tryptophan metabolites modulate inflam-

- matory response in hepatocytes and macrophages // *Cell Rep.* 2018. V. 23. P. 1099–1111.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.08.080>
- Kumar P., Lee J.H., Lee J. Diverse roles of microbial indole compounds in eukaryotic systems // *Biol. Rev.* 2021. V. 96. P. 2522–2545.
<https://doi.org/10.1111/brv.12765>
- Labadie B.W., Bao R., Luke J.J. Reimagining IDO pathway ion axis // *Clin. Cancer Res.* 2019. V. 25. P. 1462–1471.
<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-2882>
- Lee J.H., Wood T.K., Lee J. Roles of indole as an interspecies and interkingdom signaling molecule // *Trends Microbiol.* 2015. V. 23. P. 707–718.
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2015.08.001>
- Maffei M.E. 5-hydroxytryptophan (5-htp): Natural occurrence, analysis, biosynthesis, biotechnology, physiology and toxicology // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. P. 181.
<https://doi.org/10.3390/ijms22010181>
- Mangge H., Summers K., Mrinitzer A. et al. Obesity-related dysregulation of the tryptophan-kynurenine metabolism: role of age and parameters of the metabolic syndrome // *Obesity.* 2014. V. 22. P. 195–201.
<https://doi.org/10.1002/oby.20491>
- Marszalek-Grabska M. et al. Kynurenine emerges from the shadows – current knowledge on its fate and function // *Pharmacol. Therap.* 2021. V. 225. P. 107845.
<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2021.107845>
- Marszalek-Grabska M., Stachniuk A., Iwaniak P. et al. Unexpected content of kynurenine in mother's milk and infant formulas // *Sci. Rep.* 2022. V. 12. P. 6464.
<https://doi.org/10.1038/S41598-022-10075-5>
- McCuen-Wurst C., Ruggieri M., Allison K.C. Disordered eating and obesity: associations between binge-eating disorder, night-eating syndrome, and weight-related comorbidities // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2018. V. 1411. P. 96–105.
<https://doi.org/10.1111/nyas.13467>
- de Mello V.D., Paananen J., Lindstrom J. et al. Indolepropionic acid and novel lipid metabolites are associated with a lower risk of type 2 diabetes in the Finnish diabetes prevention study // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. P. 46337.
<https://doi.org/10.1038/srep46337>
- O'Mahony S.M., Clarke G., Borre Y.E. et al. Serotonin, tryptophan metabolism and the brain–gut–microbiome axis // *Behav. Brain Res.* 2015. V. 277. P. 32–48.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.07.027>
- Opitz C.A., Litzenburger U., Sahm F. et al. An endogenous tumour-promoting ligand of the human aryl hydrocarbon receptor // *Nature.* 2011. V. 478. P. 197–203.
<https://doi.org/10.1038/nature10491>
- Platten M., Nollen E., Rohrig U. et al. Tryptophan metabolism as a common therapeutic target in cancer, neurodegeneration and beyond // *Nat. Rev. Drug Dis.* 2019. V. 18. P. 379–401.
<https://doi.org/10.1038/s41573-019-0016-5>
- Qiao P., Zhang C., Yu J. et al. Quinolinic acid, a tryptophan metabolite of the skin microbiota, negatively regulates NLRP3 inflammasome through AhR in psoriasis // *J. Invest. Dermatol.* 2022. V. 142. P. 2184–2193.
<https://doi.org/10.1016/j.jid.2022.01.010>
- Roager H.M., Licht T.R. Microbial tryptophan catabolites in health and disease // *Nat. Commun.* 2018. V. 9. P. 3294.
<https://doi.org/10.1038/s41467-018-05470-4>
- Sas K., Szabó E., Vécsei L. Mitochondria, oxidative stress and the kynurenine system, with a focus on ageing and neuroprotection // *Molecules.* 2018. V. 23. P. 191.
<https://doi.org/10.3390/molecules23010191>
- Savitz J. The kynurenine pathway: a finger in every pie // *Mol. Psych.* 2020. V. 25. P. 131–147.
<https://doi.org/10.1038/s41380-019-0414-4>
- Shestopalov A.V., Shatova O.P., Komarova E.F. et al. Features of metabolic coupling in the “superorganism” system (host–microbiota) // *Crim. J. Experim. Clin. Med.* 2020a. V. 10. P. 95–103.
<https://doi.org/10.37279/2224-6444-2020-10-2-95-103>
- Shestopalov A.V., Shatova O.P., Karbyshev M.S. et al. “Kynurenine switch” and obesity // *Bull. Siberian Med.* 2020b. V. 4. P. 103–111.
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-4-103-111>
- Shestopalov A.V. et al. Coupling features of intestinal and serum indole pools in obesity // *Probl. Biol. Med. Pharm. Chem.* 2021. V. 24. P. 3–12.
<https://doi.org/10.29296/25877313-2021-10-01>
- Silva S., Shimizu J., Oliveira D. et al. A diarylamine derived from anthranilic acid inhibits ZIKV replication // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. P. 17703.
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-54169-z>
- Sittipo P. Brain profiling in murine colitis and human epilepsy reveals neutrophils and TNF α as mediators of neuronal hyperexcitability // *J. Neuroinflamm.* 2021. V. 19. P. 154.
<https://doi.org/10.1186/s12974-022-02510-1>
- Song S., Yin W., Sun X. et al. Anthranilic acid from *Ralstonia solanacearum* plays dual roles in intraspecies signaling and inter-kingdom communication // *ISME J.* 2020. V. 14. P. 2248–2260.
<https://doi.org/10.1038/s41396-020-0682-7>
- Stone T.W., Perkins M.N. Quinolinic acid: a potent endogenous excitant at amino acid receptors in CNS // *Eur. J. Pharmacol.* 1981. V. 72. P. 411–412.
[https://doi.org/10.1016/0014-2999\(81\)90587-2](https://doi.org/10.1016/0014-2999(81)90587-2)
- Sun M., Ma N., He T. et al. Tryptophan (Trp) modulates gut homeostasis via aryl hydrocarbon receptor (AhR) // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2020. V. 60. P. 1760–1768.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1598334>
- Szelest M., Walczak K., Plech T. A new insight into the potential role of tryptophan-derived AhR ligands in skin physiological and pathological processes // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. P. 1104.
<https://doi.org/10.3390/ijms22031104>
- Thomas T., Stefanoni D., Reisz J. et al. COVID-19 infection alters kynurenine and fatty acid metabolism, correlating with IL-6 levels and renal status // *JCI Insight.* 2019. V. 5. P. e140327.
<https://doi.org/10.1172/JCI.INSIGHT.140327>
- Tunaru S., Kero J., Schaub A. et al. PUMA-G and HM74 are receptors for nicotinic acid and mediate its anti-lipolytic effect // *Nat. Med.* 2003. V. 9. P. 352–355.
<https://doi.org/10.1038/nm824>
- Vamos E., Pardutz A., Klivenyi P. et al. The role of kynurenines in disorders of the central nervous system: possibilities for neuroprotection // *J. Neurol. Sci.* 2009.

- V. 283. P. 21–27.
<https://doi.org/10.1016/j.jns.2009.02.326>
- Venkatesh M., Mukherjee S., Wang H. et al. Symbiotic bacterial metabolites regulate gastrointestinal barrier function via the xenobiotic sensor PXR and toll-like receptor 4 // *Immunity*. 2014. V. 41. P. 296–310.
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.06.014>
- Vyhlídalová B., Krrasulova K., Pecinkova P. et al. Gut microbial catabolites of tryptophan are ligands and agonists of the aryl hydrocarbon receptor: a detailed characterization // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. P. 2614.
<https://doi.org/10.3390/ijms21072614>
- Wang S.Z., Yu Y.J., Adeli K. Role of gut microbiota in neuroendocrine regulation of carbohydrate and lipid metabolism via the microbiota–gut–brain–liver axis // *Microorganisms*. 2020. V. 8. P. 527.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8040527>
- Wei G.Z., Martin K.A., Xing P.Y. et al. Tryptophan-metabolizing gut microbes regulate adult neurogenesis via the aryl hydrocarbon receptor // *PNAS USA*. 2021. V. 118 (27). P. e2021091118.
<https://doi.org/10.1073/pnas.2021091118>
- Wolf A.M., Wolf D., Rumpold H. et al. Overexpression of indoleamine 2,3-dioxygenase in human inflammatory bowel disease // *Clin. Immunol.* 2004. V. 113. P. 47–55.
<https://doi.org/10.1016/j.clim.2004.05.004>
- Zádori D., Klivenyi P., Szalardy L. et al. Mitochondrial disturbances, excitotoxicity, neuroinflammation and kynurenes: novel therapeutic strategies for neurodegenerative disorders // *J. Neurol. Sci.* 2012. V. 322. P. 187–191.
<https://doi.org/10.1016/j.jns.2012.06.004>
- Zunszain P.A., Anacker C., Cattaneo A. et al. Interleukin-1 β : a new regulator of the kynurenine pathway affecting human hippocampal neurogenesis // *Neuropsychopharmacology*. 2012. V. 37. P. 939–949.
<https://doi.org/10.1038/npp.2011.277>

Tryptophan Metabolism: A New Look at the Role of Tryptophan Derivatives in the Human Body

O. P. Shatova^{a, *} and A. V. Shestopalov^{a, b}

^aPirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

^bRogachev National Medical Research Center for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia

*e-mail: shatova.op@gmail.com

In modern scientific literature, close attention is paid to the biological role of tryptophan catabolites both in normal conditions and in various pathologies. There are more and more reports that tryptophan metabolism catabolites play a signaling role in the human body and in the intestinal microbial community. Receptors and signaling pathways in the human body, the so-called tryptophan signaling molecules (TrySM), their cellular targets, physiological and metabolic effects are being actively studied. It has now been established that almost all catabolites of tryptophan metabolism are signaling molecules. Many of them realize their signaling role through aryl hydrocarbon receptors (AhR). The dominant pathway of tryptophan metabolism for the human body is the kynurenine pathway, which is the source of universal signaling molecules – kynurenine, quinolinic and kynurenic acids. The indole pathway of tryptophan catabolism, the main one for the microbiota, with the exception of indole formation reactions in immunocompetent cells, is a source of interregional and interspecies signaling molecules – indole and its derivatives: indole-3-pyruvate, indole-3-lactate, indole-3-acetate, indole-3-propionate, indole-3-acrylate, indole-3-butyrate and indole-3-acetaldehyde. Serotonin and melatonin are also universal signaling molecules and have been widely studied in various diseases of the nervous system.

Keywords: tryptophan, signaling molecules, kynurenine pathway, indoles, intestinal microbiota

УДК 632.938

РОЛЬ $\gamma\delta$ Т-ЛИМФОЦИТОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ С ПОРАЖЕНИЕМ КОЖИ

© 2023 г. Е. В. Сорокина^{1, 2, *}, И. В. Бишева¹, Н. В. Мишина^{1, 2}, В. Н. Столпникова¹

¹Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия

²Академия постдипломного образования Федерального научно-клинического центра специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Россия

*e-mail: sorokina-cathrine@yandex.ru

Поступила в редакцию 11.07.2022 г.

После доработки 12.09.2022 г.

Принята к публикации 15.09.2022 г.

Аутоиммунные заболевания характеризуются тяжелым течением, осложнениями на ранних стадиях, инвалидизацией и ранней летальностью. Выявлено, что в развитии аутоиммунных заболеваний принимают участие субпопуляции $\gamma\delta$ Т-клеток, способствуя повреждению тканей. Воспалительные функции $\gamma\delta$ Т-клеток реализуются путем синтеза вовлеченных в развитие аутоиммунитета цитокинов IL-17, IFN γ , TNF- α . Различные субпопуляции $\gamma\delta$ Т-клеток ассоциируются с разными аутоиммунными заболеваниями в зависимости от их экспрессии в тканях. В данном обзоре мы рассматриваем исследования, посвященные роли $\gamma\delta$ Т-клеток при аутоиммунных заболеваниях, таких как ревматоидный артрит, псориаз, псориатический артрит, системная красная волчанка и склеродермия. Благодаря уникальным свойствам $\gamma\delta$ Т-клеток, охватывающим функции адаптивного и врожденного иммунитета, более глубокое изучение этой уникальной популяции Т-клеток прольет новый свет на патогенез этих заболеваний и поиск новых терапевтических подходов.

Ключевые слова: аутоиммунные заболевания, ревматоидный артрит, псориаз, псориатический артрит, системная красная волчанка, склеродермия, $\gamma\delta$ Т-лимфоциты

DOI: 10.31857/S0042132423010088, **EDN:** HLHONI

Аутоиммунные заболевания (АИЗ) встречаются примерно у 1–5% в общей популяции и характеризуются длительным, хроническим течением с периодами ремиссий и обострений. В основе патогенеза лежит альтерация иммунного ответа, приводящая к образованию аутореактивных Т-клеток и/или синтезу аутоантител. Среди АИЗ особое место занимают патологии с вовлечением кожных покровов и слизистых оболочек, недавние клинические и фундаментальные исследования которых позволили по-новому взглянуть на клеточные и молекулярно-биологические пути их развития. При дискоидной красной волчанке, герпетиформном дерматите, некротическом кожном васкулите выявляется выраженная инфильтрация кожи $\gamma\delta$ Т-клетками (Alaibac et al., 2006).

Исследования, проведенные еще в 1990-х гг., продемонстрировали количественные изменения $\gamma\delta$ Т-клеток в периферической крови и в пораженных тканях пациентов с различными АИЗ, что позволило предположить важность их роли в иммуннопатогенезе хронических воспалительных заболеваний (Bank, Marcus-Malina, 2013). Структурные особенности Т-клеточного рецептора лимфоцитов, выявленные в середине 1980-х гг. XX в. стали

основанием для деления Т-лимфоцитов на $\alpha\beta$ и $\gamma\delta$ Т-лимфоциты. Основное внимание исследователей уделялось изучению фенотипических и функциональных особенностей $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов, в то время как $\gamma\delta$ Т-лимфоциты стали интенсивно изучаться с 1990-х гг.

$\gamma\delta$ Т-лимфоциты обнаруживаются в небольшом количестве в периферической крови, составляя не более 10% (Пичугина, 2008; Хайдуков и др., 2008), а также в коже и слизистых оболочках (Нижгородова, Зафранская, 2009). В связи с широким распространением в эпителиальных тканях, $\gamma\delta$ Т-лимфоциты еще называются интраэпителиальными. В покое интраэпителиальные Т-лимфоциты не экспрессируют рецепторы CD4 и CD8, но при появлении активирующих сигналов $\gamma\delta$ Т-лимфоциты способны дифференцироваться в Т-хелперные (CD4⁺) или в Т-цитотоксические лимфоциты (CD8⁺). В отличие от $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов, презентация антигенов $\gamma\delta$ Т-лимфоцитам происходит без участия молекул главного комплекса гистосовместимости HLA (human leukocyte antigen) II класса, что способствует быстрому иммунному ответу. Рецепторы $\gamma\delta$ Т-клеток опосредуют прямое распознавание непептидных мо-

лекул, таких как бутирофилин, экспрессируемый на поверхности клеток (распознавание и стимулирующие свойства которого усиливаются внутриклеточными низкомолекулярными фосфоантгенами), фикоэритрин, гликозиды, tPHK-синтаза и другие внутриклеточные ферменты, белки теплового шока (HSP, heat shock proteins) (Bank, 2020). Интраэпителиальным $\gamma\delta$ Т-лимфоцитам отводится роль “сторожевых” клеток эпителиальных тканей, обладающих способностями к распознаванию и уничтожению патогенов и собственных патологически измененных эпителиальных клеток. Активированные $\gamma\delta$ Т-клетки синтезируют ряд цитокинов, таких как интерферон гамма (IFN γ), фактор некроза опухоли альфа (TNF- α), интерлейкины IL-17, IL-22 и др. Имеются данные о том, что $\gamma\delta$ Т-лимфоциты синтезируют ростовые факторы – фактор роста кератиноцитов (keratinocyte growth factor, KGF), фактор роста фибробластов (fibroblast growth factor, FGF) и др., участвующие в репарации собственных органов и тканей (Нижегородова, Зафранская, 2009). Синтезируя провоспалительные цитокины, они индуцируют синтез аутоантител В-лимфоцитами (Li et al., 2017). Помимо секреции цитокинов, $\gamma\delta$ Т-клетки также синтезируют хемокины (Пинегин и др., 2013), которые влияют на привлечение других иммунных клеток в очаг воспаления и модулируют их функцию. Некоторые из этих иммуноцитов в микроокружении воспаления проявляют иммуносупрессивную активность. $\gamma\delta$ Т-лимфоциты обладают цитотоксическим потенциалом в отношении инфицированных, опухолевых, аутореактивных клеток за счет синтеза и секреции провоспалительных цитокинов и цитотоксических белков (перфорины, гранзимы, гранулизины, катепсин С и др.) (Нижегородова, Зафранская, 2009).

В настоящее время большие надежды возлагаются на разработанную технологическую платформу “GammaDelta Therapeutics”, созданную для обеспечения фармацевтическими препаратами пациентов с онкологическими, инфекционными заболеваниями (ЦМВ, ВИЧ) и воспалительными заболеваниями кишечника (<https://mosmed-preparaty.ru/news/37553>).

Одной из наиболее распространенных системных аутоиммунных патологий является ревматоидный артрит (РА) с заболеваемостью 0.5–1% в общей популяции (Cojocaru et al., 2010; Radu, Burgau, 2021; Conforti et al., 2021). РА характеризуется накоплением аутореактивных Т-клеток в синовиальной жидкости и суставных тканях и увеличением числа $\gamma\delta$ Т-клеток в синовиальной жидкости (Sourav et al., 2015) на фоне снижения числа $\gamma\delta$ Т-клеток в периферической крови по сравнению с здоровыми донорами ($1.38 \pm 1.08\%$ против $3.23 \pm 2.12\%$, $p < 0.05$) (Liu et al., 1999). Снижение $\gamma\delta$ Т-клеток в периферической крови также выявлено у пациентов с псориатическим артритом (ПСА) (Gaur et al., 2015).

При изучении взаимодействия субпопуляций $\gamma\delta$ Т-клеток с различными иммунными клетками в экспериментальных мышинных моделях коллаген-индуцированного артрита было обнаружено, что после введения 1-й дозы инъекции коллагенового антигена количество $\gamma\delta$ Т-клеток $V\gamma 1^+$ и $V\gamma 4^+$ увеличилось, но активировались только клетки $V\gamma 4^+$ (Roark et al., 2007). Важно отметить, что, как в дренирующем лимфатическом узле, так и в суставах, подавляющее большинство клеток $V\gamma 4/V\delta 4^+$ продуцировали IL-17 – цитокин, который, по видимому, играет ключевую роль в развитии коллаген-индуцированного артрита (Roark et al., 2008). Показано, что количество продуцирующих IL-17 $V\gamma 4^+$ $\gamma\delta$ Т-клеток в дренирующих лимфатических узлах коррелирует с числом $CD4^+ \alpha\beta^+ Th-17$ клеток. При истощении $V\gamma 4^+$ -клеток отмечалось снижение тяжести клинических проявлений на фоне снижения общего уровня IgG и IgG2a антител к коллагену.

Было выявлено, что $\gamma\delta$ Т-клетки мигрируют в очаг воспаления, что, вероятно, способствует прогрессированию РА (Bank, Marcu-Malina, 2013). Секретируемый $\gamma\delta$ Т-клетками IL-17 индуцирует экспрессию RANKL (receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, гликопротеин семейства TNF) и синтез провоспалительных цитокинов IL-1 и TNF- α . Помимо $\gamma\delta$ Т-клеток, остеобласты и синовиальные фибробласты посредством секреции RANKL, матриксных металлопротеиназ (MMPs), способствуют прогрессированию РА (Jung, 2014).

Кроме того, во время активного заболевания отмечено повышение экспрессии антигена HLA-DR на $\gamma\delta$ Т-клетках (Lamour et al., 1992). В крови содержание $V\gamma 9^+V\delta 2^+$ Т-клеток снижается преимущественно на поздних стадиях заболевания. Кроме того, поскольку в крови отмечается снижение числа $V\gamma 9^+V\delta 2^+$ Т-клеток на фоне повышения их количества в синовиальной жидкости, миграция этой субпопуляции в очаг воспаления является одним из механизмов накопления Т-клеток в очаге. Таким образом, субпопуляции $\gamma\delta$ Т-клеток и продуцируемые ими цитокины, а также взаимодействие их с другими иммунными и неиммунными клетками могут влиять на патогенез РА.

К гетерогенной группе аутоиммунных ревматических заболеваний также относят псориатический артрит (ПсА), системную красную волчанку (СКВ), синдром Шегрена, склеродермию, спондилоартрит, полимиозит.

Псориаз – хроническое воспалительное заболевание кожи, характеризующееся экспансией патогенных аутореактивных Т-клеток (Sourav et al., 2015). Наряду с участием адаптивных иммунных Т-клеток, таких как Th1, Th17 и Treg в первичной манифестации заболевания, $\gamma\delta$ Т-клетки также играют важную роль в прогрессировании болезни. $\gamma\delta$ Т-клетки продуцируют IL-17A, IL-17F и IL-22 (Ogawa et al., 2018). Дермальные $\gamma\delta$ Т-клетки конститутивно экспрессируют IL-23R, и в ответ

на стимуляцию IL-23 синтезируют значительные уровни IL-17, что способствует развитию воспаления при псориазе (Cong, 2016). Внутрикожная инъекция IL-23 приводит к накоплению позитивных по C-С-хемокиновому рецептору 6-го типа (CCR6) $\gamma\delta$ Т-клеток (CCR6⁺ $\gamma\delta$ Т-клеток) в эпидермисе, секреции повышенного количества IL-17A и IL-22 и вызывает тяжелый псориазоподобный дерматит (Cochez et al., 2017). В экспериментальных исследованиях показано, что V γ 4⁺ $\gamma\delta$ Т-клетки продуцируют повышенные уровни IL-17A и связаны с прогрессированием псориаза (Cai et al., 2014), что согласуется с аналогичными исследованиями при других аутоиммунных заболеваниях. В пораженной коже пациентов с псориазом выявлено повышенное количество IL-17-продуцирующих $\gamma\delta$ Т-клеток (Bank, 2020). Кроме того, были идентифицированы V γ 9V δ 2-клетки, мигрирующие в кожу, экспрессирующие кожный лимфоцитарный антиген (CLA) и CCR6, который играет важную роль при псориазе. Было обнаружено, что содержание популяции V γ 9V δ 2-клеток увеличивается в пораженной коже, но снижается в крови у больных псориазом (Davey et al., 2018), что позволяет предположить, что мобилизация $\gamma\delta$ Т-клеток в воспаленную кожу и их эффекторная функция способствуют прогрессированию дерматоза.

Существенные клинические и фундаментальные результаты исследований за последнее десятилетие доказали, что ось интерлейкин IL-23/Th17 играет важную роль в патогенезе псориаза (Насонов и др., 2019; Hawkes et al., 2018; Ogawa et al., 2018). Было показано снижение интенсивности развития псориазоподобного воспаления у мышей с дефицитом IL-23 и IL-17 (Rizzo et al., 2011; Tortola et al., 2012). Инъекции IL-23 в кожу мышей или применение крема имиквимода (IMQ) индуцировали типичный псориазоподобный фенотип, то есть гиперкератоз, эритему и воспаление. Показано снижение гиперкератоза и воспалительной реакции, индуцированных IL-23/IMQ, при дефиците Т-клеточного рецептора d (Tcrd^{-/-}) мышей, однако никаких существенных изменений не наблюдалось у мышей с дефицитом Т-клеточного рецептора b (Tcrb^{-/-}) (Cai et al., 2011). Кроме того, при стимуляции IL-23 уровень IL-17, продуцируемого мышами Tcrd^{-/-}, был значительно ниже по сравнению с мышами WT или Tcrb^{-/-} (Cai et al., 2014). Эти данные также свидетельствуют о том, что $\gamma\delta$ Т-клетки кожи являются основными клетками, продуцирующими IL-17 в коже в ответ на стимуляцию IL-23.

Для выработки IL-17 кожными $\gamma\delta$ Т-клетками требуется эндогенный IL-1b (Cai et al., 2011). Исследования, посвященные изучению роли отдельных субпопуляций $\gamma\delta$ -клеток в развитии воспаления, показали, что как V γ 4⁺, так и V γ 6-дермальные Т-клетки продуцируют IL-17, однако дермальные Т-клетки V γ 4 продуцируют значительно больше IL-17 по сравнению с V γ 6 (Cai et al., 2014). Дер-

мальная пролиферация Т-клеток V γ 4 и продукция ими IL-17 зависят от STAT3, тогда как дермальные Т-клетки V γ 6 могут активироваться через независимый от STAT3 путь RELA/NF- κ B (Cai et al., 2014). Таким образом, дермальные Т-клетки V γ 4, по-видимому, играют решающую роль в вызванном имиквимодом псориазоподобном дерматите.

Адаптивные иммунные реакции Т-клеток памяти не ограничиваются чужеродными антигенами, и рецидивы аутоиммунных заболеваний обычно обусловлены аутоагрессивными лимфоцитами памяти. Рецидивы псориаза на одних и тех же участках кожи, вероятно, так же обусловлены клетками иммунной памяти. Было показано, что реакция человеческих V γ 9⁺V δ 2⁺ Т-клеток на фосфоантигены усиливается после первоначальной вакцинации против *Mycobacterium bovis* BCG (Diel et al., 2000). Было обнаружено, что мышинные клетки памяти V γ 6⁺ $\gamma\delta$ Т сохраняются более пяти месяцев в брыжеечных лимфатических узлах после инфекции *Listeria monocytogenes* (Sheridan et al., 2013). После воздействия кремом, содержащим имиквимод, было показано, что клетки V γ 4⁺ $\gamma\delta$ T17 кожи пролиферируют в дренирующих лимфатических узлах, а затем высвобождаются из них и мигрируют под действием хемокина CCR2, накапливаясь в очагах воспаления. Это, в свою очередь, усиливает воспалительную реакцию и рекрутирование нейтрофилов. У сенсibilizированных мышей было выявлено выраженное воспаление кожи, значительная клеточная пролиферация и синтез IL-17 V γ 4⁺ $\gamma\delta$ Т-клетками. Эксперименты по адаптивному переносу подтвердили, что клетки памяти V γ 4⁺ $\gamma\delta$ T17 быстро реагируют, это способствует их вовлечению в рецидив псориаза (Ramirez-Valle et al., 2015; Hartwig et al., 2015; Zhu et al., 2017).

В здоровой коже человека $\gamma\delta$ Т-клетки встречаются редко (Holtmeier et al., 2001). Повышенный уровень Т-клеток V γ 9V δ 2 наблюдается в очагах псориаза, в то время как в крови больных псориазом число клеток V γ 9V δ 2 снижено по сравнению с здоровыми добровольцами. В результате терапии псориаза отмечается нормализация числа циркулирующих Т-клеток V γ 9V δ 2. Эти результаты продемонстрировали перераспределение Т-клеток V γ 9V δ 2 из крови в кожу больных псориазом (Laggner et al., 2011). Кроме того, было показано, что Т-клетки V γ 9V δ 2 продуцируют цитокины IFN γ , TNF- α , IL-17A, IL-8 и хемокины CCL3, CCL4, CCL5, CCR6. Эти цитокины и хемокины отвечают за привлечение важнейших иммунных эффекторных клеток в кожу для активации кератиноцитов (Pang et al., 2012).

Исследования, посвященные изучению иммуногенеза другого аутоиммунного заболевания — системной красной волчанки (СКВ), характеризующейся выработкой аутоантител против различных ядерных и цитоплазматических антигенов (Ip-

polito et al., 2011; Sourav et al., 2015), показали, что $\gamma\delta$ Т-клетки (подтипы V δ 1 и V δ 2) присутствовали в значительно меньшем количестве в крови пациентов с СКВ по сравнению со здоровыми контрольными группами. Исследования выявили олигоклональную природу $\gamma\delta$ Т-клеток при СКВ (Olive et al., 1994). Имеются данные о снижении числа V δ 2⁺ $\gamma\delta$ Т-клеток и увеличении V δ 3⁺ $\gamma\delta$ Т-клеток у пациентов с СКВ (Robak et al., 2001). Выявлено, что $\gamma\delta$ Т-клетки у пациентов с СКВ секретируют IFN γ , IL-4, IL-10 и TGF- β , но не IL-17 (Lu et al., 2016). У больных СКВ также наблюдалась повышенная экспрессия активирующих рецепторов CD69 и HLA-DR на $\gamma\delta$ Т-клетках (Wang et al., 2013).

При исследовании 21 больного СКВ (Wang et al., 2013) выявлено снижение количества $\gamma\delta$ Т-клеток по сравнению со здоровыми, в то время как экспрессия активационных маркеров HLA-DR⁺ и CD69⁺ на $\gamma\delta$ Т-клетках была значительно выше у больных ($p < 0.001$ и $p < 0.05$ соответственно). В работе (Ma et al., 2016) изучали $\gamma\delta$ Т-клетки, выделенные из периферической крови 14 здоровых добровольцев и 22 пациентов с СКВ до лечения и через 4 и 12 недель после начала приема глюкокортикоидов (ГК), микофенолата мофетила или гидроксихлорохина. Было выявлено, что у больных СКВ снижено количество как $\gamma\delta$ Т-клеток в целом, так и субпопуляции V γ 9⁺ $\gamma\delta$ Т-клеток и CD4⁺CD8⁺ $\gamma\delta$ Т-клеток, секретирующих TNF- α /IL-17. В процессе лечения уровень $\gamma\delta$ Т-клеток нормализовался, коррелируя с клинической эффективностью. Была выявлена обратная корреляция между индексом активности заболевания и числом $\gamma\delta$ Т-клеток, особенно в отношении TNF α ⁺ $\gamma\delta$ Т-клеток, TNF⁺ V γ 9⁺ $\gamma\delta$ Т-клеток и IL-17⁺ CD4⁺CD8⁺ $\gamma\delta$ Т-клеток, а также положительная корреляция между уровнем С3-компонента комплемента и $\gamma\delta$ Т-клетками, продуцирующими IL-17.

Значительное снижение доли общих $\gamma\delta$ Т-клеток и V δ 2 Т-клеток было выявлено у пациентов с впервые выявленной СКВ по сравнению со здоровыми ($p = 0.016$ для $\gamma\delta$ Т-клеток, $p = 0.003$ для подгруппы V δ 2, наряду с увеличением доли V δ 1 у пациентов с неактивной СКВ ($p = 0.004$). Уровень CD27⁺ CD45RA⁺-субпопуляции ($\gamma\delta$ Т-клетки центральной памяти), был значительно снижен по сравнению со здоровыми, как у пациентов с активной СКВ, так и у пациентов с неактивной СКВ. Абсолютное количество $\gamma\delta$ Т-клеток так же было значительно снижено у пациентов с активной СКВ, как и субпопуляции V δ 1 и V δ 2. После лечения, однако, количество $\gamma\delta$ Т-клеток восстанавливалось до нормального уровня, а количество клеток V δ 1 было выше нормы. Хотя количество клеток V δ 2 в некоторой степени возросло, оно оставалось значительно ниже, чем у здоровых доноров. Кроме того, наблюдалась отрицательная корреляция между индексом активности заболевания СКВ и количеством V δ 1 и V δ 2 $\gamma\delta$ Т-клеток. Количество CD27⁺CD45RA⁺ $\gamma\delta$ Т-клеток также отрицательно

коррелировало с индексом активности заболевания СКВ.

В отличие от содержания в крови, процент $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов в коже больных СКВ был в два раза выше ($22.0 \pm 9.5\%$), чем в коже здоровых лиц ($11.1 \pm 5.5\%$) ($p < 0.002$), и более высокий процент был отмечен у пациентов с активным течением заболевания ($27.0 \pm 9.4\%$), чем при неактивной форме СКВ ($5.6 \pm 16.6\%$) ($p < 0.002$). Аналогичные различия были отмечены в процентном соотношении для субпопуляций V δ 2⁺ и V γ 9⁺ у пациентов с СКВ по сравнению со здоровыми людьми. Что касается субпопуляции V δ 3, более высокий процент наблюдался у пациентов с активной СКВ ($10.5 \pm 4.8\%$), чем у пациентов с неактивной СКВ ($6.8 \pm 3.5\%$; $p < 0.03$) и у здоровых лиц ($3.6 \pm 3.1\%$, $p < 0.02$). Напротив, количество CD3⁺-лимфоцитов в коже больных СКВ и здоровых людей было сопоставимым (81.4 ± 7.9 и $83.0 \pm 13.4\%$ соответственно; $p > 0.05$).

В крови пациентов с СКВ было значительно меньшее количество $\gamma\delta$ Т-клеток ($26.4 \pm 16.9/\text{мл}$), чем у здоровых людей ($55.3 \pm 20.6/\text{мл}$) ($p < 0.001$) (Robak et al., 2001). Число V δ 2 TCR и V γ 9 TCR-субпопуляций было также ниже у больных СКВ, чем у здоровых. Процент $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов в клинически здоровой коже больных СКВ был в два раза выше ($22.0 \pm 9.4\%$), чем в коже здоровых ($11.1 \pm 5.5\%$) ($p < 0.002$). Было также отмечено наличие положительной корреляции между числом $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов в коже и активностью СКВ ($r = 0.594$, $p < 0.001$), и между числом V δ 3 TCR⁺-клеток и активностью болезни ($r = 0.659$, $p < 0.001$). Таким образом, было показано, что при СКВ содержание $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов коррелирует с активностью заболевания.

При изучении роли $\gamma\delta$ Т-клеток в патогенезе другого аутоиммунного заболевания соединительной ткани — склеродермии — выявлено, что доля $\gamma\delta$ Т-клеток у больных была значительно ниже, чем в группе здоровых лиц (1.61 (0.52)% против 2.61 (0.46)% в контроле) ($p < 0.05$). У пациентов на ранней стадии заболевания или с анти-Scl-70-антителами наблюдалось снижение $\gamma\delta$ Т-клеток (0.71 (0.29)% и 0.96 (0.41)% ($p < 0.01$ и $p < 0.05$ соответственно) (Гурский и др., 2011; Holcombe et al., 1995). Исследование мононуклеарных клеток периферической крови у 50 больных склеродермией показало, что число CD8⁺-клеток, натуральных киллеров (НК-клеток) и Т-лимфоцитов, экспрессирующих TCR $\gamma\delta$, было меньше по сравнению со здоровыми донорами, что могло спровоцировать измененный иммунный ответ, имеющий важное значение в развитии заболевания (Парамонов и др., 2015).

При изучении иммуногенеза системной склеродермии выявлен повышенный процент V δ 1⁺/ $\gamma\delta$ Т-клеток как в периферической крови, так и в бронхоальвеолярном лаваже у таких пациентов. Было обнаружено, что процентное и абсолютное

содержание $\gamma\delta$ Т-клеток периферической крови, CD16, CD8, CD45RO, CD25, коэкспрессия HLA-DR, CD54 и CD11a существенно не отличались от показателей контрольной группы, в то время как количество $\gamma\delta$ Т-клеток CD49d были значительно увеличены у таких больных (2.3%) по сравнению с контрольной группой здоровых лиц (0.5%). В коже больных склеродермией отмечено повышение числа $\gamma\delta$ Т-клеток, преимущественно $V\delta 1^+$, особенно на ранней стадии заболевания. В прогрессирующей фазе количество Т-клеток $V\delta 1^+$ так же было увеличено по сравнению с контролем. Эти исследования показывают, что $V\delta 1^+$ Т-клетки экспрессируют как молекулы адгезии, так и маркеры активации и значительно поддерживают экспансию $\gamma\delta$ Т-клеток в очаги воспаления.

Таким образом, аутоиммунные заболевания с поражением кожных покровов связаны с количественными и качественными нарушениями системного и локального распределения специфических Т-клеток с $\gamma\delta$ TCR. Результаты экспериментальных исследований показали, что $\gamma\delta$ Т-клетки могут оказывать влияние посредством модуляции функции классических аутоантиген-реактивных $\alpha\beta$ Т-клеток и В-клеток — центральных медиаторов аутоиммунных болезней. Однако $\gamma\delta$ Т-клетки также играют независимую эффекторную провоспалительную роль, опосредованную их врожденной способностью выделять IL-17, TNF- α и IFN γ без участия антигена. Активация $\gamma\delta$ Т-клеток может способствовать развитию и поддерживать течение аутоиммунных заболеваний, таких как псориаз, псориатический артрит, склеродермия, красная волчанка, ревматоидный артрит.

Благодаря уникальным свойствам $\gamma\delta$ Т-клеток, обладающих функциями адаптивных и врожденных иммунных клеток, более глубокое изучение этой популяции Т-клеток прольет новый свет на патогенез аутоиммунных заболеваний и позволит приблизиться к разработке новых терапевтических подходов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Гурский Г.Э., Гребенников В.А., Хоронько В.В. Склеродермия: особенности течения и возможности лечения // Мед. вестник Юга России. 2011. № 1. С. 4–9.
Насонов Е.Л., Коротаева Т.В., Дубинина Т.В., Лиля А.М. Ингибиторы ИЛ23/ИЛ17 при иммуновоспалительных ревматологических заболеваниях: новые

горизонты // Науч.-практ. ревматол. 2019. Т. 57 (4). С. 400–406.
Нижегородова Д.Б., Зафранская М.М. $\gamma\delta$ Т-лимфоциты: общая характеристика, субпопуляционный состав, биологическая роль и функциональные особенности // Мед. иммунол. 2009. Т. 11. № 2–3. С. 115–130.
Парамонов А.А., Каюмова Л.Н., Брускин С.А. и др. Репертуар Т-клеточных рецепторов при некоторых иммунозависимых дерматозах // Рос. журн. кожн. и венер. болезней. 2015. № 4. С. 34–41.
Пинегин Б.В., Иванов О.Л., Пинегин В.Б. Роль клеток иммунной системы и цитокинов в развитии псориаза // Рос. журн. кожн. и венер. болезней. 2013. № 3. С. 19–25.
Пичугина Л.В. Изменение фенотипа лимфоцитов при неиммунодефицитных патологиях // Лаб. медицина. 2008. № 9. С. 39–44.
Хайдуков С.В., Зурочка А.В., Черешнев В.А. Многоцветный цитометрический анализ. Идентификация Т-клеток и их субпопуляций по экспрессии $\alpha\beta$ -TCR и $\gamma\delta$ -TCR // Мед. иммунол. 2008. Т. 10. № 2–3. С. 115–124.
Alaibac M., Berti E., Chizzolini C. Role of cellular immunity in the pathogenesis of autoimmune skin diseases // Clin. Exp. Rheumatol. 2006. № 24 (1 Suppl. 40). P. S14–9.
Bank I. The role of gamma delta T cells in autoimmune rheumatic diseases // Cells. 2020. № 9 (2). P. 462.
Bank I., Marcu-Malina V. Quantitative peripheral blood perturbations of $\gamma\delta$ T cells in human disease and their clinical implications // Clin. Rev. Allerg. Immunol. 2014. V. 47 (3). P. 311–333.
Cai Y., Shen X., Ding C. et al. Pivotal role of dermal IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells in skin inflammation // Immunity. 2011. V. 35 (4). P. 596–610.
Cai Y., Xue F., Fleming C. et al. Differential developmental requirement and peripheral regulation for dermal Vgamma4 and Vgamma6T17 cells in health and inflammation // Nat. Commun. 2014. V. 5. P. 3986.
Cochez P.M., Michiels C., Hendrickx E. et al. Ccr6 is dispensable for the development of skin lesions induced by imiquimod despite its effect on epidermal homing of IL-22-producing cells // J. Invest. Dermatol. 2017. V. 137. P. 1094–1103.
Cojocaru M., Cojocaru I.M., Silosi I. et al. Extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis // Medica (Bucur). 2010. № 5 (4). P. 286–291.
Conforti A., Di Cola I., Pavlych V. et al. Beyond the joints, the extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis // Autoimmun. Rev. 2021. V. 20 (2). P. 102735.
Davey M.S., Willcox C.R., Hunter S. et al. The human $V\delta 2^+$ T-cell compartment comprises distinct innate-like $V\gamma 9^-$ subsets // Nat. Commun. 2018. V. 9 (1). P. 1760.
Dieli F., Sireci G., Di Sano C. et al. Ligand-specific alphabeta and gammadelta T cell responses in childhood tuberculosis // J. Infect. Dis. 2000. V. 181 (1). P. 294–301.
Gaur P., Misra R., Aggarwal A. Natural killer cell and gamma delta T cell alterations in enthesitis related arthritis category of juvenile idiopathic arthritis // Clin. Immunol. 2015. V. 161. P. 163–169.
Hartwig T., Pantelyushin S., Croxford A.L. et al. Dermal IL-17-producing gammadelta T cells establish long-lived memory in the skin // Eur. J. Immunol. 2015. V. 45. P. 3022–3033.
Hawkes J.E., Yan B.Y., Chan T.C., Krueger J.G. Discovery of the IL-23/IL-17 signaling pathway and the treatment of psoriasis // J. Immunol. 2018. V. 201. P. 1605–1613.

- Holcombe R.F., Baethge B.A., Wolf R.E. et al. Natural killer cells and gamma delta T cells in scleroderma: relationship to disease duration and anti-Scl-70 antibodies // *Ann. Rheum. Dis.* 1995. V. 54 (1). P. 69–72.
- Holtmeier W., Pfander M., Hennemann A. et al. The TCR-delta repertoire in normal human skin is restricted and distinct from the TCR-delta repertoire in the peripheral blood // *J. Invest. Dermatol.* 2001. V. 116. P. 275–280.
- Ippolito A., Wallace D.J., Gladman D. et al. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: comparison of historical and current assessment of seropositivity // *Lupus*. 2011. V. 20. P. 250–255.
- Jung S.M., Kim K.W., Yang C.W. et al. Cytokine-mediated bone destruction in rheumatoid arthritis // *J. Immunol. Res.* 2014. Art. 263625.
- Laggner U., Di Meglio P., Perera G.K. et al. Identification of a novel proinflammatory human skin-homing V γ 9V δ 2 T cell subset with a potential role in psoriasis // *J. Immunol.* 2011. V. 187. P. 2783–2793.
- Lamour A., Jouen-Beades F., Lees O. et al. Analysis of T cell receptors in rheumatoid arthritis: the increased expression of HLA-DR antigen on circulating gamma delta+ T cells is correlated with disease activity // *Clin. Exp. Immunol.* 1992. V. 89. P. 217–222.
- Li Y., Huang Z., Yan R. et al. V γ 4 $\gamma\delta$ T cells provide an early source of IL-17A and accelerate skin graft rejection // *J. Invest. Dermatol.* 2017. V. 137. P. 2513–2522.
- Liu M.F., Yang C.Y., Chao S.C. et al. Distribution of double-negative (CD4⁻ CD8⁻, DN) T subsets in blood and synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis // *Clin. Rheumatol.* 1999. V. 18 (3). P. 227–231.
- Lu H., Li D.J., Jin L.P. $\gamma\delta$ T Cells and related diseases // *Am. J. Reprod. Immunol.* 2016. V. 75. P. 609–618.
- Ma H., Yuan Y., Zhao L. et al. Association of $\gamma\delta$ T cell compartment size to disease activity and response to therapy in SLE // *PLoS One*. 2016. V. 11 (6). P. e0157772.
- Ogawa E., Sato Y., Minagawa A., Okuyama R. Pathogenesis of psoriasis and development of treatment // *J. Dermatol.* 2018. V. 45. P. 264–272.
- Olive C., Gatenby P.A., Serjeantson S.W. Restricted junctional diversity of T cell receptor delta gene rearrangements expressed in systemic lupus erythematosus (SLE) patients // *Clin. Exp. Immunol.* 1994. V. 97. P. 430–438.
- Pang D.J., Neves J.F., Sumaria N., Pennington D.J. Understanding the complexity of $\gamma\delta$ T-cell subsets in mouse and human // *Immunology*. 2012. V. 136. P. 283–290.
- Radu A.-F., Burgau S.G. Management of rheumatoid arthritis: an overview // *Cells*. 2021. V. 10 (11). P. 2957.
- Ramirez-Valle F., Gray E.E., Cyster J.G. Inflammation induces dermal V γ 4⁺ $\gamma\delta$ T17 memory-like cells that travel to distant skin and accelerate secondary IL-17-driven responses // *PNAS USA*. 2015. V. 112. P. 8046–8051.
- Rizzo H.L., Kagami S., Phillips K.G. et al. IL-23-mediated psoriasis-like epidermal hyperplasia is dependent on IL-17A // *J. Immunol.* 2011. V. 186. P. 1495–502.
- Roark C.L., French J.D., Taylor M.A. et al. Exacerbation of collagen-induced arthritis by oligoclonal IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells // *J. Immunol.* 2007. V. 179 (8). P. 5576–5583.
- Roark C., Simonian P., Fontenot A. et al. $\gamma\delta$ T cells: an important source of IL-17 // *Curr. Opin. Immunol.* 2008. V. 20 (3). P. 353–357.
- Robak E., Niewiadomska H., Robak T. et al. Lymphocytes T γ ammadelta in clinically normal skin and peripheral blood of patients with systemic lupus erythematosus and their correlation with disease activity // *Mediat. Inflamm.* 2001. V. 10 (4). P. 179–189.
- Sheridan B.S., Romagnoli P.A., Pham Q.M. et al. $\gamma\delta$ T cells exhibit multifunctional and protective memory in intestinal tissues // *Immunity*. 2013. V. 39 (1). P. 184–195.
- Sourav P., Shilpi Lal G. Role of gamma-delta ($\gamma\delta$) T cells in autoimmunity // *Rev. J. Leukoc. Biol.* 2015. V. 97. № 2. P. 259–271.
- Tortola L., Rosenwald E., Abel B. et al. Psoriasiform dermatitis is driven by IL-36-mediated DC-keratinocyte crosstalk // *J. Clin. Invest.* 2012. V. 122. P. 3965–3976.
- Wang H., Henry O., Distefano M.D. et al. Butyrophilin 3A1 plays an essential role in prenyl pyrophosphate stimulation of human V γ 2V δ 2 T cells // *J. Immunol.* 2013. V. 191. P. 1029–1042.
- Zhu R., Cai X., Zhou C. et al. Dermal V γ 4⁺ T cells enhance the IMQ-induced psoriasis-like skin inflammation in re-challenge mice // *Am. J. Transl. Res.* 2017. V. 9 (12). P. 5347–5360.

Role of $\gamma\delta$ T Lymphocytes in the Pathogenesis of Autoimmune Diseases with Skin Lesions

E. V. Sorokina^{a, b, *}, I. V. Bisheva^a, N. V. Mishina^{a, b}, and V. N. Stolpnikova^a

^a*Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia*

^b*Department of Skin and Venereal Diseases with Cosmetology Course, Institute of Advanced Training, Federal Medical and Biological Agency, Moscow, Russia*

*e-mail: sorokina-cathrine@yandex.ru

Autoimmune diseases are associated with a severe course, early complications, disability and early mortality. Subpopulations of $\gamma\delta$ T cells participate in the development of autoimmune diseases, including experimental ones, contributing to tissue damage. The inflammatory functions of $\gamma\delta$ T cells are determined by their synthesis of cytokines, including IL-17, IFN γ and TNF- α , which are usually involved in autoimmunity. Different subpopulations of $\gamma\delta$ T cells are associated with different autoimmune diseases depending on their tissue expression, and their function may contribute to pathogenesis. In this article we review studies on the role of $\gamma\delta$ T cells in autoimmune diseases such as rheumatoid arthritis, psoriasis, psoriatic arthritis, systemic lupus erythematosus, and scleroderma, as well as their animal models. Due to the unique properties of $\gamma\delta$ T cells encompassing adaptive and innate immunity functions, a growing understanding of this unique T cell population sheds new light on the pathogenesis of these diseases and potentially allows new therapeutic approaches to their treatment.

Keywords: autoimmune diseases, rheumatoid arthritis, psoriasis, psoriatic arthritis, systemic lupus erythematosus, scleroderma, $\gamma\delta$ T lymphocytes

УДК 612.115:612.015.39

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА В УСЛОВИЯХ ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА НА ФОНЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

© 2023 г. М. Е. Григорьева^{1, *}, Т. Ю. Оберган¹, А. В. Коробовский²

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Московский авиационный институт (национальный исследовательский университет), Москва, Россия

*e-mail: mgrigorjeva@mail.ru

Поступила в редакцию 31.08.2022 г.

После доработки 09.09.2022 г.

Принята к публикации 13.09.2022 г.

Исследовали состояние системы гемостаза в условиях иммобилизационного стресса на фоне метаболического синдрома (МС) у крыс-самцов Wistar. Было проведено две серии экспериментов с использованием однократного и многократного иммобилизационного воздействия. Показано, что развитие МС при длительном содержании крыс на высококалорийной диете приводило к снижению антикоагулянтно-фибринолитического и антитромбоцитарного потенциала крови. В плазме интактных крыс, подвергнутых как однократной, так и многократной иммобилизации, установлено повышение свертываемости крови и снижение фибринолиза. При этом применение многократного иммобилизационного воздействия в сравнении с однократной иммобилизацией способствовало более выраженному повышению агрегации тромбоцитов. Сочетание как однократной, так и многократной иммобилизации и МС у крыс вызывало достоверное снижение фибринолиза, антикоагулянтной активности крови и усиление агрегации тромбоцитов. Однако, в случае многократного иммобилизационного воздействия наблюдалось еще более значительное возрастание АДФ-зависимой агрегации тромбоцитов. Сравнительный анализ показателей первичного и плазменного гемостаза в данных условиях эксперимента позволяет сделать вывод, что иммобилизация, независимо от ее длительности, усугубляет состояние гиперкоагуляции у крыс с МС. Причем многократный иммобилизационный стресс на фоне метаболических нарушений приводит к более выраженным гиперкоагуляционным сдвигам за счет повышения агрегации тромбоцитов в 2 раза по сравнению с интактными животными.

Ключевые слова: агрегация тромбоцитов, антикоагулянтная активность, иммобилизационный стресс, метаболический синдром, фибринолиз

DOI: 10.31857/S0042132423010039, **EDN:** NALZEN

ВВЕДЕНИЕ

Снижение двигательной активности, сидячий и малоподвижный образ жизни являются основными причинами и факторами риска развития ишемической болезни сердца, артериальной гипертензии, атеросклероза, инсульта, сахарного диабета и др. Все эти заболевания сопровождаются нарушениями свертываемости крови (Бокарев, 2018). Венозная тромбоэмболия, которая включает тромбоз глубоких вен и тромбоэмболию легочной артерии, является тяжелым осложнением при длительной иммобилизации тяжелобольных неподвижных пациентов, страдающих полиорганной дисфункцией (Boddi, Peris, 2017). Новая коронавирусная инфекция COVID-19, являющаяся коморбидным заболеванием, также может предрасполагать как к венозной, так и к артериальной тромбоэмболии вслед-

ствие гипоксии, иммобилизации и диффузного внутрисосудистого свертывания (Klok et al., 2020).

С другой стороны, имеется достаточно данных, свидетельствующих о том, что длительные авиаперелеты связаны с высокой вероятностью возникновения тромбоза глубоких вен и тромбоэмболии легочной артерии. По данным разных исследователей, частота выявления факторов риска у путешественников составляет от 65 до 92% (Watson, Baglin, 2011; Byard, 2019; Şabanoglu, 2021). Особенности условий полета создают физиологические проблемы, такие как относительная гипоксия и неподвижность, которые могут вызывать неблагоприятные последствия для сердечно-сосудистой системы и приводить к значительному возрастанию риска тромбозов, в том числе глубоких мозговых венозных синусов (Ghani et al., 2022). Возникновение тромботических событий во время авиарейсов, которые в основном возникают у пассажи-

ров в эконом-классе воздушного судна, известное как “синдром эконом-класса” или “тромбоз путешественников”, обусловлено классическими предрасполагающими к венозным тромбозам факторами, а именно замедлением кровотока, повышением свертывающей способности крови и повреждением эндотелия (Баринов и др., 2011).

Высокая вероятность возникновения тромботических ситуаций возможна также после длительных поездок (продолжительностью 4 ч и более) на других видах транспорта, в частности на автомобилях. Предполагаемые биологические механизмы, в основном, влекут за собой венозную застой и отек, которые часто усугубляются определенной степенью гиперкоагуляции (Lippi, Favaloro, 2018).

Проблема потенциальных тромботических осложнений приобретает особую остроту и актуальность в связи с постоянным увеличением числа и дальности авиаперелетов и транспортных перемещений, что усугубляется возрастной численностью пассажиров пожилого возраста и/или людей с уже имеющимися патологиями, в том числе сердечно-сосудистыми заболеваниями и метаболическими нарушениями (Баринов и др., 2011). Риск тромбозов может существенно увеличиваться, когда факторы, возникающие во время авиапутешествий и поездок на автомобилях, сочетаются с ранее существовавшими протромботическими состояниями (Lippi, Favaloro, 2018). К настоящему времени накоплены убедительные данные о широкой распространенности кардиометаболических факторов риска среди лиц, совершающих длительные перелеты, что касается как пассажиров, так и персонала (Wilson et al., 2022). Комплексное нарушение гормональных и метаболических процессов, проявляющееся инсулинорезистентностью, гипергликемией, дислипидемией, ожирением, а также дисфункцией эндотелия и повышенной свертываемостью крови, известно как метаболический синдром (Lemieux, Despris, 2020; Bovolini et al., 2021). Одним из важных факторов возникновения метаболического синдрома (МС) является снижение физической активности (Muyers et al., 2019). Некоторые исследователи отмечают, что гиподинамия или физическая неактивность относятся к одному из ведущих факторов риска глобальной смертности, который при гиподинамии увеличивается на 20–30% по сравнению с теми, кто физически активен (Fletcher et al., 2018).

Также в настоящее время большое внимание уделяется возможному вкладу стрессогенных воздействий в патогенез МС, поскольку любые стрессогенные факторы могут нарушать адаптационные механизмы, вызывая дисбаланс гомеостаза в организме (Kuo et al., 2019; Eftekhari et al., 2021). Есть данные, что острый иммобилизационный стресс может вызывать отек миокарда, спазм артериол и венозную гиперемия, сопровождающуюся

микротромбозом (Koptev, Vynnyk, 2017), и провоцировать развитие окислительного стресса за счет снижения активности антиоксидантных ферментов, уровней глутатиона и глюкозы и увеличения перекисного окисления липидов (Samarghandian et al., 2016). Иммобилизацию, ограничивающую двигательную активность в течение определенного периода времени, можно отнести и к эмоциональному, и к физическому стрессу (Amin et al., 2014; Haider et al., 2015).

Ранее было показано, что в условиях продолжительной иммобилизации в течение 60–90 мин снижаются фибринолитическая и антикоагулянтная активности крови и активируется тромбоцитарное звено гемостаза (Григорьева, Ляпина, 2020). Возрастание интенсивности стрессорного воздействия или появление дополнительных факторов, приводящих к нарастанию неблагоприятных сдвигов со стороны системы гемостаза, в конечном итоге может привести к развитию предтромботического состояния (Шахматов, 2011). Поскольку известно, что при развитии МС в организме возникает гиперкоагуляция, можно предположить, что это состояние будет усугубляться стрессогенным воздействием, например, длительной иммобилизацией.

Цель настоящего исследования — изучение в сравнительном аспекте состояния системы гемостаза в условиях иммобилизационного стресса разной длительности (однократного и многократного) на фоне метаболического синдрома у крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на 80 половозрелых лабораторных белых крысах-самцах Wistar массой тела 250–280 г в соответствии с положениями национального стандарта РФ ГОСТ 33044-2014 “Принципы надлежащей лабораторной практики” и Европейской конвенцией по охране позвоночных животных (Стокгольм, 15.06.2006). Животных содержали в стандартных условиях вивария при искусственном освещении (день/ночь — 12 ч/12 ч), принудительной вентиляции, относительной влажности воздуха $60 \pm 5\%$ и температуре $22 \pm 2^\circ\text{C}$.

Экспериментальные модели

1) Экспериментальный метаболический синдром. Индуцирование метаболических нарушений вызывали содержанием крыс в течение 6 нед. на высококалорийной диете (ВКД) с избыточным содержанием углеводов, холестерина и насыщенных жирных кислот, энергетическая ценность которой составляла не менее 3500 ккал/кг (Оберган, Григорьева, 2016).

2) Однократная иммобилизация животных на спине с фиксацией конечностей в течение 60 мин.

3) Многократное иммобилизационное воздействие путем ежедневной (в течение 5 сут каждые 24 ч) иммобилизации крыс на спине с фиксацией конечностей в течение 60 мин.

4) Сочетание у животных МС и однократной иммобилизации. Длительное содержание крыс на ВКД (в течение 6 нед.), приводящее к развитию МС, с последующей однократной иммобилизацией.

5) Сочетание у животных МС и многократной иммобилизации. Длительное содержание крыс на ВКД (в течение 6 нед.), приводящее к развитию МС, с последующей многократной иммобилизацией. При этом животные продолжали получать ВКД до окончания эксперимента.

Дизайн исследования

В ходе исследования было проведено две серии экспериментов, в которых использовали стрессогенное воздействие разной длительности: однократная и многократная иммобилизация.

В первой серии было использовано 4 группы животных по 10 особей в каждой: первая группа — интактные крысы, которые содержались на стандартном лабораторном рационе (доступ к корму и воде *ad libitum*) и не подвергались никаким манипуляциям (Контроль 1); вторая группа — крысы с МС (МС 1); третья группа — интактные животные, подвергнутые однократной иммобилизации (ОИ); четвертая группа — крысы с МС, подвергнутые однократной иммобилизации (МС 1 + ОИ). Кровь для исследования биохимических параметров брали сразу после окончания иммобилизации (43-й день эксперимента).

Вторая серия экспериментов также была проведена с использованием 4-х групп животных по 10 особей в каждой: первая группа — интактные крысы, которые содержались на стандартном лабораторном рационе (доступ к корму и воде *ad libitum*) и не подвергались никаким манипуляциям (Контроль 2); вторая группа — крысы с МС (МС 2); третья группа — интактные животные, подвергнутые многократной иммобилизации (МИ); четвертая группа — крысы с МС, подвергнутые многократной иммобилизации, при продолжении ВКД (МС 2 + МИ). Получение образцов крови для анализа производили на 47-й день эксперимента сразу после окончания последней иммобилизации.

Оценка состояния системы гемостаза

Получение образцов крови для исследования параметров гемостаза производили из яремной вены (*v. jugularis*) с использованием в качестве консерванта 3.8%-го раствора цитрата натрия в соотношении кровь : консервант = 9 : 1 сразу после окончания последней иммобилизации. Кровь центрифугировали в двух режимах: при 1000 об./мин в

течение 5 мин для получения богатой тромбоцитами плазмы и при 2000 об./мин в течение 15 мин для получения бедной тромбоцитами плазмы. Для исследования показателей первичного (сосудисто-тромбоцитарного) и плазменного гемостаза использовали стандартные коагулологические методы (Ляпина и др., 2012). В богатой тромбоцитами плазме крови определяли агрегацию тромбоцитов с использованием в качестве индуктора АДФ в конечной концентрации 10^{-6} М по методу Born на агрегометре “Биола” (Россия). В бедной тромбоцитами плазме проводили определение показателей плазменного гемостаза: ферментативной фибринолитической (ФФ) и неферментативной фибринолитической (НФ) активностей на нестабилизированных фибриновых пластинах и антикоагулянтную активность по тесту активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) на полуавтоматическом анализаторе свертывания крови “Астра 2-01” (Россия).

Полученные данные статистически обрабатывали при помощи программного обеспечения Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США). Установлены средние значения и стандартная ошибка среднего ($M \pm m$). Данные были проанализированы на нормальность распределения с помощью критерия Шапиро—Уилка. В случае соответствия данных закону нормального распределения для сравнения групп средних были использованы методы параметрической статистики — ANOVA с постобработкой Ньюмена—Кеулса, при несоответствии применяли метод непараметрической статистики с критерием Краскела—Уоллиса при статистической значимости различий ($p < 0.05$) в обоих случаях.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования показано, что в результате длительного потребления ВКД (на 43-й день эксперимента) у животных группы МС 1 по отношению к группе Контроль 1 наблюдалось повышение агрегации тромбоцитов на 33% и свертываемости крови по тесту АЧТВ на 25%. При этом установлено угнетение параметров фибринолиза плазмы крови: ФФ и НФ уменьшались на 33 и 30% соответственно по сравнению с Контролем 1. В группе животных ОИ после однократной иммобилизации также выявлено снижение фибринолитической активности крови как ферментативного, так и неферментативного характера на 29 и 38% соответственно. Одновременно наблюдалось ускорение времени свертывания по тесту АЧТВ на 28% относительно группы Контроль 1. При этом однократная иммобилизация не оказала значимого влияния на изменение агрегации тромбоцитов. У животных группы МС 1 + ОИ, то есть при однократной иммобилизации в течение 60 мин на фоне МС возникало состояние гиперкоагуляции и гипофибринолиза за счет усиления агрегации тромбоцитов под действием АДФ на 52%, умень-

Таблица 1. Параметры гемостаза плазмы крови при однократной иммобилизации intactных крыс и крыс с метаболическим синдромом ($M \pm m$)

Группы животных	ФФ, мм ²	НФ, мм ²	АЧТВ, с	Агрегация тромбоцитов, %
Intactные крысы (Контроль 1)	14.2 ± 0.6	24.0 ± 0.6	32.3 ± 1.5	100.0 ± 5.3
Крысы с МС (МС 1)	9.5 ± 0.5**	16.8 ± 0.4**	24.2 ± 1.2**	133.3 ± 7.4*
Однократная иммобилизация intactных крыс (ОИ)	10.1 ± 0.8*	14.9 ± 0.7**	23.3 ± 1.4**	109.8 ± 3.4
Однократная иммобилизация крыс с МС (МС 1 + ОИ)	8.5 ± 0.7**	15.6 ± 0.6**	21.0 ± 1.1**	152.2 ± 4.7**

Примечание: статистические показатели рассчитаны относительно соответствующих проб группы Контроль 1; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

Таблица 2. Параметры гемостаза плазмы крови при многократной иммобилизации intactных крыс и крыс с метаболическим синдромом ($M \pm m$)

Группы животных	ФФ, мм ²	НФ, мм ²	АЧТВ, с	Агрегация тромбоцитов, %
Intactные крысы (Контроль 2)	14.0 ± 0.7	23.4 ± 1.0	30.9 ± 1.4	100.0 ± 4.5
Крысы с МС (МС 2)	8.7 ± 0.6**	15.0 ± 0.8**	21.6 ± 1.1**	146.3 ± 8.4**
Многократная иммобилизация intactных крыс (МИ)	10.1 ± 0.5*	18.3 ± 0.9*	24.4 ± 2.0*	135.6 ± 7.4*
Многократная иммобилизация крыс с МС (МС 2 + МИ)	8.4 ± 0.6**	14.7 ± 0.7**	18.5 ± 1.2**	215.5 ± 9.7**

Примечание: статистические показатели рассчитаны относительно соответствующих проб группы Контроль 2; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

шения антикоагулянтной активности на 35%, а также снижения фибринолитической активности крови как неферментативной, так и ферментативной природы на 35 и 40% соответственно по сравнению с intactными крысами (табл. 1).

Таким образом, развитие метаболического синдрома при содержании крыс на ВКД, так же, как и воздействие однократной иммобилизации, приводило к депрессии функции противосвертывающей системы, проявляющейся снижением антикоагулянтных и фибринолитических свойств крови. Сочетание однократного стрессогенного иммобилизационного воздействия и нарушений метаболизма у крыс вызывало более выраженное снижение фибринолиза, антикоагулянтной активности крови и усиление агрегации тромбоцитов.

В следующей серии экспериментов intactных крыс или животных с МС подвергали многократной иммобилизации в течение 5 сут. В результате исследований было показано, что после окончания последней процедуры иммобилизации в группе МИ наблюдалось снижение антикоагулянтной активности на 21%, а фибринолитической активности на 28% (ФФ) и 22% (НФ) по отношению к группе Контроль 2. При этом АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов была выше на 36%. У животных группы МС 2 увеличение длительности применения ВКД на 47-й день эксперимента способствовало усилению прокоагулянтных свойств плазмы крови: АЧТВ укорачивалось на 30% по

сравнению с Контролем 2, ФФ и НФ плазмы крови уменьшались на 38 и 36% соответственно. При этом агрегация тромбоцитов была повышена на 46% относительно группы Контроль 2. При моделировании многократного иммобилизационного воздействия у крыс с МС при продолжении содержания их на ВКД (группа МС 2 + МИ) выявлено усиление агрегации тромбоцитов более чем в 2 раза, а также снижение АЧТВ на 40% по сравнению с intactными животными (Контроль 2). Следует отметить, что это сопровождалось снижением фибринолитического потенциала крови: ФФ и НФ уменьшались на 40 и 37% соответственно (табл. 2).

Таким образом, увеличение периода содержания крыс на ВКД приводило к прогрессированию прокоагулянтных свойств крови. Применение многократного иммобилизационного воздействия у intactных крыс в сравнении с однократной иммобилизацией способствовало более выраженному повышению агрегации тромбоцитов. Моделирование многократного стрессогенного воздействия у крыс с МС приводило к еще большей активации первичного звена гемостаза вследствие значительного возрастания агрегации тромбоцитов под действием АДФ, а также повышения свертывающего потенциала крови за счет снижения антикоагулянтной и фибринолитической активностей.

Проведенные в настоящем исследовании эксперименты были направлены на изучение состояния системы гемостаза в условиях однократного

и многократного иммобилизационного стресса у животных с МС. Для этого была создана модель гиперкоагуляции, основанная на сочетании иммобилизационного воздействия разной длительности и метаболических нарушений у крыс.

Нами установлено, что содержание крыс на ВКД в течение 42 дней приводило к снижению противосвертывающих свойств, а именно антикоагулянтной, фибринолитической и антитромбоцитарной активностей крови. Удлинение периода содержания крыс на ВКД вызывало дальнейшее нарастание прокоагулянтного потенциала плазмы крови.

Результаты настоящего исследования хорошо согласуются с полученными ранее (Оберган, Григорьева, 2016). Депрессия противосвертывающей системы и гиперкоагуляция, развивающиеся при МС, могут быть обусловлены появлением в крови воспалительных цитокинов из семейства аларминов, что приводит к возрастанию экспрессии тканевого фактора и тромботическим осложнениям (Кузник и др., 2013), снижению фибринолитической активности и повышению уровня ингибитора активатора плазминогена 1-го типа вследствие эндотелиальной дисфункции (Mohd Nor et al., 2018), а также к уменьшению количества эндогенного гепарина (Оберган, Григорьева, 2016).

По мнению многих исследователей, гипокинезия по мере возрастания урбанизации становится все более значимым стрессорным фактором современности. Снижение двигательной активности рассматривается как причина возникновения многих заболеваний, связанных с нарушением свертываемости крови и возникновением предтромботических состояний (Баринов и др., 2011; Шахматов, 2011).

В нашем исследовании было показано, что как однократная, так и многократная иммобилизация intactных крыс приводила к гиперкоагуляции и гипофибринолизу. При этом применение многократного иммобилизационного воздействия вызывало более выраженное усиление агрегации тромбоцитов.

Сочетание стрессогенного иммобилизационного воздействия разной длительности (однократно или ежедневно многократно) и метаболических нарушений в организме крыс способствовало прогрессированию состояния гиперкоагуляции. Обращает на себя внимание факт значительного возрастания агрегации тромбоцитов под действием АДФ, что указывает на преимущественный вклад активации именно сосудисто-тромбоцитарного гемостаза в возникновении гиперкоагуляционных сдвигов в данных условиях эксперимента. Как известно, повышение агрегационной активности тромбоцитов является одним из первых признаков стимуляции свертывания крови (Sang et al., 2021). Ранее нами также было показано, что в крови животных с МС снижались уровни маркеров функции эндотелия — активность тканевого активатора плазминогена и метаболитов оксида азота, что указывает на возникновение эндотелиальной дис-

функции при метаболических нарушениях (Григорьева и др., 2019), которая, как известно, вносит существенный вклад в развитие гиперкоагуляции при МС (Grandl, Wolfrum, 2018).

Некоторые авторы также отмечают взаимосвязь увеличения интенсивности воздействия или появления дополнительного стрессора с нарастанием неблагоприятных сдвигов со стороны системы гемостаза, ведущих к развитию предтромботического состояния (Шахматов, 2011). Известно, что во время авиаперелетов снижается барометрическое давление и возникает гипоксия, которая может приводить к угнетению фибринолиза и способствовать прокоагулянтным сдвигам крови. Также могут иметь значение стрессовые реакции на изменение окружающей среды (Баринов и др., 2011). Эти факты подтверждают предположение, что сочетание нескольких негативных факторов могут приводить к увеличению числа случаев неблагоприятных исходов при возникновении тромбоопасных ситуаций. Поскольку представления о направленности и выраженности реакций со стороны системы гемостаза при сочетании стрессорных воздействий и различных патологий сформированы недостаточно полно, требуется дальнейшее детальное исследование этих процессов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные в настоящем исследовании результаты свидетельствуют, что при моделировании как метаболических нарушений в организме крыс, так и стрессогенных воздействий разной длительности развивалось состояние гиперкоагуляции, проявляющееся депрессией функции противосвертывающей системы. Сочетание метаболических нарушений в организме крыс и стрессогенного иммобилизационного воздействия разной длительности (однократно или ежедневно многократно) способствовало прогрессирующему развитию состояния гиперкоагуляции за счет снижения антикоагулянтной активности крови, фибринолиза ферментативной и неферментативной природы и возрастания агрегации тромбоцитов под действием АДФ.

На основании полученного экспериментального материала и сопоставлении его с данными литературы можно сделать вывод, что при сочетанном воздействии неблагоприятных факторов (иммобилизация на фоне МС) преимущественный вклад в развитие гиперкоагуляционных сдвигов вносит сосудисто-тромбоцитарное звено гемостаза вследствие повышения агрегации тромбоцитов.

Снижение двигательной активности и широкое распространение метаболических нарушений становятся все более значимыми факторами возникновения многих заболеваний, связанных с повышением свертываемости крови. Полученные экспериментальные данные могут внести значительный вклад и научную новизну в изучение проблемы нарушений реакций гемостаза и понима-

ние возможных механизмов регуляции гомеостаза при сочетанных патологических состояниях (МС + стресс), сопровождающихся тромботическими осложнениями и метаболическими расстройствами. В перспективе это позволит расширить сферу исследований и применения препаратов комбинированного действия для предупреждения сочетанных нарушений в организме.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Баринов В.Е., Лобастов К.В., Кузнецов Н.А., Неверов Н.И. "Тромбоз авиапутешественников": факторы риска, особенности поражения и подходы к профилактике // *Флебология*. 2011. Т. 5. № 1. С. 8–13.
- Бокарев И.Н. Гематология для практического врача. М.: Мед. информ. агентство, 2018. 344 с.
- Григорьева М.Е., Ляпина Л.А. Роль пептидов глипролинового ряда в регуляции системы гемостаза при стрессогенных воздействиях // *Успехи соврем. биол.* 2020. Т. 140. № 1. С. 19–25.
- Григорьева М.Е., Ляпина Л.А., Оберган Т.Ю. Регуляция глипролинами первичного гемостаза и сосудисто-эндотелиальной функции организма при метаболическом синдроме // *Тромбоз, гемостаз и реология*. 2019. Т. 79. № 3. С. 32–38.
- Кузник Б.И., Хавинсон В.Х., Тарновская С.И., Линькова Н.С. Эпигенетическое действие регуляторных пептидов на цитокиновый профиль и систему гемостаза // *Вестн. гематол.* 2013. Т. 9. № 2. С. 29–33.
- Ляпина Л.А., Григорьева М.Е., Оберган Т.Ю., Шубина Т.А. Теоретические и практические вопросы изучения функционального состояния противосвертывающей системы крови. М.: Адвансд солюшенз, 2012. 160 с.
- Оберган Т.Ю., Григорьева М.Е. Исследование параметров гемостаза, липидного и углеводного обмена у крыс с модифицированной моделью экспериментального метаболического синдрома // *Соврем. технол. в медицине*. 2016. Т. 8. № 4. С. 303–305.
- Шахматов И.И. Влияние однократной иммобилизации различной интенсивности на реакции системы гемостаза // *Бюл. СО РАМН*. 2011. Т. 31. № 4. С. 34–38.
- Amin S.N., Gamat S.M., Esmail R.S. et al. Cognitive effects of acute restraint stress in male albino rats and the impact of pretreatment with quetiapine versus ghrelin // *J. Integr. Neurosci.* 2014. V. 13. № 4. P. 689–692.
- Boddi M., Peris A. Deep vein thrombosis in intensive care // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2017. V. 906. P. 167–181.
- Bovolini A., Garcia J., Andrade M.A., Duarte J.A. Metabolic syndrome pathophysiology and predisposing factors // *Int. J. Sport. Med.* 2021. V. 42. № 3. P. 199–214.
- Byard R.W. Deep venous thrombosis, pulmonary embolism and long-distance flights // *Foren. Sci. Med. Pathol.* 2019. V. 15. № 1. P. 122–124.
- Eftekhari S., Alipour F., Aminian O., Saraei M. The association between job stress and metabolic syndrome among medical university staff // *J. Diabet. Metab. Disord.* 2021. V. 20. № 1. P. 321–327.
- Fletcher G.F., Landolfo C., Niebauer J. et al. Promoting and exercise: JACC health promotion series // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2018. V. 72. № 14. P. 1622–1639.
- Ghani N.A.A., Abdullah A.A.B.M., Hamid S.A. et al. Visual loss after long-haul flight // *Eur. J. Ophthalmol.* 2022. V. 32. № 2. P. NP20–NP23.
- Grandl G., Wolfrum C. Hemostasis, endothelial stress, inflammation, and the metabolic syndrome // *Sem. Immunopathol.* 2018. V. 40. P. 215–224.
- Haider S., Naqvi F., Batool Z. et al. Pretreatment with curcumin attenuates anxiety while strengthens memory performance after one short stress experience in male rats // *Brain Res. Bull.* 2015. V. 115. P. 1–8.
- Klok F.A., Kruip M.J.H.A., van der Meer N.J.M. et al. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19 // *Thromb. Res.* 2020. V. 191. P. 145–147.
- Koptev M.M., Vynnyk N.I. Morphological substantiation for acute immobilization stress-related disorders of adaptation mechanisms // *Wiad. Lek.* 2017. V. 70 № 4. P. 767–770.
- Kuo W., Bratzke L.C., Oakley L.D. et al. The association between psychological stress and metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis // *Obesity Rev.* 2019. V. 20. P. 1651–1664.
- Lemieux I., Despres J.-P. Metabolic syndrome: past, present and future // *Nutrients*. 2020. V. 12. № 11. P. 3501–3507.
- Lippi G., Favaloro E.J. Car travel-related thrombosis: fact or fiction? // *Semin. Thromb. Hemost.* 2018. V. 44. № 4. P. 327–333.
- Mohd Nor N.S., Saimin H., Rahman T. et al. Comparable enhanced prothrombogenesis in simple central obesity and metabolic syndrome // *J. Obesity*. 2018. V. 2018. P. 1–6. Art. 8508549.
- Myers J., Kokkinos P., Nyelin E. Physical activity, cardiorespiratory fitness, and the metabolic syndrome // *Nutrients*. 2019. V. 11. № 7. P. 1652–1670.
- Şabanoglu C. The secret enemy during a flight: economy class syndrome // *Anatol. J. Cardiol.* 2021. V. 25 (Suppl. 1). P. 13–17.
- Samarghandian S., Azimi-Nezhad M., Farkhondeh T., Samini F. Anti-oxidative effects of curcumin on immobilization-induced oxidative stress in rat brain, liver and kidney // *Biomed. Pharmacother.* 2017. V. 87. P. 223–229.
- Sang Y., Roest M., de Laat B. et al. Interplay between platelets and coagulation // *Blood Rev.* 2021. V. 46. Art. 100733.
- Watson H.G., Baglin T.P. Guidelines on travel-related venous thrombosis // *Br. J. Haematol.* 2011. V. 152. № 1. P. 31–34.
- Wilson D., Driller M., Johnston B., Gill N. The prevalence of cardiometabolic health risk factors among airline pilots: a systematic review // *Int. J. Environ. Res. Publ. Health*. 2022. V. 19. № 8. P. 4848–4870.

The State of the Haemostasis System under Conditions of Immobilization Stress against the Background of Experimental Metabolic Syndrome

M. E. Grigorjeva^{a, *}, T. Y. Obergan^a, and A. V. Korobovsky^b

^aLomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

^bMoscow Aviation Institute (National Research University), Moscow, Russia

**e-mail: mgrigorjeva@mail.ru*

The state of the haemostasis system under conditions of immobilization stress against the background of metabolic syndrome (MS) in male Wistar rats was studied. Two series of experiments were conducted using single and multiple immobilization effects. It was shown that the development of MS with prolonged maintenance of rats on a high-calorie diet led to a decrease in anticoagulant-fibrinolytic and antiplatelet potential of blood. In the plasma of intact rats subjected to both single and multiple immobilization, an increase in blood clotting and a decrease in fibrinolysis were found. At the same time, the use of multiple immobilization effects in comparison with single immobilization contributed to a more pronounced increase in platelet aggregation. The combination of both single and multiple immobilization and MS in rats caused a significant decrease in fibrinolysis, anticoagulant activity of blood and increased platelet aggregation. However, in the case of repeated immobilization exposure, an even more significant increase in ADP-dependent platelet aggregation was observed. A comparative analysis of the indicators of primary and plasma haemostasis under these experimental conditions allows us to conclude that immobilization, regardless of its duration, aggravates the state of hypercoagulation in rats with MS. Moreover, repeated immobilization stress on the background of metabolic disorders leads to more pronounced hypercoagulation shifts due to an increase in platelet aggregation by 2 times compared with intact animals.

Keywords: platelet aggregation, anticoagulant activity, immobilization stress, metabolic syndrome, fibrinolysis

УДК 576.522

ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНЫХ И НЕВОЗБУДИМЫХ СМЕЖНЫХ НЕРВНЫХ МЕМБРАН ПОСЛЕ ЭЛЕКТРОАКТИВАЦИИ

© 2023 г. О. С. Сотников*

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: ossotnikov@mail.ru

Поступила в редакцию 24.06.2022 г.

После доработки 22.07.2022 г.

Принята к публикации 15.09.2022 г.

Давно признано, что парабиоз и паранекроз — это две близкие цитологические теории, с различных научных позиций продемонстрировавшие промежуточное состояние клетки между жизнью и смертью. Целью нашей электронно-микроскопической работы было исследование активных и невозбудимых мембран нервных и глиальных клеток при пессимальном торможении. Главным признаком паранекроза считалась денатурация и агрегация белка мембран, проявившаяся в уменьшении его степени дисперсии и дегидратации. Парабиоз вызывался пессимальной частотой электроактивации симпатического ганглия белых крыс. В результате аксолема превращалась в толстую мембрану, усиленную бахромой и появлением десмосом. Возникали налипания белка с внутренней стороны нейролеммы в виде пирамид, которые ретрагируя, искривляли мембрану. В ее изгибах образовывались пирамидоподобные рыхлые агрегаты межмембранного белка с наружных сторон глиальной и аксолеммной мембран, которые, сливаясь, превращались в подобие песочных часов и септ. Септы локализовались в межклеточных щелях аксонов и глии и часто пересекали обе мембраны. Процесс агрегации и ретракции белка локально сужает межклеточную аксо-аксональную и аксо-глиальную щели. Образуются щелевые и плотные контакты. Таким способом мы впервые получили экспериментальное образование межклеточных мембранных контактов, отвечающих всем морфологическим признакам. Все реактивные изменения, возникающие *de novo*, рассматриваются как один развившийся под воздействием частотной электростимуляции обратимый процесс денатурации и агрегации околосмембранных белков. Импульсация препарата восстанавливается в течение минут. Предполагается, что выявленные изменения, паранекроз, являются морфологическим проявлением парабиоза.

Ключевые слова: морфология парабиоза, паранекроз нервной ткани, толстые мембраны, септы при электростимуляции, щелевые нейронно-глиальные контакты, плотные контакты

DOI: 10.31857/S004213242301009X, **EDN:** HLNJCO

ВВЕДЕНИЕ

Мембрана рассматривается как тонкий липидный бислой (70 нм) с собственными встроенными в мембрану и периферическими протеинами, которые образуют единое неразрывное сплетение молекул белка. Активная нейрональная и глиальная невозбудимая мембраны взаимосвязаны. Их разделяют только для научных и учебных целей. Мембраны очень динамичны. Белки мембран могут перемещаться между липидами, вращаться и диффундировать между слоями. Связующую роль липидов в мембране играет закон взаимодействия внутри гидрофобных жирных кислот. Основная вода мембран связана с белками. Половину веса мембран составляет белок. Морфологические построения и изучение роли денатурации и агрегации околосмембранных протеинов при электростимуляции до пессимального торможения являются целью

настоящего исследования. Предполагается выявить структурные изменения нервной системы (паранекроз) при парабиозе.

Известно, что электрическая активность усиливает регенерацию поврежденных ядер мозга (Nekhendzy et al., 2006; Jiang et al., 2012). Подпороговая стимуляция волоконных сетей из примоторных отделов применяется для изучения кортико-подкорковых связей (Herbet et al., 2013; Schucht et al., 2013). Широко используются различные модификации электростимуляции при лечении эпилепсии (Xu et al., 2016; Mardani et al., 2018) и восстановлении спинного мозга после травм (Rath et al., 2018; Calvert et al., 2019; Gerasimenko et al., 2019). К сожалению, никаких данных о морфологии нервной системы при обычной или пессимальной электроактивации нам найти не удалось. Большинство исследований влияния электростимуляции на

нервную систему состоит в изучении химических синапсов, размеров бутонов и сом, распространения синаптических пузырьков, теории синаптического кругооборота медиаторных пузырьков.

В организме, как известно, почти все тканевые клетки контактируют друг с другом. Смежные мембраны обязательно взаимосвязаны химически и физически. Следовательно, множественные детальные описания одиночных клеточных мембран во многом неполноценны или даже ущербны (Финкельштейн, Птицын, 2012). Существует явная потребность в изучении смежных нейронно-глиальных мембранных взаимодействий в различных жизненных условиях. Целью исследования было выяснить, имеет ли нервная и глиальная системы какие-то морфологические эквиваленты при электрической стимуляции и чем отличаются реакции активных мембран аксонов и невозбудимых глиальных мембран на воздействие частотной импульсации. Данные о белковом окружении и реакциях смежных нейронно-глиальных мембран недостаточны. Нет полных данных о межклеточных структурных отношениях между нейронами и глиоцитами. Хотя такие структуры, как дополнительные рыхлые пирамидальные выпячивания, мостики, септы и бахрома могут повлиять на возбудимость нейрона (Ogawa, Rasband, 2008).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования были *truncus sympathicus* 10 белых крыс линии Wistar. Эксперименты проводились в соответствии с требованиями Совета Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) 1986 г. и рекомендациям этического комитета Института физиологии им. И.П. Павлова РАН (протокол №02/02 от 02 февраля 2022 года). После препарирования *truncus sympathicus* выделялся одиночный поясничный ганглий. Его межганглионарные ветви помещали в закрепленные стеклянные пипетки, заполненные раствором Рингера. Раздражение осуществляли электростимулятором ЭСУ-1 (СССР). Отведение тока проводилось от коннективов с помощью изолированных неполяризующихся хлорсеребряных электродов и усилителя. Ответ регистрировали на осциллографе. Препарат стимулировали, добиваясь пессимума частоты. Стимуляция препарата осуществлялась с частотой 150 имп./с (1–2 В, 0.2 мс). Импульсация после опыта появлялась у ганглия через 9–12 мин. После прекращения стимуляции потенциалы действия (ПД) восстанавливались в течение минут. После электрофизиологического эксперимента поясничный ганглий фиксировали в течение 1 ч в 2.5%-ном растворе глutarового альдегида (Acras Organics, США) и 4%-ном — параформальдегида, приготовленного на 0.1 М какодилатном буфере pH 7.4 (Sigma, Израиль) при 4°C. Далее фиксацию проводили в 1%-ном растворе охлажденной четы-

рехокси осмия (Sigma-Aldrich, Германия). После дегидратации в растворах этилового спирта материал заливали в смесь аралдитов (Fluka, Швейцария). Ультратонкие срезы готовили на ультратоме Leica Microsystems (Австрия). Просмотр и фотосъемку проводили в электронном микроскопе FEI Tecnai G2 Spirit BioTWIN (Нидерланды) при напряжении 80 кВ. Общеизвестно, что при электронно-микроскопическом исследовании нервной системы обычно импрегнируются и хорошо контрастируются только фосфолипидные двухслойные мембраны и денатурированные протеины, образующие внутренние и околосмембранные структуры (Гайер, 1974; Миронов и др., 1994). Это позволяет, даже в отсутствии гистохимии, интерпретировать некоторые морфологические изменения, такие как денатурация и агрегация белков в процессе электростимуляции.

Гистологические методы фиксации предназначены для исследования нормального строения органов, тканей и клеток. При изменении структур предполагается регистрировать эффект по конечному результату. Гистологическая фиксация при этом не предназначена для исследования процессов и динамики структур. При денатурации и агрегации учитываются известные естественные свойства протеинов, такие как: ретракция агрегатов и увеличение оптической плотности (видимости белка) при его скоплении и фиксации. Морфологическое исследование известного физиологического процесса предполагает гипотетическую связь вариантов структур как их динамику.

В разделе “Материалы и методы” необходимо оговориться, что все представленные в статье четкие и твердые фиксированные в препарате структуры являются полужидкими, гелеподобными образованиями в динамике. Околосмембранные скопления протеинов, формирующие в экспериментах новые дополнительные морфологические структуры, впредь будут именоваться авторами “бахромой”. Используя термин “парабиоз”, Н.Е. Введенский имел в виду существенные прижизненные изменения нейрона (пара — греч. — “около”). В англоязычных же журналах авторы единодушно используют термин “парабиоз” как экспериментальное хирургическое соединение сосудистых систем двух животных (Conese et al., 2017).

РЕЗУЛЬТАТЫ

При реакции на электростимуляцию изменяются обе мембраны ганглия *truncus sympathicus*: и активная, и невозбудимая, но не одновременно. Аксоны после пессимальной частотной стимуляции оказались шире (толстые мембраны), чем мембраны глиоцитов (рис. 1). Общее расширение аксолеммы касается больших площадей, но это не тотальное утолщение. Примечательно, что такое наблюдение соответствует известному поло-

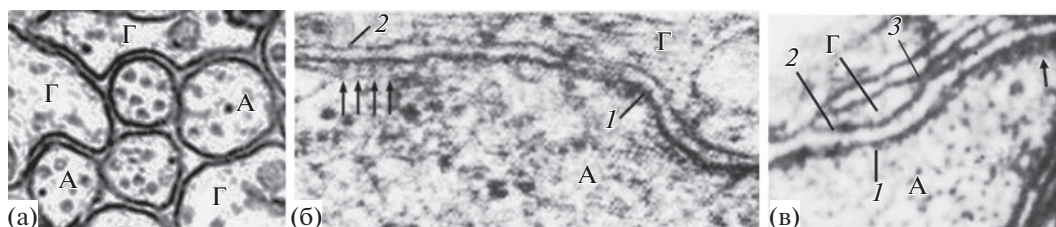


Рис. 1. Сравнения активных и невозбудимых мембран ганглия симпатического ствола крыс после активации. (а) — активные и невозбудимые мембраны в норме; (б) — толстая активная мембрана; (в) — бахрома расширяет аксолемму; 1 — толстая аксолемма; 2 — тонкая глиолемма; 3 — соединения внутренних листков глиолемм; стрелки — конусовидные и другие налипания бахромы под мембраной аксона; А — аксон; Г — глия, здесь и на рис. 2–5, 7. Электронная микроскопия. Ув. 26000.

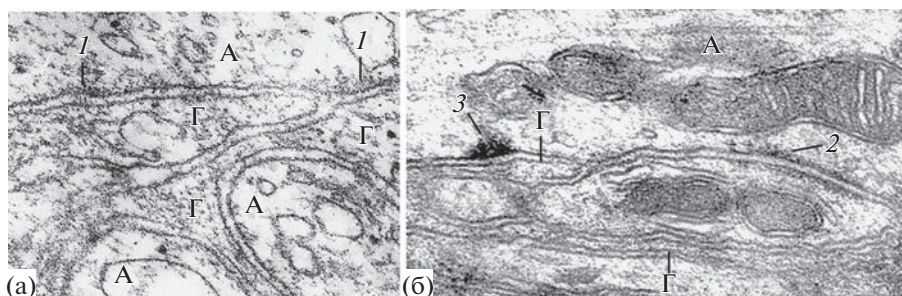


Рис. 2. Увеличение аксолеммы в ширину за счет нарастания бахромы. (а) — бахрома толстой мембраны; (б) — одно- и двухсторонние десмосомы; 1 — рыхлая бахрома, увеличенная переходная форма десмосомы; 2 — двухсторонняя десмосома; 3 — односторонняя десмосома. Электронная микроскопия. Ув. 34000.

жению о накоплении натриевых ионов с внутренней стороны аксолеммы во время активации. Толщина аксолеммы увеличивается за счет при- мембранных отделов аксоплазмы (бахромы). Такая мембрана — характерный признак и первого отдела аксона нейрона — генератора спайков. Можно сделать вывод, что эти морфологические и физиологические явления, возможно, взаимосвязаны. Такое появление толстых мембран в норме действительно соответствует тем аксолемам, которые часто имеют дело с электрическим ПД. Иногда этот слой бахромы формирует структуры, подобные мелким белковым пирамидкам, направленным вершиной внутрь к аксоплазме и напоминают толстую аксоплазму перехватов Ранвье, одностороннюю десмосому, мембрану специализаций химических синапсов и десмосому границ сердечных миоцитов, то есть тех мембран, которые действительно часто имеют дело с электрическими импульсами. Видимо, вслед за утолщением мембран аксона в нашем опыте появляется локальная, более интенсивная белковая мембрана — десмосома (рис. 2). Такие структуры на толстой мембране могут быть односторонними и двусторонними. При этом межмембранная щель может иметь поперечные рыхлые скопления белка (рис. 2а). Важно отметить, что в нашем эксперименте речь идет об одном и том же морфологиче-

ском процессе при активации препарата. Во время пессимума частоты развивается денатурация протеинов мембран, что согласуется с увеличением их адгезии и появлением аксональных около- мембранных агрегатов белка.

Агрегация подвижных масс белка — это всегда их ретракция. Поэтому, когда на толстой аксо- лемме одиночная десмосома резко выражена, она начинает изгибать мембрану, формируя инвагина- цию на подобие эндоцитоза (рис. 3а). Это часто происходит при наличии адгезионной связи аксо- леммы и глиолеммы или при отсутствии послед- ней. От эндоцитоза его отличает только прикреп- ление уплотненной бахромы к аксолемме не снару- жи, а изнутри мембраны. Но постепенно белковые агрегаты появляются в виде треугольных теней и внутри межклеточных глио-аксональных проме- жутков (рис. 3а, 2) снаружи глиолеммы. Они на- чинают, видимо, расти от глиальной мембраны. Причем локально увеличивается и толщина глио- леммы. Это сочетается с проявлением в межкле- точной щели агрегатов, полных поперечных пе- ремычек (рис. 4), мостиков, септ (septate junction) денатурированного белка. Очевидно, глия тоже участвует в процессе лабильности аксоплазмы. Видны разные формы этих мостиков от едва за- метных теневых структур глиолеммы и межкле- точных конусовидных агрегатов с противополож-

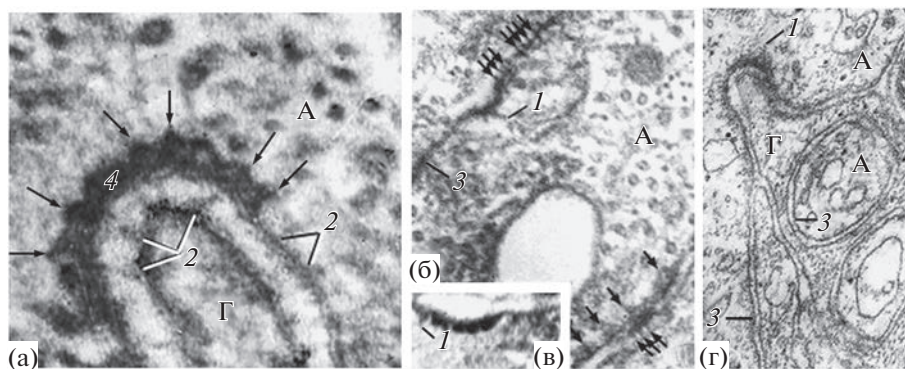


Рис. 3. Эндоцитоз с глией внутри и без нее. (а, г) — конусовидная бахрома с эндоцитозом; (б, в) — искривление аксолеммы в области односторонней десмосомы; 1 — конусовидные агрегаты белка на внутренней стороне аксолеммы; 2 — развивающаяся конусовидная агрегация внутри и вне межклеточной глио-аксональной щели; 3 — толстая мембрана; 4 — пирамидальные конусовидные искривления аксоплазмы; стрелки — конусовидная бахрома на цитоплазматической стороне аксолеммы. Электронная микроскопия. Ув.: (а) — 35000; (б, в) — 100000.

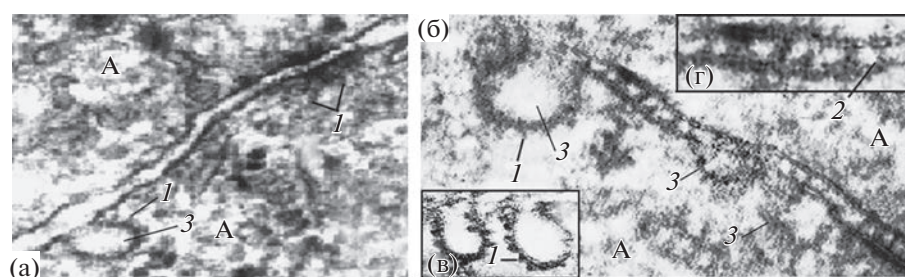


Рис. 4. Нейроэндоцитоз и мембранные септы при частотной электроактивации. (а) — десмосома и нейроэндоцитоз появляются одновременно на одной аксолемме; (б) — межмембранные септы при электростимуляции; (в) — конусовидные агрегаты впячивания аксолеммы внутрь тела клетки; (г) — перемычки на разных стадиях формирования от конусов до песочных часов и прямоугольных межмембранных мостиков; 1 — конусовидные внутрицитоплазматические выпячивания бахромы; 2 — тень формирующейся септы; 3 — нейроэндоцитоз. Электронная микроскопия. Ув.: (а) — 18000; (б) — 35000; (в) — 28000; (г) — 40000.

ных сторон мембран (песочные часы) до их соединения и формирования четких прямоугольных септ (рис. 4г). Рядом с группами септ находятся множественные, подобные эндоцитозу, впячивания аксолеммы, которые свидетельствуют о продолжении одного и того же процесса изменения аксолеммы, несмотря на множество проявлений агрегации белка.

Некоторые септы имеют определенную упорядоченность (рис. 5). Белковые осмиофильные агрегаты четко сочетаются с просветлениями, контрастными белыми промежутками, лишенными белка. Возможно, это разрыв длинного плотного белкового импрегнированного межмембранного тяжа на одиночные фрагменты с ретракцией. Но так построены только некоторые септы, а большинство из них обладает неровностями длины промежутков между септами и разной плотностью импрегнации OsO_4 (рис. 5). Это отличает их от естественных, “нормальных”, описанных другими авторами, постоянных септ. Наш эксперимент позволяет предположить, что септы, посто-

янно встречающиеся у беспозвоночных и у позвоночных в других отделах мозга, у перехватов Ранвье также, возможно, являются временно приходящими структурами, а не постоянными, как предполагают многие авторы. По форме, видимо, можно выявить динамику их построения. Важно отметить, что скопления белков способны не только соединять глиальную и аксональную мембраны нервных волокон, они в состоянии пронизывать обе смежные мембраны, нейрональную и глиальную, насквозь (рис. 5в). То есть глия тоже участвует в этом процессе формирования пессимума частоты.

В едином процессе денатурации и агрегации белков следует отметить также структурные изменения мембран химических синапсов. Они так же интенсивно соединяются с глией такими же мостиками при частотной электростимуляции. Особенно заметны пирамидоподобные аксональные скопления белка у пресинаптических специализаций (рис. 6), хотя до стимуляции в контроле преобладала бахрома в специализации дендрита.

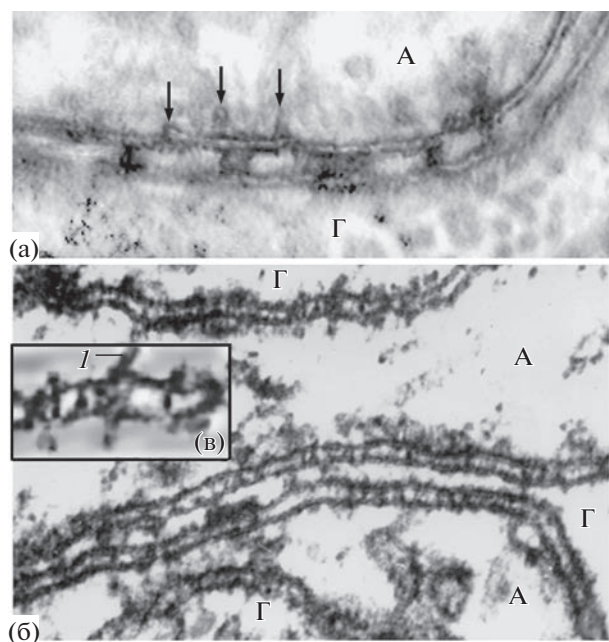


Рис. 5. Межклеточные септы после пессимальной стимуляции по Введенскому. (а) — мембранные септы разной длины и глиолема равной толщины с аксолеммой; (б) — септы разнообразной формы; (в) — септы, пересекающие нейрональную и глиальную мембраны; 1 — глио-аксональная сверхдлинная септа; стрелки — треугольные агрегаты. Электронная микроскопия. Ув.: (а) — 40000; (б) — 24000; (в) — 30000.

Постсинаптические дендриты имеют большую толщину мембраны, как и аксоны. Синаптическая специализация дендрита очень плотная. Межклеточная щель сужена в связи с накоплением множества белковых перемычек. Септы здесь очень тонкие, но их множество.

Кроме локальных септ на препаратах видны и межклеточные щели, занятые осмиофильной чернью (рис. 7), или просто удлинненные большие межклеточные пространства. У одних из этих структур обе смежные мембраны сужены и имеют одинаковую толщину. Они ничем не отличаются от щелевых контактов (ЩК) или плотных контактов (ПК): 7 четких линий (рис. 7г) или 5, если бахрома маскирует мембраны (рис. 7в), или 3 линии, если осмиевой чернью заняты обе мембраны, а также водные межмембранные расширения (рис. 7а). При агрегации и денатурации белки, как известно, выделяют значительное количество “свободной воды”. Дегидратация — это неперемное условие паранекроза. Расширение щели после формирования ЩК — это признак выделившейся воды белка по бокам контакта.

Аксонально-глиальные контакты могут быть заняты сплошной импрегнационной белковой массой и некоторым сближением соседних стянутых мембран при активации. Следует отметить,



Рис. 6. Межклеточные денатурационные белковые агрегаты в области медиаторного синапса. 1 — межмембранная щель; 2 — тонкие глио-аксональные септы; стрелки — пирамидальная бахрома аксолеммы; А — аксон; Г — глиоцит; Д — дендрит; П — пресинапс. Электронная микроскопия. Ув. 38000.

что на рис. 7 межклеточные аксо-глиальные ЩК или ПК обнаружены нами при пессимальной стимуляции вегетативных ганглиев впервые. В наших экспериментах они занимают небольшие участки мембран, но гораздо большие, чем септы. Межклеточные щели сужаются, образуя ЩК и ПК. Это первое экспериментальное получение щелевых аксо-глиальных межмембранных контактов при сохранении глии, то есть между активной и невозбудимой мембранами. Если сужение не происходит, такие заполненные осмиевой чернью межклеточные щели морфологами обычно называются непрерывными, сплошными контактами (continuous junction). По-видимому, они представляют собой стадии формирования ЩК.

ОБСУЖДЕНИЕ

Описывая гистологическую фиксацию как чрезмерное паранекротическое раздражение белков, приводящее к смерти, Д.Н. Насонов и Л.Я. Александров (1940) не предполагали, что при фиксации эти два состояния можно разделить, что реально получить и зафиксировать только паранекротические изменения. Не исключено, что это было одной из причин отсутствия морфологических исследований парабиоза до сих пор. Но оказалось, что ряд фиксаторов, например OsO_4 , глутаральдегид и некоторые другие вещества, благодаря своим физическим способностям, способны создавать “тонкий осадок” и быстрое затверждение препарата, препятствующее перераспределению белков, опережающее коллоидные изменения в протоплазме (Гайер, 1974; Миронов и др., 1994). Так электронная микроскопия получила доступ к паранекрозу и парабиозу, хотя это конечно не исключает появления при фиксации

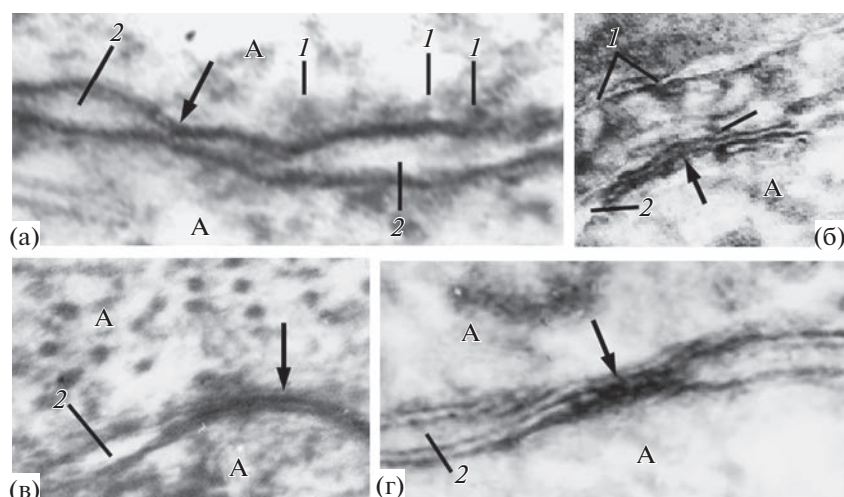


Рис. 7. Суженные межклеточные щели, заполненные агрегированными белками (ЩК и ПК) и расширения по бокам контактов. (а) — ЩК и водное расширение межклеточной щели по бокам от gap junction; (б) — аксо-глиальный ЩК; (в) — аксо-аксональный ПК; (г) — аксо-аксональный ЩК; 1 — треугольные межклеточные белковые агрегаты; 2 — водные расширения межмембранной щели; стрелки — ЩК и ПК; А — аксон; Г — глия. Электронная микроскопия. Ув.: (а, г) — 38000; (б, в) — 24000.

мелких артефактов в препаратах и за пределами разрешения ультрамикроскопов.

Известно, что во время частотного электрического раздражения по Введенскому и наступившей пессимальной частоты, симпатический ганглий крысы претерпевает волну всесторонней деполяризации. Возбудимая мембрана выполняет роль носителя ПД, а глиолема как бы неактивна, но наши эксперименты показывают и ее участие в пессимуме частоты. Прежде всего, обращают на себя внимание денатурация и агрегация подвижных протеинов. Околосмембранные белки аксолеммы постепенно формируют ее толщину и пирамидоподобные агрегаты на цитоплазматической стороне мембраны нейритов, на той же внутренней стороне мембраны, где и скапливаются ионы Na^+ при частотной активации. Появляются дополнительные структуры. Агрегаты белка у аксона так же, как у глии, заканчиваются соединениями мембранных налипаний в форме прямоугольных септ, прободающих обе мембраны. Появление новых структур — это, пожалуй, первый случай, когда морфологически удается получить не изменение в эксперименте, а построение *de novo* протеиновых образований.

Значение фундаментальных исследований Н.Е. Введенского, несомненно, играет важную роль в современной нейрофизиологии. Еще в первых исследованиях профессора М.А. Массона (Masson, 1837) в автоэкспериментах болевых ощущений при частотной стимуляции было обнаружено удивительное явление — прекращение боли при высоких частотах активации. Это явление широко используется в настоящее время в практической медицине на человеке и животных (Fisher et al., 2015;

Ling et al., 2019; Janjua et al., 2021). Но его исследования не были остановлены на этом. В продолжение активации, точнее после нее, Н.Е. Введенский обнаружил неотчетливые и непонятные шумы в стетоскопе (Введенский, 1952). Он понимал, что это нервная импульсация, но объяснить ее при развивающейся пессимальной частоте в XIX в. было невозможно. В наше время с помощью осциллографов удастся показать эту уникальную, таинственную импульсацию после блокирования нервного проведения. Появление новых, обнаруженных нами при электростимуляции электрических сигналов (рис. 7), — есть возможное объяснение этого явления. Инновационное исследование пессимума частоты еще может принести дополнительные результаты.

Полученные морфологические данные имеют и общебиологическое значение. Это касается неожиданного появления в нервной системе при электростимуляции третичной и четвертичной структур белков (септ, ЩК и др.). Септы — давно описанные в цитологии органеллы. Сейчас они признаны самостоятельными и постоянными клеточными структурами, происхождение и природа которых неизвестны (Rice et al., 2021). Они описаны у беспозвоночных и позвоночных между эпителиальными клетками, в нервной системе, а также у человека при патологии. Септы даже рассматриваются многими как исключительный признак некоторых видов беспозвоночных. Они описаны у дафний, тараканов, раков, жуков, термитов, гусениц, червей, в основном, между эпителиоцитами и кутикулой животного. Или у эпителиев органов, например, слюнных желез. Мы проанализировали 52 работы авторов и все они считают эти

структуры постоянными образованиями нормальной клетки, но наш опыт свидетельствует об их временном, возможно альтерационном, образовании.

У этих септ есть одна общая особенность. Они встречаются обязательно совместно с другими клеточными органеллами, такими как десмосомы, ЩК, ПК и continuous junction, как будто они возникли по одной причине, одновременно, то есть, так же, как у нас, после электростимуляции. Единственное, чего мы не встречали в статьях других авторов, это структуры подобные эндоцитозу, которые в большом количестве встречаются при пессимальной электростимуляции. В последнее время появилось большое количество статей о функции паранодальных септ перехвата Ранвье (Vallat et al., 2017; Manso et al., 2019; Faivre-Sargailh, 2020). К сожалению, все изложенные в статьях идеи о функции этих септ высказываются в виде необоснованных предположений. На основании прижизненных исследований перехватов мы считаем, что непостоянство и значительная изменчивость септ перехватов также являются показателем их временного появления, связанного с условиями эксперимента (Сотников, Ревенко, 2022).

Проницаемость фосфолипидных искусственных мембран вообще появляется только тогда, когда в мембрану из внешнего раствора вводятся пептиды и белки (Ходоров, 1975). Давно известно, что белки дестабилизируют мембраны, образуя мелкие и крупные поры. Формирование в наших препаратах новообразованных щелевых контактов позволяет по-новому обсудить порообразование белков при электростимуляции. Порообразующие белки происходят из многих не связанных семейств. Они относятся к ионным порам и ионным каналам. Известно, что они имеют свойство изменять величину перфораций от 0.7 до 40 нм (Omersa et al., 2019). Недавно показано, что такие белки способны пропускать бактерии (Cosentino, García-Sáez, 2018) и внутриклеточных паразитов (Marchioretto et al., 2013; Guerra, Carruthers, 2017). Не исключено, что изменение конформации белков, как мы видели при электростимуляции, происходит и с другими белками мембран. Переменный диаметр пор (каналов) достигается либо за счет включения разного количества белковых субъединиц, либо за счет растяжения области жидкой мембраны по периметру каналов. То есть поры могут быть не только ионными, но и более крупными, визуализированными (Laube et al., 1996). При агрегации во время электростимуляции волокон и тел нейронов, новый контакт подвижных белков вполне реален, а значит, возможно и увеличение проницаемости мембран. Молекулярное моделирование предполагает, что амилоидные субъединицы пор могут собираться в 24-мерные порообразующие структуры (Kagan, 2012).

Калиевые каналы с двумя порами широко распространены среди нейронов и глии (Luo et al., 2021).

Известно, что в процессе слияния внутримембранных белков коннексинов (многочисленные различные Cx (connexin)) образуются каналы ЩК. Мы высказываем предположение, что при агрегации денатурированных белков во время электростимуляции процессы соединения протеинов, всегда обогащенных водными пещерами и каналами с высокой электропроводностью мембран, также возможны. Интересно, исчезают ли септы после восстановления активности препарата? Но это еще предстоит выяснить в будущем. Нейрональные септы, как оказалось, появляются и при обработке ганглиев 0.4%-ной проназой (Сотников, 2019). Это означает, что их появление служит подтверждением неспецифических свойств белка. Характеризуя парабиоз и паранекроз, Д.Н. Насонов, В.Я. Александров и Н.Е. Введенский также подчеркивали неспецифический характер паранекроза и парабиоза этих явлений. Отмеченные в статье структурные белковые построения и выделение воды при парабиозе, по-видимому, могут считаться проявлением паранекроза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты исследований подтверждают, что такой электрофизиологический процесс, как пессимум частоты, сопровождается дегидратацией, денатурацией примембранного белка, а также имеет обильный морфологический эквивалент: плотные мембраны, десмосомы, эндоцитоз, околосмембранные агрегаты белка, септы и щелевые контакты.

БЛАГОДАРНОСТИ

Выражаю глубокую благодарность Д.А. Мехилияну за помощь в подготовке статьи.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при поддержке Госпрограммы 47 ГП "Научно-технологическое развитие Российской Федерации" (2019–2030 гг.), тема № 0134-2019-0001.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Введенский Н.Е.* Полное собрание сочинений. Т. 3. Л.: Изд-во ЛГУ им. А.А. Жданова, 1952. С. 84.
- Гайер Г.* Электронная гистохимия. М.: Мир, 1974. 488 с.
- Миронов А.А., Комиссарчик Я.Ю., Миронов В.А.* Методы электронной микроскопии в биологии и медицине. СПб: Наука, 1994. 400 с.
- Насонов Д.Н., Александров В.Я.* Реакция живого вещества на внешние воздействия. М.—Л.: Изд-во АН СССР, 1940. 252 с.
- Сотников О.С.* Объединенная нейронно-ретикулярная теория. СПб: Наука, 2019. 239 с.
- Сотников О.С., Ревенко С.В.* Физиология перехватов Ранвье живых миелиновых волокон // Биол. мембраны. 2022. Т. 39. № 4. С. 1–14.
- Финкельштейн А.В., Птицын О.Б.* Физика белка. М.: КДУ, 2012. 456 с.
- Ходоров Б.И.* Общая физиология возбудимых мембран. Руководство по физиологии. М.: Наука, 1975. 408 с.
- Calvert J.S., Grahn P.J., Strommen J.A. et al.* Electrophysiological guidance of epidural electrode array implantation over the human lumbosacral spinal cord to enable motor function after chronic paralysis // J. Neurotrauma. 2019. V. 36. № 9. P. 1451–1460. <https://doi.org/10.1089/neu.2018.5921>
- Conese M., Carbone A., Beccia E., Angiolillo A.* The fountain of youth: a tale of parabiosis, stem cells, and rejuvenation // Open Med. (Wars.). 2017. V. 12. P. 376–383. <https://doi.org/10.1515/med-2017-0053>
- Cosentino K., García-Sáez A.J.* MIM through MOM: the awakening of Bax and Bak pores // EMBO J. 2018. V. 37. № 17. P. e100340. <https://doi.org/10.15252/embj.2018100340>
- Faivre-Sarrailh C.* Molecular organization and function of vertebrate septate-like junctions // Biochim. Biophys. Acta Biomembr. 2020. V. 1862. № 5. P. 183211. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2020.183211>
- Fisher K.M., Jilani N.E., Oluoch G.O., Baker S.N.* Blocking central pathways in the primate motor system using high-frequency sinusoidal current // J. Neurophysiol. 2015. V. 113. № 5. P. 1670–1680. <https://doi.org/10.1152/jn.00347.2014>
- Gerasimenko Y., Preston C., Zhong H. et al.* Rostral lumbar segments are the key controllers of hindlimb locomotor rhythmicity in the adult spinal rat // J. Neurophysiol. 2019. V. 122. № 2. P. 585–600. <https://doi.org/10.1152/jn.00810.2018>
- Guerra A.J., Carruthers V.B.* Structural features of apicomplexan pore-forming proteins and their roles in parasite cell traversal and egress // Toxins (Basel). 2017. V. 9. № 9. P. 265. <https://doi.org/10.3390/toxins9090265>
- Herbet G., Lafargue G., Bonnetblanc F. et al.* Is the right frontal cortex really crucial in the mentalizing network? A longitudinal study in patients with a slow-growing lesion // Cortex. 2013. V. 49. № 10. P. 2711–2727. <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2013.08.003>
- Janjua T.A.M., Nielsen T.G.N.D.S., Andreis F.R. et al.* The effect of peripheral high-frequency electrical stimulation on the primary somatosensory cortex in pigs // IBRO Neurosci. Rep. 2021. V. 11. P. 112–118. <https://doi.org/10.1016/j.ibneur.2021.08.004>
- Jiang F., Yin H., Qin X.* Fastigial nucleus electrostimulation reduces the expression of repulsive guidance molecule, improves axonal growth following focal cerebral ischemia // Neurochem. Res. 2012. V. 37. № 9. P. 1906–1914. <https://doi.org/10.1007/s11064-012-0809-y>
- Kagan B.L.* Membrane pores in the pathogenesis of neurodegenerative disease // Prog. Mol. Biol. Transl. Sci. 2012. V. 107. P. 295–325. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385883-2.00001-1>
- Laube G., Röper J., Pitt J.C. et al.* Ultrastructural localization of Shaker-related potassium channel subunits and synapse-associated protein 90 to septate-like junctions in rat cerebellar Pinceaux // Brain Res. Mol. Brain Res. 1996. V. 42. № 1. P. 51–61. [https://doi.org/10.1016/S0169-328X\(96\)00120-9](https://doi.org/10.1016/S0169-328X(96)00120-9)
- Ling D., Luo J., Wang M. et al.* Kilohertz high-frequency alternating current blocks nerve conduction without causing nerve damage in rats // Ann. Transl. Med. 2019. V. 7. № 22. P. 661. <https://doi.org/10.21037/atm.2019.10.36>
- Luo Y., Huang L., Liao P., Jiang R.* Contribution of neuronal and glial two-pore-domain potassium channels in health and neurological disorders // Neur. Plast. 2021. V. 2021. P. 8643129. <https://doi.org/10.1155/2021/8643129>
- Manso C., Querol L., Lleixà C. et al.* Anti-Neurofascin-155 IgG4 antibodies prevent paranodal complex formation in vivo // J. Clin. Invest. 2019. V. 129. № 6. P. 2222–2236. <https://doi.org/10.1172/JCI124694>
- Marchioretto M., Podobnik M., Dalla Serra M., Anderluh G.* What planar lipid membranes tell us about the pore-forming activity of cholesterol-dependent cytolysins // Biophys. Chem. 2013. V. 182. P. 64–70. <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2013.06.015>
- Mardani P., Oryan S., Sarihi A. et al.* ERK activation is required for the antiepileptogenic effect of low frequency electrical stimulation in kindled rats // Brain Res. Bull. 2018. V. 14. P. 132–139. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2018.04.013>
- Masson M.A.* De l'induction d'un courant sur lui-même // Ann. de Chimie et de Physique. 1837. V. 66. P. 5–36.
- Nekhendzy V., Davies M.F., Lemmens H.J., Maze M.* The role of the craniospinal nerves in mediating the antinociceptive effect of transcranial electrostimulation in the rat // Anesth. Analg. 2006. V. 102. № 6. P. 1775–1780. <https://doi.org/10.1213/01.ANE.0000219588.25375.36>
- Ogawa Y., Rasband M.N.* The functional organization and assembly of the axon initial segment // Curr. Opin. Neurobiol. 2008. V. 18. № 3. P. 307–313. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2008.08.008>
- Omersa N., Podobnik M., Anderluh G.* Inhibition of pore-forming proteins // Toxins (Basel). 2019. V. 11. № 9. P. 545. <https://doi.org/10.3390/toxins11090545>
- Rath M., Vette A.H., Ramasubramaniam S. et al.* Trunk stability enabled by noninvasive spinal electrical stimulation after spinal cord injury // J. Neurotrauma. 2018. V. 35. № 21. P. 2540–2553. <https://doi.org/10.1089/neu.2017.5584>

- Rice C., De O., Alhadyan H. et al. Expanding the junction: new insights into non-occluding roles for septate junction proteins during development // *J. Dev. Biol.* 2021. V. 9. № 1. P. 11.
<https://doi.org/10.3390/jdb9010011>
- Schucht P., Moritz-Gasser S., Herbet G. et al. Subcortical electrostimulation to identify network subserving motor control // *Hum. Brain Mapp.* 2013. V. 34. № 11. P. 3023–3030.
<https://doi.org/10.1002/hbm.22122>
- Vallat J.M., Yuki N., Sekiguchi K. et al. Paranodal lesions in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy associated with anti-Neurofascin 155 antibodies // *Neuromus. Disord.* 2017. V. 27. № 3. P. 290–293.
<https://doi.org/10.1016/j.nmd.2016.10.008>
- Xu Z., Wang Y., Chen B. et al. Entorhinal principal neurons mediate brain-stimulation treatments for epilepsy // *EBioMedicine.* 2016. V. 14. P. 148–160.
<https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.11.027>

Changes in Active and Non-Excitable Adjacent Nerve Membranes after Electroactivation

O. S. Sotnikov*

Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

**e-mail: ossotnikov@mail.ru*

It has long been recognized that parabiosis and paranecrosis are two close cytological theories that have demonstrated the intermediate state of the cell between life and death from various scientific positions. However, they have not previously been shown by anyone at the same time on the same object. This became the goal of our electron microscopic work. Active and non-excitable membranes of nerve and glial cells under pessimal inhibition have been studied. The main sign of paranecrosis was considered denaturation and aggregation of membrane protein, manifested in a decrease in its degree of dispersion and dehydration. Parabiosis was caused by the pessimal frequency of electroactivation of the sympathetic ganglion of white rats. As a result, the axolemma turned into a thick membrane, reinforced with fringe and the appearance of desmosomes. There were protein sticking from the inside of the neurolemma in the form of pyramids, which, by retracting, curved the membrane. In its bends, pyramid-like loose aggregates of intermembrane protein were formed from the outer sides of the glial and axolemma membranes, which, merging, turned into a kind of hourglass and septa. The septa were localized in the intercellular slits of axons and glia and often crossed both membranes. In chemical synapses, the shell of dendrites turned out to be denser than that of presynaptic axons. The process of protein aggregation and retraction locally narrows the intercellular axo-axonal and axo-glial cleft. Gap and tight junctions (GJ and TJ) are formed. So, for the first time we got a way of their experimental education. All reactive changes that occur *de novo* are considered as one reversible process of denaturation and aggregation of the mass of intrinsic and near-membrane proteins developed under the influence of frequency electrical stimulation. The pulse of the drug is restored within minutes. It is assumed that the revealed changes, paranecrosis, are a morphological manifestation of parabiosis.

Keywords: morphology of parabiosis, paranecrosis of nervous tissue, thick membranes, septa during electrical stimulation, gap neural-glial junctions, tight junctions

УДК 577.24

ИЗМЕНЕНИЯ СОСТОЯНИЯ ЖИЗНЕННО ВАЖНЫХ СИСТЕМ ОРГАНИЗМА ПРИ LONG-COVID-19

© 2023 г. Б. И. Кузник^{1, 2}, К. Г. Шаповалов¹, Н. И. Чалисова^{3, 4, *}

¹Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия

²Инновационная клиника “Академия здоровья”, Чита, Россия

³Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

⁴Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: ni_chalisova@mail.ru

Поступила в редакцию 05.05.2022 г.

После доработки 16.06.2022 г.

Принята к публикации 17.06.2022 г.

Длительный COVID-19 или Long-COVID-19 является затяжным заболеванием, которое продолжает изучаться. Представлены данные по эпидемиологии, основным симптомам, характерным для Long-COVID-19. Обсуждаются вопросы, связанные с патогенезом заболевания. При этом особое внимание уделяется процессу воспаления (в том числе эндотелия сосудистой стенки), состоянию иммунной системы (цитокиновый шторм), системе гемостаза (механизм развития микроангиопатии и тромбоза) и окислительному стрессу. При анализе особое место отводится нарушениям ЦНС, включая органические поражения мозга, и расстройствам когнитивных функций. Кроме того, описаны известные к настоящему времени осложнения со стороны сердечно-сосудистой системы и органов дыхания. Лечение и реабилитация больных Long-COVID-19 является не только медицинской, но и значительной социальной проблемой.

Ключевые слова: длительный ковид-19 (Long-COVID-19), иммунитет, гемостаз, воспаление, осложнения, ЦНС, когнитивные функции, сердце, сосуды, легкие

DOI: 10.31857/S0042132423010052, **EDN:** HKWMCS

ВВЕДЕНИЕ

Длительный COVID-19 или Long-COVID-19 – термин, обозначающий затяжное заболевание, признаки которого проявляются даже после купирования его основных симптомов. Его также называют постострым COVID-19 (post-acute COVID-19), продолжающимся симптоматическим COVID-19 (ongoing symptomatic COVID-19), хроническим COVID-19 (chronic COVID-19), постковидным-19 синдромом (post COVID-19 syndrome) и продолжительным COVID-19 (long-haul COVID-19). Изредка используется термин постострые последствия инфекции SARS-CoV-2 (post-acute sequelae of SARS-CoV-2 infection – PASC) и постострый COVID-19 (2.PASC) (Rubin, 2020), а также долгожители COVID-19 (long-haulers COVID-19). Следовательно, Long-COVID-19 можно представить как совокупность различных клинических симптомов у пациентов, считавшихся выздоровевшими от COVID-19, которые могут проявиться как минимум через четыре недели после первоначального заражения (Chipra et al., 2022). Следует отметить, что постострый или длительный COVID становится все более распространенным синдромом. Он включает в себя множество

изнурительных симптомов, которые могут длиться в течение нескольких недель или более (месяцы, годы), даже после легко протекающего заболевания (Dani et al., 2021). Длительный COVID-19 концептуализируется как полиорганное заболевание с широким спектром клинических проявлений, которые могут свидетельствовать о легочных, сердечно-сосудистых, эндокринных, гематологических, почечных, желудочно-кишечных, дерматологических, иммунологических, психиатрических или неврологических заболеваниях. Полагают, что Long-COVID-19 на самом деле является миалгическим энцефаломиелитом. “При этом сходства между этими двумя заболеваниями наблюдаются при сравнении Международных консенсусных критериев диагностики миалгического энцефаломиелита с симптомами, описанными при длительном COVID-19” (Espinosa Rodríguez et al., 2021, p. 65).

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ LONG-COVID-19

Постковидный синдром, или Long-COVID-19, развивается у каждого третьего взрослого и каждого десятого ребенка независимо от тяжести пе-

ренесенного заболевания (Pazuhina et al., 2022). При этом симптомы могут быть обусловлены стойким хроническим воспалением (например, утомляемостью), последствиями повреждения органов (например, фиброзом легких, хронической болезнью почек), госпитализацией и социальной изоляцией (например, атрофией мышц, недоеданием) (Scordo et al., 2021).

К настоящему времени людей, больных длительным COVID-19, насчитывают миллионы. Так как к марту 2021 г. число подтвержденных случаев заражения COVID-19 по всему миру перевалило за 110 млн, можно предположить, что к указанному сроку в той или иной степени признаки и симптомы длительного ковида могли испытывать по меньшей мере около 15 млн человек. Трудно представить, какое число больных длительным COVID-19 имеется к настоящему времени. По всей видимости, приведенная цифра в 15 млн человек должна быть, как минимум, удвоена. Их количество, пока длится пандемия, с каждым днем будет только нарастать.

ДЕФИНИЦИИ И СИМПТОМОКОМПЛЕКС LONG-COVID-19

Национальный институт здравоохранения и повышения квалификации NICE (National institute for health and care excellence), Шотландская межвузовская сеть рекомендаций SIGN (Scottish intercollegiate guidelines network), Королевский колледж врачей общей практики RCGP (Royal college of general practitioners) различают в течении инфекции COVID-19 три фазы: острый COVID-19 (признаки и симптомы инфекции COVID-19 до 4 нед.); продолжающийся симптоматический COVID-19 (4–12 нед.); пост-COVID-19-синдром – признаки и симптомы сохраняются более 12 нед. (Shah et al., 2021). Термин Long-COVID-19 обозначает признаки и симптомы, которые продолжаются или развиваются после острой фазы COVID-19 и включают как продолжающийся симптоматический COVID-19, так и пост-COVID-19-синдром. Хронический COVID и долгосрочный COVID – это другие названия, используемые для описания последствий COVID-19 (Mahase et al., 2020; Callard, Perego, 2021).

Согласно мнению некоторых авторов (López Castro, 2020), симптомы или аномальные клинические параметры, сохраняющиеся более двух недель после начала заболевания COVID-19, не возвращающиеся к исходному здоровому уровню, могут рассматриваться как долгосрочные последствия патологического процесса. О таких сдвигах в деятельности организма больного чаще всего сообщается у выживших после тяжелых и критических состояний. Но длительные изменения в деятельности различных органов и систем также на-

блюдаются у лиц с легко протекающей инфекцией и даже у тех, кто не нуждался в госпитализации.

Отмечается (Silva Andrade et al., 2021), что симптомы Long-COVID-19 не являются локализованными. Они могут проявляться на уровне иммунной, легочной, кровеносной, сердечно-сосудистой, желудочно-кишечной, нервной систем. При этом мультисистемные поражения при Long-COVID-19 сопровождаются цитокиновым штормом, который приводит к воспалению эндотелия, тромбозу микрососудов и полиорганной недостаточности (Silva Andrade et al., 2021).

Необходимо отметить, что большинство симптомов при Long-COVID-19 похожи на симптоматику, развивающуюся во время острой фазы заболевания, из которых наиболее часто регистрируемые: усталость, одышка, кашель, головная боль, затуманенный мозг, аносмия и дисгевзия (Garg et al., 2021). Сообщается о более разнообразных и изнурительных симптомах, затрагивающих кожный покров, дыхательную, сердечно-сосудистую, пищеварительную системы, ЦНС. При поражении ЦНС могут возникать обострения психоневрологического характера или появление новых психических расстройств, особенно у тех пациентов с Long-COVID-19, кто имел сопутствующее тяжелое состояние или поступил в отделение интенсивной терапии (Wong et al., 2020; Garg et al., 2021).

Отмечают (López Castro, 2020) пять наиболее частых симптомов при Long-COVID-19: усталость (58%), головная боль (44%), нарушение внимания (27%), выпадение волос (25%), одышка (24%). Согласно данным (Okada et al., 2021), через 6 мес. от начала COVID-19 потеря обоняния или вкуса является вторым по распространенности стойким симптомом после утомляемости.

Установлено (Yelin et al., 2021), что среди госпитализированных пациентов с COVID-19, рентгенологические изменения сохранялись почти у двух третей пациентов через 90 дней после выписки. Одновременно выявлялось снижение когнитивных функций, падение качества жизни, одышка. Больше всего на жизнь пациентов влияли боль в мышцах и трудности при выполнении обычных действий.

При наблюдении за пациентами в течение почти 4 мес. после появления симптомов заболевания (Xiong et al., 2021) выявлены наиболее частые симптомы: утомляемость и одышка.

Изучено влияние COVID-19 на когорту из 150 выздоравливающих пациентов, которые лечились амбулаторно после легких и умеренных эпизодов (Carvalho-Schneider et al., 2021). С пациентами связывались через 30 и 60 дней после появления симптомов и просили заполнить простую опросник относительно имеющихся симптомов заболевания и общего самочувствия. Исследование показывает, что две трети пациентов сообщают

ли по крайней мере об одном симптоме как на 30-й, так и на 60-й день, а треть испытуемых чувствовала себя на 60-й день так же плохо, как и во время острого эпизода, или хуже. Выявлены наиболее распространенные симптомы: аносмия или агевзия (27.8% — на 30-й день, 22% — на 60-й), за которыми следовали гриппоподобные симптомы (36% — на 30-й день, 21% — на 60-й).

Значительное число исследований указывает на то, что, помимо пневмонии и острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), Long-COVID-19 приводит к мультисистемным поражениям в виде миокардита, аритмий, остановки сердца, желудочно-кишечных симптомов, гипоксемического повреждения головного мозга, острого нарушения функции печени и почек (Garg et al., 2021). Имеются также сообщения о кожных поражениях в виде крапивницы, пятнисто-папулезных высыпаний, подобных обморожению пальцев рук и ног (ковидные стопы), ливедоидной васкулопатии, ветряной оспы, везикул варицеллоформной формы. Клинически многие из этих кожных поражений, скорее всего, вторичны по отношению к окклюзии малых и средних кровеносных сосудов из-за образования микротромбов или из-за вирусных иммунных комплексов антиген–антитело. И такое же объяснение может быть справедливым для возможного гипоксемического повреждения, одновременно происходящего в других жизненно важных органах — в мозге, сердце, легких и почках.

ПАТОГЕНЕЗ LONG-COVID-19

Согласно некоторым данным (Pierce et al., 2022), патогенез Long-COVID-19 включает четыре патофизиологические категории: вирусоспецифические патофизиологические вариации, окислительный стресс, иммунологические аномалии и воспалительное повреждение. Вместе с тем, за последнее время стало известно, что по своей генетической природе вирус SARS-CoV-2 не однороден. Среди штаммов РНК-вирусов отмечаются 9 новых коронавирусов, включая α , β , γ , δ , Омикрон (BA.1, BA.2). От штамма вируса, вызвавшего заболевание COVID-19, во многом зависит симптоматика, тяжесть и исход патологического процесса.

Вирус SARS-CoV-2 поражает людей любого возраста, тогда как частота госпитализаций больных COVID-19 увеличивается по мере старения. Чем старше пациенты, тем чаще они попадают в отделение реанимации и интенсивной терапии и тем чаще у таких больных появляются симптомы, характерные для Long-COVID-19 (Verity et al., 2020). При этом женщины, по сравнению с мужчинами, болеют Long-COVID-19 в 1.5 раза чаще, однако подобная разница не наблюдается у лиц старше 80 лет (Garg et al., 2020). При этом у мужчин COVID-19 протекает тяжелее и с более высоким уровнем смертности, чем у женщин. По всей

видимости, это связано с действием андрогенов, так как их рецептор активирует рецепторы клеточной поверхности, которые опосредуют проникновение вируса в клетку (Nassau et al., 2022).

Ультразвуковые исследования показывают, что SARS-CoV-2 повреждает клетки с вирусным распределением в цитоплазме, и многие вирусные частицы инкапсулируются в цитоплазматические везикулы. При этом репликация SARS-CoV-2 запускает высвобождение провоспалительных цитокинов и хемокинов. Гибель клеток индуцируется в эпителии дыхательных путей, альвеолярных эпителиальных и эндотелиальных клетках сосудов, в которых наблюдается высокая экспрессия ACE2 (angiotensin converting enzyme 2) (Lucas et al., 2020; Yap et al., 2020). ACE2, как известно, — важнейший элемент ренин-ангиотензин-альдостероновой системы — РААС, участвующей в регуляции артериального давления, электролитного гомеостаза, роста и пролиферации клеток, воспаления. Он также содержится и во внеклеточном матриксе. В острой фазе SARS-CoV-2 проявляет особое сродство к рецепторам ACE2, выявляемым в высокой концентрации в легких, печени, почках и кровеносных сосудах. В первую очередь вирус поражает дыхательную систему и, достигнув альвеол легких, прикрепляется к клеткам-хозяевам, особенно к пневмоцитам II типа. Повреждая альвеолы, SARS-CoV-2 способствует разрушению эндотелия капилляров, вызывая эндотелиит, что приводит к образованию микротромбов (Кузник и др., 2020a; López Castro, 2020; Garg et al., 2020, 2021). Проникая в кровеносные сосуды, SARS-CoV-2 распространяется по всему организму. При этом вирус стимулирует эндотелий и форменные элементы крови, вызывая значительное высвобождение цитокинов и хемокинов, что в тяжелых случаях приводит к цитокиновому шторму (Кузник и др., 2020a, 2020b; Khavinson et al., 2020, 2021). Предполагается, что у больных Long-COVID-19 существует связь между синдромом активации тучных клеток и интенсивностью цитокинового шторма. При этом вызванное чрезмерной воспалительной реакцией повреждение органа требует гораздо больше времени для нормализации поврежденных функций, что и является причиной появления основных симптомов при Long-COVID-19 (López Castro, 2020).

Установлено, что общие иммунные аномалии при COVID-19, сопровождаемые цитокиновым штормом, включают прогрессирующую гиперцитокинемию с повышением уровней TNF- α , IL-6, IL-1 β , IL-10 и других провоспалительных хемокинов, а также активированных макрофагов, с увеличением концентрации и с усилением активации NF- κ B, наблюдаемым в случаях средней и тяжелой степени тяжести. При этом инициируется воспаление и высвобождение молекулярных паттернов, связанных с повреждением, являю-

щихся характерными чертами и для COVID-19 (Morris et al., 2021).

Важная роль в патогенезе COVID-19 отводится интерферонам, особенно IFN-1. Коронавирусы способны ингибировать продукцию интерферона как *in vitro*, так и *in vivo*. Установлено, что у пациентов с тяжелой формой COVID-19, по сравнению с пациентами с легкими или среднетяжелыми случаями, выявляется значительное снижение действия IFN-1 (Hadjadj et al., 2020; Adeloye et al., 2021). Следует также указать на значение NK-лимфоцитов (natural killer) в патогенезе тяжелых осложнений при COVID-19, содержание которых, особенно при тяжелом течении инфекции, вызванной SARS-CoV-2, значительно падает. По всей видимости, NK-клетки мигрируют в легкие и другие органы инфицированных SARS-CoV-2 пациентов (Wang et al., 2020a). В то же время при COVID-19 в плазме пациентов повышается содержание TNF- α , секретируемого моноцитами. В свою очередь, возникающая при COVID-19 дисфункция моноцитов негативно отражается на противовирусной функции NK-клеток (Любавина и др., 2021).

Одно из важнейших проявлений COVID-19 — образование комплексов антиген—антитело ко второй или третьей неделе, когда активируется гуморальный иммунитет (Strauss et al., 2020). Появляющиеся аутоантитела (аАТ) в значительной степени ответственны за фиброз легких и другие долгосрочные последствия COVID-19, возникающие у пациентов. При этом наблюдаются нарушения регулирующей функции иммунитета, лежащие в основе протромботического состояния, и развитие поражений органов, наблюдаемое у пациентов с Long-COVID-19 (Zuo et al., 2020).

Для того, чтобы оценить и долгосрочное воздействие инфекции SARS-CoV-2 на иммунную систему, и наличие аАТ, проведено проспективное исследование двух групп пациентов: с острым SARS-CoV-2 и ранее инфицированных SARS-CoV-2 — всего 80 человек, а также 39 не болевших COVID-19 доноров (Lingel et al., 2021). Уровень аАТ против циклического цитруллинированного пептида — ЦЦП — специфического предиктора ревматоидного артрита был значимо ($p = 0.035$) повышен только у реконвалесцентов. Значительное (до критических цифр) повышение уровня тканевой транслутаминазы (ТГ) — специфического предиктора целиакии — наблюдалось и у пациентов с острым течением COVID-19, и у выздоравливающих ($p = 0.002$). Повышенный уровень антител как к ЦЦП, так и к ТГ выявлялся через 4–8 мес. после инфицирования SARS-CoV-2. Антитела к ТГ встречались преимущественно у пациентов пожилого возраста на фоне пост-SARS-CoV-2-специфического иммунного состава ($R^2 = 0.31$; $p = 0.044$). Следовательно, повышенное содержание антител и к ЦЦП, и к ТГ мо-

жет сохраняться в течение длительного времени после выздоровления даже от легко перенесенного COVID-19.

Наиболее вероятно, что основным механизмом возникновения при COVID-19 энцефалопатии, энцефалита, миелита и острого диссеминированного энцефаломиелимита является гиперактивация иммунной системы, сопровождаемая гипervоспалением и цитокиновым штормом, а также одновременной выработкой специфических аАТ против тканей ЦНС. аАТ обнаружены преимущественно в спинномозговой жидкости тяжелобольных пациентов с COVID-19. Проявление вклада нейроиммунологических механизмов, в том числе образования аАТ, в долгосрочные последствия после перенесенного заболевания COVID-19: утомляемость, ухудшение памяти, нарушение сна или тревожность — потребует длительного клинического наблюдения.

У 31 пациента, страдающего различными симптомами Long-COVID-19 после острой фазы заболевания, исследовали (Wallukat et al., 2021) содержание аАТ к различным рецепторам. При этом у всех выявлено от 2 до 7 различных аАТ к рецепторам GPCR-fAAB (G protein-coupled receptors — functional autoantibodies), которые действовали как агонисты рецепторов. Среди них были как положительные, так и отрицательные аАТ к GPCR-fAAB. Положительные хронотропные GPCR-fAAB, выявленные в крови пациентов с длительным COVID-19, нацелены на $\beta 2$ -адренорецептор ($\beta 2$ -fAAB), $\alpha 1$ -адренорецепторы ($\alpha 1$ -fAAB), AT1-рецептор ангиотензина II (AT1-fAAB) и ноцицептин-подобный опиоидный рецептор (NOC-fAAB). Идентифицированные отрицательные хронотропные GPCR-fAAB нацелены на мускариновый M2-рецептор (M2-fAAB), MAS-рецептор (MAS-fAAB) и ETA-рецептор (ETA-fAAB). Высказано предположение, что стойкое наличие аАТ к GPCR-fAAB лежит в основе патогенеза Long-COVID-19.

Указывается (Bornstein et al., 2021), что существует поразительное сходство Long-COVID-19 с миалгическим энцефаломиелимтом, также называемым синдромом хронической усталости, связанным с вирусным и аутоиммунным патогенезом. Согласно мнению авторов, в патогенезе обоих заболеваний ключевую роль должны играть антитела к рецепторам нейротрансмиттеров против β -адренергических и мускариновых рецепторов. Авторами (Bornstein et al., 2021) обнаружено одинаковое повышение выявленных аАТ в обеих группах пациентов. Экстракорпоральный аферез с использованием специального фильтра эффективен для значительного снижения количества таких антител, явно снижая изнурительные симптомы у пациентов с синдромом хронической усталости. Предположительно, такая форма нейрофереза может стать мно-

гообещающим терапевтическим вариантом для пациентов с пост-COVID-19-синдромом.

Известно, что волчаночный антикоагулянт (lupus anticoagulant, LA) входит в число антител к фосфолипидам (aPL), увеличивающих время свертывания крови. LA выявляются у пациентов с антифосфолипидным синдромом, что само по себе представляет значительный фактор риска тромбоза. Можно полагать, что наличие LA является одним из признаков COVID-19 у больных с тяжелым и длительным течением заболевания, что, безусловно, способствует тромбообразованию. При этом наибольшему риску тромбоза из-за aPL подвергаются пациенты с самыми высокими титрами или множественными положительными результатами. Видимо, в основе действия aAT при Long-COVID-19 лежит распознавание ряда собственных антигенов, приводящее к связыванию антигена. При этом модифицируются важные процессы, участвующие в воспалении, защите от патогенов и коагуляции. При Long-COVID-19 значительно возрастает распространенность aAT, нацеленных на иммуномодулирующие белки, включая цитокины, хемокины, компоненты комплемента и белки клеточной поверхности. Все это способствует не только более тяжелому, но и продолжительному течению патологического процесса (Chen et al., 2021).

Кроме того, SARS-CoV-2 способствует высвобождению клеточного АТФ. Повышенный уровень внеклеточного АТФ активирует пуринергические рецепторы иммунных клеток, инициируя физиологический провоспалительный иммунный ответ. Персистирующая вирусная инфекция еще больше стимулирует высвобождение АТФ, что приводит к активации P2X7-пуринергических рецепторов (P2X7Rs) и к тяжелому, но физиологичному воспалению. Прогрессирование заболевания детерминирует длительную активацию P2X7Rs, вызывающую гибель клеток и неконтролируемое высвобождение АТФ, что обуславливает цитокиновый шторм и десенсибилизацию всех других пуринергических рецепторов иммунных клеток. Это провоцирует иммунный паралич с сопутствующими инфекциями или вторичными инфекциями, обозначаемый как гипервоспаление (Dani et al., 2021; Estiri et al., 2021), что может быть одной из причин развития Long-COVID-19.

Выявлено (Su et al., 2022) четыре предвосхищающих фактора риска тяжелого течения и длительного заболевания во время первоначальной диагностики COVID-19: диабет 2-го типа, РНК-емия SARS-CoV-2, виремия вируса Эпштейна–Барр и наличие специфических aAT.

Как уже подчеркивалось, тяжелое течение COVID-19, а также появление Long-COVID-19 чаще возникают у людей пожилого и старческого возраста. Процесс старения, характеризующийся

стабильной остановкой роста, в основе которого лежат нарушения провоспалительных и профиллактических функций, вносит вклад не только в патогенез COVID-19, но и в длительность его протекания. Следует отметить у пожилых пациентов с COVID-19 большую вероятность накопления высокого уровня факторов, способствующих клеточному старению. При этом стареющие клетки могут способствовать неконтролируемому цитокиновому шторму, опосредованному SARS-CoV-2, а также длительной чрезмерной воспалительной реакции. Наконец, стареющие клетки способствуют повреждению тканей, ведущему к легочной недостаточности и мультитканевой дисфункции (Pezzini, Padovani, 2020).

Таким образом, все представленные данные свидетельствуют о чрезвычайной сложности патогенеза Long-COVID-19. В этом процессе далеко не последнюю роль играет воспаление, развитие цитокинового шторма, тромбообразование, появление aAT к собственным тканям и рецепторным образованиям, а также множество других пока еще мало изученных факторов.

Предлагается (Chippa et al., 2022) следующая схема, отображающая множественные поражения органов, вызываемых коронавирусом и приводящих к длительному COVID-19 (рис. 1).

ПОРАЖЕНИЯ ЦНС И НАРУШЕНИЯ КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ

В настоящее время неоспоримо доказано, что вирус SARS-CoV-2 проникает в мозг либо через кровотоки, либо через нервные окончания, что считается прямым путем. Такие выводы основаны на исследованиях, сообщающих о наличии вирусного материала в спинномозговой жидкости и клетках головного мозга. Более того, инфекция SARS-CoV-2 может напрямую поражать нервную систему цитопатическим образом. При этом нейрокинезия SARS-CoV-2 может происходить на границе нервно-слизистой оболочки путем проникновения через слизистые и региональные нервные структуры (Meinhardt et al., 2021). Тем не менее косвенные механизмы, в том числе нарушения свертывания крови и длительная активация иммунной системы, могут привести к дальнейшим повреждениям тканей и органов, в том числе и мозга, наблюдаемым в ходе болезни. При этом возникает множество неврологических симптомов различной степени тяжести — от головных болей до опасных для жизни инсультов (Haidar et al., 2022). Одновременно вирус SARS-CoV-2 приводит к активации микроглии и астроцитов с выделением медиаторов нейровоспалительного ответа (Tremblay et al., 2020). В частности, активация глии у пациентов с COVID-19 средней и тяжелой степени сопровождается увеличением концен-

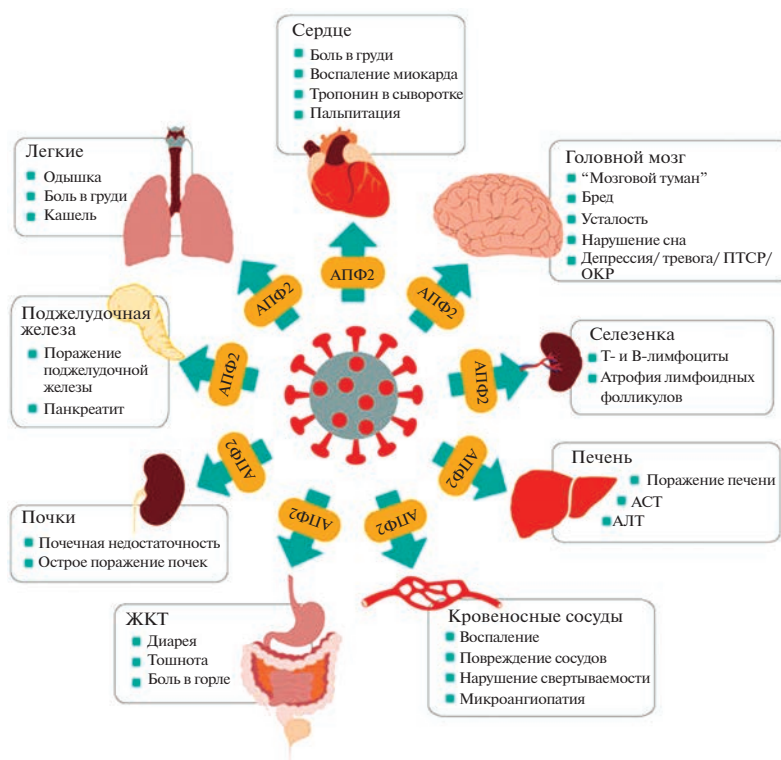


Рис 1. Множественные поражения органов, вызываемых коронавирусом и приводящих к длительному COVID (Chirra et al., 2022). Из данной схемы явствует, что нет таких органов и систем, поражение которых не сопровождало бы LONG-COVID-19. ПТСР — посттравматическое стрессовое расстройство; ОКР — обсессивно-компульсивное расстройство; АСТ — аспартатаминотрансфераза; АЛТ — аланинаминотрансфераза.

трации плазменных биомаркеров повреждения ЦНС (Kanberg et al., 2020).

Длительное течение COVID-19, сопровождаемое чувством страха, способно привести к уменьшению объема головного мозга. Даже страх заботиться сопровождается уменьшением объема правой задней части поясной извилины (Takahashi et al., 2022). Однако значительные изменения в структуре головного мозга наблюдаются при длительном течении заболевания. В частности, при этом отмечается значительная потеря плотности и объема серого вещества, особенно в парагиппокампальной извилине, связанной с кодированием памяти, в латеральной орбитофронтальной коре, участвующей в принятии решений, и в островковой доле, играющей роль в образовании эмоций. У госпитализированных пациентов, находящихся на длительной терапии, наблюдается более выраженная потеря серого вещества в поясной коре, центральном ядре миндалевидного тела и некоторых регионах гиппокампа. Все эти области, как известно, связаны с памятью и формированием эмоций. Исследованы последствия COVID-19 для головного мозга у 34 выписанных пациентов без неврологических проявлений (Tian et al., 2022). Установлено, что в тяжелых случаях гипоперфузия корти-

кального церебрального кровотока, наблюдаемая через 3 мес., через 10 мес. была менее выраженной.

Известно, что цитокиновый шторм резко активизирует фермент индоламин-2,3-диоксигеназу (IDO-1), что приводит к увеличению метаболитов кинуренина. Кинуренин метаболизируется IDO-1 в головном мозге с образованием хемокинов, длительное воздействие которых может привести к долговременному поражению головного мозга. При этом нейроинвазия SARS-CoV-2 увеличивает локальный уровень ангиотензина II за счет подавления ACE2. Таким образом, ангиотензин II может увеличивать метаболиты кинуренина, вызывая прооксидантные и провоспалительные эффекты, что приводит к нарушению когнитивной функции, усилению окислительного стресса и снижению нейротрофического фактора головного мозга. Помимо длительных респираторных проблем и хронической усталости, у пациентов возникают проблемы с концентрацией внимания, памятью, которые могут сопровождаться психиатрическими или неврологическими осложнениями. У людей разного возраста с COVID-19 риск любого психического диагноза в течение года оказался на 20–60% выше, чем у не переболевших этой инфекцией. Эти нарушения могут возникать даже после бессимптомного течения инфекции, а также по-

сле легкого (Logue et al., 2021). Согласно данным (Mao et al., 2020), COVID-19 у 36% пациентов связан с неврологическими проявлениями. При этом неврологические проявления могут варьироваться от легкой головной боли или мозгового тумана до более серьезных осложнений — синдрома Гийена—Барре (Alberti et al., 2020), энцефалита (Moriguchi et al., 2020), артериального и венозного инсультов (Kananeh et al., 2020). Проанализировав 19 исследований, в которых приняли участие в общей сложности 11 324 пациента, авторы (Premraj et al., 2022) пришли к выводу, что распространенность неврологических симптомов после COVID-19 проявлялась в следующем порядке: утомляемость (37%), туман в голове (32%), проблемы с памятью (27%), нарушение внимания (22%), миалгия (18%), аносмия (12%), дисгевзия (11%) и головная боль (10%). Нейропсихиатрические состояния включали нарушения сна (31%), тревогу (23%) и депрессию (12%). У пациентов, у которых при начале заболевания отмечались усталость и неврологические симптомы (головокружение, головная боль), последующие нарушения когнитивных функций развивались чаще.

Один из наиболее частых симптомов, о которых сообщают пациенты с длительным ковидом, — мозговой туман, который также называют мысленным туманом или затуманиванием сознания. Ощущение тумана в голове после перенесенного коронавируса может быть вызвано процессами, схожими с теми, которые происходят при болезни Альцгеймера. Часть пациентов, перенесших коронавирус, жалуются на спутанность мыслей и проблемы с координацией, трудности при попытках сосредоточиться. Причиной могут быть так называемые таупатии — дефекты мозга, возникающие в результате слипания тау-белка из-за воспалительных процессов в результате коронавируса. Аналогичные дефекты появляются при болезни Альцгеймера. Эти сходства приводят к гипотезе о том, что неврологические симптомы могут возникать в результате нейровоспаления и дисфункции иммунных клеток как на периферии, так и в ЦНС, а также к предположению, что долгосрочные последствия Long-COVID-19 могут привести к когнитивным нарушениям в целом. Проведенные исследования позволяют сделать вывод (Graham et al., 2021; Meier et al., 2021), что для лечения тумана в голове после коронавируса могут использоваться методы и препараты, применяемые при борьбе с симптомами болезни Альцгеймера.

Установлено, что за COVID-19 могут последовать различные виды неврологических повреждений и болезни с разнообразными проявлениями: химиосенсорные или хемосенсорные расстройства, мышечные повреждения, энцефалопатия, делирий, кома, менингит, энцефалит, цереброваскулярные заболевания, периферические и центральные ней-

роиммунологические расстройства (Graham et al., 2021). Можно выделить четыре типа подобных расстройств: 1) неврологические, связанные с последствиями легочных заболеваний, и проявляемые вместе с ними синдром системной воспалительной реакции и сепсис; 2) прямое проникновение вируса в ЦНС; 3) вызванные постинфекционными иммуноопосредованными осложнениями, включая синдром Гийена—Барре или острый диссеминированный энцефаломиелит; 4) расстройство периферического органа, его дисфункция или сбой в специфической деятельности (Zhou et al., 2020; Logue et al., 2021). Действительно, неврологические осложнения COVID-19 могут происходить из взаимодействия этих четырех типов повреждений.

Известно, что ОРДС при COVID-19 является критическим состоянием, приводящим нередко к Long-COVID-19. Установлено, что после перенесенного ОРДС более двух третей пациентов через год от начала заболевания сообщали о клинически значимых симптомах усталости (Komaroff, Lipkin, 2021). При этом отмечаются боли в различных органах, нарушения сна, появление симптомов, указывающих на вегетативную дисфункцию, ухудшение общего состояния после незначительного увеличения физической и/или когнитивной активности, наличие нейрокогнитивной инвазивности (Mantovani et al., 2021).

Сообщается (Ye et al., 2020) о нескольких психоневрологических симптомах: головной боли (44%), расстройстве внимания (27%) и аносмии (21%). Наблюдались и другие симптомы, в том числе мозговой туман и невропатии. Этиология симптомов у пациентов с COVID-19 сложна и многофакторна. Они могут быть связаны с прямым воздействием инфекции, цереброваскулярным заболеванием, включая заболевания, вызванные гиперкоагуляцией (Okada et al., 2021), физиологическим нарушением (гипоксия), побочными эффектами лекарств и социальными аспектами потенциально смертельного заболевания (Wong et al., 2020). Взрослые имеют удвоенный риск получить новый диагноз психического расстройства после COVID-19 с наиболее распространенными состояниями: тревожными расстройствами, слабоумием и бессонницей. В свою очередь нарушения сна могут способствовать более выраженному проявлению психических расстройств. Всем пациентам, выздоравливающим после COVID-19, рекомендуется оказание психоневрологической помощи.

Один из симптомов пост-COVID-19 — выпадение волос, которое можно рассматривать как отток телогена (диффузное выпадение волос) после серьезного системного стресса или инфекции. При этом фолликулы преждевременно переходят из фазы активного роста (анагена) в фазу покоя (телоген) (Okada et al., 2021).

Хемосенсорные дисфункции, включая anosmia, гипосмию, агевзию и гипогевзию, — частые симптомы инфекции SARS-CoV-2.

Нарушение вкуса у пациентов с COVID-19 описывается как гипогевзия — снижение вкусовых ощущений; дисгевзия — изменение или искажение вкусовых ощущений; anosmia — полная потеря вкуса. Общая распространенность нарушений вкуса составляет 45%, в том числе дисгевзия — 38%, гипогевзия — 35%, агевзия — 24%, со средней продолжительностью симптомов 15 дней, после чего пациенты полностью выздоравливали, или заболевание могло переходить в хроническую форму (Singer-Cornelius et al., 2021). Эти результаты могут отражать нейротропную инвазию вируса и возможное повреждение нервной системы. Каждая отдельная вкусовая сенсорная клетка (сенсоры сладкого, горького, кислого, соленого и умами) соединяет каждый соответствующий нейрон ганглия во вкусовой луковице. SARS-CoV-2 может проникать в эти афферентные нейроны, и колонизация вирусом надолго нарушает проводимость сенсорных нервов.

Следует заметить, что вирус может проникать через экспрессирующий ACE2 многослойный плоский эпителий дорсального языка и нитевидные сосочки вблизи вкусовых сосочков и в конечном итоге прогрессировать до инфекции вкусовых клеток. Предполагается, что микроворсинки вкусовых сенсорных клеток позволяют SARS-CoV-2 проникать в клетки (Okada et al., 2021). При исследовании аутопсийных и амбулаторных образцов слюнных желез с COVID-19 преобладали Т-лимфоцитарное воспаление (CD3) с повышенным содержанием В-лимфоцитов (CD20) и инфильтрация (Huang et al., 2021). При этом воспалительные и иммунные ответы на SARS-CoV-2 во вкусовых рецепторах и тканях слюнных желез могут различаться у разных людей, в том числе в зависимости от пола, возраста и генетической изменчивости (Okada et al., 2021). Вместе с тем о потере обоняния и вкуса пациенты сообщают более часто, чем о других симптомах (Agyeman et al., 2020). Отмечено, что потеря обоняния при подвиде омикрона BA.2 встречается чаще, чем при омикроне BA.1.

Обонятельный канал — самый сильный кандидат на путь проникновения SARS-CoV-2 в ЦНС. Фактически существует взаимосвязь между обонятельным путем и подкорковыми и корковыми структурами, что может объяснить обонятельные нарушения, часто возникающие у пациентов с SARS-CoV-2. Особое значение имеет тот факт, что эти нейроны постоянно регенерируются из недифференцированных базальных клеток. Обонятельный путь начинается в верхней части носовой полости/слизистой оболочки, где располагается обонятельный эпителий. Обонятельные ре-

цепторы расположены на биполярных нейронах, которые образуют небольшие пучки, составляющие обонятельный нерв (DosSantos et al., 2020; Haidar et al., 2021, 2022). Эти анатомические особенности позволяют вирусу достигать головного мозга и спинномозговой жидкости через обонятельный нерв и луковицу в течение 7 дней, вызывая воспаление и демиелинизирующую реакцию (Bohmwald et al., 2018). Метаанализ показывает, что при COVID-19 распространенность обонятельной дисфункции колеблется от 41.0 до 61.0%, а распространенность вкусовой дисфункции — от 38.2 до 49.0%. Примечательно, что потеря вкуса постоянно рассматривается как частый симптом Long-COVID-19, определяемого как сохранение симптомов через четыре недели после заражения. В ретроспективной когорте из 3737 пациентов, которые сообщили об anosmia и/или дисгевзии во время острого COVID-19, у 68% восстановилось обоняние и у 73% — вкус в течение шести недель после появления симптомов (Agyeman et al., 2020; Nguyen et al., 2021).

При Long-COVID-19 могут наступать нарушения глотания (дисфагия), что может быть следствием как первичного поражения центральной и периферической сети глотательных нейронов, так и искусственной вентиляции легких. Клинические наблюдения при COVID-19 (длительный COVID) указывают на персистенцию дисфагии. Следовательно, эти пациенты также нуждаются в продолжительных вмешательствах для восстановления безопасного и достаточного перорального питания.

ПАТОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ И ТРОМБООБРАЗОВАНИЕ

При инфекции SARS-CoV-2 сердечно-сосудистые проблемы: инсульт, тромбоэмболия, тромбоз глубоких вен и инфаркт миокарда — все чаще становятся важной причиной смерти (Haidar et al., 2021). Исследование ученых из Медицинской школы Вашингтонского университета в Сент-Луисе и сотрудников Системы здравоохранения Сент-Луиса по делам ветеранов в США показало, что люди, переболевшие COVID-19 даже в легкой форме, на протяжении от одного месяца до года после заражения подвержены повышенному риску развития болезней сердечно-сосудистой системы и опасных состояний. Цереброваскулярные заболевания, аритмии, ишемическая и неишемическая болезни сердца, перикардит, миокардит, сердечная недостаточность, тромбоэмболия, инсульт — вот перечень заболеваний сердечно-сосудистой системы у переболевших COVID-19 даже в легкой форме. В новом исследовании американские ученые (Xie et al., 2022) использовали базу данных Министерства по делам ветеранов США, чтобы проследить последствия заболевания у

153760 человек, перенесших COVID-19 разной степени тяжести. Авторы оценивали риски развития сердечно-сосудистых заболеваний у переболевших, по сравнению с современной здоровой когортой, начиная с 30 дней после положительного теста до конца исследования. У переболевших вырос риск инсульта, транзиторных ишемических атак, мерцательной аритмии, перикардита, миокардита. Значительным был также рост риска инфаркта миокарда, ишемической кардиомиопатии, сердечной недостаточности, остановки сердца, легочной эмболии и тромбоза глубоких вен. Вырос общий риск большого сердечно-сосудистого нежелательного события (major adverse cardiovascular event, MACE). Повышенные риски сохранялись во всех подгруппах при разделении по возрасту, полу и по наличию или отсутствию сопутствующих заболеваний: повышенного давления, диабета и гиперлипидемии. Риски были выше у людей, которые тяжело перенесли острую фазу инфекции, однако они были повышены даже у тех, кто перенес болезнь без госпитализации. Причины роста рисков неясны. Исследователями выдвигаются разные гипотезы — от прямого поражения кардиомиоцитов вирусом и воспаления эндотелиальных клеток до аномальной устойчивой активации иммунной системы и аутоиммунных реакций. Также есть сторонники гипотезы о встройке генома SARS-CoV-2 в ДНК зараженных клеток с последующей экспрессией химерных белков (Xie et al., 2022).

В обобщающих исследованиях (Adeloye et al., 2021) сообщалось, что сердечно-легочные симптомы, включая боль в груди, одышку, усталость и вегетативные проявления, в частности постуральную ортостатическую тахикардию, распространены и в большой мере определяют и повышенную тревогу, и значительную инвалидность в дальнейшем. Сообщалось о ряде сердечно-сосудистых нарушений у пациентов после острой фазы, включая воспаление миокарда, инфаркт миокарда, дисфункцию правого желудочка и аритмию. Патологические механизмы отсроченных осложнений до сих пор плохо изучены, при этом наблюдается диссоциация между продолжающимися симптомами и объективными показателями сердечно-легочного здоровья. Ожидается, что COVID-19 изменит долгосрочную траекторию многих хронических сердечных заболеваний, которыми часто страдают люди с риском тяжелого поражения сердечно-сосудистой системы.

Острая сердечная недостаточность (ОСН) — одно из основных осложнений у всех групп больных после COVID-19. Восстановление после ОСН происходит медленно и нередко сопровождается Long-COVID-19 (Lu et al., 2022). Развитие инсульта при COVID-19 — далеко не редкое явление, вероятность которого увеличивается в связи с возрастом, сопутствующими заболеваниями и тя-

жестью инфекции. Также отмечаются множественные случаи инсульта у молодых, в том числе ранее здоровых, пациентов с COVID-19. Это позволяет сделать предположение, что сам вирус может быть ответственным за инициацию и обострение тромботических явлений.

Вероятные механизмы, способствующие возникновению Long-COVID-19, — повреждение клеток, длительное выделение вируса, хронический иммунный воспалительный ответ и значительное усиление коагуляционной активности (Estiri et al., 2021; Tran et al., 2022). Вопрос, как и почему возникает гиперкоагуляция при COVID-19, изучен довольно подробно и освещен в целом ряде отечественных обзоров (Симарова и др., 2021; Слуханчук и др., 2021). Однако за последнее время появились сведения, по-новому освещающие механизм развития гиперкоагуляции и тромбоза при COVID-19. Оказалось, что уровень аАТ к фосфолипидам в крови у пациентов с COVID-19 коррелирует с экспрессией маркеров активации клеток эндотелия — молекул клеточной адгезии Е-селектина, VCAM-1 и ICAM-1. При этом активация эндотелия нередко приводит к сосудистым патологиям, в том числе к тромбозу. В крови пациентов с COVID-19 обнаружена высокая концентрация антител IgG и IgM к трем типам фосфолипидов: кардиолипину, бета-2-гликопротеину I и фосфатидил-серину/протромбину (PS/PT), покрывающих эндотелий сосудов, а также находящихся в головном мозге и в легких. Наличие циркулирующих aPL — сильнейший фактор, способный при COVID-19 активировать эндотелий. При этом образуются иммунные комплексы с активированной отрицательной поверхностью фосфолипидов, что приводит к усилению воспаления и спонтанному формированию тромбов в артериях и венах, нередко сопровождающих Long-COVID-19 (Shi et al., 2022).

Не вызывает сомнений наличие глубокой и стойкой эндотелиальной дисфункции у пациентов с COVID-19 не только при тяжелом течении заболевания, но и у больных средней тяжести (Кузник и др., 2020a; Haidar et al., 2022). При этом наблюдаются значительные изменения функции эритроцитов, способствующие гиперкоагуляции и развитию тромбозов. Эти изменения характеризуются повышенным образованием АФК, что определяет нарушение функции эндотелия посредством повышения регуляции сосудистой аргиназы-1 и окислительного стресса в острой фазе. Более того, эритроциты больных COVID-19 индуцировали активацию аргиназы-1 и усиление окислительного стресса в эндотелиальных клетках и клетках гладкой мускулатуры. А избыток эндотелиальной аргиназы-1 снижал биодоступность NO и угнетал эндотелиальную NO-синтазу (eNOS), что приводило к последующему увеличению продукции АФК, способствующему тромбообразованию. Сле-

дует, однако, заметить, что одним из факторов, запускающих эндотелиальную дисфункцию, индуцированную эритроцитами, служит IFN γ (Mahdi et al., 2022).

Новые освещающие механизм возникновения гиперкоагуляции факты не снижают значения ранее установленных: активации системы комплемента и РААС, развития цитокинового шторма, увеличения микровезикул, активации тромбоцитов и других.

Установлено, что при COVID-19 в основном страдают артерии как верхних, так и нижних конечностей. На фоне тромбоза может развиться тяжелая ишемия — критическое ухудшение кровоснабжения, и дело доходит даже до ампутации конечности. Нередко пациенты благополучно переносят пик самого заболевания, но позже, если остаются без прикрытия антикоагулянтной или дезагрегантной терапии, сталкиваются с тромбозом. Так, сообщается (Ponzo et al., 2021) о клиническом опыте с четырьмя пациентами, пораженными COVID-19 и перенесшими ампутацию конечностей вследствие острой необратимой ишемии. Гистологическое исследование с гематоксилином/эозином выявило характерные воспалительные клетки и позволило сделать предположение о возможном наличии у описанных пациентов инфекционного ангиита, вызванного COVID-19.

ПОРАЖЕНИЯ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

Известно, что при вдыхании вируса наиболее подвержены заражению верхние и нижние дыхательные пути, тяжесть поражения легких тесно связана с интенсивностью инфицирования Long-COVID-19, сопровождаемого постепенной потерей функции легких, что связано с легочным интерстициальным фиброзом (Goh et al., 2020; Wang et al., 2020a; Ponzo et al., 2021). Легочные осложнения, сопровождающие длительный COVID, безусловно, могут сказаться на качестве повседневной жизни людей, изначально считающих себя выздоровевшими от основного заболевания. Еще первые работы показали, что примерно 20% инфицированных пациентов нуждаются в госпитализации, а 6% — в интенсивной терапии и в инвазивной процедуре искусственной вентиляции легких. При этом у 8.2% от общего числа случаев наступала быстрая и прогрессирующая дыхательная недостаточность, аналогичная ОРДС (Torres-Castro et al., 2021). Более того, тяжелый ОРДС под воздействием вируса SARS-CoV-2 стал причиной более трех миллионов смертей во всем мире, несмотря на применение всех возможных терапевтических вариантов искусственной вентиляции легких (Magaña et al., 2021). Установлено, что вирус может поражать легкие тремя путями: ОРДС с диффузным альвеолярным повреждением; диффузная тромботическая альвеолярная микрососуди-

стая окклюзия; воспаление дыхательных путей, связанное с медиаторами воспаления. Результатом этих процессов и их комбинации становится нарушение альвеолярной оксигенации, гипоксемия и ацидоз. При отсутствии эффективного лечения последствиями нарушенной оксигенации оказываются либо смерть пациента от дыхательной недостаточности, либо, если пациент выздоравливает, необратимое повреждение легких (Calabrese et al., 2020; Wang et al., 2020b).

Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что поражение легких COVID-19 сопровождается различными патофизиологическими явлениями: диффузной деструкцией альвеолярного эпителия, образованием гиалиновой мембраны, повреждением капилляров и кровотечениями, фиброзной пролиферацией альвеолярных перегородок, легочной консолидацией. Обширное повреждение альвеолярных эпителиальных и эндотелиальных клеток с вторичной фибропролиферацией указывает на возможность хронического ремоделирования сосудов и альвеол, ведущего к фиброзу легких и/или легочной гипертензии (Frija-Masson et al., 2020). При этом наступает дыхательная недостаточность, поражение легочных сосудов, приводящее к тромбозам или очаговой эмболии легочной артерии, а также к пневмонии, заканчивающейся легочным фиброзом (Silva Andrade et al., 2021).

Картина повреждения легочной ткани при внедрении вируса (Wang et al., 2020a) выглядит следующим образом: SARS-CoV-2 напрямую атакует пневмоциты второго типа, связываясь с рецептором ACE2 на поверхности клеток и разрушая их. Степень повреждения клеток может зависеть не только от эффектов репликации вируса, но и от высвобождения провоспалительных цитокинов, что приводит к нарушению функции пневмоцитов второго типа. Эти два эффекта сопровождаются нарушением функции клеток с последующей их гибелью (некрозом) или апоптозом, экссудатом, десквамацией пневмоцитов и образованием гиалиновых мембран, которые характерны для диффузного альвеолярного повреждения. Интерстициальный отек и воспалительные инфильтраты мононуклеарных и многоядерных синцитиальных клеток также способствуют альвеолярной дисфункции. Таким образом, типичная патофизиологическая особенность пневмонии COVID-19/ОРДС — серьезное нарушение альвеолярного газообмена и оксигенации. Этот процесс при затяжном течении сопровождает Long-COVID-19.

При исследовании крови пациентов с инфекцией SARS-CoV-2 и ОРДС во время начала искусственной вентиляции легких, по сравнению со здоровыми людьми, выявлено значительное повышение циркулирующих комплексов гистон—

ДНК. При этом с помощью калиброванной автоматической тромбографии у пациентов с COVID-19 в образцах плазмы установлено усиленное образование тромбина. Несмотря на повышенный эндогенный тромбоиновый потенциал, образцы плазмы пациентов в присутствии тканевого фактора демонстрировали задержку образования сгустка и увеличение времени достижения пика тромбина. Разительно отличающиеся результаты наблюдались при использовании эндотелиальных клеток вместо тканевого фактора: в контрольных образцах плазмы здоровых людей тромбин не образовывался через 60 мин, напротив, в образцах плазмы пациентов с COVID-19 тромбин появлялся (среднее время задержки соответствовало 20 мин). Наблюдения за образованием тромбина показывают, что сгустки в крови пациентов с COVID-19 демонстрируют плотную фибриновую сеть, тонкие волокна и низкую растворимость фибрина. Повышенное содержание гистонов, aberrантное образование фибрина и повышенная эндотелиально-зависимая выработка тромбина могут способствовать коагулопатии при COVID-19. SARS-CoV-2 не только нарушает диффузию альвеолярного газа, но также вызывает воспаление дыхательных путей, снижая вентиляционную функцию дыхательных путей. Распространенная ассоциация бронхопневмонии с пневмонией, вызванной COVID-19, — прямое доказательство того, что SARS-CoV-2 влияет на функцию вентиляции дыхательных путей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время появляется все больше доказательств того, что Long-COVID-19 — это сложный и многофакторный синдром, включающий вирусоспецифические патофизиологические вариации, которые влияют на многие механизмы, но особенно на окислительный стресс, иммунную функцию и воспаление. Термин Long-COVID-19 относится к признакам и симптомам, которые продолжают или развиваются после острой фазы COVID-19. Существует мнение, что выраженные симптомы или аномальные клинические параметры, сохраняющиеся более двух недель после начала заболевания COVID-19 и не возвращающиеся к исходному здоровому уровню, могут рассматриваться как долгосрочные последствия патологического процесса (López Castro, 2020; Crook et al., 2021). Однако большинство исследователей склоняются к мнению, что длительным COVID-19 можно считать проявление болезни, затянувшейся более чем на 28 дней.

Наиболее частые симптомы Long-COVID-19 — усталость, одышка, кашель, головная боль, затуманенный мозг, аносмия и дисгевзия, выпадение волос, боль в суставах, сердцебиение, потеря веса, боль в ушах, проблемы с глазами, чихание, холодный нос, чувство жжения в трахее. Нередко

при Long-COVID-19 возникают изнурительные симптомы, затрагивающие кожные покровы, дыхательную, сердечно-сосудистую, пищеварительную, мочеполовую системы и ЦНС.

При поражении ЦНС могут возникать обострения психоневрологического характера или появление новых психических расстройств и когнитивных симптомов (дефицит памяти и внимания, деменция), а также психосоциальный дистресс (одиночество, тревога, депрессия и нарушения сна). При этом уменьшается размер мозга, и возникает повреждение клеток в гиппокампе, поясной извилине и коре головного мозга, имеющих непосредственное отношение к когнитивной деятельности. Эти изменения могут носить как органический, так и функциональный характер, от чего зависит их длительность и возможность ликвидации.

Не менее серьезные нарушения при Long-COVID-19 связаны с деятельностью сердечно-сосудистой системы. Может развиваться миокардит, инфаркт миокарда, инсульт, тромбоз мелких и крупных сосудов.

Заболевания органов дыхания при Long-COVID-19 проявляются тяжелым поражением легочной паренхимы, при котором патологический процесс и нарушения функции внешнего дыхания сохраняются в течение многих недель и месяцев, что часто требует непрерывной респираторной поддержки.

Таким образом, существенные функциональные изменения жизненно важных систем при Long-COVID-19 могут продолжаться не только недели, месяцы, но, возможно, и годы, что делает необходимость реабилитации таких пациентов глобальной медико-социальной проблемой.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные этические стандарты были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Кузник Б.И., Хавинсон В.Х., Линькова Н.С. COVID-19: влияние на иммунитет, систему гемостаза и возможные пути коррекции // Успехи физиол. наук. 2020а. Т. 51. № 4. С. 51–63.
- Кузник Б.И., Хавинсон В.Х., Лукьянов С.А. и др. Влияние тоцилизумаба и тималина на системное воспаление у больных COVID-19 // Врач. 2020б. Т. 31. № 11. С. 87–96.
- Любавина Н.А., Сальцев С.Г., Меньков Н.В. и др. Иммунологические подходы к лечению новой корона-

- вирусной инфекции (обзор) // Соврем. технол. мед. 2021. Т. 13. № 3. С. 81–101.
- Симарова И.Б., Переходов С.Н., Буланов А.Ю. Геморрагические осложнения новой коронавирусной инфекции: актуальная клиническая проблема // Тромб, гемост. реол. 2021. № 3. С. 12–15.
- Слуханчук Е.В., Бицадзе В.О., Хизроева Ю.К. и др. COVID-19 и тромботическая микроангиопатия // Акуш. гинекол. репрод. 2021. Т. 15. № 6. С. 639–657.
- Adeloye D., Elneima O., Daines L. et al. The long-term sequelae of COVID-19: an international consensus on research priorities for patients with pre-existing and new-onset airways disease // Lancet Respir. Med. 2021. V. 9. № 12. P. 1467–1478.
- Agyeman A.A., Chin K.L., Landersdorfer C.B. et al. Smell and taste dysfunction in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis // Mayo Clin. Proc. 2020. V. 95. № 8. P. 1621–1631.
- Alberti P., Beretta S., Piatti M. et al. Guillain-Barre syndrome related to COVID-19 infection // Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflamm. 2020. V. 7. № 4. P. e741.
- Bohmwald K., Gálvez N.M.S., Ríos M., Kalergis A.M. Neurologic alterations due to respiratory virus infections // Front. Cell. Neurosci. 2018. V. 12. P. 386.
- Bornstein S.R., Voit-Bak K., Donate T. et al. Chronic post-COVID-19 syndrome and chronic fatigue syndrome: is there a role for extracorporeal apheresis // Mol. Psychiatry. 2021. V. 27. № 1. P. 34–37.
- Calabrese F., Pezzuto F., Fortarezza F. et al. Pulmonary pathology and COVID-19: lessons from autopsy. The experience of european pulmonary pathologists // Virchows Arch. 2020. V. 477. № 3. P. 359–372.
- Callard F., Perego E. How and why patients made Long Covid // Soc. Sci. Med. 2021. V. 268. P. 113426.
- Carvalho-Schneider C., Laurent E., Lemaigen A. et al. Follow-up of adults with noncritical COVID-19 two months after symptoms onset // Clin. Microbiol. Infect. 2021. V. 27. P. 258–263.
- Chen C., Amelia A., Ashdown G.W. et al. Risk surveillance and mitigation: autoantibodies as triggers and inhibitors of severe reactions to SARS-CoV-2 infection // Mol. Med. 2021. V. 27. № 1. P. 160–167.
- Chippa V., Aleem A., Anjum F. Post acute coronavirus (COVID-19) syndrome. Treasure Island: StatPearls Publ., 2022.
- Crook H., Raza S., Nowell J. et al. Long covid-mechanisms, risk factors, and management // BMJ. 2021. V. 374. P. n1648.
- Dani M., Dirksen A., Taraborrelli P. et al. Autonomic dysfunction in “long COVID”: rationale, physiology and management strategies // Clin. Med. 2021. V. 21. № 1. P. e63–e67.
- DosSantos M.F., Devalle S., Aran V. et al. Neuromechanisms of SARS-CoV-2: a review // Front. Neuroanat. 2020. V. 14. P. 37–42.
- Espinosa Rodríguez P., Martínez Aguilar A., Ripoll Muñoz M.P., Rodríguez Navarro M.Á. Long COVID: is it really myalgic encephalomyelitis? Bibliographic review and considerations // Semergen. 2022. V. 48. № 1. P. 63–69.
- Estiri H., Strasser Z.H., Brat G.A. et al. Evolving phenotypes of non-hospitalized patients that indicate long COVID // BMC Med. 2021. V. 19. P. 249.
- Frija-Masson J., Debray M.P., Gilbert M. et al. Functional characteristics of patients with SARS-CoV-2 pneumonia at 30 days post-infection // Eur. Respir. J. 2020. V. 56. № 2. P. 2001754.
- Garg S., Garg M., Prabhakar N. et al. Unraveling the mystery of Covid-19 cytokine storm: from skin to organ systems // Dermatol. Ther. 2020. V. 33. № 6. P. 1385–1389.
- Garg M., Maralakunte M., Garg S. et al. The conundrum of “Long-COVID-19”: a narrative review // Int. J. Gen. Med. 2021. V. 14. P. 2491–2506.
- Goh K.J., Choong M.C., Cheong E.H. et al. Rapid progression to acute respiratory distress syndrome: review of current understanding of critical illness from COVID-19 infection // Ann. Acad. Med. Singap. 2020. V. 49. № 3. P. 108–118.
- Graham E.L., Clark J.R., Orban Z.S. et al. Persistent neurologic symptoms and cognitive dysfunction in non-hospitalized Covid-19 “long haulers” // Ann. Clin. Transl. Neurol. 2021. V. 8. № 5. P. 1073–1085.
- Hadjadj J., Yatim N., Barnabei L. et al. Impaired type I interferon activity and exacerbated inflammatory responses in severe COVID-19 patients // Science. 2020. V. 369. № 6504. P. 718–724.
- Haidar M.A., Jourdi H., Haj Hassan Z. et al. Neurological and neuropsychological changes associated with SARS-CoV-2 infection: new observations new mechanisms // Neuroscientist. 2021. V. 2021. Iss. 1073858420984106.
- Haidar M.A., Shakkour Z., Reslan M.A. et al. SARS-CoV-2 involvement in central nervous system tissue damage // Neural Regen. Res. 2022. V. 17. № 6. P. 1228–1239.
- Huang N., Pérez P., Kato T. et al. SARS-CoV-2 infection of the oral cavity and saliva // Nat. Med. 2021. V. 27. P. 892–903.
- Ilonzo N., Kumar S., Borazan N. et al. Endotheliitis in coronavirus disease-19-positive patients after extremity amputation for acute thrombotic events // Ann. Vasc. Surg. 2021. V. 72. P. 209–215.
- Kananeh M.F., Thomas T., Sharma K. et al. Arterial and venous strokes in the setting of COVID-19 // J. Clin. Neurosci. 2020. V. 79. P. 60–66.
- Kanberg N., Ashton N.J., Andersson L.M. et al. Neurochemical evidence of astrocytic and neuronal injury commonly found in COVID-19 // Neurology. 2020. V. 95. P. e1754–e1759.
- Khavinson V., Linkova N., Dyatlova A. et al. Peptides: prospects for use in the treatment of COVID-19 // Molecules. 2020. V. 25. № 19. P. 4389–4393.
- Khavinson V.Kh., Kuznik B.I., Trofimova S.V. et al. Results and prospects of using activator of hematopoietic stem cell differentiation in complex therapy for patients with COVID-19 // Stem Cell Rev. Rep. 2021. V. 17. № 1. P. 285–290.
- Komaroff A.L., Lipkin W.I. Insights from myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome may help unravel the pathogenesis of postacute COVID-19 syndrome // Trends Mol. Med. 2021. V. 27. № 9. P. 895–906.
- Lingel H., Meltendorf S., Billing U. et al. Unique autoantibody prevalence in long-term recovered SARS-CoV-2-

- infected individuals // *J. Autoimmun.* 2021. V. 122. P. 102682.
- Logue J.K., Franko N.M., McCulloch D.J. et al. Sequelae in adults at 6 months after COVID-19 infection // *JAMA Netw. Open.* 2021. V. 4. № 2. P. e210830.
- López Castro J. Post-COVID-19 syndrome (PC19S): chronic reactive endotheliitis and disseminated vascular disease // *Acta Med. Port.* 2020. V. 33. № 12. P. 859–864.
- Lu J.Q., Lu J.Y., Wang W. et al. Clinical predictors of acute cardiac injury and normalization of troponin after hospital discharge from COVID-19 // *EBioMedicine.* 2022. V. 76. P. 103821.
- Lucas C., Wong P., Klein J. et al. Longitudinal analyses reveal immunological misfiring in severe COVID-19 // *Nature.* 2020. V. 584. P. 463–469.
- Mahase E. Covid-19: what do we know about “long covid”? // *BMJ.* 2020. V. 370. P. m2815.
- Mahdi A., Collado A., Tengbom J. et al. Erythrocytes induce vascular dysfunction in COVID-19 // *JACC Basic Transl. Sci.* 2022. V. 7. № 3. P. 193–204.
- Mantovani E., Mariotto S., Gabbiani D. et al. Chronic fatigue syndrome: an emerging sequela in COVID-19 survivors? // *Neurovirol.* 2021. V. 27. № 4. P. 631–637.
- Mao L., Jin H., Wang M. et al. Neurologic manifestations of hospitalized patients with coronavirus disease 2019 in Wuhan China // *JAMA Neurol.* 2020. V. 77. P. 683–690.
- Maracaja L., Khanna A.K., Royster R. et al. Selective lobe ventilation and a novel platform for pulmonary drug delivery // *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 2021. V. 35. № 11. P. 3416–3422.
- Meier I.B., Vieira Ligo Teixeira C., Tarnanas I. et al. Neurological and mental health consequences of COVID-19: potential implications for well-being and labour force // *Brain Commun.* 2021. V. 3. № 1. P. fcab012.
- Meinhardt J., Radke J., Dittmayer C. et al. Olfactory trans-mucosal SARS-CoV-2 invasion as a port of central nervous system entry in individuals with COVID-19 // *Nat. Neurosci.* 2021. V. 24. P. 168–175.
- Moriguchi T., Harii N., Goto J. et al. A first case of meningitis/encephalitis associated with SARS-Coronavirus-2 // *Int. J. Infect. Dis.* 2020. V. 94. P. 55–58.
- Morris G., Bortolasci C.C., Puri B.K. et al. The cytokine storms of COVID-19, H1N1 influenza, CRS and MAS compared. Can one sized treatment fit all? // *Cytokine.* 2021. V. 144. P. 155593.
- Nassau D.E., Best J.C., Kresch E. et al. Impact of the SARS-CoV-2 virus on male reproductive health // *BJU Int.* 2022. V. 129. № 2. P. 143–150.
- Nguyen N.N., Hoang V.T., Lagier J.C. et al. Long-term persistence of olfactory and gustatory disorders in COVID-19 patients // *Clin. Microbiol. Infect.* 2021. V. 27. № 6. P. 931–932.
- Okada Y., Yoshimura K., Toya S., Tsuchimochi M. Pathogenesis of taste impairment and salivary dysfunction in COVID-19 patients // *Jpn. Dent. Sci. Rev.* 2021. V. 57. P. 111–122.
- Pazuhina E., Angreeva M., Spiridonova E. et al. Prevalence and risk factors of post-COVID-19 condition in adults and children at 6 and 12 months after hospital discharge: a prospective // *BMC Med.* 2022. V. 20. P. 244.
- Pezzini A., Padovani A. Lifting the mask on neurological manifestations of COVID-19 // *Nat. Rev. Neurol.* 2020. V. 16. № 11. P. 636–644.
- Pierce J.D., Shen Q., Cintron S.A. et al. Post-COVID-19 syndrome // *Nurs. Res.* 2022. V. 71. № 2. P. 164–174.
- Premraj L., Kannapadi N.V., Briggs J. et al. Mid and long-term neurological and neuropsychiatric manifestations of post-COVID-19 syndrome: a meta-analysis // *J. Neurol. Sci.* 2022. V. 434. P. 120162.
- Rubin R. As their numbers grow, COVID-19 “long haulers” stump experts // *JAMA.* 2020. V. 324. P. 1381–1383.
- Scordo K.A., Richmond M.M., Munro N. Post-COVID-19 syndrome: theoretical basis, identification, and management // *AACN Adv. Crit. Care.* 2021. V. 32. № 2. P. 188–194.
- Shah W., Hillman T., Playford E.D., Hishmeh L. Managing the long term effects of COVID-19: summary of NICE, SIGN, and RCGP rapid guideline // *BMJ.* 2021. V. 372. P. n136.
- Shi H., Zuo Y., Navaz S. et al. Endothelial cell-activating antibodies in COVID-19 // *Arth. Rheumatol.* 2022. V. 74. P. 1132–1138.
- Silva Andrade B., Siqueira S., Soares W.R.A. et al. Long-COVID and post-COVID health complications: an up-to-date review on clinical conditions and their possible molecular mechanisms // *Viruses.* 2021. V. 13. № 4. P. 700–710.
- Singer-Cornelius T., Cornelius J., Oberle M. et al. Objective gustatory and olfactory dysfunction in COVID-19 patients: a prospective cross-sectional study // *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* 2021. V. 278. № 9. P. 3325–3332.
- Strauss S.B., Lantos J.E., Heier L.A. et al. Olfactory bulb signal abnormality in patients with COVID-19 who present with neurologic symptoms // *AJNR.* 2020. V. 41. P. 1882–1887.
- Su Y., Yuan D., Chen D.G. et al. Multiple early factors anticipate post-acute COVID-19 sequelae // *Cell.* 2022. V. 185. № 5. P. 881–895.
- Takahashi T., Ota M., Numata Y. et al. Relationships between the fear of COVID-19 scale and regional brain atrophy in mild cognitive impairment // *Acta Neuropsychiatrica.* 2022. V. 34. P. 153–162.
- Tian T., Wu J., Chen T. et al. Long-term follow-up of dynamic brain changes in patients recovered from COVID-19 without neurological manifestations // *JCI Insight.* 2022. V. 7. № 4. P. e155827.
- Torres-Castro R., Vasconcello-Castillo L., Alsina-Restoy X. et al. Respiratory function in patients post-infection by COVID-19: a systematic review and meta-analysis // *Pulmonology.* 2021. V. 27. № 4. P. 328–337.
- Tran V.-T., Riveros C., Cleprier B. et al. Development and validation of the Long coronavirus disease (COVID) symptom and impact tools, a set of patient-reported instruments constructed from patients’ lived experience // *Clin. Infect. Dis.* 2022. V. 74. P. 278–287.
- Tremblay M.-E., Madore C., Bordeleau M. et al. Neuro-pathobiology of COVID-19: the role for glia // *Front. Cell. Neurosci.* 2020. V. 14. P. 592214.
- Verity R., Okell L.C., Dorigatti I. et al. Estimates of the severity of coronavirus disease 2019: a model-based analysis // *Lancet Infect. Dis.* 2020. V. 20. № 6. P. 669–677.

- Wallukat G., Hohberger B., Wenzel K. *et al.* Functional autoantibodies against G-protein coupled receptors in patients with persistent Long-COVID-19 symptoms // *J. Transl. Autoimmun.* 2021. V. 4. P. 100100.
- Wang F., Kream R.M., Stefano G.B. Long-term respiratory and neurological sequelae of COVID-19 // *Med. Sci. Monit.* 2020a. V. 26. P. e928996.
- Wang F., Nie J., Wang H. *et al.* Characteristics of peripheral lymphocyte subset alteration in COVID-19 pneumonia // *J. Infect. Dis.* 2020b. V. 221. № 11. P. 1762–1769.
- Wong A.W., Shah A.S., Johnston J.C. *et al.* Patient-reported outcome measures after COVID-19: a prospective cohort study // *Eur. Respir. J.* 2020. V. 56. № 5. P. 2003276.
- Xie Y., Xu E., Bowe B., Al-Aly Z. Long-term cardiovascular outcomes of COVID-19 // *Nat. Med.* 2022. V. 28. № 3. P. 583–590.
- Xiong Q., Xu M., Li J. *et al.* Clinical sequelae of COVID-19 survivors in Wuhan, China: a single-centre longitudinal study // *Clin. Microbiol. Infect.* 2021. V. 27. P. 89–95.
- Yap J.K.Y., Moriyama M., Iwasaki A. Inflammasomes and pyroptosis as therapeutic targets for COVID-19 // *J. Immunol.* 2020. V. 205. № 2. P. 307–312.
- Ye G., Pan Z., Pan Y. *et al.* Clinical characteristics of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 reactivation // *J. Infect.* 2020. V. 80. № 5. P. e14–e17.
- Yelin D., Margalit I., Yahav D. *et al.* Long COVID-19 – it's not over until? // *Clin. Microbiol. Infect.* 2021. V. 27. № 4. P. 506–508.
- Zhou H., Lu S., Chen J. *et al.* The landscape of cognitive function in recovered COVID-19 patients // *J. Psychiatry. Res.* 2020. V. 129. P. 98–102.
- Zuo Y., Estes S.K., Ali R.A. *et al.* Prothrombotic autoantibodies in serum from patients hospitalized with COVID-19 // *Sci. Transl. Med.* 2020. V. 12. № 570. P. eabd3876.

Changes of Organism Life Important System State by Long-COVID-19

B. I. Kuznik^{a, b}, K. G. Shapovalov^a, and N. I. Chalisova^{c, d, *}

^a*Chita State Medical Academy, Chita, Russia*

^b*Academy of Health Innovation Clinic, Chita, Russia*

^c*Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*

^d*St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, St. Petersburg, Russia*

*e-mail: ni_chalisova@mail.ru

Long-COVID-19 is a long disease, its duration can be more than four weeks. The analysis was made of epidemiology and of symptoms of Long-COVID-19. The pathogenesis of disease is discussed, particularly the inflammation processes, immune system state (cytokine storm), hemostasis system (mechanism of the thrombosis development) and oxidative stress. The disturbances of the central nervous system, including the brain organic diseases and the cognitive functions disturbances, plays a great role by the Long-COVID-19. Besides the damages of heart-vessel system and of breath organs are described. The treatment and rehabilitation of the patients with Long-COVID-19 is not only medical, but also great social problem.

Keywords: Long-COVID-19, immunity, hemostasis, inflammation, central nervous system, cognitive functions, heart, vessels, lung

УДК 575.576.316

НАПРАВЛЕННАЯ ЭВОЛЮЦИЯ КАРИОТИПА ОБЫКНОВЕННОЙ БУРОЗУБКИ *Sorex araneus* (Mammalia)

© 2023 г. В. Н. Орлов¹, И. А. Кришук², Е. В. Черепанова¹, *, Ю. М. Борисов¹

¹Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

²Научно-практический центр по биоресурсам, Национальная академия наук Беларуси, Минск, Беларусь

*e-mail: elyacherena.16@gmail.com

Поступила в редакцию 19.04.2022 г.

После доработки 17.07.2022 г.

Принята к публикации 22.09.2022 г.

Предложена модель направленной эволюции кариотипа *S. araneus* L. в процессах замены десяти пар акроцентрических хромосом пятью парами метацентрических. Направленность эволюции кариотипа возникает из-за неспособности Rb-соединений с плечами неполной (монобрахиальной) гомологии распространяться в одной популяции. Поэтому Rb-соединение, в силу каких-то случайных событий первым появившееся в популяции, в значительной мере определяет дальнейшую эволюцию кариотипа этой популяции. После третьей замены акроцентрических хромосом метацентрическими, замена оставшихся 6 пар акроцентриков допускает образование не более трех кариотипов с пятью диагностическими метацентриками, которые возможно предсказать, независимо от того, в результате каких перестроек возникают метацентрические хромосомы (Rb-соединения или WART). Направленность кариотипической эволюции значительно повышает вероятность параллельного формирования кариотипов в тех случаях, когда эволюция начинается одинаковыми метацентриками в географически удаленных популяциях. Примером параллельной эволюции, начавшейся с метацентрика *gk*, могут служить идентичные кариотипы новой расы Могилев из Беларуси и расы Томск из Западной Сибири. В эволюции хромосомных рас Восточной Европы показаны гибридогенные процессы слияния кариотипов рас восточноевропейской (ЕЕКГ) и западноевропейской групп (WEKG).

Ключевые слова: центрические (Rb) соединения, хромосомная раса, Rb-цепи, филогенетические линии

DOI: 10.31857/S0042132423010064, **EDN:** HKXBPR

ВВЕДЕНИЕ

Начиная с первых обобщений по хромосомам позвоночных Р. Маттея (R. Matthey) в 1940–50 гг., отмечалось накопление хромосомных перестроек в эволюции родов и семейств млекопитающих, в том числе, предположительно, и Робертсоновских (Rb) центрических соединений акроцентрических хромосом (Воронцов, 1958). С появлением методов дифференциальной окраски хромосом в начале 1970-х гг. стали накапливаться сведения об участии Rb-соединений наряду с другими хромосомными перестройками в эволюции кариотипов млекопитающих (Орлов, 1974; Иваницкая, 1983; Hsu, Benirschke, 1967–1977; Cytotaxonomy..., 1973; Zima, Král, 1984).

В реконструкции эволюции кариотипов обычно выделяют предковый кариотип для рода или семейства и сопоставляют его с кариотипами ныне живущих видов. При этом иногда обнаруживается постепенное накопление одного типа хромосомных перестроек, и достаточно сложно выяснить,

имеется ли в таком накоплении определенная эволюционная направленность.

В сравнительной кариологии млекопитающих термин “направленность” (canalization) накопления хромосомных перестроек использовался только один раз в гипотетической модели эволюции в направлении к оптимальному кариотипу в новой для вида адаптивной зоне под новым селективным давлением (Bickham, Baker, 1979). Но уже в следующей работе авторы указали на отсутствие каких-либо данных, подтверждающих эту интересную гипотезу (Baker, Bickham, 1980).

Особенности хромосомной изменчивости обыкновенной бурозубки *S. araneus* L. были обобщены в коллективной монографии (Shrews..., 2019), которая подвела итоги более чем 30-летнего периода совместных междисциплинарных исследований хромосомного полиморфизма обыкновенной бурозубки в Евразии, инициированных Международным комитетом по цитогенетике *Sorex araneus*, ISACC. В настоящее время опубликованы описания 76 хромосомных рас этого вида (Bulatova et al., 2019).

Сравнительный анализ кариотипов видов рода бурозубок *Sorex* L. давно привел к обоснованному выводу об исходных акроцентрических хромосомах и накоплении Rb-соединений в кариотипах видов этого рода (Wójcik, Searle, 1988; Volobouev, 1989; Volobouev, Catzefflis, 1989; Biltueva et al., 2000; Wójcik et al., 2002). Но в хорошо изученной системе хромосомного полиморфизма бурозубок р. *Sorex*, и обыкновенной бурозубки в частности, направленность процессов замены акроцентрических хромосом на метацентрические ранее не отмечалась.

Вопросы направленной эволюции видов и внутривидовых форм привлекают внимание биологов-эволюционистов с начала XX в. (Вавилов, 1920; Берг, 1922). На направленность эволюционного процесса указывает “закон гомологических рядов” Н.И. Вавилова (1920). Развивая эту часть теории направленной эволюции, Р.Л. Берг (1993) объяснила направленность тем, что существуют “ограничения, налагающие запрет на движение по всем остальным направлениям”, “эволюция — движение по разрешенным путям” (с. 223). Если “запрет” означает понижение приспособленности, то он связан с движущим отбором по И.И. Шмальгаузену (1969). Достаточно сложно выявить генетические факторы, ограничивающие направления эволюции и вызывающие параллелизм и конвергенцию в эволюции внутривидовых форм и видов.

В системе хромосомного полиморфизма обыкновенной бурозубки хорошо известно одно важное ограничение в распространении Rb-мутаций в популяциях. В одной популяции не распространяются Rb-соединения с плечами неполной (монобрахиальной) гомологии (например, *hi* и *hn*). В мейозе I таких гетерозигот возникают квадριваленты или более сложные мультиваленты. Нерасхождение хромосом приводит к появлению несбалансированных гамет, в результате плодовитость гетерозигот снижается (Fedyk et al., 2019) и одна из кариоморф исчезает из популяции. Изолирующий эффект хромосом монобрахиальной гомологии рассматривается как важная составляющая часть генетической изоляции (White, 1978; Capanna, 1982; Baker, Bickham, 1986; Wójcik et al., 2002; Capanna, Castiglia, 2004; Garagna et al., 2014; Shrews..., 2019). Все предложенные до сих пор модели хромосомного видообразования основаны именно на изолирующем эффекте хромосом монобрахиальной гомологии, но могут ли хромосомы монобрахиальной гомологии не только создавать эффект изоляции, но и вызывать определенную направленность эволюции кариотипа вида?

Следствием направленности кариотипической эволюции может быть возникновение идентичных или сходных хромосомных рас в различных частях ареала вида. Первые удивительно сходные хромосомные расы (Новосибирск в Западной Сибири и Białowieża в бассейне Вислы) были описаны в

1970-х гг. (Král, Radjabli, 1974; Fredga, Nawrin, 1977), но с тех пор не удавалось реконструировать эволюцию кариотипов подобных рас, чтобы доказать их параллельное формирование.

В статье представлено описание новой хромосомной расы из Беларуси с кариотипом, идентичным с расой Томск из Западной Сибири, приводятся доказательства параллельной эволюции этих рас и предложена модель направленной эволюции кариотипов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучены кариотипы 15 бурозубок (9 самок и 6 самцов), отловленных в июле 2014 г. и сентябре 2015 г. в трех пунктах в междуречье Днепра и Сожи восточнее города Могилев (рис. 1). Бурозубки населяют перемежающиеся лесные и луговые биотопы и антропогенные ландшафты.

Хромосомные препараты были приготовлены из клеток костного мозга и селезенки согласно стандартной методике (Ford, Hamerton, 1956). Митотические хромосомы идентифицировали с помощью обработки трипсином с последующим окрашиванием раствором Гимза (Seabright, 1971; Král, Radjabli, 1974). Кариотип каждого экземпляра определяли в соответствии со стандартной номенклатурой хромосом *S. araneus* (Searle et al., 2010).

В стандартной номенклатуре хромосом обыкновенной бурозубки каждое плечо в метацентрической хромосоме и (или) гомологичный этому плечу акроцентрик обозначают строчной буквой латинского алфавита в соответствии с размерами (а — самый крупный элемент). К стабильной части кариотипа относят половые хромосомы самок XX (*de*, *de*) и самцов X (*de*), Y1 (*s*), Y2(*d*) и три пары метацентрических аутосом (*af*, *bc* и *tu*). Четвертая пара метацентрических аутосом (*jl*), встречается во всех популяциях вида и служит диагностическим признаком кариотипа обыкновенной бурозубки, отличающим ее от близких видов. В некоторых популяциях изредка встречаются акроцентрические хромосомы *j* и *l*.

Полиморфная часть кариотипа вида представлена акроцентриками (максимально 10 пар: *g*, *h*, *i*, *k*, *m*, *n*, *o*, *p*, *q*, *r*) и (или) метацентриками, возникшими в результате различных Rb-соединений (максимально 5 пар). Акроцентрики и метацентрики полиморфной части кариотипа называют диагностическими для хромосомных рас (race-specific). В настоящее время в популяциях обыкновенной бурозубки известны 37 диагностических метацентриков (Bulatova et al., 2019). В кариотипах популяций число аутосом варьирует от 18 (5 пар диагностических метацентриков) до 28 (10 пар акроцентриков) со всеми возможными промежуточными значениями.

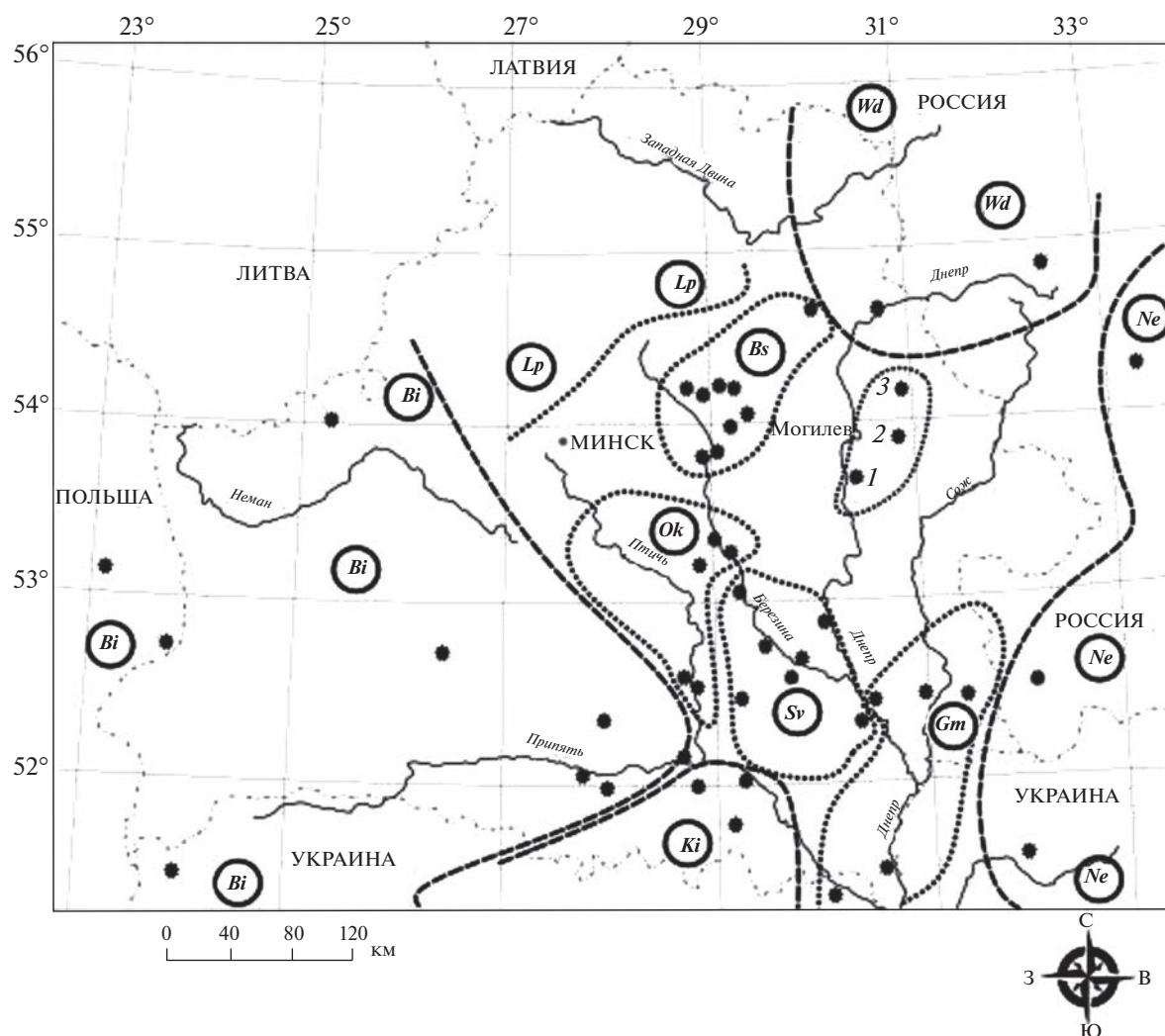


Рис. 1. Пункты отлова бурозубок (обозначены звездочками) и ареалы хромосомных рас: Октябрьский (Ok), Светлогорск (Sv), Борисов (Bs), Лепель (Le), Гомель (Gm) (обведены пунктиром из точек) и рас Białowieża (Bi), Kiev (Ki), Нарусса (Ne) и Западная Двина (Wd) (обведены пунктиром из черточек). Распространение хромосомных рас (по Borisov et al., 2017 и Kryshchuk et al., 2021). 1, 2, 3 – локалитеты новой хромосомной расы Могилев (номера соответствуют табл. 1). Тонким светлым пунктиром показаны государственные границы.

На ареале обыкновенной бурозубки выделяют хромосомные расы – группы географически смежных или недавно изолированных популяций, которые имеют общий по происхождению набор акроцентрических и метацентрических хромосом (Hausser et al., 1994). В тексте статьи для хромосомных рас, включенных в последний обзор хромосомных рас обыкновенной бурозубки (Bulatova et al., 2019), ссылки на первоописания рас не приводятся.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Кариотип новой хромосомной расы Могилев

Все исследованные особи имели кариотипы, типичные для обыкновенной бурозубки, в том числе половые хромосомы самца XY1Y2 (рис. 2).

Из аутосом четыре крупных метацентрика *af*, *bc*, *hi* и *jl*, а также мелкий *tu* мономорфные. Три диагностических метацентрика *g/k*, *m/n* и *q/r* полиморфные, но в самой северной выборке 3 (Дрибин) все Rb-соединения фиксированы (табл. 1). Имеются также две пары акроцентриков, *o* и *p*.

Ниже приведено описание новой расы в соответствии с правилами ISACC:

Название: Могилев [Mogilev] (Mg).

Кариотип: XX/XY1Y2, *af*, *bc*, *g/k*, *hi*, *jl*, *m/n*, *o*, *p*, *q/r*, *tu*.

Типовое местонахождение: Дрибин, Могилевская обл., Беларусь.

Ареал: междуречье Днепра и Сожи, Могилевская обл., Беларусь, 54°12'00"; 30°49'00". Расстояния между крайними пунктами отлова 65 км. Ка-

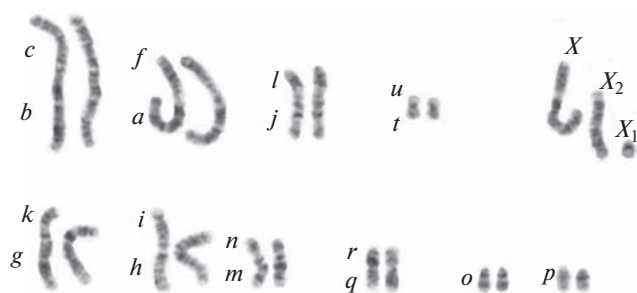


Рис. 2. G-окрашенный кариотип самца ($2n = 23$) новой хромосомной расы Могилев (Дрибин, Могилевская обл.).

риотип новой расы Могилев ($g/k, hi, m/n, q/r, o, p$) оказался идентичен расе Томск (gk, hi, mn, qr, o, p). Эта раса населяет обширную территорию междуречья Оби и Енисея и распространена на правом восточном берегу Енисея. Гипотеза происхождения расы Могилев будет рассмотрена в разделе “Происхождение сходных, но географически удаленных хромосомных рас”.

Модель направленной эволюции кариотипов

Во Введении мы отмечали, что сравнительный анализ кариотипов видов рода *Sorex* давно привел к обоснованному выводу о накоплении метацентрических хромосом в исходно акроцентрических кариотипах видов этого рода. Все многообразие хромосомных рас обыкновенной бурозубки также возникло в результате постепенного накопления в популяциях Rb-соединений.

Кариотип с 10 парами акроцентрических аутосом и четырьмя парами метацентрических ($2n = 28$) рассматривают в качестве исходного, предкового для

всех хромосомных рас обыкновенной бурозубки, в котором акроцентрические хромосомы постепенно замещались метацентрическими (Volobouev, Catzeflis, 1989; Wójcik et al., 2002; Bulatova et al., 2019). На такое направление эволюции кариотипа указывают известные процессы распространения Rb-соединений в современных популяциях обыкновенной бурозубки с акроцентрическими хромосомами.

Процесс последовательного замещения 10 пар акроцентрических хромосом пятью парами метацентрических в эволюции обыкновенной бурозубки мы называем “Робертсоновской (Rb) цепью”. Эта цепь состоит из пяти последовательных замен акроцентрических хромосом метацентрическими или пяти этапов. В формировании Rb-цепи не имеет значения, в результате каких хромосомных перестроек возникают Rb-соединения, а также появляются ли они в данной популяции или распространяются из соседних популяций.

Направленность эволюции кариотипа возникает из-за неспособности Rb-соединений с плечами неполной (монобрахиальной) гомологии распространяться в одной популяции. Поэтому Rb-соединение в силу каких-то случайных событий первым появившееся в популяции, в значительной мере определяет дальнейшую эволюцию кариотипа этой популяции. На каждом этапе Rb-цепи сохраняется возможность дивергенции, которая уменьшается в направлении от первой до третьей замены акроцентриков.

После третьей замены акроцентрических хромосом метацентрическими, замена 4 пар оставшихся акроцентриков допускает образование не более трех кариотипов с пятью диагностическими метацентриками, поэтому цепь имеет форму трезубца. Эти конечные кариотипы можно пред-

Таблица 1. Кариотипические варианты новой хромосомной расы Могилев в междуречье Днепра и Сожи, Могилевская обл., Беларусь (номера пунктов соответствуют карте, рис. 1)

№	Пункты	Широта; долгота	n	$2n$	Диагностические хромосомы
1	Сидоровичи	53°40'55"; 30°23'1"	2	23	$g/k, hi, mn, o, p, q, r$
			1	24	$g/k, hi, m/n, o, p, q, r$
			1	24	$g/k, hi, m, n, o, p, q/r$
2	Чаусы	53°50'42"; 30°40'1"	1	21	$gk, hi, mn, o, p, q/r$
			1	22	$g/k, hi, mn, o, p, q/r$
			1	23	$gk, hi, m/n, o, p, q, r$
			1	24	$g/k, hi, m/n, o, p, q, r$
			1	21	$gk, hi, mn, o, p, q/r$
3	Дрибин (Типовое местонахождение новой расы)	54°12'00"; 30°49'00"	1	20	gk, hi, mn, o, p, qr
			2	21	$gk, hi, mn, o, p, q/r$
			1	21	$gk, hi, mn, o, p, q/r$
			1	22	gk, hi, mn, o, p, q, r
			1	22	gk, hi, mn, o, p, q, r
			1	22	gk, hi, mn, o, p, q, r

сказать, независимо от того, в результате каких перестроек возникают метацентрические хромосомы (Rb-соединения или WART).

Ранее, термин “цепь” и “цепные процессы” (chain processes) замещения акроцентрических хромосом метацентрическими использовал М. Уайт, постулируя роль Rb-соединений в защите от разрушения коадаптированных комплексов генов в модели симпатрического видообразования (White, 1978).

Последовательность случайных событий возникновения и распространения Rb-мутаций в популяциях имеет сходство с “цепью Маркова” (Орлов и др., 2008). В математике цепью Маркова называют последовательности случайных событий, где вероятность наступления каждого события зависит только от состояния, достигнутого в предыдущем событии. Математический аппарат, получивший название цепей Маркова, был разработан математиком А.А. Марковым (старшим) в работе 1906 г. и широко используется в прикладной математике и информатике (Meyn, Tweedie, 1993).

Наша реконструкция эволюции кариотипов основана на сопоставлении хромосомных рас с исходными, промежуточными и конечными кариотипами, как это и принято в кариологии обыкновенной бурозубки (Searle, 1984; Wójcik, 1993). В реконструкции филогенетических связей хромосомных рас мы используем не только сходство, но и общепринятый в эволюционной биологии принцип общности происхождения. Например, общность происхождения хромосомных рас, сходных по двум–трем диагностическим метацентрикам из пяти, можно подтвердить сохранившимися хромосомными расами с двумя–тремя такими метацентриками. “Общность происхождения и есть та скрытая связь, которую бессознательно ищут натуралисты ... (поэтому) ... расположение группы внутри каждого класса ... должно быть строго генеалогическим” (Дарвин, 1987, с. 304).

Возможность разделения метацентрической хромосомы на две телоцентрические несомненна, но нет каких-либо конкретных данных о влиянии мутации fission на процессы накопления метацентрических хромосом в кариотипах обыкновенной бурозубки. Получены данные, подтверждающие разделение метацентрика *jl* (Жданова и др., 2009; Searle et al., 2010), следовательно, возможна и роль таких процессов в поддержании полиморфизма *jl/j*, *l* в популяциях обыкновенной бурозубки. Возникновения новых акроцентриков из метацентриков (мутация fission), так же как и новых метацентриков (мутация WART), возможны в мейозе I комплексных гетерозигот в гибридных зонах (Searle, 1988; Fedyk et al., 2019). Обнаружена гетерозигота *g/m* в мономорфной хромосомной расе Москва вблизи узкой гибридной зоны Москва/Селигер (Bulatova et al., 2000), следовательно, мутация fission способна распространяться из гибридных зон.

В настоящее время известны многие популяции обыкновенной бурозубки с 6–10 парами акроцентриков в кариотипах. В то же время отсутствуют данные, позволяющие говорить о вторичном возникновении таких популяций (из популяций с метацентрическими хромосомами). В бассейне Днепра на территории Беларуси описаны популяции обыкновенной бурозубки, возникшие в процессах гибридизации популяций с 10 парами диагностических акроцентриков и рас с метацентрическими хромосомами, расы Bobruysk (*h/i*), Turov (*h/k*) (Mishta et al., 2000), Светлогорск (*h/i*, *k/o*), Борисов (*g/m*, *h/k*, *n/o*, *q/r*), Октябрьский (*h/n*, *i/k*), Гомель (*hi*, *k/r*, *m/n*) (Borisov et al., 2010, 2014, 2016, 2017). Метацентрические хромосомы заимствованы в таких гибридных кариотипах из рас Białowieża, Kiev, Нерусса и Западная Двина. На частотах кариотипов приведены доказательства именно гибридного, а не какого-либо иного происхождения таких полиморфных популяций (Kryshchuk et al., 2021). Подобный “реверс” кариотипической эволюции не приводит к равновесию fusion/fission процессов, напротив, такие процессы гибридизации ведут к исчезновению акроцентрических рас.

В обсуждении предложенной модели направленной эволюции кариотипа обыкновенной бурозубки крайне важен вопрос о времени формирования современных хромосомных рас. По вопросу о времени формирования хромосомных рас в литературе встречаются разные мнения. По митохондриальным маркерам не обнаружено значительной молекулярной диверсификации хромосомных рас (Ratkiewicz et al., 2002; Andersson et al., 2005). Поэтому в современной кариологической литературе часто встречается утверждение о “молодости” хромосомных рас обыкновенной бурозубки; их формирование относят к голоцену (последним 10 тыс. л.). Но сходство хромосомных рас по митохондриальным маркерам может быть следствием значительной проницаемости гибридных зон для нейтральных молекулярных мутаций (Horn et al., 2012).

В то же время разными авторами неоднократно отмечалась роль малых популяций ледниковых рефугиумов в эволюции хромосомных рас обыкновенной бурозубки как для европейских (Орлов и др., 2007, 2008; Searle, 1984; Brünner et al., 2002; Orlov et al., 2007), так и сибирских популяций (Поляков и др., 2001). Такой подход значительно увеличивает время формирования хромосомных рас, поскольку последнее оледенение, Валдайское, охватывает значительный интервал времени (приблизительно 100–10 тыс. л. н.).

Оценивая время формирования хромосомных рас, следует помнить о надежно установленном палеонтологическом возрасте обыкновенной бурозубки (как морфологического вида, включая все близкие хромосомные виды), известной в Европе на протяжении всего плейстоцена, послед-

них 2 млн л. Отделение предковой формы *S. araneus* (*sensu lato*) от общего ствола с *S. daphaenodon* Thos. произошло 2.0 (2.97–1.19) млн л. н. по филогенетическим данным, а обособление *S. araneus* L. и *S. granarius* Miller от других близких видов (*S. coronatus* Millet, *S. satunini* Ogn. и *S. antinorii* Bon.) – 0.99 (1.46–0.58) млн л. н. Почти одновременно датируется обособление *S. araneus* и *S. granarius* – 0.80 (1.19–0.46) (Mackiewicz et al., 2017). В задачи настоящей статьи не входит обсуждение крайне сложных вопросов возникновения близких хромосомных видов в группе *S. araneus* (*sensu lato*), важно лишь подчеркнуть, что хромосомная эволюция в этой группе продолжалась на протяжении двух миллионов лет.

Хромосомная эволюция *S. araneus* несомненно началась одновременно с другими близкими ей видами, формировавшимися в плейстоцене. У обыкновенной бурозубки имеются общие диагностические метацентрики хромосомных рас с *S. coronatus* – *gr*, *kq*, *mp*, с *S. satunini* – *ik*, с *S. antinorii* – *gi*, всего пять общих метацентриков, что составляет 14% известных Rb-соединений у обыкновенной бурозубки. Поэтому существует и точка зрения о формировании кариотипической изменчивости обыкновенной бурозубки на протяжении всего плейстоцена (Орлов и др., 2017).

В традиционной классификации хромосомных рас обыкновенной бурозубки используют первые замены в Rb-цепях, общие для определенной группы хромосомных рас, в качестве показателя их филогенетического родства. Западноевропейскую кариотипическую группу (WEKG, western European karyotypic group) выделяют по диагностическим метацентрикам *hi* и *gm* (Searle, 1984; Searle, Wójcik, 1998), первым двум заменам акроцентрических хромосом на метацентрические. Хромосомные расы этой группы распространены в континентальной Европе, Великобритании, Скандинавии и даже в Восточной Сибири. Расы северо-европейской кариотипической группы (NEKG, northern European karyotypic group) с диагностическими метацентриками *ip* и *hn* (Wójcik, 1993; Fredga, 1996), первыми заменившими акроцентрические хромосомы, распространены в Фенноскандии, на востоке Восточно-Европейской равнины и на Урале. Восточно-европейская кариотипическая группа (EEKG, eastern European karyotypic group) (Searle, 1984) была выделена по итогам первого десятилетия изучения хромосомных рас и пересматривалась по мере описания новых хромосомных рас. Для этой явно полифилетической группы невозможно предложить какой-либо общий кариотипический критерий, но первые диагностические метацентрики в этой группе также возникали с участием наиболее крупных акроцентриков – *g* и *h*. К группе EEKG можно отнести расы Восточно-Европейской равнины (от Вислы до Урала) и Западной Сибири, не входящие в монофилетические группы WEKG и NEKG.

Направленная эволюция кариотипов в западноевропейской кариотипической группе

Накопление диагностических метацентриков в группе WEKG начиналось с участием Rb-соединений наиболее крупных диагностических акроцентриков, *g* и *h*. Два метацентрика, *gm* и *hi*, общие для хромосомных рас WEKG, указывают на диверсификацию одной плейстоценовой хромосомной расы. Сохранились две реликтовые хромосомные расы с метацентриками *hi*, *gm* – Carlit и Ulm. Эволюция этих рас остановилась в плейстоценовых рефугиумах на этапе двух Rb-соединений (рис. 3). В популяции с 10 парами акроцентрических хромосом способно распространяться Rb-соединение любой пары акроцентриков. Несколько ограничены возможности распространения в популяции второго и особенно третьего Rb-соединений, которые не должны быть соединениями монобрахиальной гомологии, соответственно, с первым или с первыми двумя соединениями. В популяциях с двумя метацентриками *gm* и *hi* могут распространяться только 14 определенных Rb-соединений, в том числе четыре соединения с относительно крупным акроцентриком *k* (*ko*, *kp*, *kq*, *kr*) и 10 – с мелкими акроцентриками, *n*, *o*, *p*, *q*, *r* (*no*, *np*, *nq*, *nr*, *op*, *oq*, *or*, *pq*, *pr*, *qr*). Таким образом, усиливающая направленность эволюции кариотипа становится заметной на этапе распространения в популяциях третьего Rb-соединения.

Успешная реконструкция эволюционных преобразований кариотипов в WEKG оказалась возможной благодаря сохранившимся популяциям с тремя метацентриками. Рис. 3 дает представление не только о накоплении хромосомных перестроек в популяциях, но и о вероятной последовательности их включения в кариотип. В современных популяциях Западной Европы сохранились три варианта хромосомных рас с третьим метацентриком (*ko*, *kq* и *kr*) и остановившихся в своей эволюции на этом этапе. Поэтому очень вероятно, что метацентриком *kr* был третьим в цепи с конечным кариотипом расы Uppsala (рис. 3). Можно лишь предложить, что третьим соединением во всех хромосомных расах группы WEKG оказывалось соединение с акроцентриком *k*, поскольку это самый крупный акроцентрик среди 6 оставшихся в кариотипе *gm*, *hi* (*k*, *n*, *o*, *p*, *q*, *r*). Неоднократно отмечалось участие в Rb-соединениях, в первую очередь, более крупных акроцентрических хромосом, относящихся как к стабильной, так и к изменчивой части кариотипа (Volobouev, 1989; Wójcik et al., 2002).

Дальнейшая эволюция кариотипов, включение четвертого и пятого Rb-соединений, оказывается строго predetermined и может быть предсказана. Например, в кариотипе с третьим Rb-соединением *ko* остаются четыре акроцентрика: *n*, *q*, *p*, *r*. Следовательно в таких популяциях могут рас-

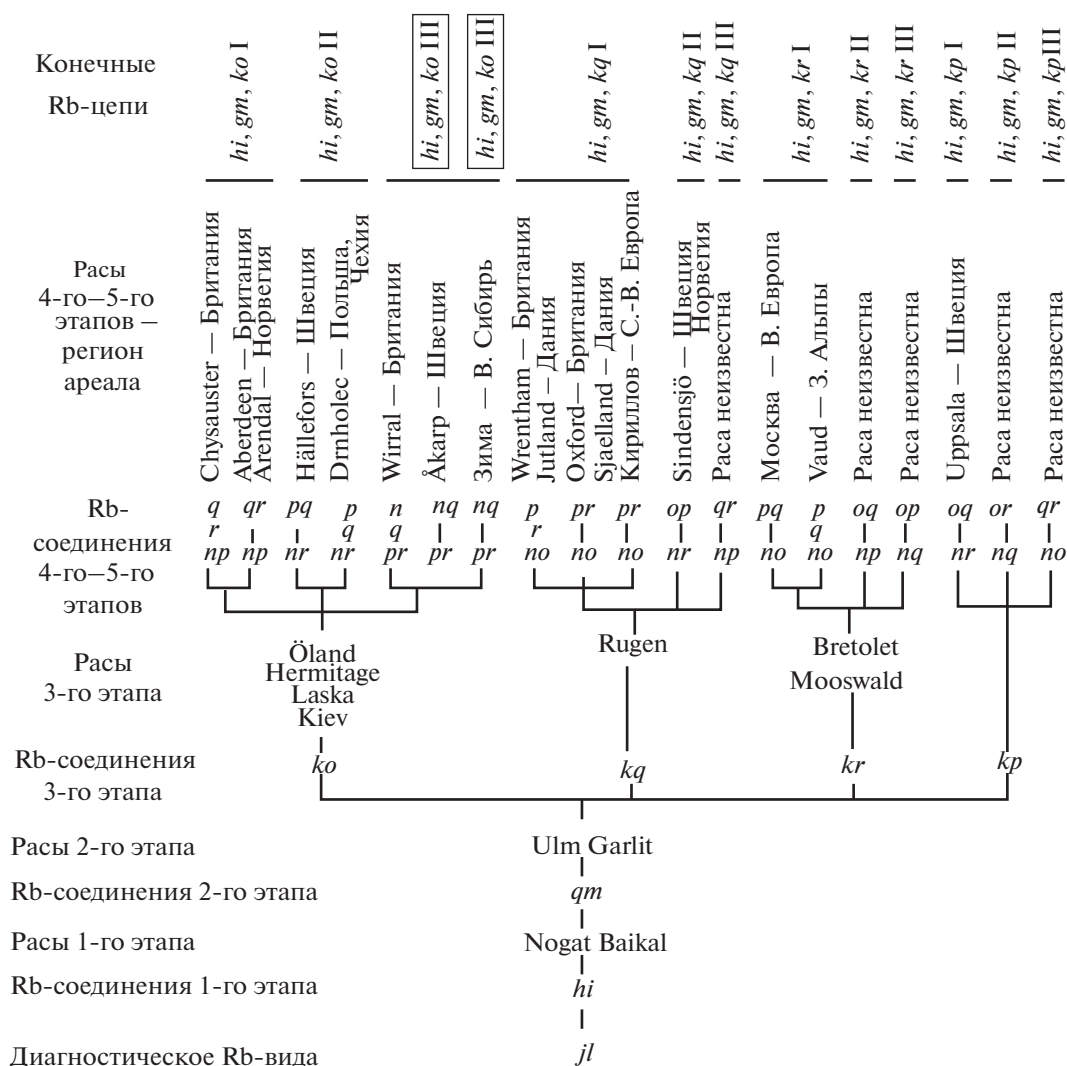


Рис. 3. Rb-цепи и филогенетические линии хромосомных рас WEKG. Конечные Rb-цепи обозначены Rb-соединениями первых трех этапов и римскими цифрами. Рамками выделены филогенетические линии одной цепи. Хромосомные расы приведены по (Bulatova et al., 2019).

пространяться только 6 Rb-соединений (*nq*, *nr*, *nr*, *pq*, *qr*, *pr*) с образованием всего трех конечных Rb-цепей и трех конечных кариотипов с метацентриками: (*nr*, *qr*), (*nr*, *pq*) и (*pr*, *nq*). Любые другие варианты метацентриков оказываются хромосомами непарной гомологии по отношению к первым трем метацентрикам. В современных популяциях сохранились 8 хромосомных рас всех трех возможных конечных Rb-цепей *hi*, *gm*, *ko* (рис. 3).

Аналогично шла эволюция Rb-цепей с метацентриками *kq*, *kr* и *kp* на четвертом–пятом этапах. В популяциях с диагностическими метацентриками *hi*, *gm*, *kq* известны хромосомные расы двух из трех конечных Rb-цепей, а с метацентриками *hi*, *gm*, *kr* и *hi*, *gm*, *kp* – только в одной из трех возможных конечных Rb-цепей, но в плейстоцене могли существовать хромосомные расы и дру-

гих Rb-цепей, неизвестные в современных популяциях (рис. 3).

Таким образом, исходя из модели направленной эволюции кариотипов в эволюции монофилетической группы WEKG, возможно возникновение только 12 конечных Rb-цепей (кариотипов хромосомных рас) (рис. 3). Кариотипы семи Rb-цепей сохранились в современных популяциях обыкновенной бурозубки, а пять цепей либо оказались нереализованными в эволюции этого вида, либо популяции с такими кариотипами вымерли в плейстоцене.

В системе хромосомного полиморфизма обыкновенной бурозубки часто отмечают ретикулярные процессы. Например, в хромосомных расах Москва и Кириллов, не связанных общим происхождением, имеются метацентрики *no* (рис. 3).

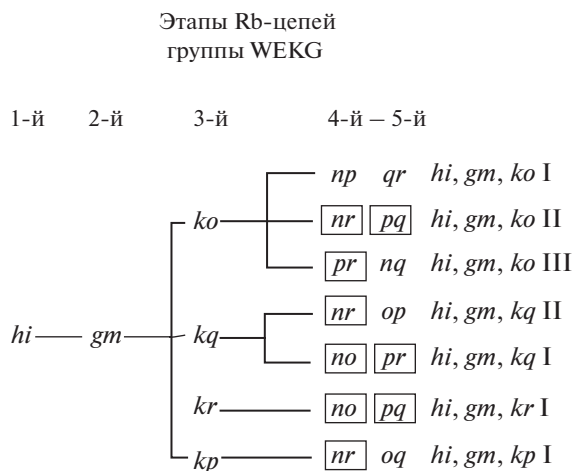


Рис. 4. Ретикулярная эволюция в группе хромосомных рас WEKG. Рамкой выделены метацентрики, которые входят в конечные кариотипы двух или трех Rb-цепей, отличающихся соединениями монобрахиальной гомологии на третьем этапе (см. рис. 3).

Общие метацентрики в разных хромосомных расах можно отобразить с использованием “сетевого подхода” (network approach) (White et al., 2010, 2019). Но в этой методике регистрируются только перемещения метацентриков, и возникает впечатление о хаотическом, непредсказуемом их перемещении. В модели направленной эволюции группы WEKG возможность включения общих метацентриков в разные Rb-цепи при четвертой или пятой заменах акроцентрических хромосом на метацентрические (в кариотипах хромосомных рас) оказывается следствием третьей замены — включения Rb-соединений монобрахиальной гомологии с общим плечом *k* (рис. 4). Но “ниша” для метацентрика — это только потенциальная возможность включения метацентрика, которая хотя и реализуется во многих случаях, но не всегда. Например, в расах Drnholes (цепь *gm, hi, ko*) и Vaud (цепь *gm, hi, kr*) метацентрик *pq* не заменил акроцентрики *p* и *q*.

Если предположить, что вся эволюция хромосомных рас происходила в их современных ареалах, то известные ретикулярные процессы в популяциях (White et al., 2010, 2019) окажутся вообще необъяснимыми и невозможными.

Приведенная реконструкция эволюции хромосомных рас группы WEKG основана на дарвиновском принципе родства и полностью отличается от реконструкции филогенетических взаимоотношений видов р. *Sorex* с использованием методов Байеса (BA) и максимальной парсимонии (Mackiewicz et al., 2017) или сетевого подхода (White et al., 2010, 2019).

В одинаковых кариотипических цепях Rb-соединения могли возникать разными способами, и

разные филогенетические линии популяций могут приводить к одинаковым кариотипическим цепям. Было высказано предположение, что среди хромосомных рас Великобритании раса Wirral возникла в гибридной зоне рас Oxford и Aberdeen вследствие реципрокных транслокаций в мейозе гибридов с возникновением метацентрика *pr* и отбора перестроенных кариотипов, названного Дж. Сирлом “зональным формированием рас” (Searle, 1988). Напротив, метацентрик *pr* расы Åkarp из Швеции мог возникнуть иным способом, например, в результате центрических соединений акроцентриков и тогда в одной цепи рас *hi, gm, ko* III возможны разные филогенетические линии (рис. 3).

Гибридное слияние кариотипов хромосомных рас восточноевропейской и западноевропейской кариотипических групп

Из двадцати конечных Rb-цепей группы EEKG по сохранившимся расам возможно реконструировать только одну цепь хромосомных рас: Zuvinttas—Goldap—Tallinn (рис. 5) с ареалами в Прибалтике от Гданьского до Финского заливов.

Реконструкция формирования кариотипов остальных рас возможна только по общим метацентрикам в кариотипах. Так же, как и в расах WEKG, кариотипическая диверсификация восточноевропейских хромосомных рас начиналась с участием Rb-соединений наиболее крупных диагностических акроцентриков *g* или *h*. В 14 Rb-цепях среди первых появляются метацентрики монобрахиальной гомологии с участием акроцентрика *g* (*gi, gk, go, gp, gr*), что указывает на полифилетическое формирование кариотипов в группе EEKG. В 10 Rb-цепях среди первых отмечены метацентрики *hk* и *hn*, а в пяти цепях соединения с акроцентриком *g* появляются на более поздних этапах формирования цепей или отсутствуют (в расе С.-Петербург) (рис. 5).

Редкая сохранность хромосомных рас на втором—третьем этапах Rb-цепей группы EEKG (в отличие от рас WEKG) связана с одной особенностью эволюции кариотипов, на которую до сих пор кариологи не обращали внимания. В 9 хромосомных расах кариотипическая эволюция началась двумя метацентриками, характерными только для группы EEKG, и полностью завершалась тремя метацентриками в каждой расе из какой-то одной расы WEKG (рис. 5 и 6).

Судя по кариотипам современных хромосомных рас EEKG, с ними могли контактировать в плейстоцене хромосомные расы семи кариотипических цепей WEKG, известных в современных популяциях или предсказанных, исходя из модели направленной эволюции (рис. 3). В пяти хромосомных расах группы EEKG (Печора, Манту-

рово, Молога, Пенза, Нерусса) сохранились метацентрики двух Rb-цепей *hi, gm, kq* I и *hi, gm, kr* I группы WEKG, многие хромосомные расы которых известны в Западной и Восточной Европе (рис. 5 и 6). В двух хромосомных расах, Псков и Ягры, сохранились метацентрики Rb-цепей *hi, gm, kq* II и *hi, gm, kp* I, современные хромосомные расы которых известны только в Западной Европе (Sidensjö, Uppsala) (рис. 5 и 6). В кариотипах рас Лепель, Западная Двина и Канин остались метацентрики еще трех Rb-цепей WEKG, предсказанных моделью направленной эволюции (*hi, gm, kp* II, *hi, gm, kp* III и *hi, gm, kq* III) (рис. 5 и 6), поэтому не исключено, что расы этих цепей вымерли в плейстоцене.

В этой реконструкции формирования восточноевропейских рас много предположений, как и в любой реконструкции прошлой эволюции популяций и таксонов. Но то, что в кариотипе расы Мантурово обнаруживаются три метацентрика расы Кириллов, а в расах Молога и Нерусса — по три метацентрика расы Москва (рис. 6) невозможно объяснить накоплением случайных Rb-мутаций.

Безусловно, подобные гибридогенные процессы невозможны в современных ареалах хромосомных рас. Но включение в кариотипы шести хромосомных рас Восточной Европы сразу трех метацентриков в каждую из определенных рас WEKG, которых нет в современных популяциях Восточной Европы, не имеет иного объяснения кроме предположения, что в прошлом в Восточной Европе существовали и другие хромосомные расы из группы WEKG, кроме двух сохранившихся в настоящее время.

В эволюции климата Земли за последние 420 тыс. л. отмечено пять глобальных потеплений и четыре глобальных похолодания (оледенений) (Petit et al., 1999), а за последний миллион лет обыкновенная бурозубка пережила не менее десятка подобных изменений климата. Поскольку оледенения различались по охваченной площади и продолжительности, то изменялось и расположение рефугиумов, а, следовательно, и ареалы хромосомных рас в каждое последующее теплое межледниковье.

С высокой вероятностью можно предположить, что хромосомные расы WEKG расселились в Восточной Европе в одно из теплых межледниковий после особенно обширного оледенения, сократившего ареалы популяции местных рас. Ко времени расселения в Восточной Европе расы WEKG завершили кариотипическую эволюцию включением пяти пар диагностических метацентриков, в то время как расы группы EEKG находились на начальном этапе накопления Rb-соединений, сохраняя до шести пар акроцентриков в кариотипе.

Распространение Rb-соединений в популяциях с акроцентрическими хромосомами могло произойти относительно быстро, за время одного теп-

лого межледниковья, и не оставить промежуточных форм. Поэтому начавшаяся самостоятельная кариотипическая эволюция многих популяций EEKG была прервана распространением в популяциях Rb-соединений западноевропейских хромосомных рас.

В современных популяциях обыкновенной бурозубки с акроцентрическими хромосомами известны совершенно аналогичные процессы распространения Rb-соединений в бассейнах Вислы (Wójcik, 1993; Fedyk et al., 2000) и Днепра (Borisov et al., 2017; Kryshchuk et al., 2021) и в Скандинавии (Fredga, 2007).

Направленная эволюция кариотипов североевропейской кариотипической группы

По составу диагностических метацентриков эта группа не отличается от рас восточноевропейской группы, поэтому ее можно рассматривать как монофилетическую группу в составе EEKG. Сохранилась только одна островная раса, Lemland, с единственным диагностическим метацентриком *ip*, выжившая после расширения акватории Балтийского моря в голоцене (рис. 7). Сходство остальных рас этой группы по двум метацентрикам *ip* и *hn* указывает на то, что в плейстоцене могла существовать раса с двумя метацентриками, от которой и началась кариотипическая диверсификация популяций.

Реконструировать часть Rb-цепей группы NEKG позволяет сохранившаяся раса с тремя метацентриками Ammarnäs (*hn, ip, kq*), эволюция которой остановилась в плейстоценовых рефугиумах (рис. 7). Включение в кариотип популяций с метацентриками *ip* и *hn* третьего метацентрика *kq* сужает свободную нишу для метацентриков до четырех акроцентриков *g, m, o, r*. Эту нишу могут занять хромосомные расы не более чем трех конечных Rb-цепей, из которых в настоящее время известны расы двух цепей. К одной относятся расы Hattsjö и Abisko, ко второй — раса Пояконда (рис. 7). Хромосомные расы Карелии еще недостаточно изучены и не исключено, что существует раса из третьей конечной цепи (*ip, hn, kq* III). Rb-соединение *gm* могло быть получено расами Hattsjö и Abisko от современных скандинавских рас группы WEKG (Fredga, 1996, 2007). Судя по тому, что в расе Abisko имеется метацентрики *or*, все западноевропейские Rb-соединения так же могли быть получены в плейстоцене от вымершей хромосомной расы кариотипической цепи *hi, gm, kq* III (WEKG) (рис. 3).

Реконструкция Rb-цепей остальных шести хромосомных рас основана на трех общих метацентриках в кариотипах: *ip, hn, go*. В этой группе рас реализованы все три типа возможных конечных Rb-цепей (рис. 7). Следовательно, в соответствии с предложенной моделью направленной эво-

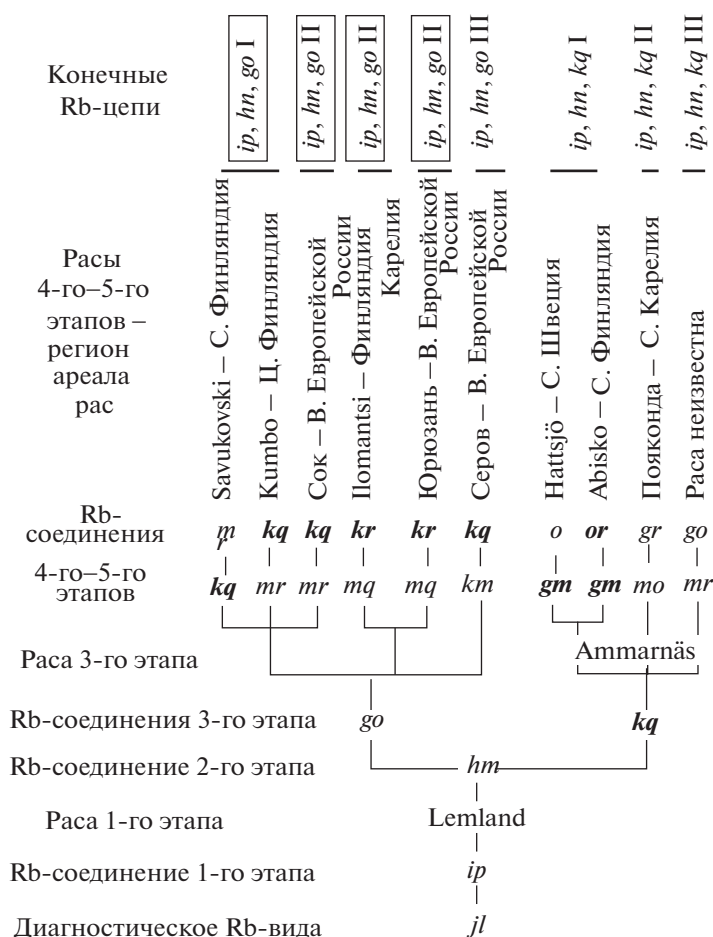


Рис. 7. Rb-цепи и филогенетические линии хромосомных рас NEKG (см. рис. 3 и 5). Жирным шрифтом выделены метацентрики группы NEKG.

люции кариотипов в эволюции монофилетической группы NEKG возможно возникновение только шести конечных Rb-цепей с шестью конечными кариотипами.

Происхождение сходных, но географически удаленных хромосомных рас

Расы группы WEKG. В Западной и Центральной Европе известны географически изолированные хромосомные расы с тремя диагностическими метацентриками *gm*, *hi*, *ko* (расы Öland, Hermitage, Laska и Kiev). Современные изолированные ареалы этих рас могли остаться от обширной хромосомной расы, существовавшей в плейстоцене или в начале голоцена, до возникновения современной акватории Северного и Балтийского морей. Также вероятно, что реликтовые ареалы рас Rügen (*hi*, *gm*, *kq*) и Mooswald, Bretolet (*hi*, *gm*, *kr*) (рис. 3) также могли быть значительно обширнее современных.

Можно предположить независимое, параллельное, формирование кариотипов таких географиче-

ски удаленных рас, как расы Sjaelland (Дания) и Кириллов (Сев.-Вост. Европа) или Vaud (Зап. Альпы) и Москва (Вост. Европа) (рис. 3). Но именно в Западной Европе обнаруживаются начальные этапы формирования этих рас, популяции с тремя диагностическими метацентриками (*gm*, *hi*, *kq* – раса Rugen; *gm*, *hi*, *kr* – расы Bretolet и Mooswald). Именно в Западной Европе был центр возникновения большой современной группы WEKG. Поэтому более вероятно, что у таких географически удаленных хромосомных рас имелся общий центр происхождения в Западной Европе, и современная географическая изоляция таких идентичных рас оказывается результатом разрыва ареала, а не параллельной эволюции.

Удивительное совпадение кариотипов хромосомных рас Зима из Восточной Сибири и Åkaг из Швеции пока объяснить невозможно. Не исключена возможность независимой эволюции рас группы WEKG в Западной Европе и в Восточной Сибири (Pavlova et al., 2017). Модель направленной эволюции кариотипов повышает вероятность такого предположения, но доказать его удастся, если бу-

дуг обнаружены другие расы группы WEKG в Восточной Сибири.

Расы группы EEKG. Судя по общим метацентрикам в кариотипах географически удаленных рас Białowieża и Селигер эти расы дивергировали от одной восточноевропейской популяции с кариотипом из трех пар диагностических метацентриков *go*, *hn*, *ik* и четырех пар акроцентриков, *m*, *p*, *q*, *r*. В такой популяции возможно распространение только шести Rb-соединений, *mp*, *mq*, *mr*, *pq*, *pr* и *qr*. Любые другие Rb-соединения окажутся соединениями непарной гомологии, поэтому в дальнейшей кариотипической эволюции возможно образование не более трех конечных кариотипов, *go*, *hn*, *ik*, *mq*, *pr*; *go*, *hn*, *ik*, *mp*, *qr* и *go*, *hn*, *ik*, *mr*, *pq*. В кариотипах хромосомных рас Białowieża и Селигер реализованы два из трех возможных кариотипов (рис. 5). Следовательно, эти расы родственны между собой в такой же степени, как и любые другие, в эволюции которых обнаруживается предковая хромосомная раса с тремя метацентриками, то есть относящиеся к одной Rb-цепи *gm*, *hi*, *kq*, например, расы WEKG Кириллов (север Европейской России) и Sidensjö (Швеция) (рис. 3).

Сходство рас Новосибирск и Białowieża по трем диагностическим метацентрикам было отмечено еще при описании последней (Fredga, Nawgін, 1977). Формально по числу общих метацентриков эти расы сходны в такой же степени, как и расы Białowieża и Селигер, но их родство весьма отдаленно. В эволюции этих рас не было общей хромосомной расы с тремя метацентриками, они принадлежат к разным кариотипическим цепям (рис. 5), как, например, расы Arendal (Норвегия) и Кириллов (рис. 3). Общий метацентрик *tr* рас Białowieża и Новосибирск не связан с филогенетическим родством этих рас, так же как общий метацентрик *no* в расах Москва и Кириллов (см. выше). Как отмечалось выше, в кариотипах хромосомных рас из разных Rb-цепей могут возникать одинаковые “ниши” для метацентриков, то есть сочетания акроцентриков, поэтому формальное сходство хромосомных рас не всегда правильно отражает их родство.

Ареал расы Могилев образует восточную часть обширного ареала полиморфных популяций (рис. 1). Эти популяции формировались в голоцене в процессах гибридизации популяций с 10 парами акроцентрических хромосом, сохранившихся в рефугиуме бассейна Днепра, и четырех хромосомных рас с метацентрическими хромосомами — Białowieża, Kiev, Западная Двина и Нерусса — расселявшихся каждая из своего рефугиума в Центральной Европе (рис. 1) (Borisov et al., 2017; Kryshchuk et al., 2021).

В последнее оледенение рефугиумы хромосомных рас могли сохраняться по всему современному ареалу вида, а не только в Южной Ев-

ропе. На максимуме последнего оледенения (24–17 тыс. л. н.) обыкновенная бурозубка отмечена в десятках местонахождений тундро-лесостепного териокомплекса млекопитающих от Франции до Урала, но малая доля костных находок этого вида в местонахождениях (Маркова, Пузаченко, 2008) указывает на мозаичное (рефугиальное) распространение вида.

Так же, как и в других полиморфных расах бассейна Днепра, кариотип расы Могилев формировался в процессах расселения Rb-соединений из окружающих популяций. В непосредственной близости от ареала расы Могилев распространены полиморфные популяции рас Западная Двина (*g/m*, *h/k*, *i/p*, *n/o*, *q/r*), Борисов (*g/m*, *h/k*, *i*, *n/o*, *p*, *q/r*), Светлогорск (*g*, *m*, *h/i*, *k/o*, *n*, *p*, *q*, *r*), Гомель (*g*, *hi*, *k/r*, *m/n*, *o*, *p*, *q*) и Нерусса (*g/o*, *hi*, *k/r*, *m/n*, *p/q*) (рис. 1) (Bulatova et al., 2000; Borisov et al., 2010, 2016, 2017; Kryshchuk et al., 2021). Следовательно, ареал расы Могилев окружают полиморфные популяции с 10 Rb-соединениями (*gm*, *go*, *hi*, *hk*, *ip*, *kr*, *mn*, *no*, *pq*, *qr*), но в предковые популяции этой расы проникли три соединения из окружающих популяций (*hi*, *mn*, *qr*). Именно эти метацентрики проникли в популяции данной расы потому, что остальные метацентрики *gm*, *go*, *kr* и *hk* оказались соединениями непарной гомологии с *gk*. Следовательно, соединение *gk* раньше других появилось в предковых популяциях расы Могилев и в значительной мере предопределило ее дальнейшую кариотипическую эволюцию. Возможно, это соединение имело в кариотипе популяции из рефугиума.

Метацентрик *gk* впервые был найден в европейских популяциях обыкновенной бурозубки, а ранее он был известен в пяти хромосомных расах обыкновенной бурозубки Западной и Восточной Сибири (Bulatova et al., 2019). В хромосомных расах Восточной Сибири сохранились возможные этапы формирования расы Томск: Иркутск (*gk*, *hi*), Алтай (*gk*, *hi*, *mn*), Томск (*gk*, *hi*, *mn*, *qr*). Последнее Rb-соединение — *qr* — раса Томск получила из расы Новосибирск (Polyakov et al., 1996). Идентичные кариотипы рас Могилев и Томск формировались разными путями, но в обоих случаях именно Rb-соединение *gk* было первым, и запрет на распространение Rb-соединений непарной с ним гомологии привел к случайному сходству рас Могилев и Томск. Не исключено, что метацентрик *gk* мог возникать независимо в популяциях Европы и Восточной Сибири.

Расы группы NEKG. Ареал группы рас с хромосомами *hn*, *ip*, *go* разделен на два изолированных участка, с тремя расами в восточной части Фенноскандии и тремя расами на Восточно-Европейской равнине и Урале (рис. 7). Ареалы идентичных по кариотипам рас Kuhmo и Сок, а также Pomantsi и Юрюзань удалены более чем на тысячу километров, и этот разрыв заполняют современные

расы WEKG (Москва, Кириллов) и EEKG (Молога, Мантурово) (карта хромосомных рас (Shchipanov, Pavlova, 2017)).

Разрыв ареалов рас группы NEKG мог возникнуть на одном из этапов плейстоцена после особенно холодного ледникового. В последующее теплое межледниковье этот разрыв был заселен расами групп WEKG и EEKG. Возможность сохранения популяций обыкновенной бурозубки в рефугиумах ледникового даже в области ледникового щита Фенноскандии вполне вероятна (Орлов и др., 2007), поскольку критическим фактором для выживания популяций обыкновенной бурозубки оказывается влажность, а не низкие температуры (Shchipanov, Pavlova, 2017), и костные остатки этого вида обнаруживаются во многих местонахождениях максимума последнего ледникового (Маркова, Пузаченко, 2008).

Rb-соединения западноевропейских рас распространялись не только в популяциях EEKG, но и NEKG (рис. 7). В популяциях северо-европейской группы распространялись Rb-соединения *gm*, *kr*, *kq* и *or*, которые не были соединениями непарной гомологии с первыми метацентриками в кариотипах NEKG (*hn*, *ip*) и которые известны в современных популяциях WEKG. Но соединение *qr* в расе Серов могло быть получено только из расы конечной цепи *hi*, *gm*, *kp* III (WEKG) (рис. 3). Современные хромосомные расы этой цепи неизвестны, но могли существовать в соответствии с предложенной моделью эволюции кариотипов. Три диагностических Rb-соединения расы Западная Двина так же могли быть получены только от плейстоценовой расы именно этой цепи (рис. 6). Вполне вероятно, что разрыв ареалов хромосомных рас группы NEKG, расселение в Восточной Европе хромосомных рас группы WEKG и распространение западноевропейских Rb-соединений в популяциях хромосомных рас EEKG и NEKG произошло на одном этапе плейстоценовой эволюции обыкновенной бурозубки. В этом случае завершение кариотипической эволюции идентичных рас Kuhmo — Сок (*ip*, *hn*, *go*, *mr*, *kq*) и Pomantsi — Юрюзань (*ip*, *hn*, *go*, *mq*, *kr*) произошло независимо после разрыва ареалов. Поэтому с некоторой вероятностью их можно рассматривать как пример параллельной эволюции в разных филогенетических линиях (рис. 7).

Применима ли модель направленной эволюции к полиморфным популяциям западноевропейской домовогой мыши?

Среди европейских млекопитающих накопление Rb-соединений детально изучено также в популяциях западноевропейской домовогой мыши. Полагают, что предковым для этой формы был кариотип с диплоидным числом $2n = 40$ при 38 телоцентрических аутосомах. Полная Rb-цепь со-

стоит из 9 замен акроцентрических хромосом на метацентрические, например, в расе CD при $2n = 22$ (Caranna et al., 1977).

Домовая мышь расселилась в Западной Европе всего 3000 л. н. (Cucchi et al., 2005). В качестве причин быстрой кариотипической эволюции этого вида указывают структуру популяций, молекулярные особенности перичентромерных районов хромосом и участие не только Rb-соединений, но и транслокаций целых плеч хромосом (WART) (Garagna et al., 2014).

Следует отметить, что организация перичентромерных структур телоцентриков *M. m. domesticus* и акроцентриков *S. araneus* неодинакова. В первом случае это минисателлитные последовательности, специфичные для перичентромерных районов (Garagna et al., 2014), а во втором — интерстициальные теломерные повторяющиеся последовательности (ITS) в перичентромерных районах хромосом (Жданова и др., 2009).

Модель направленной эволюции кариотипов применима к любым случаям накопления Rb-соединений в популяциях, но чем длиннее цепь, тем менее выраженным оказывается эффект направленной эволюции. Если у обыкновенной бурозубки все возможные конечные кариотипы в Rb-цепях можно предсказать с третьей замены акроцентрических хромосом на метацентрические, то у домовогой мыши — только с седьмой замены. Быстрое накопление Rb-соединений в малых изолированных популяциях (демах) при большом числе возможных вариантов попарных соединений акроцентриков, достигающем у домовогой мыши 171 (Caranna et al., 1977), ведет к утрате многих промежуточных кариологических форм. В современных популяциях подвида *domesticus* известны как начальные, так и конечные этапы цепей, но сохранилось слишком мало промежуточных форм для их реконструкции. Поэтому реконструкция Rb-цепей у домовогой мыши в настоящее время вряд ли возможна.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На примерах относительно простых процессов эволюции формы хромосом у обыкновенной бурозубки показано, что запрет распространения в одной популяции Rb-соединений монобрахиальной гомологии формирует направленность эволюции кариотипов популяций в процессах замены 10 пар акроцентрических хромосом на 5 пар метацентрических. Этот запрет вызван пониженной приспособленностью гетерозигот по метацентрическим хромосомам монобрахиальной гомологии, следовательно, направленность эволюции кариотипа обусловлена естественным отбором, именно селектогенез служит причиной ортогенеза. Подтверждается гипотеза Р.Л. Берг

(1993) о том, что в эволюции существуют “ограничения, налагающие запрет на движение по всем остальным направлениям”.

Если первые две замены акроцентрических хромосом на метацентрические лишь ограничивают дальнейшую эволюцию кариотипа, то третья замена полностью предопределяет возникновение трех конечных кариотипов, что позволяет предсказывать вероятное существование еще не обнаруженных или вымерших хромосомных рас подобно формам в “гомологических рядах” культурных и дикорастущих злаков по Н.И. Вавилову.

Кариотипические цепи отображают только последовательность включения метацентрических хромосом в кариотип, поэтому в одной кариотипической цепи возможны две и более филогенетических линий, идентичных по кариотипам.

Реконструкция эволюции кариотипа новой хромосомной расы Могилев показала, что формирование идентичных кариотипов этой расы в бассейне Днепра и расы Томск в Западной Сибири происходило параллельно. В процессе направленной эволюции могут независимо возникать сходные или идентичные хромосомные расы. Такие расы аналогичны “градам” (grades) таксонов по Дж. Хаксли (Huxley, 1958), предложенным для обозначения конечных таксонов в родственных, но независимо эволюционировавших линиях, достигших одного адаптивного или структурного уровня.

Постепенная эволюция кариотипических цепей, последовательность замен акроцентрических хромосом на метацентрические, может быть нарушена гибридным слиянием кариотипов двух хромосомных рас с образованием новой хромосомной расы. Такие процессы известны в современных популяциях (Fredga, 2007; Borisov et al., 2017) и прослеживаются в плейстоценовых популяциях обыкновенной бурозубки.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают признательность Е.С. Гайдученко, с. н. с. Научного и практического центра по биоресурсам Национальной академии наук Беларуси (Минск), за помощь в сборе материалов на территории Беларуси (Могилевская обл).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Конфликт интересов в финансовой или какой-либо иной сфере отсутствует.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Исследование на животных было одобрено Комитетом по содержанию и использованию животных Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН. В соответствии с протоколом Комитета по

содержанию и использованию животных ИПЭЭ РАН бурозубки были усыплены пентобарбиталом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Берг Л.С. Номогенез, или эволюция на основе закономерностей // Теории эволюции, Гл. 5. Петроград: Academia, 1922. С. 82–94.
- Берг Р.Л. Генетика и эволюция. Избранные труды. Новосибирск: Наука, 1993. 283 с.
- Вавилов Н.И. Закон гомологических рядов изменчивости // Докл. на III Всерос. селекционном съезде в г. Саратове 4 июня 1920. 16 с.
- Воронцов Н.Н. Значение изучения хромосомных наборов для систематики млекопитающих // Бюл. МОИП. Отд биол. 1958. Т. 63. № 2. С. 5–86.
- Дарвин Ч. Происхождение видов путем естественного отбора. М.: Просвещение, 1987. 383 с.
- Жданова Н.С., Рогозина Ю.И., Минина Ю.М. и др. Распределение теломерной ДНК в хромосомах обыкновенной бурозубки (*Sorex araneus*, Eulipotyphla) // Цитология. 2009. Т. 51. № 7. С. 577–584.
- Иваницкая Е.Ю. Хромосомные числа и краткие морфологические характеристики кариотипов млекопитающих / Ред. В.Н. Орлов, Н.Ш. Булатова. Сравнительная цитогенетика и кариосистематика млекопитающих. М.: Наука, 1983. С. 171–403.
- Маркова А.К., Пузаченко А.Ю. Комплексы млекопитающих максимальной стадии последнего оледенения (Last Glacial Maximum – LGM) (<=24 – >=17 тыс. л. н.) // Эволюция экосистем Европы при переходе от плейстоцена к голоцену (24–8 тыс. л. н.) / Ред. А.К. Маркова, Т. ван Кольфсхотен. М.: КМК, 2008. С. 91–116.
- Орлов В.Н. Кариосистематика млекопитающих. М.: Наука, 1974. 207 с.
- Орлов В.Н., Козловский А.И., Балакирев А.Е., Борисов Ю.М. Эндемизм хромосомных рас обыкновенной бурозубки *Sorex araneus* L. и возможность сохранения рефугиумов в области покровного оледенения Поздневалдайской эпохи // Докл. РАН. 2007. Т. 416. № 6. С. 727–730.
- Орлов В.Н., Козловский А.И., Балакирев А.Е., Борисов Ю.М. Процессы фиксации метацентрических хромосом в популяциях обыкновенной бурозубки *Sorex araneus* L. Восточной Европы // Генетика. 2008. Т. 44. № 5. 581–593.
- Орлов В.Н., Черепанова Е.В., Кривоногов Д.М. и др. Зональные и рефугиальные этапы в эволюции видов: пример обыкновенной бурозубки, *Sorex araneus* L. (Soricidae, Soricomorpha) // Успехи соврем. биол. 2017. Т. 138. № 2. С. 119–134.
- Поляков А.В., Панов В.В., Ладыгина Т.Ю. и др. Хромосомная эволюция обыкновенной бурозубки *Sorex araneus* L. в послеледниковое время на Южном Урале и в Сибири // Генетика. 2001. Т. 37. № 4. С. 448–455.
- Шмальгаузен И.И. Проблемы дарвинизма. Л.: Наука, 1969. 493 с.
- Andersson A.-C., Alström-Rapaport C., Fredga K. Lack of mitochondrial DNA divergence between chromosome races of the common shrew, *Sorex araneus*, in Sweden. Implications for interpreting chromosomal evolution

- and colonization history // *Mol. Ecol.* 2005. V. 14. P. 2703–2716.
- Baker R.J., Bickham J.W. Karyotypic evolution in bats: evidence of extensive and conservative chromosomal evolution in closely related taxa // *Syst. Zool.* 1980. V. 29 (1). P. 239–254.
- Baker R.J., Bickham J.W. Speciation by monobrachial centric fusions // *PNAS USA*. 1986. V. 83. P. 8245–8248.
- Bickham J.W., Baker R.J. Canalization model of chromosomal evolution // *Models and methodologies in evolutionary theory* / Bull. Carnegie Museum of Natural History. 1979. V. 13. P. 70–84.
- Biltueva L.S., Perelman P.L., Polyakov A.V. et al. Comparative chromosome analysis in three *Sorex* species: *S. raddei*, *S. minutus* and *S. caecutiens* // *Acta Theriol.* 2000. V. 45. Suppl. 1. P. 119–130.
- Borisov Yu.M., Cherepanova E.V., Orlov V.N. A wide hybrid zone of chromosome races of the common shrew, *Sorex araneus* Linnaeus, 1758 (Mammalia), between the Dnieper and Berezina Rivers (Belarus) // *Comp. Cytogen.* 2010. V. 3 (2). P. 195–201.
- Borisov Yu.M., Kryshchuk I.A., Cherepanova E.V. et al. Chromosomal polymorphism of populations of the common shrew, *Sorex araneus* L., in Belarus // *Acta Theriol.* 2014. V. 59 (2). P. 243–249.
- Borisov Yu.M., Gaiduchenko H.S., Cherepanova E.V. et al. The clinal variation of metacentric frequency in the populations of the common shrew, *Sorex araneus* L., in the Dnieper and Pripyat interfluvium // *Mamm. Res.* 2016. V. 61. P. 269–277.
- Borisov Yu.M., Kryshchuk I.A., Gaiduchenko H.S. et al. Karyotypic differentiation of populations of the common shrew *Sorex araneus* L. (Mammalia) in Belarus // *Comp. Cytogen.* 2017. V. 11 (2). P. 359–373.
- Brünner H., Turni H., Kapischke H.-J. New *Sorex araneus* karyotypes from Germany and the postglacial recolonization of central Europe // *Acta Theriol.* 2002. V. 47 (3). P. 277–293.
- Bulatova N.S., Biltueva L.S., Pavlova S.V. Chromosomal differentiation in the common shrew and related species // *Shrews, chromosomes and speciation* (Cambridge studies in morphology and molecules: new paradigms in evolutionary bio) / Eds. J. Searle, P. Polly, J. Zima. Chapter 5. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 2019. P. 134–184.
- Bulatova N., Searle J.B., Bystrakova N. et al. The diversity of chromosome races in *Sorex araneus* from European Russia // *Acta Theriol.* 2000. V. 45 (Suppl. 1). P. 33–46.
- Capanna E. Robertsonian numerical variation in animal speciation: *Mus musculus* an emblematic model // *Mechanism of Speciation* / Ed. C. Barigozzi. New York: Alan Liss, 1982. P. 155–177.
- Capanna E., Castiglia R. Chromosomes and speciation in *Mus musculus domesticus* // *Cytogen. Gen. Res.* 2004. V. 105. P. 375–384.
- Capanna E., Civitelli M.V., Cristaldi M. Chromosomal rearrangement, reproductive isolation and speciation in mammals. The case of *Mus musculus* // *Bolletino di Zool.* 1977. V. 44. P. 213–246.
- Cucchi T., Vigne J.D., Auffray J.-C. First occurrence of the house mouse (*Mus musculus domesticus* Schwarz et Schwarz, 1943) in the western Mediterranean: a zooarchaeological revision of sub-fossil house mouse occurrences // *Biol. J. Linn. Soc.* 2005. V. 84. P. 429–445.
- Cytotaxonomy and vertebrate evolution / Eds A.B. Chiarelli, E. Capanna. L.: Academic Press, 1973. 783 p.
- Fedyk S., Pavlova S.V., Chętnicki W., Searle J.B. Chromosomal hybrid zones // *Shrews, chromosomes and speciation* // Cambridge studies in morphology and molecules: new paradigms in evolutionary bio / Eds J. Searle, P. Polly, J. Zima. Chapter 8. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 2019. P. 271–312.
- Fedyk S., Banaszek A., Chętnicki W. et al. Reassessment of the range of the Drnholec race: studies on meiosis in *Sorex araneus* hybrids // *Acta Theriol.* 2000. V. 45 (Suppl. 1). P. 59–67.
- Ford C.E., Hamerton J.L. A colchicine hypotonic citrate, squash sequence for mammalian chromosomes // *Stain Technol.* 1956. V. 31. P. 247–251.
- Fredga K. The chromosome races of *Sorex araneus* in Scandinavia // *Hereditas*. 1996. V. 125. P. 123–135.
- Fredga K. Reconstruction of the postglacial colonization of *Sorex araneus* into northern Scandinavia based on karyotype studies, and the subdivision of the Abisko race into three // *Rus. J. Theriol.* 2007. V. 6. P. 85–96.
- Fredga K., Nawrin J. Karyotype variability in *Sorex araneus* L. (Insectivora, Mammalia) // *Chrom. Today*. 1977. V. 6. P. 153–161.
- Garagna S., Page J., Fernandez-Donoso R. The Robertsonian phenomenon in the house mouse: mutation, meiosis and speciation // *Chromosoma*. 2014. V. 123. 529–544.
- Hausser J., Fedyk S., Fredga K. et al. Definition and nomenclature of chromosome races of *Sorex araneus* // *Folia Zoologica*. 1994. V. 43 (Suppl. 1). P. 1–9.
- Horn A., Basset P., Yannic G. et al. Chromosomal rearrangements do not seem to affect the gene flow in hybrid zones between karyotypic races of the common shrew (*Sorex araneus*) // *Evolution*. 2012. V. 66. P. 882–889.
- Hsu T.C., Benirschke K. An atlas of mammalian chromosomes. V. 1–10. Berlin–Heidelberg–New York: Springer, 1967–1977.
- Huxley J.S. Evolutionary process and taxonomy, with special reference to grades // *Uppsala Univ. Arsskr.* 1958. № 6. P. 21–39.
- Král B., Radjabli S.I. Banding patterns and Robertsonian fusion in the western Siberian population of *Sorex araneus* (Insectivora, Soricidae) // *Zoologické Listy*. 1974. V. 23. P. 217–227.
- Kryshchuk I.A., Orlov V.N., Cherepanova E.V., Borisov Yu.M. Unusual chromosomal polymorphism of the common shrew, *Sorex araneus* L., in southern Belarus // *Comp. Cytogen.* 2021. V. 15 (2). P. 159–169.
- Mackiewicz P., Moska M., Wierzbicki H. et al. Evolutionary history and phylogeographic relationships of shrews from *Sorex araneus* group // *PLoS One*. 2017. V. 12. P. e0179760.
- Meyn S.P., Tweedie R.L. Markov chains and stochastic stability. 2nd ed. L.: Springer-Verlag, 1993. 566 p.
- Mishta A.V., Searle J.B., Wójcik J.M. Karyotypic variation of the common shrew *Sorex araneus* in Belarus, Estonia, Latvia, Lithuania and Ukraine // *Acta Theriol.* 2000. V. 45 (Suppl. 1). P. 47–58.
- Orlov V.N., Kozlovsky A.I., Okulova N.M., Balakirev A.E. Postglacial recolonisation of European Russia by the common shrew *Sorex araneus* // *Rus. J. Theriol.* 2007. V. 6 (1). P. 97–104.
- Pavlova S.V., Borisov S.A., Timoshenko A.F., Sheftel B.I. “European” race-specific metacentrics in East Siberian

- common shrews (*Sorex araneus*): a description of two new chromosomal races, Irkutsk and Zima // *Comp. Cytogen.* 2017. V. 11. P. 797–806.
- Petit J.R., Jouzel J., Raunaud D. et al. Climate and atmospheric history of the past 420,000 years from the Vostok ice core, Antarctica // *Nature*. 1999. V. 399. P. 429–436.
- Polyakov A.V., Volobouev V.T., Borodin P.M., Searle J.B. Karyotypic races of the common shrew (*Sorex araneus*) with exceptionally large ranges: the Novosibirsk and Tomsk races of Siberia // *Hereditas*. 1996. V. 125. P. 109–115.
- Ratkiewicz M., Fedyk S., Banaszek A. et al. The evolutionary history of the two karyotypic groups of the common shrew, *Sorex araneus*, in Poland // *Heredity*. 2002. V. 88. P. 235–242.
- Seabright M. A rapid banding technique for human chromosomes // *Lancet*. 1971. V. 11. P. 971–972.
- Searle J.B. Three new karyotypic races of the common shrew *Sorex araneus* (Mammalia: Insectivora) and a phylogeny // *Syst. Zool.* 1984. V. 33. P. 184–194.
- Searle J.B. Karyotypic variation and evolution in the common shrew // *Kew chromosome conference III* / Ed. P.E. Brandham. L.: HMSO, 1988. P. 97–107.
- Searle J.B., Wójcik J.M. Chromosomal evolution: the case of *Sorex araneus* // *Evolution of shrews* / Ed. J.M. Wójcik, M. Wolsan, M. Białowieża. Poland: Mammal Research Institute, 1998. P. 219–268.
- Searle J.B., Fedyk S., Fredga K. et al. Nomenclature for the chromosomes of the common shrew (*Sorex araneus*) // *Comp. Cytogenet.* 2010. V. 4. P. 87–96.
- Shchipanov N.A., Pavlova S.V. Density-dependent processes determine the distribution of chromosomal races of the common shrew *Sorex araneus* (Lipotyphla, Mammalia) // *Mamm. Res.* 2017. V. 62. P. 267–282.
- Shrews, chromosomes and speciation // *Cambridge studies in morphology and molecules: new paradigms in evolutionary bio* / Eds J. Searle, P. Polly, J. Zima. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 2019. 475 p.
- Volobouev V.T. Phylogenetic relationships of the *Sorex araneus-arcticus* species complex (Insectivora, Soricidae) based on high-resolution chromosome analysis // *J. Heredity*. 1989. V. 80. P. 284–290.
- Volobouev V., Catzeflis F. Mechanism of chromosomal evolution in three European species of the *Sorex araneus-arcticus* group (Insectivora: Soricidae) // *Zeitschrift für Zool. Syst. Evol.-Forschung*. 1989. V. 27. P. 252–262.
- White M.J.D. Chain processes in chromosomal speciation // *Syst. Zool.* 1978. 27 (3). P. 285–298.
- White T.A., Bordewich M., Searle J.B. A network approach to study karyotypic evolution: the chromosomal races of the common shrew (*Sorex araneus*) and house mouse (*Mus musculus*) as model systems // *Syst. Biol.* 2010. V. 59. P. 262–276.
- White T.A., Wójcik J.M., Searle J.B. Phylogenetic relationships of chromosomal races // *Shrews, chromosomes and molecules: new paradigms in evolutionary bio* / Eds. J. Searle, P. Polly, J. Zima. Chapter 6. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 2019. P. 186–216.
- Wójcik J.M., Searle J.B. The chromosome complement of *Sorex granarius* – the ancestral karyotype of the common shrew (*Sorex araneus*)? // *Heredity*. 1988. V. 61. P. 225–229.
- Wójcik J.M. Chromosome races of the common shrew *Sorex araneus* in Poland: a model of karyotype evolution // *Acta Theriol.* 1993. V. 38. P. 315–338.
- Wójcik J.M., Ratkiewicz M., Searle J.B. Evolution of the common shrew, *Sorex araneus*: chromosomal and molecular aspects // *Acta Theriol.* 2002. V. 47 (Suppl. 1). P. 139–167.
- Zima J., Kral B. Karyotypes of European mammals I–III // *Acta Sci. Nat. Brno*. 1984. V. 18 (7). P. 1–51. (8). P. 1–62. (9). P. 1–51.

Channelized Karyotype Evolution of the Common Shrew *Sorex araneus* (Mammalia)

V. N. Orlov^a, I. A. Kryshchuk^b, E. V. Cherepanova^a, *, and Yu. M. Borisov^a

^aSevertsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

^bScientific and Practical Center for Bioresources, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

*e-mail: elyacherena.16@gmail.com

A model of channelized evolution of the *S. araneus* L. karyotype in the processes of replacement of ten pairs of acrocentric chromosomes by five pairs of metacentric chromosomes has been proposed. The channelized evolution of the karyotype arises due to the inability of Rb fusions with incomplete (monobrachial) homology to spread in the same population. Therefore, an Rb fusion, due to some random event first appearing in a population, largely determines the further evolution of the karyotype of that population. After the third replacement of acrocentric chromosomes by metacentric ones, the replacement of the remaining 6 pairs of acrocentrics allows the formation of no more than three karyotypes with five diagnostic metacentrics, which can be predicted, regardless of which rearrangements result in metacentric chromosomes (Rb fusion or WART). The channelized karyotypic evolution greatly increases the likelihood of parallel karyotype formation, in cases where evolution begins with identical metacentrics in geographically distant populations. An example of parallel evolution that began with the *gk* metacentric is the identical karyotypes of the new Mogilev race from Belarus and the Tomsk race from Western Siberia. The evolution of Eastern European chromosomal races shows hybrid fusion processes between the karyotypes of the East European karyotypic group (EEKG) and the West European karyotypic group (WEKG).

Keywords: centric (Rb) fusions, chromosomal race, Rb chains, phylogenetic lineages

УДК 577.112.4:581.143

О БИОЛОГИЧЕСКОЙ РОЛИ АЦЕТИЛИРОВАНИЯ/ДЕАЦЕТИЛИРОВАНИЯ ГИСТОНОВ В ПРОЦЕССЕ ПРОРАСТАНИЯ ЗАРОДЫШЕЙ РАСТЕНИЙ

© 2023 г. Г. Х. Вафина¹, *, Е. Е. Ступак¹

¹Уфимский Институт биологии — обособленное структурное подразделение Уфимского
федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия

*e-mail: vafinagh@mail.ru

Поступила в редакцию 06.06.2022 г.

После доработки 06.07.2022 г.

Принята к публикации 08.07.2022 г.

Переход зародышей из состояния покоя в воздушно-сухих семенах в состояние с высокоактивным метаболизмом в процессе прорастания сопровождается значительными изменениями как пространственных, так и временных паттернов экспрессии генов и контролируется многоуровневыми регуляторными сетями. Ацетилирование гистонов — один из наиболее динамичных эпигенетических механизмов, играющий важную роль на этапах быстрых преобразований функциональной активности клеток. Характер и степень ацетилирования белков хроматина зависят от транскрипционной активности хроматина, а также связаны с репликацией ДНК и клеточным циклом. Получение в перспективе полной картины участия модификации гистонов в процессах прорастания семян будет полезно для повышения урожайности сельскохозяйственных культур, как способ оценки качества и жизнеспособности семян перед посевом, и позволит разработать методы управления реализации генетического потенциала растений.

Ключевые слова: ацетилирование, деацетилирование, гистоны, эпигенетика, прорастание, растения

DOI: 10.31857/S0042132423010106, **EDN:** HLPYRO

ВВЕДЕНИЕ

Важнейшим этапом жизненного цикла растения является период прорастания, который начинается с набухания семян и заканчивается появлением корешка (Nonogaki et al., 2010; Nonogaki, 2014). Переход зародыша из состояния покоя в воздушно-сухих семенах в состояние с высокоактивным метаболизмом требует значительных изменений как пространственных, так и временных паттернов экспрессии генов и контролируется многоуровневыми регуляторными сетями (van Zanten et al., 2011; Luján-Soto, Dinkova, 2021). Одними из регуляторных механизмов, имеющих решающее значение для многих биологических процессов, являются эпигенетические модификации хроматина, включающие в себя метилирование ДНК, модификации гистонов и ремоделирование хроматина (Zhang, Ogas, 2009).

Комплекс ядерной ДНК с гистонами образует первый уровень организации хромосом. Несмотря на высокую консервативность последовательности аминокислот, гистоны могут быть представлены как гистоновыми вариантами, так и подвергаться посттрансляционным модификациям, тем самым осуществляя вклад в генную регуляцию и эпигенетический сайленсинг (Mariño-Ramírez et al., 2005;

Liu et al., 2010). Нуклеосома, являющаяся основным повторяющимся звеном хроматина, состоит из восьми молекул гистонов, образующих нуклеосомный кор (по два H2A, H2B, H3 и H4), на которую в свою очередь закручена ДНК, насчитывающая 145–147 п.н. С точки зрения своего расположения в гистоновом октамере, гистоны H3 и H4 играют ключевую роль, оказывая влияние на структуру и динамику хроматина, а также на эффективность транскрипции (Azad et al., 2018). Гистон H1 связывается с нуклеосомой, тем самым способствуя компактизации хроматиновой фибриллы (Davie, 2003). ДНК связана с гистоновым кором ионными взаимодействиями между отрицательно заряженным сахарофосфатным остовом и гистонами, богатыми положительно заряженными аминокислотами аргинином (R) и лизином (K) (Davie, 2003). Комплекс достаточно динамичен и взаимодействие ДНК с белками может усиливаться или ослабляться под действием различных факторов. N-концы аминокислотных остатков гистонов, свободно выходящие на поверхность нуклеосом, подвержены многочисленным модификациям.

Одной из наиболее изученных посттрансляционных модификаций является ацетилирование определенных лизинов, расположенных в N-концевых хвостовых доменах основных гистонов. Ацетильная группа нейтрализует положительный заряд гистонов, усиливает гидрофобность, увеличивает размеры аминокислотной группы, что влияет на упаковку хроматина (Loidl, 1988, 1994; Hong et al., 1993; Garcia-Ramirez et al., 1995) и доступность регуляторных областей ДНК (Vettese-Dadey et al., 1996). Также ацетильная группа является сайтом связывания ряда белков, участвующих в ремоделировании хроматина, транскрипции, репликации, рекомбинации и репарации ДНК (Lee et al., 1993; Musselman et al., 2012; Gong et al., 2016; Hu et al., 2019). Например, у риса (*Oryza sativa*) нуклеосома потенциально имеет 38 сайтов ацетилирования лизина, из которых экспериментально доказано ацетилирование в положениях 9, 18, 23, 27, 36, 79 и 122 гистона H3 (H3K9, H3K18, H3K23, H3K27, H3K36, H3K79, H3K122) и в положениях 5, 8, 12, 16, 91 гистона H4 (H4K5, H4K8, H4K12, H4K16 и H4K91), что обеспечивает значительные возможности для контроля взаимодействия ДНК с транскрипционными факторами и регуляторными белками (Du et al., 2013; Lu et al., 2015; Mahrez et al., 2016; Xue et al., 2018).

Известно, что ацетилирование гистонов деконденсирует хроматин и активирует транскрипционную активность, а также связано с процессами репликации ДНК и клеточным циклом (Spencer, Davie, 1999; Jasencakova et al., 2000). Например, ацетилирование по сайтам H4K5, H4K8, H4K12, H4K16 и H3K9, H3K14, H3K18, H3K23 влечет деконденсирование структуры нуклеосом (Loidl, 1988, 1994; Garcia-Ramirez et al., 1995), изменяет взаимодействие гистонов с ДНК (Hong et al., 1993), облегчает доступ и связывание факторов транскрипции с генами, транскрибируемыми РНК-полимеразами II или III (Lee et al., 1993; Vettese-Dadey et al., 1996; Fuchs et al., 2006). В свою очередь, паттерн и степень ацетилирования белков хроматина зависит от транскрипционной активности хроматина, что формирует петли положительной обратной связи, поддерживающей транскрипцию (Martin et al., 2021).

Большая часть сайтов ацетилирования консервативна для разных видов растений. Так, сайт H3K36ас был обнаружен как у голосемянных, так и у многих видов покрытосемянных растений (Mahrez et al., 2016). В то же время распределение ацетилированных лизинов в гистонах H3 и H4 по генам видоспецифично. Было показано, что у *Arabidopsis thaliana* и *Oryza sativa* области хроматина с ацетилированными лизинами по сайтам H4K16ас и H3K23ас демонстрировали высокий уровень экспрессии генов, хотя гены, обогащенные H4K16ас, у этих растений связаны с различными биологическими процессами (Lu et al., 2015).

АЦЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ И ДЕАЦЕТИЛАЗЫ ГИСТОНОВ РАСТЕНИЙ

Ключевыми ферментами, регулирующими ацетилирование гистонов, являются гистоновые ацетилтрансферазы (HAT, histone acetyltransferase) и гистоновые деацетилазы (HDAC, histone deacetylase) (Kouzarides, 2006; Hartl et al., 2017).

HATs переносят ацетильную группу (CH_3COO^-), донором которой является ацетил-КоА, на ϵ -аминогруппу (NH_3^+) специфических остатков лизина на N-концах гистоновых белков (в основном H3 и H4) (Kumar et al., 2021). Следовательно, ацетилирование гистонов может регулироваться наличием ацетил-КоА в растительных клетках. Показано, что мутации в генах ферментов, участвующих в биосинтезе и катаболизме ацетил-КоА снижают или соответственно повышают уровни ацетилирования гистонов по всему геному (Hu et al., 2019; Xu et al., 2021).

Гистоновые ацетилтрансферазы делятся на два класса: HAT-A и HAT-B. По доменному составу HAT-A группируются в четыре семейства: 1) HAG — ацетилтрансферазы семейства GNAT (GCN5-related N-terminal acetyltransferase); 2) HAM — ацетилтрансферазы семейства MYST (MOZ, Ybf2/Sas3, Sas2 и Tip60); 3) HAC — ацетилтрансферазы, относящиеся к белкам p300/CBP (cAMP-responsive element-binding protein); 4) HAF — ацетилтрансферазы семейства TATA-связывающих белков (TAFII250) (Liu et al., 2016; Fina et al., 2017; Gan et al., 2021). У арабидопсиса обнаружены три белка типа GNAT: GCN5 (HAG1), ELP3 (HAG3) и HAG2; два типа MYST: HAM1 (HAG4) и HAM2 (HAG5); пять типов p300/CBP белков: HAC1, HAC2, HAC4, HAC5 и HAC12 и два типа TAF1: HAF1 и HAF2 (Pandey et al., 2002; Servet et al., 2010; Boycheva et al., 2014).

Помимо HAT-домена, гистоновые ацетилтрансферазы семейств GNAT, p300 и TAFII250 содержат бромодомен, который распознает и связывается с ацетилированными остатками лизина. Предполагают, что взаимодействие с определенными ацетилированными остатками может способствовать активации HATs, облегчая ацетилирование других мишеней (Gong et al., 2016). Показано, что ацетилтрансфераза GCN5, специфично ацетилирующая H3K14ас, повышает уровень ацетилирования H3K9ас, способствуя привлечению других HATs, осуществляющих ацетилирование H3K9 или предотвращающих активность HDACs, таких как HDA19, которые выполняют удаление этой гистоновой метки (Kim et al., 2020). Ацетилтрансферазы MYST содержат хромодомен, который может связываться с РНК (Kumar et al., 2021).

HAT-A локализуются в ядре клетки и ацетируют коровые гистоны нуклеосом (Brownell, Allis, 1996; Roth et al., 2001). Кроме того, HAT-A действуют как коактиваторы и регуляторы транскрипции, а также способствуют взаимодействию между

компонентами транскрипционного аппарата и могут поддерживать процесс транскрипции (Boysheva et al., 2014). НАТ-В находятся как в ядре, так и в цитоплазме и катализируют ацетилирование вновь синтезированных гистонов перед их сборкой в нукleosомы; обладают высокой специфичностью в отношении ацетилирования гистона H4 (Parthun et al., 1996; Kolle et al., 1998; Haigney et al., 2015).

Гистоновые деацетилазы удаляют ацетильную группу с аминокрупп, причем по крайней мере некоторые из них деацетилируют как гистоновые, так и негистоновые белки (Yruela et al., 2021). У *A. thaliana* описано 18 генов HDAC, у *O. sativa* идентифицировано так же 18 генов HDAC, у пшеницы (*Triticum aestivum* L.) – 49 генов HDAC, у винограда (*Vitis vinifera* L.) – 13 генов HDAC (Hollender, Liu, 2008; Xu et al., 2021; Martínez et al., 2021).

У растений HDACs делятся на три подсемейства: RPD3/HDA1 (Reduced Potassium Dependence 3); SIR2 (Silent Information Regulator 2) и специфичное для растений семейство HD2 (Pandey et al., 2002; Alinsug et al., 2012; Hu et al., 2019). По гомологии с дрожжевыми деацетилазами семейства дополнительно подразделяются на классы. У *A. thaliana* 12 деацетилаз относятся к RPD3/HDA1: из них шесть являются HDAC класса I (HDA6, HDA7, HDA9, HDA10, HDA17 и HDA19), пять – класса II (HDA5, HDA8, HDA14, HDA15 и HDA18) и один класс IV (HDA2). Две (SRT1 и SRT2) принадлежат к семейству SIR2-подобных (класс III); и четыре относятся к типу HD2 (HD-туины): HD2A, HD2B, HD2C, HD2D, по другой номенклатуре HDT 1–4, соответственно (Pandey et al., 2002; Hollender, Liu, 2008).

Активность HDACs, по-видимому, частично регулируется белок-белковыми взаимодействиями. Кроме того, HDACs регулируются экспрессией генов, субклеточной локализацией и посттрансляционными модификациями, такими как фосфорилирование, сумоилирование, протеолиз, и доступностью метаболических кофакторов (Dokmanovic, Marks, 2005). Например, НАТs и HDACs могут участвовать в регуляции деградации белков и скорость деградации зависит от статуса ацетилирования белка (Sadoul et al., 2008). Было высказано предположение, что восприимчивость гистонов к протеолизу в хроматине может регулироваться добавлением или удалением ацетильных или метильных групп на лизиновых остатках вблизи мест расщепления и что посттрансляционные модификации могут регулировать скорость протеолиза (Mandal et al., 2014), тем самым действуя как нуклеосомный контроль экспрессии генов (Vafina, Ivanov, 2016; Vafina et al., 2017, 2018).

АЦЕТИЛИРОВАНИЕ/ДЕАЦЕТИЛИРОВАНИЕ ГИСТОНОВ В ПРОЦЕССЕ ПРОРАСТАНИЯ ЗАРОДЫШЕЙ РАСТЕНИЙ

Переход зародыша от воздушно-сухого состояния в состояние с высокоактивным метаболизмом является критическим этапом в жизненном цикле семенных растений (Nonogaki, 2014). Прорастание включает серию последовательных событий, начиная с поглощения воды воздушно-сухими семенами и заканчивая удлинением оси зародыша и проклевыванием корешка (рис. 1). Как известно, запуск ростовых процессов осуществляется за счет растяжения клеток. Растяжение хотя и происходит сначала относительно медленно, однако оно обеспечивает более быстрое сопряжение корешка с почвенной влагой, а затем проникновение его в почву и продвижение за фронтом воды, чем если бы процесс роста начался с деления клеток (Данович и др., 1982). В сухих зрелых семенах клетки зародыша могут находиться в состояниях G_1 и G_2 , однако преобладают клетки в состоянии G_1 , по-видимому, наименее уязвимом состоянии меристематической клетки (Данович и др., 1982).

В прорастающих зародышах пшеницы зарегистрировано пять пиков митозов (Yadav, Das, 1974) сначала в корешке, потом в листочках и только после достижения корнем 1.5 см – в стеблевой меристеме (см. Данович и др., 1982). Наличие нескольких частых пиков митозов в начале прорастания объясняется, по-видимому, переходом клетки от состояния G_1 к синтезу ДНК порциями, тем самым обеспечивая десинхронизацию клеточных делений, что характерно для последующего роста органа (Ivanov et al., 2002). Во время созревания семян ядра сжимаются, а хроматин становится очень компактным (van Zanten et al., 2011). Уменьшение уплотнения хроматина и увеличение размера ядер при набухании семян связаны с дисперсией гетерохроматических повторяющихся последовательностей (van Zanten et al., 2011). Наиболее сильная деконденсация хроматина наблюдается непосредственно перед прорастанием (van Zanten et al., 2011).

При прорастании происходят динамические пространственно-временные изменения уровня ацетилирования гистонов в процессе растяжения, деления и дифференцировки клеток (рис. 1). Так у *Brachypodium distachyon* обнаружено, что при набухании семян повышается уровень ацетилирования H3K18, H4K16 и H4K5, причем в последующем при прорастании уровень H4K16ac и H4K5ac снижается (Wolny et al., 2017). H4K16ac и H4K5ac обычно ассоциированы с репликацией ДНК, но поскольку репликация начинается на более поздних этапах прорастания, авторы предполагают, что в данном случае эти модификации отражают процесс реорганизации хроматина при

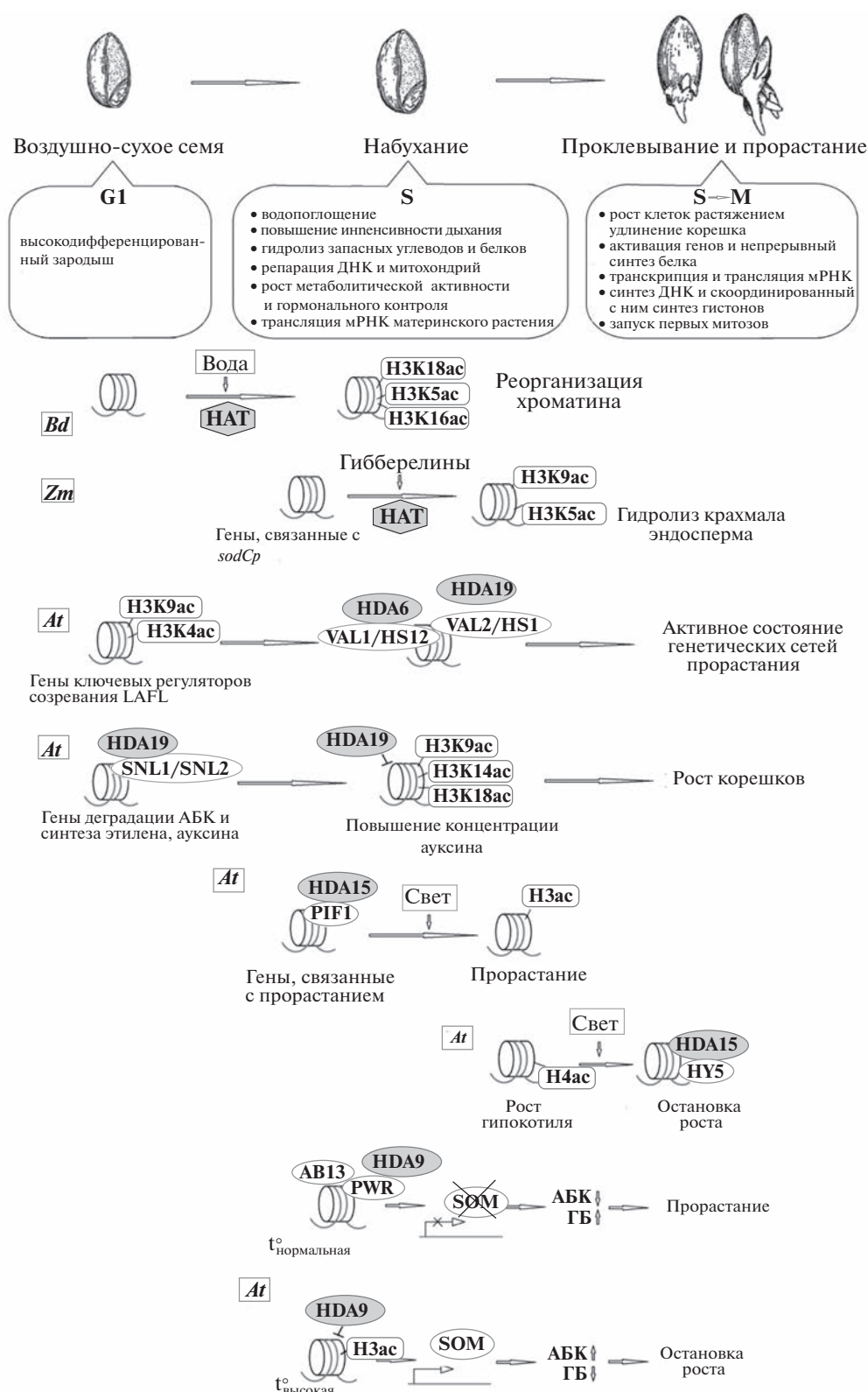


Рис. 1. Физиолого-морфологические и молекулярно-генетические процессы и схемы ацетилирования/деацетилирования, связанные с соответствующими стадиями прорастания зародышей растений. В квадратах обозначены названия видов растений (*Bd* – *Brachypodium distachyon*; *Zm* – *Zea mays*; *At* – *Arabidopsis thaliana*). Гистоновые ацетилтрансферазы (HAT) показаны серым шестиугольником, гистоновые деацетилазы (HDA) – серым овалом, корегуляторы – бесцветные овалы, сайты ацетилирования гистонов – прямоугольники. АБК – абсцизовая кислота, ГБ – гибберелины.

переходе клетки в метаболически активное состояние (Wolny et al., 2017).

Эпигенетические механизмы способны модулировать экспрессию генов, связанных с состоянием покоя и прорастанием, путем активации или репрессии специфических подмножеств генов (Carrera-Castaño et al., 2020). При этом ацетилирование/деацетилирование гистонов оказывает как положительное, так и отрицательное влияние на состояние покоя, в зависимости от генов, регулируемых этой меткой. Например, показано, что гистондеацетилаза HDA9 принимает участие в поддержании состояния покоя в сухих семенах, деацетилируя гены, связанные с ростом проростков (Zanten et al., 2014). Рост синтеза деацетилаз HDA6 и HDA19 при прорастании обеспечивает снижение ацетилирования H3K9 и H3K4 в 5'-областях генов транскрипционных факторов LAFL (LEC1, ABI3, FUS3, LEC2), являющихся ключевыми регуляторами созревания, что запускает генетические сети, связанные с прорастанием (Tanaka et al., 2008; Luján-Soto, Dinkova, 2021). Взаимодействие гистондеацетилаз с генами обеспечивается регуляторными белками, в данном случае транскрипционными репрессорами VAL (VIVIPAROUS/ABI3-LIKE) (Zhou et al., 2013; Chhun et al., 2016; Smolikova et al., 2021). HDA6 направляется регуляторным белком VAL1, HDA19 – VAL2, по другой номенклатуре HSI2 (HIGH-LEVEL EXPRESSION OF SUGAR-INDUCIBLE GENE 2) и HSL1 (HSI2-like 1) соответственно (Chhun et al., 2016). У арабидопсиса при набухании семян в темноте регуляторный белок PIF1 (phytochrome-interacting factor) взаимодействует с HDA15, что приводит к деацетилированию гистонов H3 и, как следствие, подавлению экспрессии генов, необходимых для прорастания, в том числе генов гормональных систем (Kumar et al., 2021). На свету PIF1 расщепляется, комплекс HDA15–PIF1 сходит с хроматина, что запускает процесс прорастания семян (Kumar et al., 2021). По такому же пути происходит активация светом генов биосинтеза хлорофилла у проростков с участием другого светочувствительного фактора транскрипции PIF3 (Liu et al., 2013). Взаимодействие HDA15 с фактором морфогенеза HY5 (ELONGATED HYPOCOTYL5), напротив, происходит под воздействием света и приводит к подавлению экспрессии генов, связанных с удлинением гипокотилия в результате деацетилирования гистона H4 (Zhao et al., 2019).

Комплекс регуляторных белков SNL1 (SWI-INDEPENDENT3 (SIN3)-LIKE1) и SNL2 с HDA19 участвует в поддержании состояния покоя и в регуляции прорастания путем деацетилирования гистонов H3K9, H3K18, H3K14 в целевых генах, связанных с синтезом, деградацией абсцизовой кислоты (АБК), этилена, и ауксинов, а также сигнальными путями растительных гормонов (Luján-Soto, Dinkova, 2021). В состоянии покоя в

клетке повышается уровень белков SNL1 и SNL2, которые направляют деацетилазу к гистонам, ассоциированным с генами гидролиза АБК и некоторыми генами биосинтеза этилена, и связанных с ним регуляторных систем, в результате чего растет уровень АБК и подавляется стимуляция прорастания этиленом (Wang et al., 2013). При набухании и прорастании семян уровень белков SNL1 и SNL2 снижается, при этом основную роль в стимуляции прорастания играет не ослабление механизма контроля прорастания, описанного выше, а повышение уровня ацетилирования генов ауксинового пути (преимущественно *AUX1*) и, соответственно, повышение уровня их экспрессии, что стимулирует удлинение, а в последствии и деление клеток корешка (Wang et al., 2016). Также показано участие гистоновых деацетилаз в росте корня путем регуляции уровня переносчика ауксина PIN1 (Nguyen et al., 2013). При набухании семян HDA9 в комплексе с белком PWR (POWERDRESS), обладающим высоким сродством к ацетилированному гистону H3, принимает участие в регуляции экспрессии белка SOM (регуляторный белок, содержащий структурный мотив “цинковые пальцы” типа CCCH), который подавляет прорастание при повышенной температуре (Yang et al., 2019). Гистоновые деацетилазы семейства HB2 отрицательно регулируют переход транзитно-амплифицирующихся клеток к растяжению путем регуляции метаболизма гиббереллинов в корневой меристеме и зоне элонгации (Li et al., 2017). В свою очередь, уровень гормонов влияет на степень ацетилирования гистонов, например, в алейроновом слое набухших семян кукурузы (*Zea mays* L.) под действием гиббереллина повышается содержание H3K9ac и H4K5ac в гистонах, ассоциированных с геном *sodCp*, кодирующим медь/цинк-зависимую супероксиддисмутазу, что приводит к накоплению пероксида водорода в клетке, запускающего регуляторную систему, обеспечивающую гидролиз крахмала эндосперма, что необходимо для питания проростка (Hou et al., 2015).

Показано участие ацетилирования гистонов в дифференцировке клеток проростка. Так у арабидопсиса в регуляторных сетях, отвечающих за дифференцировку волосковых и безволосковых клеток эпидермиса корней проростков, участвуют две гистоновые ацетилтрансферазы (GCN5 и HAF2) и три гистоновые деацетилазы (HDA6, HDA18 и HDA19) (Chen et al., 2016). Кроме того, ацетилирование принимает участие и в процессах поддержания разнообразия популяции проростков. Например, показано участие варьирования уровня экспрессии гена *HD2B* в неоднородности семян одной популяции *Arabidopsis thaliana* по скорости прорастания, при этом низкий уровень экспрессии наблюдался у семян, не вышедших из состояния покоя (Yano et al., 2013).

Запуск ростовых процессов при прорастании осуществляется за счет растяжения клеток, в то время как митотический цикл инициируется в меристеме побегов и корня на заключительных стадиях прорастания семян (Nieuwland et al., 2016). При этом синтез ДНК в S-фазе скоординирован с синтезом гистонов, а также с изменением характера их ацетилирования и деацетилирования (Chen, Tian, 2007). Первоначально гистоны ацетируются НАТ-В в цитоплазме, а затем транспортируются в ядро. Значимость ацетилирования гистона H4, в частности сайтов H4K5 и H4K12, при сборке хроматина во время S-фазы подтверждается совпадением повышения активности гистон-ацетилтрансферазы НАТ-В с репликацией ДНК, что обнаружено в меристематических клетках кукурузы (Lechner et al., 2000). После сборки гистоны вновь подвергаются модификации, при этом формируется видоспецифичный паттерн ацетилирования/деацетилирования (Jasencakova et al., 2000, 2001; Wako et al., 2002). В эухроматине ацетилированные гистоны в значительном количестве присутствуют в ранней и средней S-фазе, деацетилирование происходит в поздней S-фазе, и фазах М и G₁; в гетерохроматиновых доменах гистоны сильно ацетилированы на поздних стадиях S-фазы и G₂, в то время как деацетилирование происходит непосредственно перед митозом (Chen, Tian, 2007). В профазе митоза у ряда растений наблюдается корреляция характера распределения H4K5ac с размером генома. Так у *Allium cepa*, *Callisia repens*, *Araucaria angustifolia* и *Nothoposcordum pulchellum*, обладающих большими геномами, наблюдается равномерное распределение H4K5ac в профазных/прометафазных хромосомах, в то время как у ряда растений с малыми геномами, *Arachis pusilla*, *Bixa orellana*, *Costus spiralis*, *Eleutherine bulbosa*, *Indigofera campestris*, *Phaseolus lunatus*, *Phaseolus vulgaris*, *Poncirus trifoliata* и *Solanum lycopersicum*, концевые области хроматина обогащены H4K5ac, а в проксимальных — гистон H4 содержит в этом положении деацетилированный лизин (Feitoza et al., 2017). Однако равномерное распределение H4K5ac у растений с небольшими геномами также встречается, например, у *Eleocharis geniculata*, *Rhynchospora pubera* и *Rhynchospora tenuis*. Исследования с использованием ингибиторов гистоновых ацетилаз (трихостатин А, бутират натрия) показали, что нарушение фазоспецифического деацетилирования гистонов H4 и H3, в частности по сайтам H3K9 и H4K5, изменяет укладку хроматина, вызывая задержку клеточного цикла (Li et al., 2005; Zhang et al., 2017; Vafina et al., 2020). Также было показано, что в условиях гиперацетилированного хроматина нарушается конденсация хромосом, что препятствует разделению сестринских хроматид и нарушает ход митоза (Cimini et al., 2003).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, эпигенетические механизмы являются важной составляющей многоуровневых регуляторных сетей клетки. Ацетилирование гистонов — один из наиболее динамичных эпигенетических механизмов, играющий важную роль на этапах быстрых преобразований функциональной активности клеток. Получение в перспективе полной картины участия модификации гистонов в процессах прорастания семян будет полезно для повышения урожайности сельскохозяйственных культур, как способ оценки качества и жизнеспособности семян перед посевом, и позволит разработать методы управления реализации генетического потенциала растений.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России № 075-00326-19-00 по теме АААА-А18-118022190099-6 и № 075-03-2021-607 по теме № 122031100163-4.

БЛАГОДАРНОСТИ

Выражаем глубокую благодарность профессору Р.Н. Чураеву за ценные замечания и поддержку.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликтов интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Данович К.Н., Соболев А.М., Жданова Л.П. и др. Физиология семян. М.: Наука, 1982. 318 с.
- Alinsug M.V., Chen F.F., Luo M. et al. Subcellular localization of class II HDAs in *Arabidopsis thaliana*: nucleocytoplasmic shuttling of HDA15 is driven by light // PLoS One. 2012. V. 7 (2). P. e30846.
- Azad G.K., Swagatika S., Kumawat M. et al. Modifying chromatin by histone tail clipping // J. Mol. Biol. 2018. V. 430 (18). P. 3051–3067.
- Boycheva I., Vassileva V., Iantcheva A. Histone acetyltransferases in plant development and plasticity // Curr. Genom. 2014. V. 15 (1). P. 28–37.
- Brownell J.E., Allis C.D. Special HATs for special occasions: linking histone acetylation to chromatin assembly and gene activation // Curr. Opin. Genet. Dev. 1996. V. 6 (2). P. 176–184.
- Carrera-Castaño G., Calleja-Cabrera J., Pernas M. et al. An updated overview on the regulation of seed germination // Plants. 2020. V. 9 (6). P. 703.

- Chen Z.J., Tian L. Roles of dynamic and reversible histone acetylation in plant development and polyploidy // *Biochim. Biophys. Acta*. 2007. V. 1769 (5–6). P. 295–307.
- Chen W. Q., Li D. X., Zhao F. et al. One additional histone deacetylase and 2 histone acetyltransferases are involved in cellular patterning of *Arabidopsis* root epidermis // *Plant Signal. Behav.* 2016. V. 11. P. e1131373.
- Chhun T., Chong S.Y., Park B.S. et al. HSI2 repressor recruits MED13 and HDA6 to down-regulate seed maturation gene expression directly during *Arabidopsis* early seedling growth // *Plant Cell Physiol.* 2016. V. 57. P. 1689–1706.
- Cimini D., Mattiuzzo M., Torosantucci L., Degrossi F. Histone hyperacetylation in mitosis prevents sister chromatid separation and produces chromosome segregation defects // *Mol. Biol. Cell.* 2003. V. 14 (9). P. 3821–3833.
- Davie J.R. Inhibition of histone deacetylase activity by butyrate // *J. Nutr.* 2003. V. 133 (7). P. 2485S–2493S.
- Dokmanovic M., Marks P.A. Prospects: histone deacetylase inhibitors // *J. Cell. Biochem.* 2005. V. 96 (2). P. 293–304.
- Du Z., Li H., Wei Q. et al. Genome-wide analysis of histone modifications: H3K4me2, H3K4me3, H3K9ac, and H3K27ac in *Oryza sativa* L. Japonica // *Mol. Plant.* 2013. V. 6 (5). P. 1463–1472.
- Feitoza L., Costa L., Guerra M. Condensation patterns of prophase/prometaphase chromosome are correlated with H4K5 histone acetylation and genomic DNA contents in plants // *PLoS One*. 2017. V. 12 (8). P. e0183341.
- Fina J.P., Masotti F., Rius S.P. et al. HAC1 and HAF1 histone acetyltransferases have different roles in UV-B responses in *Arabidopsis* // *Front. Plant Sci.* 2017. V. 8. P. 1179.
- Fuchs J., Demidov D., Houben A., Schubert I. Chromosomal histone modification patterns – from conservation to diversity // *Trends Plant Sci.* 2006. V. 11. P. 199–208.
- Gan L., Wei Z., Yang Z. et al. Updated mechanisms of GCN5 – the monkey king of the plant kingdom in plant development and resistance to abiotic stresses // *Cells*. 2021. V. 10 (5). P. 979.
- Garcia-Ramirez M., Rocchini C., Ausio J. Modulation of chromatin folding by histone acetylation // *J. Biol. Chem.* 1995. V. 270 (30). P. 17923–17928.
- Gong F., Chiu L.Y., Miller K.M. Signaling to genome maintenance and cancer // *PLoS Genet.* 2016. V. 12 (9). P. e1006272.
- Haigney A., Ricketts M.D., Marmorstein R. Dissecting the molecular roles of histone chaperones in histone acetylation by type B histone acetyltransferases (HAT-B) // *J. Biol. Chem.* 2015. V. 290 (51). P. 30648–30657.
- Hartl M., Fussl M., Boersema P.J. et al. Lysine acetylome profiling uncovers novel histone deacetylase substrate proteins in *Arabidopsis* // *Mol. Syst. Biol.* 2017. V. 13 (10). P. 949.
- Hollender C., Liu Z. Histone deacetylase genes in *Arabidopsis* development // *J. Integr. Plant Biol.* 2008. V. 50. P. 875–885.
- Hong L., Schroth G.P., Matthews H.P. et al. Studies of the DNA binding properties of histone H4 amino terminus // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268 (1). P. 305–314.
- Hou H., Wang P., Zhang H. et al. Histone acetylation is involved in gibberellin-regulated *sodCp* gene expression in maize aleurone layers // *Plant Cell Phys.* 2015. V. 56 (11). P. 2139–2149.
- Hu Y., Lu Y., Zhao Y., Zhou D.X. Histone acetylation dynamics integrates metabolic activity to regulate plant response to stress // *Front. Plant Sci.* 2019. V. 10. P. 1236.
- Ivanov V.B., Dobrochaev A.E., Baskin T.I. What the distribution of cell lengths in the root meristem does and does not reveal about cell division // *J. Plant Growth Reg.* 2002. V. 21 (1). P. 60–67.
- Jasencakova Z., Meister A., Walter J. et al. Histone H4 acetylation of euchromatin and heterochromatin is cell cycle dependent and correlated with replication rather than with transcription // *Plant Cell*. 2000. V. 12. P. 2087–2100.
- Jasencakova Z., Meister A., Schubert I. Chromatin organization and its relation to replication and histone acetylation during the cell cycle in barley // *Chromosoma*. 2001. V. 110 (2). P. 83–92.
- Kim S., Sophie J.M., Piquerez J.S. et al. GCN5 modulates salicylic acid homeostasis by regulating H3K14ac levels at the 5' and 3' ends of its target genes // *Nucl. Acids Res.* 2020. V. 48 (11). P. 5953–5966.
- Kolle D., Sarg B., Lindner H., Loidl P. Substrate and sequential site specificity of cytoplasmic histone acetyltransferases of maize and rat liver // *FEBS Lett.* 1998. V. 421 (2). P. 109–114.
- Kouzarides T. Chromatin modifications and their function // *Cell*. 2007. V. 128 (4). P. 693–705.
- Kumar V., Thakur J.K., Prasad M. Histone acetylation dynamics regulating plant development and stress responses // *Cell. Mol. Life Sci.* 2021. V. 78 (10). P. 4467–4486.
- Lechner T., Lusser A., Pipal A. et al. RPD3-type histone deacetylases in maize embryos // *Biochemistry*. 2000. V. 39 (7). P. 1683–1692.
- Lee D.Y., Hayes J.J., Pruss D., Wolffe A.P. et al. A positive role for histone acetylation in transcription factor access to nucleosomal DNA // *Cell*. 1993. V. 72 (1). P. 73–84.
- Li H., Torres-Garcia J., Latrasse D. et al. Plant-specific histone deacetylases HDT1/2 regulate *GIBBERELLIN 2-OXIDASE2* expression to control *Arabidopsis* root meristem cell number // *Plant Cell*. 2017. V. 29 (9). P. 2183–2196.
- Li Y., Butenko Y., Grafi G. Histone deacetylation is required for progression through mitosis in tobacco cells // *Plant J.* 2005. V. 41 (3). P. 346–352.
- Liu C., Lu F., Cui X., Cao X. Histone methylation in higher plants // *Annu. Rev. Plant Biol.* 2010. V. 61. P. 395–420.
- Liu X., Chen C.-Y., Wang K.-C. et al. PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR3 associates with the histone deacetylase HDA15 in repression of chlorophyll biosynthesis and photosynthesis in etiolated *Arabidopsis* seedlings // *Plant Cell*. 2013. V. 25 (4). P. 1258–1273.
- Liu X., Yang S., Yu C.W. et al. Histone acetylation and plant development // *Enzymes*. V. 40. / Eds C. Lin, Sh. Luan. Burlington: Academic Press, 2016. P. 173–199.
- Loidl P. Towards an understanding of the biological function of histone acetylation // *FEBS Lett.* 1988. V. 227 (2). P. 91–95.

- Loidl P. Histone acetylation: facts and questions // *Chromosoma*. 1994. V. 103 (7). P. 441–449.
- Lu L., Chen X., Sanders D. et al. High-resolution mapping of H4K16 and H3K23 acetylation reveals conserved and unique distribution patterns in *Arabidopsis* and rice // *Epigenetics*. 2015. V. 10 (11). P. 1044–1053.
- Luján-Soto E.V., Dinkova T.D. Time to wake up: epigenetic and small-RNA-mediated regulation during seed germination // *Plants*. 2021. V. 10 (2). P. 236.
- Mahrez W., Arellano M.S., Moreno-Romero J. et al. H3K36ac is an evolutionary conserved plant histone modification that marks active genes // *Plant Physiol.* 2016. V. 170 (3). P. 1566–1577.
- Mandal P., Verma N., Azad G.K. et al. Epigenetics: role of histone proteases in cellular functions and diseases // *Molecular mechanisms and physiology of disease: implications for epigenetics and health* / Eds N. Maulik, T. Karagiannis. N.Y.: Springer Science+Business Media, 2014. P. 113–125.
- Mariño-Ramírez L., Kann M.G., Shoemaker B.A., Landsman D. Histone structure and nucleosome stability // *Exp. Rev. Proteom.* 2005. V. 2 (5). P. 719–729.
- Martin B.J.E., Brind'Amour J., Kuzmin A. et al. Transcription shapes genome-wide histone acetylation patterns // *Nat. Commun.* 2021. V. 12 (1). P. 210.
- Martínez Ó., Arjones V., González M.V. Histone deacetylase inhibitors increase the embryogenic potential and alter the expression of embryogenesis-related and HDAC-encoding genes in grapevine (*Vitis vinifera* L., cv. Mencía) // *Plants*. 2021. V. 10 (6). P. 1164.
- Musselman C.A., Lalonde M.E., Côté J., Kutateladze T.G. Perceiving the epigenetic landscape through histone readers // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2012. V. 19 (12). P. 1218–1227.
- Nguyen H.N., Kim J.H., Jeong C.Y. et al. Inhibition of histone deacetylation alters *Arabidopsis* root growth in response to auxin via PIN1 degradation // *Plant Cell Rep.* 2013. V. 32 (10). P. 1625–1636.
- Nieuwland J., Stamm P., Wen B. et al. Re-induction of the cell cycle in the *Arabidopsis* post-embryonic root meristem is ABA-insensitive, GA-dependent and repressed by KRP6 // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. P. 23586.
- Nonogaki H. Seed dormancy and germination-emerging mechanisms and new hypotheses // *Front. Plant Sci.* 2014. V. 5. P. 233.
- Nonogaki H., Bassel G.W., Bewley J.D. Germination – still a mystery // *Plant Sci.* 2010. V. 179 (6). P. 574–581.
- Pandey R., Müller A., Napoli C.A. et al. Analysis of histone acetyltransferase and histone deacetylase families of *Arabidopsis thaliana* suggests functional diversification of chromatin modification among multicellular eukaryotes // *Nucl. Acids Res.* 2002. V. 30 (23). P. 5036–5055.
- Parthun M.R., Widom J., Gottschling D.E. The major cytoplasmic histone acetyltransferase in yeast: links to chromatin replication and histone metabolism // *Cell*. 1996. V. 87 (1). P. 85–94.
- Roth S.Y., Denu J.M., Allis C.D. Histone acetyltransferases // *Annu. Rev. Biochem.* 2001. V. 70. P. 81–120.
- Sadoul K., Boyault C., Pabion M., Khochbin S. Regulation of protein turnover by acetyltransferases and deacetylases // *Biochimie*. 2008. V. 90. P. 306–312.
- Servet C., Conde e Silva N., Zhou D.-X. Histone acetyltransferase AtGCN5/HAG1 is a versatile regulator of developmental and inducible gene expression in *Arabidopsis* // *Mol. Plant*. 2010. V. 3 (4). P. 670–677.
- Smolikova G., Strygina K., Krylova E. et al. Transition from seeds to seedlings: hormonal and epigenetic aspects // *Plants*. 2021. V. 10 (9). P. 1884.
- Spencer V.A., Davie J.R. Role of covalent modifications of histones on regulating gene expression // *Gene*. 1999. V. 240 (1). P. 1–12.
- Tanaka M., Kikuchi A., Kamada H. The *Arabidopsis* histone deacetylases HDA6 and HDA19 contribute to the repression of embryonic properties after germination // *Plant Phys.* 2008. V. 146 (1). P. 149–161.
- Vafina G.H., Ivanov R.S. Localization of Arg-X proteolysis in the supramolecular structures of cell nuclei during the induction of growth in mature wheat germs // *Indian J. Plant Physiol.* 2016. V. 21 (3). P. 370–373.
- Vafina G.H., Ivanov R.S., Ivanova E.A. Analysis of Arg-X proteolytic activity in the supramolecular structures of cell nuclei influenced by inhibitor deacetylation of proteins during the germination of wheat // *Indian J. Plant Physiol.* 2017. V. (3). P. 358–364.
- Vafina G.H., Ivanov R.S., Ivanova E.A. Changes of Arg-X proteolysis localization under conditions of deacetylation inhibition of nuclear proteins in spring and winter wheat seedlings // *Acta Physiol. Plant.* 2018. V. 40. P. 78.
- Vafina G.H., Ivanov R.S., Kalashnik N. Features of the formation of Arg-X proteolytic system of cellular nuclei during germination of wheat seeds // *Bulg. J. Agric. Sci.* 2020. V. 26 (6). P. 1158–1165. <https://www.agrojournal.org/26/06–08.html>.
- Vettese-Dadey M., Grant P.A., Hebbes T.R. et al. Acetylation of histone H4 plays a primary role in enhancing transcription factor binding to nucleosomal DNA *in vitro* // *EMBO J.* 1996. V. 15 (10). P. 2508–2518.
- Wako T., Fukuda M., Furushima-Shimogawara R. et al. Cell cycle-dependent and lysine residue-specific dynamic changes of histone H4 acetylation in barley // *Plant Mol. Biol.* 2002. V. 49 (6). P. 645–653.
- Wang Z., Cao H., Sun Y. et al. *Arabidopsis* paired amphipathic helix proteins SNL1 and SNL2 redundantly regulate primary seed dormancy via abscisic acid-ethylene antagonism mediated by histone deacetylation // *Plant Cell*. 2013. V. 25 (1). P. 149–166.
- Wang Z., Chen F., Li X. et al. *Arabidopsis* seed germination speed is controlled by SNL histone deacetylase-binding factor-mediated regulation of *AUX1* // *Nat. Commun.* 2016. V. 7. P. 13412.
- Wolny E., Braszewska-Zalewska A., Kroczyk D., Hasterok R. Histone H3 and H4 acetylation patterns are more dynamic than those of DNA methylation in *Brachypodium distachyon* embryos during seed maturation and germination // *Protoplasma*. 2017. V. 254. P. 2045–2052.
- Xu Q., Liu Q., Chen Z. et al. Histone deacetylases control lysine acetylation of ribosomal proteins in rice // *Nucl. Acids Res.* 2021. V. 49 (8). P. 4613–4628.
- Xue C., Liu S., Chen C. et al. Global proteome analysis links lysine acetylation to diverse functions in *Oryza sativa* // *Proteomics*. 2018. V. 18 (1). P. 1700036.

- Yadav S.P., Das H.K. Discontinuous incorporation of amino acids in embryo proteins of wheat during germination // *Dev. Biol.* 1974. V. 36 (1). P. 183–186.
- Yang W., Chen Z., Huang Y. *et al.* Powerdress as the novel regulator enhances *Arabidopsis* seeds germination tolerance to high temperature stress by histone modification of SOM locus // *Plant Sci.* 2019. V. 284. P. 91–98.
- Yano R., Takebayashi Y., Nambara E. *et al.* Combining association mapping and transcriptomics identify HD2B histone deacetylase as a genetic factor associated with seed dormancy in *Arabidopsis thaliana* // *Plant J.* 2013. V. 74 (5). P. 815–828.
- Yruela I., Moreno-Yruela C., Olsen C.A. Zn²⁺-dependent histone deacetylases in plants: structure and evolution // *Trends Plant Sci.* 2021. V. 26 (7). P. 741–757.
- van Zanten M., Koini M.A., Geyer R. *et al.* Seed maturation in *Arabidopsis thaliana* is characterized by nuclear size reduction and increased chromatin condensation // *PNAS USA.* 2011. V. 108 (50). P. 20219–20224.
- van Zanten M., Zöll C., Wang Z. *et al.* Histone deacetylase 9 represses seedling traits in *Arabidopsis thaliana* dry seeds // *Plant J.* 2014. V. 80 (3). P. 475–488.
- Zhang H., Ogas J. An epigenetic perspective on developmental regulation of seed genes // *Mol. Plant.* 2009. V. 2 (4). P. 610–627.
- Zhang Q., Wang P., Hou H. *et al.* Histone acetylation and reactive oxygen species are involved in the preprophase arrest induced by sodium butyrate in maize roots // *Protoplasma.* 2017. V. 254. P. 167–179.
- Zhao L., Peng T., Chen C.-Y. *et al.* HY5 interacts with the histone deacetylase HDA15 to repress hypocotyl cell elongation in photomorphogenesis // *Plant Physiol.* 2019 V. 180 (3). P. 1450–1466.
- Zhou Y., Tan B., Luo M. *et al.* HISTONE DEACETYLASE 19 interacts with HSL1 and participates in the repression of seed maturation genes in *Arabidopsis* seedlings // *Plant Cell.* 2013. V. 25 (1). P. 134–148.

On the Biological Role of Histone Acetylation/Deacetylation in the Process of Plant Germination

G. H. Vafina^a, * and E. E. Stupak^a

^aUfa Institute of Biology – Subdivision of the Ufa Federal
Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

*e-mail: vafinagh@mail.ru

The transition of embryos in air-dry seeds from a state of dormancy to a state with a highly active metabolism during germination is accompanied by significant changes in both spatial and temporal patterns of gene expression and is controlled by multilevel regulatory networks. The character and degree of acetylation of chromatin proteins depend on the transcriptional activity of chromatin, and are also associated with DNA replication and the cell cycle. Obtaining a complete picture of the involvement of histone modification in seed germination in the future will be useful for increasing crop yields, as a way to assess the quality and viability of seeds before sowing, and will also allow the development of methods for managing the realization of plant genetic potential.

Keywords: acetylation, deacetylation, histones, epigenetics, germination, plants

УДК 575.86

ПРОБЛЕМА ПРОИСХОЖДЕНИЯ СУБГЕНОМОВ В, А, D ПШЕНИЦЫ МЯГКОЙ *Triticum aestivum* L.: СТАРЫЕ ФАКТЫ И НОВЫЕ ДОКАЗАТЕЛЬСТВА

© 2023 г. А. Р. Кулуев¹*, Б. Р. Кулуев¹, А. В. Чемерис¹

¹Институт биохимии и генетики — обособленное структурное подразделение Уфимского
федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия

*e-mail: kuluev.azat91@yandex.ru

Поступила в редакцию 30.05.2022 г.

После доработки 21.07.2022 г.

Принята к публикации 27.07.2022 г.

Мягкая пшеница (*Triticum aestivum* L.) относится к трибе пшеницевых, куда входят представители родов *Triticum*, *Aegilops*, *Secale*, *Hordeum* и др. Роды *Aegilops* и *Triticum* в процессе эволюции многократно гибридизовались между собой, в том числе с образованием полиплоидных форм, имеющих статус видов и относящихся к так называемому пшенично-эгилопсному комплексу. По мере развития методологической базы для определения родоначальников тех или иных видов этого комплекса использовались различные подходы, начиная непосредственно от межвидовых скрещиваний и цитогенетических методов, заканчивая полногеномным секвенированием неядерных и ядерных геномов. Установлено, что геном пшеницы мягкой *T. aestivum* — одной из главных продовольственных культур мира, состоит из трех родственных субгеномов, которые получили условные обозначения А, В, D. В настоящее время достоверно известно лишь о доноре субгенома D, каковым является *Aegilops tauschii* Coss. Родоначальником субгенома А предположительно считается *T. urartu* Thum. ex Gandil. Сведения о доноре субгенома В представляются менее ясными, однако с наибольшей вероятностью им является *Ae. speltoides* Tausch. или близкий к нему вид. Данный обзор посвящен рассмотрению некоторых старых данных о предполагаемых донорах пшеницы мягкой, имеющей с учетом материнской формы геном ВВАADD, и уточнению некоторых филогенетических связей в пшенично-эгилопсном комплексе в свете новой информации, полученной в результате полногеномных исследований пшеницевых.

Ключевые слова: *Aegilops tauschii*, *Triticum urartu*, *Aegilops speltoides*, *Triticum turgidum*, *Triticum timopheevii*, полногеномное секвенирование, филогения

DOI: 10.31857/S0042132423010040, **EDN:** NAMLEQ

ВВЕДЕНИЕ

Пшеница мягкая (*Triticum aestivum* L.) — травянистое растение семейства Злаки, или Мятликовые (Poaceae), трибы Triticeae, субтрибы Triticinae. В трибу Triticeae входят такие культивируемые виды, как ячмень обыкновенный, рожь посевная, а также различные виды родов *Aegilops* L. и *Triticum* L., которые сейчас принято объединять в так называемый пшенично-эгилопсный комплекс, содержащий больше полутора десятков (A^m, A^u, A^b, A^s, B, C, D, G, M, N, S, S^b, S^l, S^s, T, U) различных диплоидных геномов. При этом род *Aegilops* состоит из нескольких секций, из которых важную роль в эволюции аллополиплоидных пшениц сыграли виды секции Sitopsis и Vertebrata. Более того, многие исследователи предлагали объединить виды этого комплекса в один род *Triticum* или некоторые виды рода *Aegilops* выделить в отдельный род *Sitopsis*, либо только его виды считать пшеницами (*Triticum*).

Для диплоидных пшениц предлагался свой род *Crithodium*. Однако подобные нововведения остались лишь предложениями и не приняты большинством триитологов, хотя нужно заметить, что эгилопсу из секции Amblyopyrum *Ae. mutica* Boiss., которому в связи с эволюцией полиплоидных пшениц в последнее время стали уделять больше внимания, все же придали статус самостоятельного рода и вида в нем — *Amblyopyrum muticum* Á. Löve, но здесь данное растение и прочие виды пшеницевых будут преимущественно приводиться как это имело место в цитируемых статьях, тем более, что с видами пшениц и их количеством у триитологов до сих пор нет единства взглядов, что нами ранее рассмотрено довольно подробно, начиная еще с долиннеевских времен (Матниязов и др., 2016), и сейчас этому внимания уделять не будем, поскольку цель статьи иная, отметим лишь, что искусственно обеднять род *Triticum* в видовом плане нет особых оснований.

Несмотря на то, что главное внимание будет уделено происхождению мягкой пшеницы, относящейся к так называемому ряду полиплоидных пшениц *turgidum*—*aestivum*, нельзя будет не коснуться пшениц другого более “молодого” ряда *timopheevii*, в котором, согласно закону гомологических рядов, открытого Н.И. Вавиловым, видообразование далеко не завершено. Причем на существование второго ряда полиплоидных пшениц внимание было обращено отечественными учеными при анализе генома *T. timopheevii* Zhuk. (Светозарова, 1939) после выделения в качестве самостоятельного вида *T. armeniacum* (ныне *T. araraticum* Jakubz.), дополнившим в этом ряду пшеницу Тимофеева, однако названия ему (ряду) тогда дано не было. Нам представляется, что после обнаружения нового гексаплоидного вида *T. zhukovskyi* Men. ex Erizin., относящегося к тому же ряду, последний должен быть по аналогии с рядом *turgidum*—*aestivum* переименован в ряд *timopheevii*—*zhukovskyi*. При этом нужно заметить, что родоначальниками этих полиплоидных рядов наиболее вероятно служат дикие виды пшениц *T. dicoccoides* (Körn. ex Asch. ex Graebn.) Schweinf. и *T. araraticum* соответственно.

Экономическое значение мягкой пшеницы всегда привлекало к ней внимание исследователей и стимулировало повышенный интерес к изучению происхождения, разнообразия и эволюции этой культуры. Так, чрезвычайно важным событием больше столетия назад стало подразделение известных тогда видов пшениц на основе их морфологических различий на три группы: однозернянки, полбы и спельты (Schulz, 1913), что спустя несколько лет получило подтверждение на цитологическом уровне, поскольку выяснилось, что эти группы отличаются по уровню своей пloidности (Sakamura, 1918). Так, изученные тогда виды оказались: однозернянка *Triticum monococcum* L. — диплоидом, полбы (*T. turgidum* L., *T. durum* Desf., *T. polonicum* L., *T. dicoccum* Schrank ex Schübl. — тетраплоидами, а спельты (*T. vulgare* Vill., *T. compactum* Host, *T. spelta* L.) — гексаплоидами с хромосомными числами 14 ($2n = 2x$), 28 ($2n = 4x$) и 42 ($2n = 6x$) соответственно.

Чуть позже Кихара (Kihara, 1919) показал, что полиплоидные виды пшениц состоят из разнокачественных субгеномов. Полученные им результаты позволили позже обозначить геномный состав гексаплоидной пшеницы как AABBDD, тетраплоиды получили геномную формулу AABB, а диплоидные пшеницы — AA. В настоящее время с учетом знания материнской формы, символ которой предложено помещать впереди (Waines, Barnhart, 1992), геномные формулы мягкой и твердой пшениц стали обозначать как BBAADD и BBAA соответственно.

В 20-е гг. прошлого века считали, что в образовании мягкой пшеницы принял участие эгилопс *Ae. cylindrica* Host, но оказалось, что это аллотетраплоид, и его геном был обозначен как CCDD, где субгеномы C и D принадлежат диплоидным эгилопсам *Ae. caudata* L. и *Ae. tauschii* соответственно. И поскольку выяснилось, что ни *Ae. cylindrica*, ни *Ae. caudata* к возникновению гексаплоидной пшеницы, скорее всего, непричастны, то геном мягкой пшеницы был обозначен как AABBDD. При этом в некоторых публикациях старых лет можно встретить геномную формулу мягкой пшеницы (*T. vulgare*) как AABBCC (Jenkins, 1929). Что касается субгенома G, то было выяснено, что у полиплоидных пшениц он довольно заметно отличается от субгенома B и поэтому было принято решение обозначить его как G, что соответствовало первой букве названия места — Грузинской ССР (сейчас страны Грузия — Georgia), где новый вид пшеницы Тимофеева был обнаружен (Lilienfeld, Kihara, 1934). Забегая вперед, можно заметить, что и на нуклеотидном уровне путем AFLP-генотипирования (amplified fragment length polymorphism, полиморфизм длины амплификационных фрагментов) было показано, что субгеномы B и G имеют различное происхождение и соответственно носители их разные (Kilian et al., 2007), причем это далеко не единичная подобная работа, что будет видно из дальнейшего изложения.

Человечество на сегодняшний день преимущественно возделывает гексаплоидную мягкую пшеницу, где сочетаются три субгенома пшеницевых B, A и D, и крайне важно определить их истинных доноров, поскольку эти знания могут быть полезными при создании новых полиплоидных форм пшениц с хозяйственно-ценными признаками, в том числе благодаря привлечению других доноров диплоидных геномов, которые не могли быть использованы Природой в силу разных ареалов их произрастания. В табл. 1 приведены обозначения некоторых геномов и субгеномов пшениц, сыгравших важную роль в образовании трибы пшеницевых.

В исследовании филогении пшениц использовались различные молекулярные маркеры, число которых росло, однако ни один из них по отдельности не может сравниться с информацией, которую дают полные хлоропластные и ядерные геномы пшеницевых. Причем количество полностью секвенированных и тех, и других геномов у пшениц и их диких сородичей за последние годы заметно увеличилось.

Данная статья посвящена краткому рассмотрению ряда имеющихся сведений о предполагаемых донорах мягкой пшеницы и некоторых филогенетических связях в пшенично-эгилопсном комплексе. При этом обсуждаются как результаты классических исследований, так и данные некоторых недавних работ по уточнению эволюции

Таблица 1. Обозначение геномов и субгеномов некоторых видов пшениц и эгилопсов

Плоидность	Виды, геномы и субгеномы
2n = 2x = 14	Род <i>Triticum</i> L. <i>Triticum urartu</i> Thum. ex Gandil. A ^u <i>Triticum boeoticum</i> L. A ^b <i>Triticum monococcum</i> L. A ^m <i>Triticum sinskajae</i> A. Filat. et Kurk. A ^s *
	Род <i>Aegilops</i> L. Секция Sitopsis <u>подсекция Emarginata</u> <i>Aegilops longissima</i> Schw. et Musch. S ^l <i>Aegilops searsii</i> Feld. et Kis. S ^s <i>Aegilops bicornis</i> (Forssk.) Jaub. et Spach. S ^b <i>Aegilops sharonensis</i> Eig S ^{h=1} <u>подсекция Truncata</u> <i>Aegilops speltoides</i> Tausch. S = B = G Секция Vertebrata <i>Aegilops tauschii</i> ssp. <i>strangulata</i> Tzvel. D <i>Aegilops tauschii</i> ssp. <i>tauschii</i> Hammer D <u>Секция Amblyopyrum</u> или <u>род Amblyopyrum</u> Á. Löve <i>Aegilops mutica</i> (Boiss.) или <i>Amblyopyrum muticum</i> Á. Löve T
2n = 4x = 28	<i>Triticum dicoccoides</i> (Körn. ex Asch. ex Graebn.) Schweinf. BA ^u <i>Triticum turgidum</i> L. BA ^u <i>Triticum araraticum</i> Jakubz. GA ^u <i>Triticum timopheevii</i> Zhuk. GA ^u
2n = 6x = 42	<i>Triticum aestivum</i> L. BA ^u D <i>Triticum zhukovskyi</i> Men. ex Erizin. GA ^u A ^m

Примечание: * ранее пшенице Синской статус самостоятельного генома не придавался, но, возможно, стоит это сделать, поскольку это отдельный вид.

мягкой пшеницы с использованием в том числе методов полногеномного секвенирования и биоинформатического анализа нуклеотидных последовательностей.

Обзорные статьи по филогении мягкой пшеницы публиковались и ранее (Мигушова, 1975; Petersen et al., 2006; Goncharov, 2011; Haider, 2013 и др.), однако за последние годы накопилось немало новых сведений, требующих обобщения и сравнения с ранее полученными результатами. В недавнем обзоре (Levy, Feldman, 2022), наряду с вопросами происхождения мягкой пшеницы и филогении пшенично-эгилопсного комплекса, значительное внимание уделено временным параметрам и возможным местам доместикации мягкой пшеницы, при этом оставлен практически без внимания другой ряд полиплоидных пшениц.

Aegilops tauschii Coss. ssp. *strangulata* – ДОНОР СУБГЕНОМА D

Ae. tauschii обычно подразделяют на два подвида: *Ae. tauschii* ssp. *tauschii* и *Ae. tauschii* ssp. *strangulata*, которые входят в секцию Vertebrata (табл. 1), но в одной из работ для краткости их обозначили как родственные линии L1 и L2 соответственно (Mizuno et al., 2010), и мы также, где это будет необходимо, будем использовать данные сокращения.

В настоящее время считается, что мягкая пшеница *T. aestivum* (2n = 6x = 42, ВВАADD) возникла в результате спонтанной гибридизации между некоей окультуренной полбой, произошедшей от дикого вида *T. dicoccoides* и имеющего тетраплоидный геном (возможно *T. turgidum* L., 2n = 4x = 28, ВВАА или другого вида этого ряда), и диплоидным эгилопсом *Ae. tauschii* (2n = 2x = 14, DD) на тер-

ритории к юго-западу от Каспийского моря около 10000 л. н. На основании строения хромосом, морфологии растений, географического распространения Патак (Pathak, 1940) предположил, что диплоидный вид *Ae. squarrosa* L. (ныне *Ae. tauschii*) является донором субгенома D *T. aestivum*. Подтверждение донорства *Ae. squarrosa* было получено (Kihara, 1944), а также (McFadden, Sears, 1946), которые, скрещивая *T. turgidum* и *Ae. squarrosa*, создали искусственные аллогексаплоиды, оказавшиеся похожими на *T. aestivum* (*T. vulgare*).

В литературе имеется множество работ, подтверждающих, что донором третьего субгенома мягкой пшеницы послужил *Ae. tauschii*, и выполненных с помощью белковых маркеров, а также путем секвенирования и анализа нуклеотидных последовательностей отдельных генов или их фрагментов. Так, В.Г. Конарев с соавт. (1974б, 1976) показали, что иммунохимические спектры спирторастворимых белков и электрофоретический паттерн глиадинов пшеницы *T. aestivum* совпадают с таковыми у *Ae. tauschii* ssp. *strangulata*, что позволило им прийти к выводу, что именно этот подвид участвовал в образовании субгенома D полиплоидных пшениц ряда *turgidum*–*aestivum*. На нуклеотидном уровне (причем на примере разных генетических систем) также имеются доказательства, что донором субгенома D выступил *Ae. tauschii* и конкретно его подвид *strangulata* (Dvorak et al., 1998; Caldwell et al., 2004). Поскольку считается практически окончательно установленным, что субгеном D ведет свое начало от *Ae. tauschii*, то сейчас больший интерес вызывает вопрос, какие конкретно образцы этого эгилопса и на какой территории вступили в гибридизацию с тетраплоидной пшеницей, приведя к появлению гексаплоидной и, в частности, мягкой пшеницы.

Ставшее возможным высокопроизводительное секвенирование, включая информацию о полном ядерном геноме *Ae. tauschii* (Luo et al., 2013, 2017; Zimin et al., 2017; Wang et al., 2021), размер которого составил около 4.2 млрд п.н., дало новые возможности по установлению/подтверждению донорства субгенома D мягкой пшеницы, в том числе на основе однонуклеотидного полиморфизма или SNP (single-nucleotide polymorphism). Так, с помощью микроэрейной гибридизации 402 образцов *Ae. tauschii* разного географического происхождения с 7185 SNP было обнаружено, что линия L2 сделала основной вклад в субгеном D мягкой пшеницы, тогда как на долю L1 приходится всего около 0.8% (Wang et al., 2013). Есть также точка зрения, что существует еще третья популяция *Ae. tauschii* – L3 и в работе (Gaurav et al., 2021) было показано, что геном D образовался в результате интрогрессии генов линии L2, но не в результате единственной гибридизации, а еще при участии линии L3 *Ae. tauschii*, которая встречается на ограниченной территории в Грузии. Секвениро-

вание полных хлоропластных геномов размерами от 135551 до 136009 п.н. у 17 образцов *Ae. tauschii*, собранных на обширной территории от Турции до Китая, позволило также подразделить их на три группы (Su et al., 2020), но лишь частично совпадающие с делением на L1, L2 и L3.

В последние годы заметное внимание стало уделяться происхождению самого *Ae. tauschii*. Была предложена схема (Marcussen et al., 2014), по которой субгеном D (а также предковые формы носителей субгенома S) произошел через гомоплоидную гибридизацию между древними линиями субгеномов A и B около 5 млн л. н. Предположено также, что субгеном D возник в результате нескольких раундов гибридизации между древними носителями субгеномов A (AncA) и S (AncS), а также с другим предшественником, обозначенным AncD, который дивергировал от современного представителя *Ae. tauschii* 0.07–0.3 млн л. н. (Baidouri et al., 2017). По мнению (Huynh et al., 2019), разделение между геномом B и геномом D было на 0.6 млн лет раньше, чем разделение между геномами A и D. Гибридизация, которая дала начало геному D, должна была происходить между 4 и 3 млн л. н., то есть после того, как носитель будущего субгенома D отклонился от носителей геномов B, но до образования самостоятельного генома D. Были секвенированы (Glémin et al., 2019) и аннотированы транскриптомы *Aegilops umbellulata* Zhuk., *Ae. caudata*, *Ae. comosa* Sibth. & Sm., *Ae. uniariastata* Vis., *Ae. tauschii*, *Ae. mutica*, а также эгилопсов секции Sitopsis. По мнению авторов исследования, предковая линия генома D произошла в результате гибридизации между предшественником линии с геномом A и предшественником *Ae. mutica* с геномом, близким к геному B. В этой статье на филогенетическом древе в кладе генома B расположились *Ae. mutica* и *Ae. speltoides*. Предок же последнего вида, видимо, участвовал в интрогрессии генов в предковую линию секции Sitopsis, представители которого расположились в отдельной кладе генома D.

Было показано (Luo et al., 2017), что геном D *Ae. tauschii* более близок к субгеному B, а не к A, что вполне логично, поскольку носителями предковых субгеномов D и B являются эгилопсы. Анализ почти полного генома мягкой пшеницы показал, что 99.8% генома *Ae. tauschii* ssp. *strangulata* соответствует субгеному D мягкой пшеницы. Оставшиеся 150 тыс. п.н., которые не совпадают, по предположению авторов, – результат изменения количества повторов, а не уникальных последовательностей (Zimin et al., 2017). Таким образом, можно окончательно утвердиться во мнении, что донором субгенома D является *Ae. tauschii* ssp. *strangulata*.

Ae. tauschii остается богатым источником нового малоиспользуемого аллельного разнообразия с

большим потенциалом для улучшения культивируемой пшеницы за счет интрогрессии, что может способствовать повышению устойчивости к вредителям, болезням, абиотическим факторам, а также повышению урожайности (Nyine et al., 2021). Недавно было показано, что у некоторых диких образцов *Ae. tauschii* имеется 33-мерный пептид в составе глина в локусе *Gli-D2*, вызывающий целиакию, тогда как у большинства диких образцов *Ae. tauschii* α -глиадины не содержат 33-мерный пептид, поэтому они могут быть использованы при создании новых сортов мягкой пшеницы со сниженной иммунореактивностью (Schaart et al., 2021).

ПОИСКИ ДОНОРА СУБГЕНОМА А

По сравнению с субгеномом D, ситуация с установлением донора субгенома А полиплоидных пшениц заметно сложнее. На настоящий момент можно не сомневаться, что субгеном А определенно ведет свое начало от диплоидных пшениц, которых, как можно видеть из табл. 1, сейчас известно четыре вида. В литературе довольно долго приводились противоречивые сведения, от какой из них произошел субгеном А. Первоначально и довольно долго за донора субгенома А принимали культурную однозернянку — диплоидную пшеницу *T. monococcum* (Kihara, 1924 — цит. по Мигушова, 1975), но здесь нужно заметить, что в литературе и в отдельных классификациях до сих пор встречаются упоминания таких подвидов этой пшеницы, как *T. monococcum* ssp. *monococcum*, *T. monococcum* ssp. *boeoticum*, *T. monococcum* ssp. *aegilopoides* и *T. monococcum* ssp. *thaoudar*. В одной из работ известных тритикологов диплоидные пшеницы указаны как *T. monococcum boeoticum* и *T. monococcum urartu* (Feldman, Sears, 1981). Вполне возможно, что отчасти как раз из-за таких разночтений долгое время бытовало ошибочное представление о том, что донорами субгенома А обоих рядов пшениц — *turgidum*—*aestivum* и *timopheevii*—*zhukovskyi* — выступил один вид *T. monococcum*, хотя на самом деле получается, что разные исследователи могли работать с различными подвидами или даже видами, включая пшеницу *T. urartu* которая изначально в 1934 г. была определена как *T. boeoticum* ssp. *thaoudar* (Hausskn.) Grossh. В одной из не очень старых работ приведен перечень следующих видов диплоидных пшениц, с которыми проводились эксперименты по установлению локализации генов рибосомных РНК гибридизацией *in situ* — *T. monococcum*, *T. urartu*, *T. thaoudar* Reut. ex Hausskn. и *T. aegilopoides* (Link) Bal. ex Koern., а также как вид упоминается и *T. sinskajae* A. Filat. et Kurk., но ни разу не говорится о *T. boeoticum* L., считая, что это и есть *T. aegilopoides* (Gerlach et al., 1980).

После обнаружения относительно нового вида диплоидной пшеницы *T. urartu* потребовался пе-

ресмотр доноров субгенома А. В работах А.В. Конарева с соавт. (1974а, 1976) с помощью белковых маркеров было показано, что наиболее вероятным донором субгенома А для полиплоидных пшениц ряда *turgidum*—*aestivum* является как раз *T. urartu*. На нуклеотидном уровне при исследовании полиморфизма нуклеотидных последовательностей ряда повторяющихся элементов ДНК было показано, что *T. urartu* является донором субгеномов А обоих рядов полиплоидных пшениц (Dvorak, Zhang, 1992; Dvorak et al., 1993). Но мысль о том, что у тетраплоидной пшеницы *T. paleocolchicum* (Menabde) A.Löve ex D.Löve донором субгенома А может быть *T. urartu* была высказана еще в 1970 г. (Mandy, 1970).

Для ряда *timopheevii*—*zhukovskyi* довольно долгое время допускали *T. boeoticum* в качестве донора субгенома А (Дорофеев, Мигушова, 1981), что в итоге было отвергнуто. Сейчас общепринято, что *T. urartu* (или близкий к этой пшенице вид) является донором субгенома А обоих рядов полиплоидных пшениц. Хотя справедливости ради нужно указать на публикацию, в которой путем AFLP-генотипирования было показано, что *T. timopheevii* несет субгеном А, равноудаленный как от субгенома А^u *T. urartu*, так и от А^m *T. monococcum* (Bran-dolini et al., 2006).

При этом секвенирование полного ядерного генома *T. aestivum* итоговым размером около 15 млрд п.н. (Zimin et al., 2017; IWGSC, 2018; Alonge et al., 2020; Guo et al., 2020), геномов тетраплоидных пшениц размерами свыше 10 млрд п.н. (Avni et al., 2017; Maccaferri et al., 2019), а также диплоидной пшеницы *T. urartu*, размер генома которой составляет около 5 млрд п.н. (Ling et al., 2013, 2018), с одной стороны, способствует уверенности в том, что этот диплоидный вид предоставил свой геном полиплоидным формам, а с другой, порождает некоторые сомнения, по которым можно допустить, что донором субгенома А мог быть и иной вид — или уже вымерший, или еще не найденный. В том числе проведенный нами *in silico* мультиплексный RAPD-анализ (random amplified polymorphic DNA, случайно амплифицируемая полиморфная ДНК) известных полных геномов нескольких видов пшенично-эгилопсного комплекса показал, что между *T. urartu* и субгеномами А *T. turgidum*, *T. dicoccoides*, *T. aestivum* намного меньше общего, чем между субгеномом D последнего вида и *Ae. tauschii* (Кириянова и др., 2020), что позволяет предполагать возможное существование в прошлом другой однозернянки, послужившей донором субгенома А. Однако большее сходство субгенома D мягкой пшеницы с геномом D *Ae. tauschii* может объясняться и относительно недавним возникновением этого гексаплоида из-за чего могло не накопиться большого количества различий между ними.

Как и в случае с изучением разнообразия форм донора субгенома D — *Ae. tauschii*, в последнее время усилился интерес к биоразнообразию и диплоидных пшениц, включая *T. sinskajae*, найденную последней в посевах одного из образцов *T. monococcum*, привезенного П.М. Жуковским еще в 1926 г. из Турции (Филатенко, Куркиев, 1975). Некоторое время пшеницу Синской принимали за мутантную форму того же *T. monococcum*, однако ее следует считать самостоятельным видом, хотя и близким к последнему, что видно по результатам проведенного нами секвенирования полного хлоропластного генома *T. sinskajae* и его сравнения с хлоропластными геномами остальных диплоидных пшениц (Кулуев и др., 2020). При этом пшеницы *T. monococcum* ssp. *aegilopoides* (*T. boeoticum*), *T. monococcum* ssp. *monococcum* и *T. sinskajae* сформировали отдельную кладу, тогда как *T. urartu* оказалась довольно удаленной от них. Впрочем, и при сравнении полиморфизма ряда ядерных генов мы получили схожие результаты (Кулуев и др., 2018). Подобные данные также были получены и в работе (Dizkirici et al., 2016) при сравнении нуклеотидных последовательностей участков гена *matK* хлоропластных геномов и последовательностей ядерных ITS-участков рДНК, согласно которому диплоидные пшеницы *T. monococcum* и *T. boeoticum* оказались в отдельном от *T. urartu* кластере.

Поскольку все остальные диплоидные пшеницы уже “перебывали” в качестве доноров субгеномов A, то возможно стоит обратить более пристальное внимание на *T. sinskajae*, учитывая природную голозерность этого вида. Однако *T. sinskajae* до сих пор недостаточно хорошо изучена, чтобы делать обоснованные предположения на этот счет, хотя большой цикл работ по установлению донора субгенома A, в том числе с привлечением этой пшеницы выполнен Н.П. Гончаровым с соавт. (Гончаров и др., 2007; Головнина и др., 2009; Вавилова и др., 2020; Goncharov et al., 2008). Есть публикации по пшенице Синской и зарубежных авторов, исследовавших разные генетические системы (Castagna et al., 1995; van Campenhout et al., 2001; Asakura et al., 2009; Watanabe, 2017). Тем не менее, требуется продолжение исследований *T. sinskajae* с привлечением полногеномного секвенирования, что, как уже говорилось выше, нами начато в виде секвенирования полного хлоропластного генома этого вида, и в настоящее время мы ведем сборку полного ядерного генома этой пшеницы.

Что касается диплоидной пшеницы *T. monococcum*, то этот вид принял участие в качестве отцовской формы при образовании гексаплоидной пшеницы другого ряда — *T. zhukovskyi*, возникшей спонтанно в смешанных посевах этой однозернянки и *T. timopheevii*, что получило первоначально цитологическое доказательство (Upadhyaya, Swaminathan, 1963), подтвержденное затем установле-

нием локализации генов рРНК (Hutchinson, Miller, 1982). Исследование полиморфизма сателлитных последовательностей ДНК также позволило считать, что третий субгеном A^m *T. zhukovskyi* происходит от диплоидной пшеницы *T. monococcum* (Dvorak et al., 1993).

Завершая рассмотрение диплоидных пшениц, пожалуй, следует отметить, что делались и довольно неожиданные предположения, допуская, что *T. urartu* является донором субгенома B, а тетраплоидный вид *T. dicoccoides* возник в результате ее скрещивания с другой диплоидной пшеницей *T. boeoticum* (Johnson, Dhaliwal, 1978), что, впрочем, в дальнейшем не получило подтверждения.

ВОЗМОЖНЫЕ ДОНОРЫ СУБГЕНОМА B

На роль донора субгенома B полиплоидных пшениц выдвигалось множество видов, включая таковые за пределами пшенично-эгилопсного комплекса, но наиболее вероятными претендентами считались некоторые виды эгилопсов. После бессистемного изучения этих диких сородичей пшеницы на протяжении полутора столетий с конца 1920-х гг. в систематике эгилопсов произошло упорядочивание благодаря двум масштабным работам, инициированным Н.И. Вавиловым. Так, в 1928 г. вышел капитальный труд П.М. Жуковского (1928), в котором род *Aegilops* оказался представленным 20 видами и был подразделен на 9 секций, одна из которых (представляющая наибольший интерес в связи с донорством субгеномов B и G) была названа *Sitopsis* и в нее вошли следующие виды — *Ae. bicornis*, *Ae. longissima*, *Ae. speltoides*, *Ae. aucheri*. В столь же основательной работе палестинским ботаником (Eig, 1929) перечислялось 22 вида эгилопсов, распределенных по 6 секциям, при этом эгилопсы *Ae. bicornis*, *Ae. sharonensis* Eig, *Ae. longissima*, *Ae. ligustica* Coss., *Ae. speltoides* составили секцию *Platystachyum* с двумя подсекциями *Emarginata* (для первых трех видов) и *Truncata* (для *Ae. ligustica* и *Ae. speltoides*). Тогда же после экспериментов по скрещиванию с тетраплоидной пшеницей *T. turgidum* диплоидного эгилопса *Ae. speltoides* (причем взятым в качестве отцовской формы), благодаря обнаружению 7 бивалентов и 7 унивалентов впервые было предположено, что этот вид может быть донором одного из двух субгеномов тетраплоидных пшениц (Jenkins, 1929). Позже Патак (Pathak, 1940), опираясь на знания, что субгеном A происходит от диплоидных пшениц, предположил, что *Ae. speltoides* является донором субгенома B, анализируя метафазные хромосомы и расположение ядрышек, которые, как сейчас известно, являются местами локализации генов рРНК. Спустя много лет гибридизацией *in situ* было показано, что у *Ae. speltoides* гены рРНК располагаются, как и у мягкой пшеницы, на тех же

хромосомах в аналогичных местах (Badaeva et al., 1996).

Морфологические особенности строения колосков различных пшениц и эгилопсов, а также житняков (*Agropyron*) позволили прийти к аналогичному заключению, что *Ae. speltooides* может быть донором субгенома В (Sarkar, Stebbins, 1956). В качестве дополнительного аргумента авторы сослались на совместное произрастание этого вида с дикими однозернянками и эммером *T. dicoccoides*. Также, основываясь на местах обитания, кариотипах, спаривании хромосом в гибридах, другие авторы пришли к сходному выводу, что *Ae. speltooides* наиболее близок к донору субгенома В полиплоидных пшениц (Riley et al., 1958).

Но не оставались без внимания и прочие представители секции *Sitopsis* (включая обнаруженный много позже *Ae. searsii*), разными авторами также выдвигавшиеся на роль доноров как субгенома В, так и субгенома G (см. обзор Haider, 2013). Отечественными авторами (Пенев и др., 1973) сравнивались высокомолекулярные глютенины видов секции *Sitopsis*, и при этом оказалось, что специфические маркеры глютеинов субгенома В отсутствовали у *Ae. bicornis*, *Ae. sharonensis*, *Ae. aucheri* и *Ae. searsii*, из чего следовало, что данные виды являются маловероятными донорами этого субгенома, тогда как *Ae. longissima* показал больше сходства с ним. На основании этих данных авторы предположили, что донором субгенома В является *Ae. longissima*, а геном S *Ae. speltooides* по их данным был более близок к субгеному G полиплоидных пшениц ряда *timopheevii—zhukovskyi*. Такой же точки зрения придерживался и В.Г. Конарев, считавший, что геном *Ae. longissima* соответствует субгеному В, а геном *Ae. speltooides* — субгеному G (Конарев и др., 1976). Хотя хлоропластной ДНК будет далее уделено отдельное внимание, здесь упомянем также пару работ, в которых были получены схожие результаты по донорству субгеномов В и G. Так, рестриктазный профиль ДНК хлоропластов нескольких видов полиплоидных пшениц рядов *turgidum—aestivum* и *timopheevii—zhukovskyi* вместе с эгилопсами из секции *Sitopsis* и некоторыми другими позволил авторам (Ogi-hara, Tsunewaki, 1988) прийти к заключению, что ни *Ae. speltooides*, ни *Ae. bicornis*, ни *Ae. sharonensis* не могли быть донором цитоплазмы для полиплоидных пшениц, а возможно им был *Ae. longissima* (сейчас мы знаем, что это не так). Другой вывод был сделан для ряда *timopheevii—zhukovskyi*, гласящий, что только *Ae. aucheri* показал с этими полиплоидными пшеницами идентичный профиль.

При исследовании АТ-богатого семейства тандемных повторов ядерной ДНК было получено косвенное доказательство того, что *Ae. longissima* не является донором В субгенома мягкой пшеницы, поскольку последний вид получил эти повторы

с субгеномом D от *Ae. tauschii* (Никоноров и др., 1997). Ранее вариации нуклеотидных последовательностей других повторяющихся элементов ДНК, позволили сделать заключение, что *Ae. speltooides* проявляет большее сходство с *T. timopheevii*, тогда как пшеницы из ряда *turgidum—aestivum* ближе к эгилопсам из подсекции *Emarginata*, к которой в частности относится и *Ae. longissima* (Dvorak, Zhang, 1990). С помощью RAPD-анализа было показано, что субгеномы В и G происходят от *Ae. speltooides*, но от различных представителей этого вида (Khlestkina, Salina, 2001). Анализ эффективности спаривания хромосом в гибридных комбинациях *T. timopheevii* × *Ae. speltooides*, *T. turgidum* × *Ae. speltooides*, а также некоторых других, показал, что для субгенома G с геномом S спаривание происходит с гораздо большей частотой по сравнению с парой В и S (Rodriguez et al., 2000), что свидетельствует о большей близости субгенома S *Ae. speltooides* к субгеному G, нежели к субгеному В. Причем в этой работе *Ae. speltooides* выступал в качестве отцовской формы, что для изучения спаривания хромосом никакого значения не имело, однако донора материнского генома и соответственно донора ядерного субгенома гораздо удобнее устанавливать путем анализа наследования хлоропластного генома. К тому же выяснение вопроса: какие виды пшениц и эгилопсов послужили материнскими формами при образовании аллополиплоидов, представляет для генетиков и селекционеров особый интерес. Иными словами, крайне важно знать кому в тетра- и гексаплоидных видах принадлежат митохондриальный и хлоропластный геномы, или плазмон. В 1966 г. Кихара выдвинул предположение, что материнским растением при образовании тетраплоидов с геномами АВ послужил *Ae. speltooides*. Оно было основано на наблюдениях, что успешное скрещивание этого вида с однозернянкой удавалось лишь в тех случаях, когда последняя выступала в качестве отцовской формы (Kihara, 1966).

Полиморфизм длины рестриктазных фрагментов (ПДРФ) ДНК, выделенной из изолированных хлоропластов и митохондрий ряда видов пшенично-эгилопсного комплекса, показал, что их плазмоны образуют несколько кластеров. Так, однозернянки, диплоидный эгилопс *Ae. tauschii*, полиплоидные пшеницы имеют различающиеся между собой хлоропластные и митохондриальные геномы, тогда как плазмоны *Ae. speltooides*, мягкой и твердой пшениц, а также *T. timopheevii* на филогенетическом древе образуют единый кластер (Ogi-hara, Tsunewaki, 1988; Terachi, Tsunewaki, 1992; Wang et al., 1997), что служит довольно убедительным доказательством, что при происходивших в ходе эволюции скрещиваниях в обоих рядах *turgidum—aestivum* и *timopheevii—zhukovskyi* материнскими формами служил *Ae. speltooides*. При исследовании у *Ae. speltooides* гена транскрипционного фактора *DREB1* было предположено суще-

ствование двух разных предков *Ae. speltoides* и при этом показано, что вероятным донором субгенома В является *Ae. speltoides* PI486264, у которого обнаружена 100%-ная идентичность с последовательностью *DREB1* на хромосоме 3В *T. aestivum* (Xu et al., 2019).

Основываясь на результатах преимущественно своих предыдущих работ по изучению ПДРФ полиморфизма плазмов и геномов пшениц и эгилопсов, Цуневаки (Tsunewaki, 2009) предложил схему ядерно-цитоплазматических отношений в пшенично-эгилопсном комплексе, которая после появления новых данных в виде нуклеотидных последовательностей полных хлоропластных геномов многих видов пшениц и эгилопсов принципиально не изменилась.

Безусловно, выяснение вопросов донорства субгеномов у пшениц в конкретные моменты времени зависели от технологических возможностей. Так, с помощью метода секвенирования ДНК по Сэнгеру были изучены фрагменты пластовов ряда видов пшениц и эгилопсов, большей частью подтвердившие сделанные ранее выводы, что материнской формой при образовании тетраплоидов послужил *Ae. speltoides* или точнее близкий к нему вид (Ogihara, Ohsawa, 2002; Guo, Terachi, 2005; Yamane, Kawahara, 2005). Здесь нужно заметить, что обнаружение в гексаплоидных видах присутствия аналогичного хлоропластного генома свидетельствует, что при дальнейших скрещиваниях тетраплоида с *Ae. tauschii* последний служил отцовской формой. В работе отечественных авторов (Golovnina et al., 2007), наряду с большим числом видов пшенично-эгилопсного комплекса, исследовался и *Ae. speltoides*, секвенирование участков хлоропластных генов которых позволило построить филогенетическое древо, на котором данный вид эгилопса оказался в одной кладе с видами полиплоидных пшениц ряда *timopheevii*–*zhukovskiyi*, тогда как мягкая пшеница и прочие виды ряда *turgidum*–*aestivum* сформировали отдельную кладу. Проведенный в другой работе анализ 17 секвенированных локусов хлоропластного генома большого числа видов эгилопсов и мягкой пшеницы показал, что из секции *Sitopsis* близким к *T. aestivum* оказался лишь *Ae. speltoides* (Haider, 2012).

Однако подобные данные в виде секвенирования коротких участков пластидного генома несут до некоторой степени фрагментарный характер и не могут по точности сравниться с анализом нуклеотидных последовательностей полных хлоропластных геномов, который стал возможным благодаря появлению высокопроизводительных методов секвенирования новых поколений. К настоящему времени секвенировано уже несколько десятков полных хлоропластных геномов ряда видов пшенично-эгилопсного комплекса проливших дополнительный свет на филогению полиплоидных форм, и опубликовано немало статей, но коснемся лишь имеющих отношение к субгеномам В и G.

Впервые полный хлоропластный геном *T. aestivum* (сорт Chinese Spring) был секвенирован японскими исследователями в 2000 г. (Ogihara et al., 2000). Его размер был определен как 134 540 п.н. Позднее он был уточнен и оказался равным 134 545 п.н. (Ogihara et al., 2002). Однако следующих полных хлоропластных геномов пшениц и эгилопсов пришлось ждать более 10 лет. Миддлтон с соавт. (Middleton et al., 2014) секвенировали 11 геномов, принадлежащих диплоидным пшеницам *T. urartu*, *T. boeoticum* и *T. monococcum*, двум диплоидным эгилопсам – потенциальным донорам субгеномов полиплоидных пшениц *Ae. speltoides* и *Ae. tauschii*, еще двум видам эгилопсов *Ae. cylindrica* и *Ae. geniculata* Roth, а также некоторым видам из трибы пшеницевых. Проведенный в цитируемой статье анализ нуклеотидных последовательностей секвенированных геномов позволил подсчитать время расхождения этих видов в эволюции, составившее до нескольких миллионов лет. При этом такие довольно близкие виды, как *T. urartu* и *T. boeoticum*, разошлись, по их мнению, приблизительно 570 тыс. л. н. В том же году была опубликована статья других авторов (Gornicki et al., 2014), сообщивших о секвенировании 13 полных хлоропластных геномов пшениц и эгилопсов следующих видов: *T. aestivum* ssp. *aestivum* cv. CS и ssp. *spelta*; *T. turgidum* ssp. *carthlicum*, ssp. *durum* и ssp. *dicoccoides*; *Ae. speltoides* ssp. *ligustica* и ssp. *speltoides*; *T. timopheevii* ssp. *armeniaceum*; *Ae. bicornis*; *Ae. searsii*; *Ae. sharonensis*; *Ae. longissima*; *Ae. kotschy* Boiss.; *T. urartu*; *Ae. tauschii*. Построенное филогенетическое древо показало, что виды и подвиды *T. turgidum* и *T. aestivum* формируют отдельную кладу. При этом подвиды *Ae. speltoides* расположились ближе к *T. timopheevii*. Виды *T. urartu* и *Ae. tauschii* расположились между ними и видами эгилопсов из подсекции *Emarginata*, которая оказалась очень удалена от обоих рядов полиплоидных пшениц. В следующем году было сообщено о секвенировании четырех полных пластовов пшениц из местной группы Зандури – *T. monococcum* var. *hornemaniai*, *T. timopheevii*, *T. zhukovskiyi* и *T. araraticum* (Gogniashvili et al., 2015). Проведенный анализ нуклеотидных последовательностей этих видов показал высокое сходство хлоропластных геномов *T. timopheevii* и *T. zhukovskiyi*, что неудивительно, поскольку первый вид выступил в качестве материнской формы при образовании второго. Дикая пшеница *T. araraticum* отличалась от *T. timopheevii* несколько большим числом замен и инделов.

Другими авторами (Bernhardt et al., 2017) были секвенированы полные хлоропластные геномы представителей трибы *Triticeae* (53 вида из 15 родов), и при построении филогенетического древа несколько образцов *Ae. speltoides* оказались расположенными вблизи от *T. timopheevii*, *T. zhukovskiyi*, *T. kiharae* и несущими как известно субгеномы G, тогда как *T. turgidum* и *T. aestivum* с субгеномами В отстояли дальше. Что касается прочих видов секции *Sitopsis*, ранее некоторыми авторами рассматривавшимися в качестве возможных доноров

субгенома В, то они оказались очень далеко от всех вышеупомянутых видов. Схожий результат был получен при секвенировании полных хлоропластных геномов довольно большого числа видов из трибы Triticeae, включая основные виды пшенично-эгилопсного комплекса (Chen et al., 2020). Так, проведенное ими сравнение нуклеотидных последовательностей полных хлоропластных геномов еще раз показало, что *Ae. speltooides* гораздо ближе к ряду пшениц *timopheevii*–*zhukovskyi*, нежели к *turgidum*–*aestivum*. При этом остальные виды секции Sitopsis весьма удалены от них и располагаются на филогенетическом древе ближе к *Ae. tauschii*. Аналогичный результат был получен при секвенировании и анализе полных хлоропластных геномов 5 видов эгилопсов и 11 видов пшениц, из которых непосредственно пшеничными, а не эгилопсными геномами являлись всего три — *T. urartu*, *T. monococcum* ssp. *monococcum* и *T. monococcum* ssp. *aegilopoides* (Fu, 2021). При этом было определено, что тетраплоидная полба и гексаплоидная хлебная пшеница разошлись 8200–11 200 л. н. Недавно секвенированы хлоропластные геномы *T. turgidum* ssp. *durum* и *T. sphaerococcum* Percival, которые на филогенетическом древе, построенном путем привлечения в анализ других полных хлоропластных геномов пшениц и эгилопсов, оказались, как и ожидалось, среди своих ближайших сородичей — *T. aestivum* и *T. turgidum* (Lubna et al., 2022).

Конечно, в связи с филогенией пшениц представляет большой интерес информация о полных ядерных геномах потенциальных доноров субгенома В полиплоидных пшениц. Так, в 2022 г. было сообщено о завершении полногеномного секвенирования ряда видов секции Sitopsis. Первым видом с полностью секвенированным геномом оказался *Ae. sharonensis* (Yu et al., 2022). Размер генома составил около 6.7 млрд п.н., при этом проведенный анализ всех хромосом при установлении порога идентичности в 90% показал, что все субгеномы мягкой пшеницы имеют схожие уровни совпадения — 84.5% с субгеномом А, 85.9% с субгеномом В и 88.4% с субгеномом D, что лишний раз доказывает, что виды подсекции Emarginata филогенетически ближе к *Ae. tauschii*.

В работе (Avni et al., 2022) представлена аннотация полных геномов трех эгилопсов: *Ae. speltooides*, *Ae. longissima* и *Ae. sharonensis*, размеры которых оказались 5.13, 6.70 и 6.71 млрд п.н. соответственно. Авторы отметили, что геномы последних двух видов высокоомологичны друг другу, что в целом неудивительно, поскольку многие ботаники считают второй подвидом первого. Большой интерес представляет полный геном *Ae. speltooides*, поскольку этот вид наиболее близок к донорам субгеномов В и особенно G полиплоидных пшениц. Проведенный анализ нуклеотидных последовательностей показал, что геном *Ae. speltooides* по сравнению с субгеномами А и D гораздо ближе к субгеному В пшениц ряда *turgidum*–*aestivum*, однако не настолько идентичен, как это имеет ме-

сто в случае субгенома D и *Ae. tauschii*, о чем говорилось выше. При этом на построенном филогенетическом древе *Ae. speltooides* расположился в одной кладе с мягкой и твердой пшеницами, включая дикую полбу, тогда как *Ae. longissima* и *Ae. sharonensis* оказались близки к *Ae. tauschii* и субгеному D мягкой пшеницы.

Сообщено о сборке нуклеотидных последовательностей полных геномов на уровне хромосом пяти видов секции Sitopsis — *Ae. bicornis*, *Ae. longissima*, *Ae. searsii*, *Ae. sharonensis* и *Ae. speltooides*, а также о частичной сборке генома еще одного эгилопса *Am. muticum* (Li et al., 2022). При этом размеры их полных геномов варьировали от 4.11 до 5.89 млрд п.н., что заметно меньше, чем указывалось в цитированных выше работах (Avni et al., 2022; Yu et al., 2022). Тем не менее, было определено, что вероятным донором субгенома В мягкой пшеницы является отдельный и, скорее всего, вымерший диплоидный вид, который произошел от прародителя линии генома В, от которого на сегодняшний день сохранились только *Ae. speltooides* и *Am. muticum*. Также в статье предположены три возможных сценария возникновения донора субгенома В. Во-первых, предковая линия субгенома В вероятнее всего, произошла в результате гибридизации минимум четырех различных диплоидных видов, а именно *Ae. speltooides*, *Am. muticum*, предшественника В субгенома гексаплоидной мягкой пшеницы и предшественника субгенома G пшеницы *T. timopheevii*. Во-вторых, субгеном В может иметь монофилетическое происхождение от диплоидных видов, ныне вымерших или еще не обнаруженных, но филогенетически наиболее близких к современному *Ae. speltooides*. В-третьих, возможно, что диплоидный предшественник субгенома В мог быть генетически интрогрессирован с другими эгилопсами до его гибридизации с *T. urartu*, что в конечном счете привело к появлению полиплоидной пшеницы. Авторы (Li et al., 2022) пришли также к выводу, что *Ae. speltooides* не является прямым донором субгенома В, и, скорее всего, донором был какой-то вымерший диплоидный вид эгилопсов. Из полученных данных следует, что донором субгенома В является диплоидный вид, который дивергировал от *Ae. speltooides* 4.49 млн л. н., и в геноме которого произошла генетическая интрогрессия от видов секции Sitopsis линии D до его гибридизации с *T. urartu*. К тому же, они сочли, что субгеном G происходит все же от какого-то другого диплоидного эгилопса, а не от *Ae. speltooides*. При этом авторы (Li et al., 2022) выдвигают вполне обоснованный вопрос: почему так случилось, что диплоидные виды-предшественники субгеномов В и G вымерли, тогда как два их родственных вида *Ae. speltooides* и *Am. muticum* сохранились? Возможно, что диплоидные доноры были вытеснены своими более приспособленными тетраплоидными потомками или же доноры геномов В и G еще не найдены. Последнее возможно, но очень маловероятно, поскольку поиски таковых велись на протяжении многих лет.

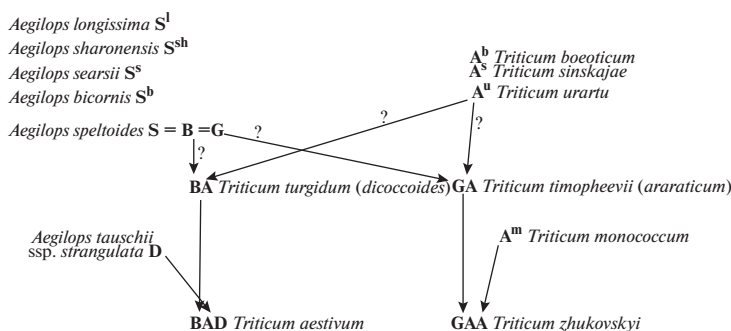


Рис. 1. Предположительная схема филогенетических взаимоотношений в пшенично-эгилопсном комплексе с указанием потенциальных доноров субгеномов B, G, A и D.

Ранее для тех же пяти видов секции *Sitopsis*, включая подвиды *Ae. speltoides* ssp. *speltoides* и ssp. *ligustica* (всего 19 образцов) проведено секвенирование их транскриптомов, показавшее при сравнении нуклеотидных последовательностей с известными геномами и субгеномами видов пшенично-эгилопсного комплекса из ряда *turgidum*—*aestivum* и секции *Sitopsis*, что все образцы *Ae. speltoides* образовали на филогенетическом древе самостоятельную ветвь, расположенную в одной кладе с *T. aestivum* и *T. turgidum* (Miki et al., 2019). Что касается эгилопов подсекции *Emarginata*, то они в том же древе сформировали собственную кладу, расположившуюся вблизи от *Ae. tauschii*, что можно было видеть и раньше при сравнениях различных генетических систем, проводившихся многими авторами.

Несмотря на большой прогресс в идентификации донора субгенома В мягкой пшеницы актуальность дальнейшего поиска наиболее близкого к этому гипотетическому виду эгилопов — одному из предков полиплоидных пшениц среди современных видов секции *Sitopsis*, а точнее подсекции *Truncata* по-прежнему сохраняется.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мягкая пшеница *T. aestivum* ($2n = 6x = 42$, BBAAADD) представляет собой продукт двух крупных раундов гибридного видообразования, первый из которых произошел, по-видимому, между близким к *T. urartu* видом ($2n = 2x = 14$, AA) и видом, близким к *Ae. speltoides* ($2n = 2x = 14$, SS), примерно 0.5–0.36 млн л.н., что привело к возникновению дикой полбы *T. dicoccoides* ($2n = 4x = 28$, BBAA), из которой в результате одомашнивания и дальнейшей селекции была получена твердая пшеница *T. durum*. Вторая гибридизация произошла между неким тетраплоидом ($2n = 4x = 28$, BBAA) и *Ae. tauschii* ($2n = 2x = 14$, DD) около 10000 л.н., что привело к появлению гексаплоидной мягкой пшеницы. Такой существенной разницей во времени этих двух скрещиваний и могут объясняться трудности в поисках доноров субгеномов А и В,

тогда как с определением донора субгенома D больших проблем не возникло, поскольку он мало изменился по сравнению с исходной формой.

В последнее время продолжается накопление новых данных о происхождении субгеномов В, А и D мягкой гексаплоидной пшеницы, что говорит об актуальности этого направления исследований, однако, нерешенных вопросов, остающихся в этой области, еще немало. Тем не менее, можно сделать окончательный вывод, что донора(ов) субгенома А следует искать среди диплоидных пшениц. При этом нельзя исключать участие в формировании полиплоидных пшениц рядов *turgidum*—*aestivum* и *timopheevii*—*zhukovskyi* разных доноров субгеномов А (помимо третьего генома A^m *T. zhukovskyi*, принадлежащего *T. monococcum*), что вне всякого сомнения имеет место в случае с донорами субгеномов В и G. Вопрос донорства субгенома В тоже окончательно не решен, однако его точно больше не нужно искать среди представителей подсекции *Emarginata* секции *Sitopsis*, поскольку он(и) происходи(я)т от видов/подвидов подсекции *Truncata*, в которую входит *Ae. speltoides*, считающийся высокополиморфным видом, имеющим немало подвидов, и возможно на нуклеотидном уровне (полногеномном — дающим наиболее точные ответы) еще не исследованы нужные образцы. Однако непосредственные доноры субгеномов А и В на сегодняшний день могли вымереть, что с одной стороны весьма сомнительно, а с другой — вполне вероятно, поскольку они произрастали на одной территории, и более приспособленные тетраплоиды действительно могли вытеснить своих прародителей. Что касается субгенома D, то тут вопрос уже решен: донором является *Ae. tauschii*, осталось лишь уточнить какие конкретные линии *Ae. tauschii* (если конечно такое будет возможно) участвовали в его образовании. Таким образом, предполагаемая схема происхождения полиплоидных видов пшениц с участием различных субгеномов может выглядеть, как представлено на рис. 1.

Возвращаясь к вопросу родовых обозначений в пшенично-эгилопсном комплексе, исходя из нуклеотидных последовательностей ядерного и пластидного геномов, логично будет ликвидировать подсекцию *Truncata* и переименовать, по крайней мере, *Aegilops speltoides* в *Triticum speltoides*.

Считается, что генетическое разнообразие мягкой пшеницы, по сравнению с ее диплоидными предшественниками, было значительно снижено из-за прохождения “бутылочного горлышка” в процессе одомашнивания. Более того, генетическое разнообразие пшеницы было частично утрачено в результате замены местных стародавних сортов современными элитными сортами в течение ста последних лет селекции. Поэтому знания доноров субгеномов дадут возможность использовать все многообразие предковых диплоидных форм для создания новых вариантов синтетических пшениц. Дальнейшее изучение (не только *T. aestivum*, но и других видов трибы пшеницевых) наряду с секвенированием и анализом пластов, хондриомов, ядерных геномов поможет планировать и осуществлять проекты по получению новых сортов, гибридов, различных полиплоидов, а также мутантных, трансгенных и отредактированных растений пшеницы с улучшенными хозяйственно-полезными признаками. Выше уже говорилось о привлечении в скрещивания образцов *Ae. tauschii*, лишенных нежелательного 33-мерного пептида в составе глиадинов, для создания новых синтетических пшениц — аналогов *T. aestivum*, не вызывающих целиакию. Также стоит обратить внимание на использование *Ae. tauschii* при создании синтетических пшениц, являющихся аналогом *T. aestivum* и характеризующихся некими улучшенными характеристиками, присущими тетраплоидным формам. Например, путем гибридизации *Ae. tauschii* с разными материнскими формами *T. turgidum* ssp. *durum* (Desf.) Husn., характеризующимися прочной соломиной, устойчивой к полеганию, были созданы четыре новые линии “мягкой пшеницы”, в которые передался этот полезный признак (Liang et al., 2022).

При этом нельзя забывать о пшеницах ряда *timopheevii*—*zhukovskyi*, который в силу своей “эволюционной молодости” способен подарить человечеству потенциально высокоэффективные возделываемые сорта, но для этого необходимо искусственно ускорить видообразование в нем, чему уже есть примеры в прошлом, но новые виды необходимо продолжать создавать. И в этой связи нельзя не обратить внимание на недавнюю работу Е.Д. Бадаевой с соавт., которые провели широкомасштабное исследование этой группы пшениц (Badaeva et al., 2022). По-видимому, одной из ближайших задач в триктологии должно стать установление нуклеотидных последовательностей полных геномов тетраплоидной *T. timopheevii* и гексаплоидной *T. zhukovskyi* пшениц из одноименного ряда.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование А.Р. Кулуева и А.В. Чемериса выполнено в рамках государственного задания № 122030200143-8, работа Б.Р. Кулуева поддержана грантом Минобрнауки РФ (соглашение № 075-15-2021-1066 от 28 сентября 2021 г).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Вавилова В.Ю., Конопацкая И.Д., Блинов А.Г., Гончаров Н.П. Эволюция гена *Br1-A* у диплоидных видов пшениц рода *Triticum* L. // Генетика. 2020. Т. 56. № 5. С. 609–614.
- Головнина К.А., Кондратенко Е.Я., Блинов А.Г., Гончаров Н.П. Филогения А-геномов диких и возделываемых видов пшениц // Генетика. 2009. Т. 45. № 11. С. 1540–1547.
- Гончаров Н.П., Головнина К.А., Кондратенко Е.Я. и др. Сравнительно-генетический анализ голозерной диплоидной пшеницы *Triticum sinskajae* и ее исходной формы *T. monosocum* // Генетика. 2007. Т. 43. № 11. С. 1248–1256.
- Дорофеев В.Ф., Мигушова Э.Ф. Новое в эволюции и систематике пшеницы // Докл. ВАСХНИЛ. 1981. № 2. С. 6–9.
- Жуковский П.М. Критико-систематический обзор видов рода *Aegilops* // Тр. по прикл. бот. и селек. 1928. Т. 19. № 2. С. 417–609.
- Кириянова О.Ю., Кулуев Б.Р., Кулуев А.Р. и др. Мультиплексный *in silico* RAPD-анализ ряда родственных растений с отличающимися размерами геномов и перспективы такого подхода для ДНК-паспортизации сортов сельскохозяйственных растений // Биомика. 2020. Т. 12. № 2. С. 194–210.
- Конарев А.В., Гаврилюк И.П., Мигушова Э.Ф. Дифференциация диплоидных пшениц по данным иммунохимического анализа глиадинов // Докл. ВАСХНИЛ. 1974а. Т. 6. С. 12.
- Конарев В.Г., Хакимова А.Г., Гаврилюк И.П., Мигушова Э.Ф. Дифференциация генома D по данным электрофоретического и иммунохимического анализа глиадинов *Aegilops squarrosa* L. (*Ae. tauschii* Coss.) // С.-х. биол. 1974б. Т. 9. № 3. С. 352–358.
- Конарев В.Г., Гаврилюк И.П., Пенев Т.И. и др. О природе и происхождении геномов пшеницы по данным биохимии и иммунохимии белков зерна // С.-х. биол. 1976. Т. 11. № 5. С. 656–665.
- Кулуев А.Р., Матниязов Р.Т., Кулуев Б.Р., Чемерис А.В. Молекулярно-генетическое исследование *Triticum sinskajae* A. Filat. et Kurk. с помощью RAPD-анализа и путем сравнения нуклеотидных последовательностей вариабельного межгенного участка *petN-trnC-GCA* хлоропластного генома и интрона

- гена гистона H3.2 // Экол. генетика. 2018. Т. 16. № 1. С. 53–59.
- Кулуев А.Р., Матниязов Р.Т., Чемерис Д.А. и др. Филогенетические взаимоотношения в пшенично-эгилопном альянсе через призму хлоропластного генома // Биомика. 2020. Т. 12. № 4. С. 532–544.
- Матниязов Р.Т., Чемерис Д.А., Кулуев А.Р., Чемерис А.В. Современные представления о родственных взаимоотношениях в пшенично-эгилопном альянсе // Биомика. 2016. Т. 8. № 4. С. 297–310.
- Мигушова Э.Ф. К вопросу о происхождении геномов пшеницы // Тр. по прикл. бот., ген. и селек. 1975. Т. 55. № 3. С. 3–26.
- Никоноров Ю.М., Вильданов И.М., Чемерис А.В., Вахитов В.А. Нуклеотидная последовательность и геномная организация повторяющейся единицы АТ-богатого семейства повторов диплоидной пшеницы *Triticum monocosmum* L // Генетика. 1997. Т. 33. С. 1649–1654.
- Пенева Т.И., Мигушова Э.Ф. Структура генома S (B) эгилопсов группы Sitopsis по данным электрофоретического и иммунохимического анализа глиадинов // Тр. по прикл. бот., ген. и селек. 1973. Т. 52. № 1. С. 178–192.
- Светозарова В.В. О втором геноме *Triticum timopheevi* Zhuk. // ДАН СССР. 1939. Т. 23. № 5. С. 472–476.
- Филатенко А.А., Куркиев У.К. Пшеница Синской (Новый вид – *Triticum sinskajae* A. Filat. et Kurk.) // Тр. по прикл. бот., ген. и селек. 1975. Т. 54. № 1. С. 239–241.
- Alonge M., Shumate A., Puiu D. et al. Chromosome-scale assembly of the bread wheat genome reveals thousands of additional gene copies // Genetics. 2020. V. 216. № 2. P. 599–608.
- Asakura N., Mori N., Nakamura C., Ohtsuka I. Genotyping of the *Q* locus in wheat by a simple PCR-RFLP method // Genes Genet. Syst. 2009. V. 84. P. 233–237.
- Avni R., Nave M., Barad O. et al. Wild emmer genome architecture and diversity elucidate wheat evolution and domestication // Science. 2017. V. 357. № 6346. P. 93–97.
- Avni R., Lux T., Minz-Dub A. et al. Genome sequences of three *Aegilops* species of the section Sitopsis reveal phylogenetic relationships and provide resources for wheat improvement // Plant J. 2022. V. 110. № 1. P. 179–192.
- Badaeva E.D., Friebe B., Gill B.S. Genome differentiation in *Aegilops*. 2. Physical mapping of 5S and 18S-26S ribosomal RNA gene families in diploid species // Genome. 1996. V. 39. P. 1150–1158.
- Badaeva E.D., Konovalov F.A., Knüpfner H. et al. Genetic diversity, distribution and domestication history of the neglected *GGAtAt* genepool of wheat // Theor. Appl. Genet. 2022. V. 135. P. 755–776.
- Baidouri M., Murat F., Veyssiere M. et al. Reconciling the evolutionary origin of bread wheat (*Triticum aestivum*) // New Phytol. 2017. V. 213. P. 1477–1486.
- Bernhardt N., Brassac J., Kilian B., Blattner F. Dated tribe-wide whole chloroplast genome phylogeny indicates recurrent hybridizations within Triticeae // BMC Evol. Biol. 2017. V. 17. P. 141.
- Brandolini A., Vaccino P., Boggini G. et al. Quantification of genetic relationships among A genomes of wheats A // Genome. 2006. V. 49. P. 297–305.
- Caldwell K.S., Dvorak J., Lagudah E.S. et al. Sequence polymorphism in polyploid wheat and their D-genome diploid ancestor // Genetics. 2004. V. 167. № 2. P. 941–947.
- Castagna R., Saponaro C., Pogna N. et al. Allelic variation at the *Gli-Alm*, *Gli-A2m* and *Glu-Alm* loci and breadmaking quality in diploid wheat *Triticum monococcum* // Genet. Res. Camb. 1995. V. 66. P. 127–137.
- Chen W.J., Yan H., Wang Y. et al. Evolutionary patterns of plastome uncover diploid-polyploid maternal relationships in Triticeae // Mol. Phylogenet. Evol. 2020. V. 149. № 106838. P. 1–10.
- Dizkirici A., Kansu C., Onde S. Molecular phylogeny of *Triticum* and *Aegilops* genera based on ITS and *matK* sequence data // Pakistan J. Botan. 2016. V. 48. P. 143–153.
- Dvorak J., Zhang H.-B. Variation in repeated nucleotide sequences sheds light on the phylogeny of the B and G genomes // PNAS USA. 1990. V. 87. P. 9640–9644.
- Dvorak J., Zhang H.-B. Reconstruction of the phylogeny of the genus *Triticum* from variation in repeated nucleotide sequences // Theor. Appl. Genet. 1992. V. 84. P. 419–429.
- Dvorak J., Terlizzi P., Zhang H.-B., Resta P. The evolution of polyploid wheats: identification of the A genome donor species // Genome. 1993. V. 36. P. 21–31.
- Dvorak J., Luo M.-C., Yang Z.-L., Zhang H.-B. The structure of the *Aegilops tauschii* genepool and the evolution of hexaploid wheat // Theor. Appl. Genet. 1998. V. 97. P. 657–670.
- Eig A. Monographisch – Kritische Uebersicht der Gattung *Aegilops* // Repert. Spec. Nov. Reg. Veg. Beih. Berlin. 1929. V. 55. P. 228.
- Feldman M., Sears R. The wild gene resources of wheat // Sci. Am. 1981. № 1. P. 98–109.
- Fu Y.B. Characterizing chloroplast genomes and inferring maternal divergence of the *Triticum–Aegilops* complex // Sci. Rep. 2021. V. 11. № 1 (15363). P. 1–15.
- Gaurav K., Arora S., Silva P. et al. Evolution of the bread wheat D-subgenome and enriching it with diversity from *Aegilops tauschii* // bioRxiv. 2021. P. 1–63.
- Gerlach W.L., Miller T.E., Flavell R.B. The nucleolus organizers of diploid wheats revealed by *in situ* hybridization // Theor. Appl. Genet. 1980. V. 58. № 3–4. P. 97–100.
- Glémin S., Scornavacca C., Dainat J. et al. Pervasive hybridizations in the history of wheat relatives // Sci. Adv. 2019. V. 5. № 5. P. 1–10.
- Gogniashvili M., Naskidashvili P., Bedoshvili D. et al. Complete chloroplast DNA sequences of Zanduri wheat (*Triticum* spp.) // Gen. Res. Crop. Evol. 2015. V. 62. P. 1269–1277.
- Golovnina K.A., Glushkov S.A., Blinov A.G. et al. Molecular phylogeny of the genus *Triticum* L. // Plant Syst. Evol. 2007. V. 264. P. 195–216.
- Goncharov N.P. Genus *Triticum* L. taxonomy: the present and the future // Plant. Syst. Evol. 2011. V. 295. P. 1–11.
- Goncharov N.P., Golovnina K.A., Kilian B. et al. Evolutionary history of wheats – the main cereal of mankind // Bios. Orig. Evol. Boston, MA / Eds N. Dobretsov et al. 2008. C. 407–419.
- Gornicki P., Zhu H., Wang J. et al. The chloroplast view of the evolution of polyploid wheat // New Phytol. 2014. V. 204. P. 704–714.
- Guo C.H., Terachi T. Variations in a hotspot region of chloroplast DNAs among common wheat and *Aegilops* revealed by nucleotide sequence analysis // Genes Genet. Syst. 2005. V. 80. P. 277–285.

- Guo W., Xin M., Wang Z. *et al.* Origin and adaptation to high altitude of Tibetan semi-wild wheat // *Nat. Commun.* 2020. V. 11. Art. 5085. P. 1–12.
- Haider N. Evidence for the origin of the B genome of bread wheat based on chloroplast DNA // *Turk. J. Agric. Forest.* 2012. V. 36. P. 13–25.
- Haider N. The origin of the B-genome of bread wheat (*Triticum aestivum* L. // *Генетика*. 2013. Т. 49. № 3. С. 263–274.
- Hutchinson J., Miller T.E. The nucleolar organisers of tetraploid and hexaploid wheats revealed by *in situ* hybridisation // *Theor. Appl. Genet.* 1982. V. 61. P. 285–288.
- Huynh S., Marcussen T., Felbera F., Parisodd C. Hybridization preceded radiation in diploid wheats // *Mol. Phylogenet. Evolution*. 2019. V. 139. № 106554. P. 1–10.
- International Wheat Genome Sequencing Consortium (IWGSC). Shifting the limits in wheat research and breeding using a fully annotated reference genome // *Science*. 2018. V. 361. № 6403. P. 1–13.
- Jenkins J.A. Chromosome homologies in wheat and *Aegilops* // *Am. J. Bot.* 1929. V. 16. P. 238–245.
- Johnson B.L., Dhaliwal H.S. *Triticum urartu* and genome evolution in the tetraploid wheats // *Am. J. Bot.* 1978. V. 65. P. 907–918.
- Khlestkina E.K., Salina E.A. Genome-specific markers of tetraploid wheats and their putative diploid progenitor species // *Plant Breed.* 2001. V. 120. P. 227–232.
- Kihara H. About cytological studies on some cereals // *Bot. Mag. (Tokyo)*. 1919. V. 33. P. 17–38.
- Kihara H. Discovery of the DD-analyser, one of the ancestors of *Triticum vulgare* // *Agricul. Horticult.* 1944. V. 19. P. 13–14.
- Kihara H. Factors affecting the evolution of common wheat // *Ind. J. Genet. Pl. Breed.* 1966. V. 26A. P. 14–28.
- Kilian B., Ozkan H., Deusch O. *et al.* Independent wheat B and G genome origins in outcrossing *Aegilops* progenitor haplotypes // *Mol. Biol. Evol.* 2007. V. 24. № 1. P. 217–227.
- Levy A.A., Feldman M. Evolution and origin of bread wheat // *Plant Cell*. 2022. V. 4. P. 1–19.
- Li L.F., Zhang Z.B., Wang Z.H. *et al.* Genome sequences of five Sitopsis species of *Aegilops* and the origin of polyploid wheat B subgenome // *Mol. Plant*. 2022. V. 15. № 3. P. 488–503.
- Liang D., Zhang M., Liu X. *et al.* Development and identification of four new synthetic hexaploid wheat lines with solid stems // *Sci. Rep.* 2022. V. 12. № 1 (4898). P. 1–13.
- Lilienfeld F., Kihara H. Genomanalyse bei *Triticum* and *Aegilops*. V. *Triticum timopheevi* Zhuk. // *Cytologia (Tokyo)*. 1934. V. 6. P. 87–122.
- Ling H.Q., Dvorak J., Zhao S. *et al.* Draft genome of the wheat A-genome progenitor *Triticum urartu* // *Nature*. 2013. V. 496. P. 87–90.
- Ling H.Q., Ma B., Liang C. Genome sequence of the progenitor of wheat A subgenome *Triticum urartu* // *Nature*. 2018. V. 557. P. 424–428.
- Lubna A.S., Jan R., Khan A.L. *et al.* The plastome sequences of *Triticum sphaerococcum* (ABD) and *Triticum turgidum* subsp. *durum* (AB) exhibit evolutionary changes, structural characterization, comparative analysis, phylogenomics and time divergence // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. № 5 (2783). P. 1–21.
- Luo M.-C., Gu Y., You F. *et al.* A 4-gigabase physical map unlocks the structure and evolution of the complex genome of *Aegilops tauschii*, the wheat D-genome progenitor // *PNAS USA*. 2013. V. 110. № 19. P. 7940–7945.
- Luo M.-C., Gu Y., Puiu D. *et al.* Genome sequence of the progenitor of the wheat D genome *Aegilops tauschii* // *Nature*. 2017. V. 551. P. 498–502.
- Maccaferri M., Harris N.S., Twardziok S.O. *et al.* Durum wheat genome highlights past domestication signatures and future improvement targets // *Nat. Genet.* 2019. V. 51. P. 885–895.
- Mandy G. New concept of the origin of *Triticum aestivum* L. // *Acta Agro. Hung.* 1970. V. 19. P. 413–418.
- Marcussen T., Sandve S., Heier L. *et al.* Ancient hybridizations among the ancestral genomes of bread wheat // *Science*. 2014. V. 345. P. 1–4.
- McFadden E., Sears E. The origin of *Triticum spelta* and its free-threshing hexaploid relatives // *J. Hered.* 1946. V. 37. P. 81–89.
- Middleton C., Senerchia N., Stein N. *et al.* Sequencing of chloroplast genomes from wheat, barley, rye and their relatives provides a detailed insight into the evolution of the Triticeae tribe // *PLoS One*. 2014. V. 9. № 3. P. 1–12.
- Miki Y., Yoshida K., Mizuno N. *et al.* Origin of wheat B-genome chromosomes inferred from RNA sequencing analysis of leaf transcripts from section Sitopsis species of *Aegilops* // *DNA Res.* 2019. V. 26. № 2. P. 171–182.
- Mizuno N., Yamasaki M., Matsuoka Y.S. *et al.* Population structure of wild wheat D-genome progenitor *Aegilops tauschii* Coss.: implications for intraspecific lineage diversification and evolution of common wheat // *Mol. Ecol.* 2010. V. 19. № 5. P. 999–1013.
- Nyine M., Adhikari E., Clinesmith M. *et al.* The aptotype-based analysis of *Aegilops tauschii* introgression into hard red winter wheat and its impact on productivity // *Traits. Front Plant Sci.* 2021. V. 12. № 716955. P. 1–16.
- Ogihara Y., Tsunewaki K. Diversity and evolution of chloroplast DNA in *Triticum* and *Aegilops* as revealed by restriction fragment analysis // *Theor. App. Gen.* 1988. V. 76. P. 321–332.
- Ogihara Y., Isono K., Kojima T. *et al.* Chinese spring wheat (*Triticum aestivum* L.) chloroplast genome: complete sequence and contig clones // *Plant Mol. Biol. Report.* 2000. V. 18. P. 243–253.
- Ogihara Y., Isono K., Kojima T. *et al.* Structural features of a wheat plastome as revealed by complete sequencing of chloroplast DNA // *Mol. Genet. Genom.* 2002. V. 266. P. 740–746.
- Ogihara Y., Ohsawa T. Molecular analysis of the complete set of length mutations found in the plastomes of *Triticum-Aegilops* species // *Genome*. 2002. V. 45. P. 956–962.
- Pathak G.N. Studies in the cytology of cereals // *J. Genet.* 1940. V. 39. P. 437–467.
- Petersen G., Seberg O., Yde M., Berthelsen K. Phylogenetic relationships of *Triticum* and *Aegilops* and evidence for the origin of the A, B, and D genomes of common wheat (*Triticum aestivum*) // *Mol. Phylogenet. Evol.* 2006. V. 39. № 1. P. 70–82.
- Riley R., Unrau J., Chapman V. Evidence on the origin of the B genome of wheat // *Heredity*. 1958. V. 49. P. 91–98.
- Rodriguez S., Maestra B., Perera E. *et al.* Pairing affinities of the B- and G-genome chromosome of polyploid wheats with those of *Aegilops speltoides* // *Genome*. 2000. V. 43. P. 814–819.

- Sakamura T. Kurze mitteilung über die chromosomenzahlen und die verwandtschaftsverhältnisse der *Triticum*-arten // Bot. Mag. (Tokyo). 1918. V. 32. P. 150–153.
- Sarkar P., Stebbins G.L. Morphological evidence concerning the origin of the B genome in wheat // Am. J. Bot. 1956. V. 43. P. 297–304.
- Schaart J.G., Salentijn E.M.J., Goryunova S.V. et al. Exploring the alpha-gliadin locus: the 33-mer peptide with six overlapping coeliac disease epitopes in *Triticum aestivum* is derived from a subgroup of *Aegilops tauschii* // Plant J. 2021. V. 106. № 1. P. 86–94.
- Schulz A. Die Geschichte der kultivierten Getreide // Halle. 1913. P. 134.
- Su Q., Liu L., Zhao M. et al. The complete chloroplast genomes of seventeen *Aegilops tauschii*: genome comparative analysis and phylogenetic inference // Peer J. 2020. V. 8. P. 1–19.
- Terachi T., Tsunewaki K. The molecular basis of genetic diversity among cytoplasms of *Triticum* and *Aegilops*. VIII. Mitochondrial RFLP analyses using cloned genes as probes // Mol. Biol. Evol. 1992. V. 9. P. 917–931.
- Tsunewaki K. Plasmon analysis in the *Triticum*–*Aegilops* complex // Breed. Sci. 2009. V. 59. № 5. P. 455–470.
- Upadhy M.D., Swaminathan M.S. Genome analysis in *Triticum zhukovskyi*, a new hexaploid wheat // Chromosoma. 1963. V. 14. P. 589–600.
- van Campenhout C., Stappen J., Volckaert G. The specific isolation of complete 5S rDNA units from chromosome 1A of hexaploid, tetraploid, and diploid wheat species using PCR with head-to-head oriented primers // Genome. 2001. V. 44. P. 529–538.
- Waines J.G., Barnhart D. Biosystematic research in *Aegilops* and *Triticum* // Hereditas. 1992. V. 116. P. 207–212.
- Wang G.Z., Miyashita N.T., Tsunewaki K. Plasmon analyses of *Triticum* (wheat) and *Aegilops*: PCR single-strand conformational polymorphism (PCR-SSCP) analyses of organellar DNAs // PNAS USA. 1997. V. 94. P. 14570–14577.
- Wang J., Luo M.-C., Chen Z. et al. *Aegilops tauschii* single nucleotide polymorphisms shed light on the origins of wheat D-genome genetic diversity and pinpoint the geographic origin of hexaploid wheat // New Phytol. 2013. V. 198. № 3. P. 925–937.
- Wang L., Zhu T., Rodriguez J.C. et al. *Aegilops tauschii* genome assembly Aet v5.0 features greater sequence contiguity and improved annotation // G3 (Bethesda). 2021. V. 11. № 12. P. 1–13.
- Watanabe N. Breeding opportunities for early, free-threshing and semidwarf *Triticum monococcum* L. // Euphytica. 2017. V. 213. P. 201.
- Xu Y., Sun F.-Y., Ji C. et al. Nucleotide diversity patterns at the *DREB1* transcriptional factor gene in the genome donor species of wheat (*Triticum aestivum* L.) // PLoS One. 2019. V. 14. № 5. P. 1–16.
- Yamane K., Kawahara T. Intra- and interspecific phylogenetic relationships among diploid *Triticum*–*Aegilops* species (Poaceae) based on base-pair substitutions, indels, and microsatellites in chloroplast noncoding sequences // Am. J. Bot. 2005. V. 92. P. 1887–1898.
- Yu G., Matny O., Champouret N. et al. *Aegilops sharonensis* genome-assisted identification of stem rust resistance gene *Sr62* // Nat. Commun. 2022. V. 13. № 1. P. 1607.
- Zimin A.V., Puiu D., Hall R. et al. The first near-complete assembly of the hexaploid bread wheat genome, *Triticum aestivum* // GigaScience. 2017. V. 6. P. 1–7.

The Problem of the Origin of Subgenomes B, A, D of Bread Wheat *Triticum aestivum* L.: Old Facts and New Evidences

A. R. Kuluev^a, *, B. R. Kuluev^a, and A. V. Chemeris^a

^aInstitute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre, Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

*e-mail: kuluev.azat91@yandex.ru

Bread wheat (*Triticum aestivum* L.) belongs to the wheat tribe, which includes representatives of the genera *Triticum*, *Aegilops*, *Secale*, *Hordeum*, etc. The genera *Aegilops* and *Triticum* in the process of evolution have repeatedly hybridized with each other, including with the formation of polyploid forms that have the status of species and belong to the so-called *Triticum*–*Aegilops* alliance. As the methodological possibilities developed, various approaches were used to determine the ancestors of certain species of this alliance, ranging directly from interspecific crosses and cytogenetic methods to whole genome sequencing of non-nuclear and nuclear genomes. It has been established that the genome of bread wheat *T. aestivum*, one of the main food crops in the world, consists of three related subgenomes, which received the symbols A, B, D. At present, only the donor of the D subgenome, which is *Aegilops tauschii* Coss., is reliably known. The ancestor of subgenome A is presumably considered to be *T. urartu* Thum. ex Gandil. Information about the donor of the B subgenome is less clear, but most likely it is *Ae. speltoides* Tausch. or a species close to it. This review is devoted to the consideration of some old data on the putative donors of bread wheat, which, taking into account the maternal form, the BBAADD genome, and the refinement of some phylogenetic relationships in the *Triticum*–*Aegilops* alliance in the light of new information obtained as a result of whole genome sequencing of wheat.

Keywords: *Aegilops tauschii*, *Triticum urartu*, *Aegilops speltoides*, *Triticum turgidum*, *Triticum timopheevii*, whole genome sequencing, phylogeny

УДК 582.632.1

КАРЕЛЬСКАЯ БЕРЕЗА: ЗАГАДКИ ОСТАЮТСЯ

© 2023 г. Л. В. Ветчинникова^{1, 3, *}, А. Ф. Титов^{2, 3, **}

¹Институт леса Федерального исследовательского центра “Карельский научный центр Российской академии наук”, Петрозаводск, Россия

²Институт биологии Федерального исследовательского центра “Карельский научный центр Российской академии наук”, Петрозаводск, Россия

³Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: vetchin@krc.karelia.ru

**e-mail: titov@krc.karelia.ru

Поступила в редакцию 16.08.2022 г.

После доработки 17.09.2022 г.

Принята к публикации 17.09.2022 г.

В сжатой форме обобщены и систематизированы наиболее важные результаты, полученные при изучении карельской березы *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti преимущественно за последние два–три десятилетия. Дается характеристика главных ее биологических особенностей. Приводятся сведения о ресурсах карельской березы, подчеркивается важная роль особо охраняемых природных территорий в сохранении ее генофонда. Показан положительный опыт ее интродукции и реинтродукции. Кратко рассмотрены проблемы происхождения карельской березы, формирования узорчатой текстуры в древесине и вопрос о ее таксономическом статусе. Подчеркивается, что последние два–три десятилетия знания о природе и особенностях карельской березы как биологического объекта существенно пополнились, однако по-прежнему остаются нерешенными два важных вопроса: а) происхождение карельской березы и б) причины и механизмы образования узорчатой текстуры в ее древесине. Ответы на них представляют большой интерес не только в теоретическом отношении, но и в практическом плане, так как будут способствовать решению проблемы сохранения генофонда карельской березы и расширенного воспроизводства ее ресурсов.

Ключевые слова: *Betula pendula* var. *carelica*, особенности, ресурсы, интродукция, ареал, происхождение, узорчатая древесина, таксономический статус

DOI: 10.31857/S0042132423010118, **EDN:** HLTCYG

ВВЕДЕНИЕ

Карельская береза *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti, получившая широкую известность благодаря высокоценной узорчатой текстуре древесины, привлекает к себе внимание исследователей уже более 200 лет, но ее систематическое изучение началось лишь в XX в., а значительное число публикаций, появившихся в начале нынешнего века (Новицкая, 2008; Машкина, 2011; Кириянов и др., 2019; Баранов и др., 2019; Kosonen et al., 2004; Paganová 2004; Niemistö et al., 2008; Kärkkäinen et al., 2017; Naujoks et al., 2017 и др.), свидетельствует о большом и по-прежнему не ослабевающем интересе к этому уникальному объекту лесной дендрофлоры. Подобное внимание, проявляемое к ней, не случайно и связано не только с ее декоративной (узорчатой) древесиной, но и с рядом других обстоятельств. Во-первых, карельская береза, в отличие от других широко распространенных древесных видов, не является лесообра-

зующей породой, произрастает одиночно или небольшими группами, а ее ареал носит дизъюнктивный (прерывистый) характер. Во-вторых, она характеризуется достаточно высоким полиморфизмом и индивидуальной изменчивостью не только по текстуре древесины (от едва заметной волнистости волокон до ярко выраженной), но и, например, по формам роста (от кустообразной до высокоствольной и иногда — многоствольной или гнездовидной). В-третьих, она вызывает интерес как объект, изучение которого может дать ответ относительно причин и механизмов образования узорчатой текстуры в древесине (которая не в столь явной форме, но встречается и у других древесных растений), а также позволит установить закономерности изменчивости и наследования этого редко встречаемого, но ценного признака. Наконец, в-четвертых, она перспективна для проведения селекционно-генетических исследований, нацеленных в конечном счете не только на

восстановление ее генофонда, но и на ее расширенное воспроизводство в хозяйственных целях.

Следует отметить, что несмотря на многочисленные публикации и значительный прогресс, который достигнут в изучении карельской березы за последние годы, в литературе крайне мало широких обобщений, которые бы в достаточно полном объеме отражали ключевые проблемы и основные результаты исследований этого уникального биологического объекта. Учитывая это, нами предпринята попытка обобщения и систематизации в максимально сжатой форме наиболее важных результатов, полученных при изучении карельской березы преимущественно за последние два–три десятилетия, а также отражен собственный взгляд на некоторые наиболее важные, но по-прежнему дискуссионные вопросы.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ

Как следует из анализа литературы, основным итогом многолетних исследований карельской березы является выявление и описание ее основных биологических особенностей — популяционно-видовых, анатомо-морфологических, цитологических, физиолого-биохимических и молекулярно-генетических (Ветчинникова, Титов, 2019), которые для удобства сведены нами в таблицу (табл. 1). Их рассмотрение и сопоставление с аналогичными характеристиками березы повислой (*Betula pendula* Roth), разновидностью которой все еще официально считается карельская береза, позволяет говорить о ней как об уникальном биологическом объекте, наличие узорчатой текстуры в древесине которого является важной, но далеко не единственной характеристикой, отличающей ее от ближайшего сородича.

Все эти особенности карельской березы нами подробно рассмотрены в специальной работе (Ветчинникова, Титов, 2019). Здесь же важно сказать следующее. По совокупности они позволяют утверждать, что карельская береза произрастает исключительно на территории стран, расположенных на побережье Балтийского моря и прилегающих к нему территориях, встречаясь во вполне определенных местообитаниях (в том числе на землях с низким плодородием). При этом она характеризуется существенным разнообразием по целому ряду признаков, включая форму роста, тип поверхности ствола, насыщенность рисунка древесины, а также толщину коры, которое проявляется при произрастании деревьев как в одинаковых условиях, так и в разных частях ее ареала. Заметим, что полиморфизм карельской березы определил и различные подходы к ее классификации. Так, наиболее широко признанными среди специалистов считаются классификации формового разнообразия карельской березы по форме

роста (Соколов, 1950) и типу поверхности ствола (Saarnio, 1976, 1980; Raulo, Sirén, 1978) (табл. 2, рис. 1). Следует добавить, что при формировании узорчатой текстуры в древесине у высоко- и короткоствольных форм роста карельской березы преобладает шаровидноутолщенный и мелкобугорчатый типы поверхности ствола, а у кустообразных — в основном шаровидноутолщенный.

Несмотря на трудности изучения кариотипов у представителей рода *Betula* L. (из-за очень малого размера хромосом — не более 2 μ) показано, что карельская береза представляет собой диплоид с количеством хромосом равным 28, которое, однако, может варьировать в диапазоне от 23–25 до 40–42 (Буторина, 1985). Это свидетельствует о наличии в соматических тканях узорчатых особей миксоплоидии и ее гибридном происхождении, что нашло подтверждение при использовании молекулярно-генетических SSR-маркеров (Simple Sequence Repeats) (Баранов, Балюцкас, 2009).

В целом анализ результатов изучения биологических особенностей карельской березы позволяет с уверенностью говорить, что она обладает отчетливо выраженной генетической обособленностью, отражающей, как нам представляется, особое направление в эволюции представителей рода *Betula*. При этом наличие узорчатой текстуры в древесине является одним из главных отличительных признаков карельской березы, который детерминирован генетически.

РЕСУРСЫ КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ

Карельская береза, несмотря на ее высокий адаптационный потенциал, оказалась в настоящее время среди тех растительных видов, численность которых в природных условиях за последние десятилетия существенно сократилась. Очевидно, главной причиной этого стал повышенный интерес к использованию узорчатой древесины в хозяйственных целях и длительный период активной эксплуатации (зачастую бесконтрольной), что поставило ее во многих странах, включая Россию, на грань исчезновения.

В России подавляющая часть ресурсов карельской березы в настоящее время сосредоточена на территории Республики Карелия (Ветчинникова и др., 2013). Помимо Карелии, немногочисленные экземпляры карельской березы в природных условиях можно встретить в Смоленской, Владимирской и Псковской областях.

В силу ограниченности ресурсов, карельская береза с самого начала ее систематического изучения была признана особо охраняемой породой. Были запрещены ее рубки, начаты работы по инвентаризации и воспроизводству. В 1985, 2007 и 2020 гг. карельская береза была включена в 1-е и последние два (3-е и 4-е) издания Красной книги

Таблица 1. Биологические особенности карельской березы и березы повислой (по: Ветчинникова, Титов, 2019, с изменениями)

Особенности и признаки	Карельская береза	Береза повислая
Популяционно-видовые		
Ареал	Дизъюнктивный, локальный	Сплошной, широкий
Пространственное распределение	Одиночное или групповое	Лесообразующая порода
Конкурентоспособность	Крайне низкая	Высокая
Жизнеспособный подрост	Редко, практически отсутствует	Обильно, повсеместно
Динамика численности популяций	Отрицательная	Положительная
Продолжительность жизни, лет	100 и более (35–50 – при высокой плотности)	120–150
Возрастные группы	От ювенильных (j) до сенильных (s)	Преобладают средне-возрастные (g ₂) и старые генеративные деревья (g ₃)
Экологическая ниша	Открытые места, часто малоблагоприятные для других древесных видов	Леса, сухие и относительно бедные местообитания
Уровень инбридинга	Повышенный	Низкий
Наследование отличительных признаков (текстура древесины, форма роста и тип поверхности ствола)	Устойчивое (в случаях эффективной численности популяции или при контролируемом опылении)	Устойчивое
Фертильность пыльцы	Средняя	Средняя
Жизнеспособность пыльцы	Низкая	Высокая
Категория редкости таксона	EN – находящийся в опасном состоянии (исчезающий)	Отсутствует
Анатомо-морфологические		
Жизненная форма	От дерева до кустарника	Дерево
Тип поверхности ствола	Шаровидноутолщенный, мелкобугорчатый, ребристый	Ровный, гладкий
Текстура древесины, направленность волокон	Узорчатая: проводящие элементы направлены под разными углами	Прямоволокнистая, слабовыраженная
Активность камбия по окружности ствола	Неравномерная	Равномерная
Объем древесной паренхимы	Высокий	Низкий
Объем сердцевинных лучей	Высокий	Средний
Длина волокнистых элементов	Укороченная	Нормальная
Цитологические		
Число хромосом	28 (диплоид) с варьированием от 23 до 42	28 (диплоид)
Уровень миксоплоидии	Высокий	Низкий
Активность цитомиксиса	Повышенная	Слабая
Физиолого-биохимические		
Высокое содержание суммарных липидов	В лубе	В бересте
Активность сахарозсинтазы	Низкая	Высокая
Активность апопластной инвертазы	Высокая	Низкая
Молекулярно-генетические		
Размер генома (млн пар оснований ДНК)	Не установлен	Около 440
Маркерные специфичные фрагменты ДНК	Три	Не обнаружены

Таблица 2. Полиморфизм карельской березы по форме роста и типу поверхности ствола (по: Ветчинникова, 2005, с изменениями)

Форма роста	Поверхность ствола	
	русский аналог	финский аналог
Высокоствольная	Ребристая	J (продольно-напывная)
Короткоствольная	Мелкобугорчатая	P (бугорчатая)
Кустообразная	Шаровидноутолщенная	K (бутылочная)

Республики Карелия с категорией, соответствующей исчезающим, находящимся в опасном состоянии видам (Красная книга..., 1985, 2007, 2020). В 2010 г. она вошла в Красную книгу Владимирской области (Красная книга..., 2010). Кроме того, карельская береза неизменно входит в перечень видов (пород) деревьев и кустарников, заготовка древесины которых в России запрещена.

Как указано выше, в России основной причиной резкого сокращения численности популяций карельской березы стали массовые выборочные рубки (в том числе незаконные), проводившиеся в течение длительного времени, поскольку высокоценная древесина карельской березы с давних пор широко используется человеком в хозяйственных целях. В результате таких рубок зачастую исчезали наиболее ценные генотипы, а многие природные популяции оказались представленными главным образом деревьями со слабо выраженной узорчатой текстурой в древесине. Добавим к этому, что в естественных условиях многие деревья карельской березы по своему возрасту (80 лет и более) оказались в настоящее время на средней и поздней генеративной стадии развития и характеризуются резким снижением репродуктивной функции (Ветчинникова, Титов, 2020а, б).

Негативное влияние на рост и развитие карельской березы, и, соответственно, состояние ее ресурсов, оказывают также резкие колебания погодно-климатических факторов, что в частности делает ее плодоношение крайне нестабильным: высокоурожайные годы чередуются с годами средне- и малоурожайными (особенно заметно это проявилось в начале XXI в.). Численность карельской березы в природных условиях сокращается и вследствие таких ее биологических особенностей, как фрагментированный ареал, расщепление признаков в семенном потомстве, низкая конкурентоспособность по отношению к другим древесным породам. Вероятно, этим наряду с другими причинами обусловлено и фактически полное отсутствие у карельской березы жизнеспособного подраста (Ветчинникова, 2005; Щурова, 2006). Одним из негативных последствий этого явилось снижение эффективной численности популяций карельской березы и ухудшение их генетической структуры, что подтверждается, например, результатами

анализа генетического разнообразия ее популяций, проведенного с помощью микросателлитных маркеров (Ветчинникова и др., 2012, 2021).

Необходимо отметить, что наиболее важную роль в сохранении ресурсов и генофонда карельской березы играют особо охраняемые природные территории (ООПТ). В России ООПТ, в состав насаждений которых входит карельская береза, созданы главным образом на территории Республики Карелия (Особо охраняемые..., 2017). Имеется также памятник природы во Владимирской обл. (Красная книга..., 2010).

В Карелии основными ООПТ являются государственный природный заповедник “Кивач”, государственный природный заказник “Кижский” и четыре государственных ботанических заказника регионального значения (“Анисимовщина”, “Спасогубский”, “Каккоровский” и “Береза карельская у деревни Царевичи”), которые в целом обеспечивают сохранение более 90% ресурсов карельской березы (табл. 3). Однако все природные популяции сконцентрированы только в трех из них, занимающих в общей сложности не более 0.01% от площади всех ООПТ с ее участием (Ветчинникова, Титов, 2018, 2020а). При этом основные ресурсы карельской березы сосредоточены на территории Заонежского п-ва в ботаническом заказнике “Анисимовщина”, который уникален как по количеству, так и качеству произрастающих здесь деревьев. Такого рода природные популяции карельской березы в России не встречаются больше нигде, что видимо обусловлено особыми природно-климатическими условиями названной территории, а также особенностями ее хозяйственного освоения (Никитина, 1993; Сельговые ландшафты..., 2013).

Результаты инвентаризации ресурсов карельской березы в действующих ботанических заказниках, проведенной в последние годы, выявили резкое ухудшение их состояния, а количество деревьев со времени их образования существенно уменьшилось. Как отмечалось, главным образом, это связано с массовыми незаконными рубками, которые имели место в 90-е гг. прошлого столетия. Особенно сильно при этом пострадали популяции в ботанических заказниках “Каккоровский” и “Спасогубский”, оказавшиеся по сути на

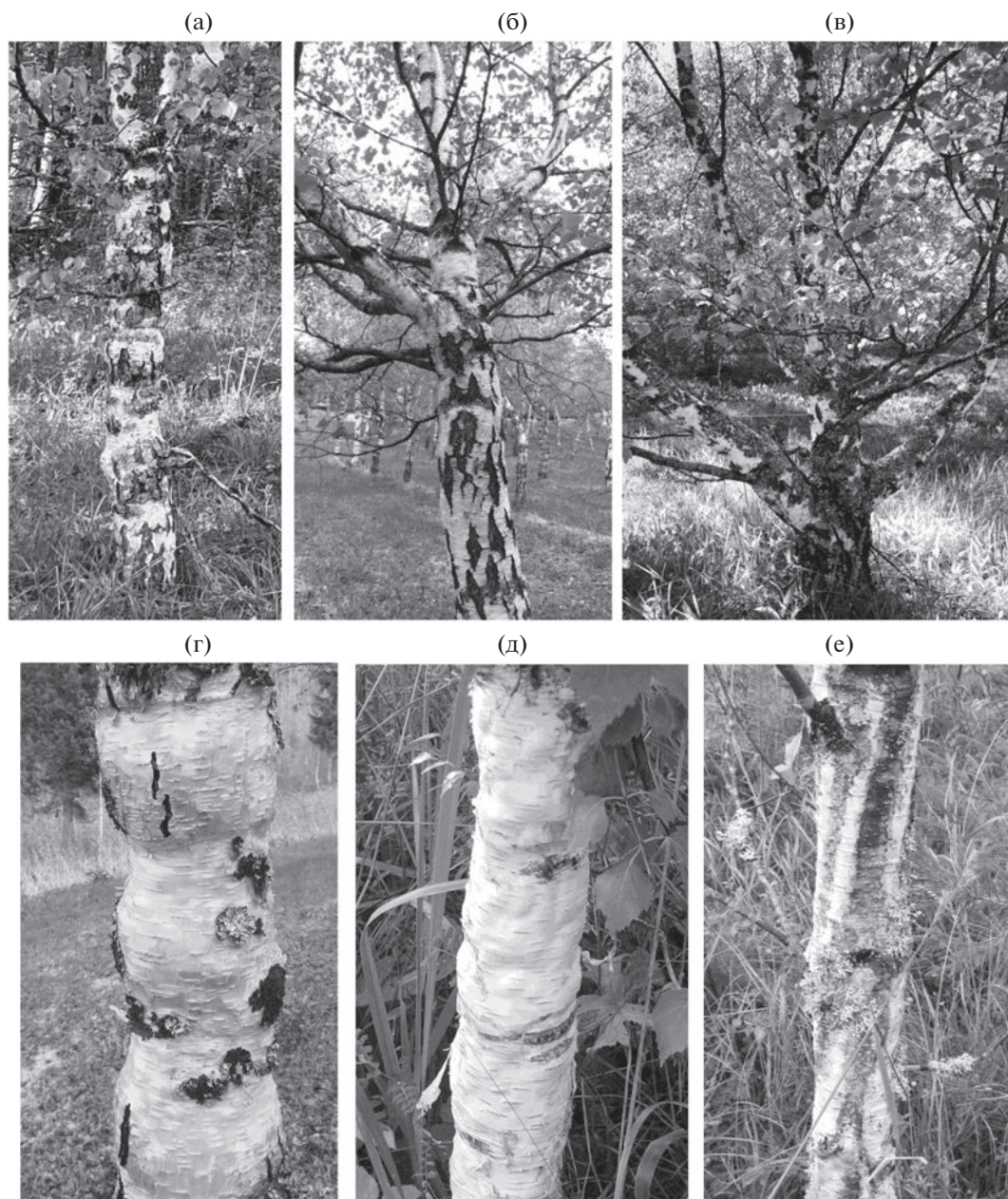


Рис. 1. Разнообразие карельской березы по форме роста: высокоствольная (а), короткоствольная (б), кустообразная (в) и по типу поверхности ствола: шаровидноутолщенный (г), мелкобугорчатый (д) и ребристый (е).

границы полного исчезновения. Значительная часть деревьев уничтожена и в заказнике “Анисимовщина” (197 из 1836). Добавим, что численность деревьев в популяциях карельской березы сокращалась также из-за ее низкой конкурентоспособности по сравнению с другими древесными породами, поскольку в ботанических заказниках лесоводственный уход проводился крайне редко, а в последние 30 лет отсутствовал вообще. Тем не менее, несмотря на недостаточный объем проводимых на ООПТ работ по охране и уходу за растениями, именно здесь сосредоточена значительная

часть ресурсов и основная и наиболее ценная часть генофонда карельской березы, сохранение которого имеет огромное научное и практическое значение. Поэтому сохранение ботанических заказников и правильная организация их работы, является важной государственной задачей. Именно ООПТ и произрастающие здесь деревья карельской березы по-прежнему выступают главными объектами для проведения различных исследований. Кроме того, они служат источником для получения семян и пополнения коллекции клонов в культуре тканей (Коллекция..., 2016), которые яв-

Таблица 3. Количество деревьев карельской березы на ООПТ, находящихся в Республике Карелия (к началу XXI в.) (по: Ветчинникова, Титов, 2020а, с изменениями)

ООПТ	Количество деревьев			
	в природе	культура в возрасте		всего
		≥25 лет	≤15 лет	
ГПЗп “Кивач” и его охранный зона ГБЗк “Спасогубский” ГПЗк “Кижский” ГБЗк “Анисимовщина” ГБЗк “Каккоровский” ГБЗк “Царевичи”*	Кондопожский район			
	Единичные	~90	35	~125
	~30	~190	—	~220
	Единичные	—	~800	~800
	Медвежьегорский район			
	2	—	~60	≥60
	~1600	—	—	~1600
	Прионежский район			
	Единичные	Единичные	~1000	~1000
	—	~90	—	~90

Примечание: ГПЗп — Государственный природный заповедник; ГПЗк — Государственный природный заказник; ГБЗк — Государственный ботанический заказник, * — полное название см. в тексте, — прочерк означает отсутствие деревьев.

ляются основой воспроизводства при реинтродукции карельской березы и ее интродукции в другие регионы.

ИНТРОДУКЦИЯ И РЕИНТРОДУКЦИЯ КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ

Уникальность карельской березы предопределила интерес к ее интродукции в другие регионы, находящиеся за пределами ее ареала. К настоящему времени опыт интродукционной работы насчитывает уже десятки лет, а зона интродукции занимает обширную территорию (от Финляндии на севере до Узбекистана и Киргизии на юге) и, расширяясь преимущественно в юго-восточном направлении, далеко выходит за границы естественного ареала, что позволяет сделать определенные выводы. В частности, анализ результатов интродукции показывает, что практически во всех природно-климатических условиях — от северной тайги с умеренно холодным климатом до лесостепи с резко континентальным — карельская береза не только сохраняет свои биологические особенности, но и близкие по ритмам ростовые процессы и особенности фенологического развития, присущие ей в естественных местообитаниях. Хотя прохождение отдельных фенофаз может сдвигаться на более ранние (в южных широтах) или более поздние (в северных широтах) сроки. При этом карельская береза способна расти в широком диапазоне почвенных условий (от песчаных и суглинистых до подзолистых и черноземных) (табл. 4) и даже при отсутствии нормального или явно нарушенного почвенного покрова, например, в ходе рекультивации земель (Казанцева, Васильев, 2006; Соколов, 2016; Костина и др., 2021).

Однако, чтобы добиться успеха при планировании работ по переносу карельской березы за пределы ареала необходимо учитывать и использовать максимальный набор критериев и показателей, которые в совокупности позволят с наибольшей вероятностью не только оценить будущий результат интродукции, но и повысить ее эффективность (Ветчинникова, Титов, 2021).

Опыт интродукционной работы может также оказаться полезным при реинтродукции карельской березы (Ветчинникова, Титов, 2022). Анализ литературных данных и собственные наблюдения показывают, что реинтродукция карельской березы наиболее активно и успешно проводилась в России (Республика Карелия, Ленинградская обл.) и Финляндии, а также в некоторых других европейских государствах. При этом в число наиболее эффективных способов сохранения и воспроизводства карельской березы входят реинтродукция вида в природные местообитания (*in situ*) и сохранение его в культуре (*ex situ*). В природных условиях реинтродукция может осуществляться путем реставрации, то есть восстановления или пополнения существующей, но исчезающей популяции местным посадочным материалом, а также путем репатриации, то есть возрождения популяций в местообитаниях, где представители вида произрастали ранее, за счет их переноса из других популяций. Заметим, что, например, в Финляндии карельская береза выращивается на 5.5 тысяч га (Hagqvist, Mikkola, 2008). К сожалению, у российских лесоводов-практиков эта работа не вызывает большого интереса, и карельская береза все еще не нашла широкого распространения ни в Карелии, ни в России в целом. Лесоводы предпочитают, к примеру, создавать лесные культуры сосны.

Таблица 4. Ростовые показатели деревьев карельской березы в возрасте ≥ 20 лет, интродуцированных в разные регионы России, в зависимости от почвенных условий (по: Ветчинникова, Титов, 2021, с изменениями)

Республика, область, территория	Тип почвы	Высота деревьев, м	Диаметр ствола (на высоте 1.3 м), см
Республика Башкортостан Верхне-Троицкое лесничество	Серые лесные, легкосуглинистые	14.0	>16
Республика Марий Эл Ботанический сад	Тяжелосуглинистые	8.5	9.6
Мушмаринский питомник нац. парка “Марий Чодра”	Песчаные	5.1	6.1
Яльчинское лесничество	Супесчаные	5.0	3.7
Кировская область Шабалинский лесхоз	Подзолистые, средне- и тяжелосуглинистые, супесчаные	5.4	7.6
Московская область Ивантеевский лесопитомник	Дерново-подзолистые, супесчаные, суглинистые	5.7–10.6	7.8–12.4
Мурманская область	Подзолистые-глеевые, подзолистые иллювиально-гумусовые	10.0	>25

Однако возраст спелости у сосны наступает в 80–150 лет, а карельская береза может использоваться уже в 20–30 лет, при этом и хозяйственное назначение у нее другое.

Следует отметить, что важным моментом воспроизводства ресурсов карельской березы при осуществлении интродукции и реинтродукции является разработка и использование новых технологий, таких как клональное микроразмножение на основе культуры апикальной меристемы вегетативных побегов (минуя этап каллусообразования). Данная технология впервые была разработана и применена в Финляндии в середине 1980-х гг. (Ruynänen L., Ruynänen M., 1986), а затем в России – в начале 1990-х гг. (Байбурина, 1998; Табацкая и др., 2004; Ветчинникова и др., 2013). Ее использование обеспечивает массовое производство качественного посадочного материала карельской березы с сохранением в потомстве признаков узорчатой текстуры в древесине, соответствующих исходным генотипам.

АРЕАЛ КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ

Как известно, род *Betula* L. имеет обширный ареал в Северном полушарии, главным образом в умеренной и холодной частях Евразии и Северной Америки. Сведения о конкретных местах произрастания карельской березы на территории Европы можно найти в публикациях как прошлых лет, так и современного периода. В частности, к 1920–1930-м гг. довольно полно были описаны места произрастания карельской березы в Финляндии (Hintikka, 1922) и в России (Соколов, 1950). Обобщенные данные появились в 50–60-х гг. прошлого века первоначально в работах ученых из Швеции (Lindquist, 1954), Чехии (Hejtmánek, 1957;

Václav, 1963) и Германии (Scholz, 1963) (рис. 2a). Восточно-европейская часть ареала в них была представлена в соответствии с описаниями советского ученого-лесоведа Н.О. Соколова (1950) – первооткрывателя карельской березы в нашей стране. Однако, как уже отмечалось выше, к настоящему времени практически на всей территории ее ареала наблюдается существенное сокращение численности деревьев. В отдельных странах она исчезла совсем (Германия, Чехия, Дания, Латвия, Литва). Кроме того, нарушаются или подвергаются значительной трансформации характерные места обитания карельской березы, что наряду с другими причинами препятствует ее естественному возобновлению.

Из совокупности накопленных к настоящему моменту данных следует вполне очевидный вывод о том, что ареал карельской березы, границы которого были описаны в середине прошлого столетия, в настоящее время уже не соответствует действительности, поскольку он является фрагментированным, а не сплошным, а самое главное – не отражает произошедшее за последние 50–70 лет значительное сокращение численности карельской березы и занимаемой ею территории.

Учитывая популяционно-видовые особенности карельской березы (Ветчинникова, Титов, 2019, 2020б), для установления местоположения границ ее ареала нами предложен популяционный подход, а в качестве ключевого звена – величина критической численности популяций, ниже которой их длительное существование становится невозможным (Ветчинникова, Титов, 2020в). В рамках такого подхода линия границ ареала будет объединять не отдельные географические точки, где были обнаружены единичные деревья (или не-

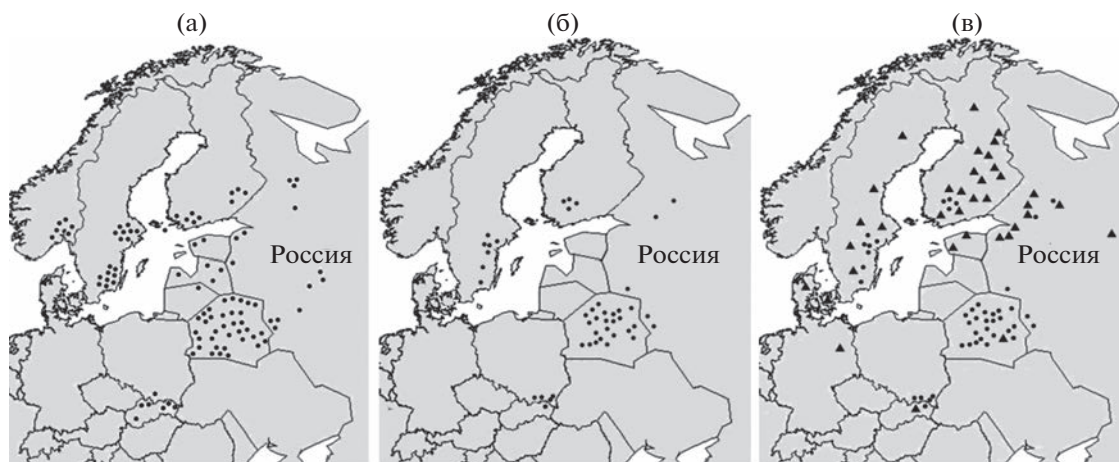


Рис. 2. Ареал карельской березы (места произрастания обозначены точками): (а) — описанный в XX в.; (б) — по состоянию на начало XXI в. (на основе популяционного подхода); (в) — с учетом мест реинтродукции (обозначены треугольниками) (по: Ветчинникова, Титов, 2020в).

большие группы деревьев) карельской березы (рис. 2а), а места нахождения ее локальных популяций, численность которых не должна быть ниже критической величины, составляющей для карельской березы предположительно 100 деревьев (рис. 2б). Вполне очевидно, что местонахождение границ ареала карельской березы в этом случае существенно изменится, а сам ареал сократится. В случае если на территории, где ранее произрастала карельская береза, будет осуществлена достаточно масштабная ее реинтродукция с помощью посадочного материала местного происхождения, то такую территорию следует “вернуть” в границы ее ареала (рис. 2в). Если же посадочный материал имеет не местное происхождение, то растения вновь созданных насаждений правильнее считать интродуцентами без включения занимаемой ими территории в естественный ареал. К ним, например, можно отнести территории Латвии и Украины, где в 1970-е гг. велись активные работы по созданию культур карельской березы из семян карельского происхождения (Сакс, Бандер, 1970; Литвак, Евдокимов, 1977; Молотков, 1984).

ПРОИСХОЖДЕНИЕ КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ

Почти с самого начала систематического изучения карельской березы ученые пытались найти объяснение ее происхождению. За многие годы исследований во взглядах по этому вопросу сформировались два принципиально разных подхода. С позиции одного из них, происхождение карельской березы объясняется следствием патологических процессов, наблюдаемых в определенных условиях ее произрастания под влиянием факторов внешней среды биотической или абиотической природы (Сакс, Бандер, 1975; Коровин и др., 2003; Исаков и др., 2011; Щетинкин, Щетинкина,

2018). Согласно другой точке зрения, более широко распространенной в настоящее время, появление карельской березы связано с определенными генетическими процессами и действием генетических факторов (Коновалов и др., 2016; Федулова и др., 2017; Ruden, 1954; Johnsson, 1974; Kärkäinen, 2017 и др.). Исходя из этого ряд ученых (Любавская, 1978; Ермаков, 1986; Побирушко, 1992 и др.) рассматривали карельскую березу как наследственную разновидность (форму) березы повислой, эволюционно возникшую и сложившуюся в природно-климатических условиях, характерных для ее ареала. Очевидно поэтому еще Н.О. Соколов (1950), а затем А.Я. Любавская (1975) предлагали пересмотреть систематическое положение карельской березы и выделить ее в самостоятельный вид, допуская, что карельская береза выступает викарным (замещающим) видом березы повислой. Недавно появилась точка зрения об эпигенетическом происхождении карельской березы. Ведущая роль в этом случае отводится либо событиям, связанным с нарушением обмена веществ материнского организма, которые приводят к снижению уровня метилирования ДНК и активации программ клеточного апоптоза (Новицкая, 2008), либо ретротранспозонам, которые при определенных условиях влекут за собой появление нестабильных мутаций (Исаков и др., 2011), либо клеткам разного уровня ploidy или анеуплоидии в миксоплоидной ткани, соотношение которых меняется в зависимости от условий внешней среды (Машкина, 2011).

Иная точка зрения нашла отражение в эколого-генетической гипотезе происхождения карельской березы (Ветчинникова, Титов, 2016). Согласно гипотезе, ее появление исключительно на территории северо-западной части континентальной Европы стало результатом особого направления в

эволюции рода Береза, сопровождавшейся сложными генетическими процессами, обусловленными природно-климатическими изменениями в данном макрорегионе в период глобального похолодания, отмеченного в течение Малого ледникового периода (примерно между 1300 и 1850 гг.). Столь же важным следует считать и наличие здесь зон вторичной интрогрессии (Remington, 1968; Hewitt, 2001; Salojärvi et al., 2017), которой на территории Фенноскандии отводится особая роль, поскольку “чистых” популяций (то есть популяций без примеси представителей других близкородственных видов) здесь почти не осталось. Попутно заметим, что широко распространенные виды — *B. pendula* и *B. pubescens* Ehrh. — также весьма близки друг другу, а выявляемые между ними различия не столь велики и носят преимущественно количественный характер. Это говорит не только об их филогенетической близости, но и о принципиальной возможности гибридизации между ними (что и подтверждается многочисленными фактами, зафиксированными в естественных условиях) (Цвелев, 2002; Коропачинский, 2013; Маслов и др., 2019; Hagman, 1971; Thórsson et al., 2001; Thomson et al., 2015 и др.). Признаком гибридного происхождения карельской березы может выступать также и сам факт появления в ее семенном потомстве особей с признаками, характерными для березы повислой или березы пушистой.

Таким образом, среди основных факторов и условий, предопределивших когда-то появление карельской березы исключительно на территории стран Балтийского региона, согласно нашей гипотезе следует считать, с одной стороны, совместное произрастание здесь разных видов березы (широко распространенных в настоящее время — березы пушистой *B. pubescens*, березы повислой *B. pendula*, а также их форм и гибридов; ранее — березы карликовой *B. nana* L., березы приземистой, или низкой *B. humilis* Schrank, возможно, и других видов, которых уже нет) (Howland et al., 1995), а с другой, — нестабильность природно-климатических условий, которая может повлечь в отдельные годы устранение фенологической изоляции, обычно существующей между этими видами, и способствовать тем самым их гибридизации, в результате которой могли возникнуть, а затем закрепиться определенные количественные и качественные изменения ряда морфологических и физиологических признаков и свойств. Скорее всего, именно высокая генетическая полиморфность представителей рода *Betula* в зонах вторичной интрогрессии и адаптивный характер ряда анатомо-морфологических и физиолого-биохимических признаков, сформировавшихся в этих специфических природно-климатических условиях, позволили ей закрепиться на данной территории.

Установить точное время таких макроэволюционных преобразований пока не удастся. Но по-

нятно, что карельская береза не могла появиться и сохраниться на тех территориях, где отсутствовали соответствующие генотипы и гаплотипы березы или усилилась континентальность климата. Именно в силу этих причин ареал карельской березы располагается исключительно на территории стран Балтийского региона (Ветчинникова, Титов, 2016, 2020в).

Следует также добавить, что появление карельской березы в результате гибридизации (интрогрессии) на современном этапе вряд ли возможно, поскольку за период не менее чем 500 лет ее существования произошли не только серьезные природно-климатические изменения, но и значительно трансформировалась генетическая структура ее популяций, в которых, по-видимому, уже отсутствуют те генотипы и гаплотипы, которые могли быть ее прародителями. У всех изученных видов рода *Betula* сохраняется значительное генетическое родство (Маслов, 2021; Järvinen et al., 2004; Wang et al., 2016; Jadwiszczak et al., 2020), что говорит о весьма вероятном их происхождении от общего предка.

ПРИЧИНЫ И МЕХАНИЗМЫ ОБРАЗОВАНИЯ УЗОРЧАТОЙ ТЕКСТУРЫ В ДРЕВЕСИНЕ КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ

Накопленные к настоящему моменту данные о механизмах формирования узорчатой текстуры в древесине карельской березы можно для удобства сгруппировать в соответствии с четырьмя наиболее известными гипотезами: **патогенной (инфекционной)**, связанной с какими-то (неустановленными) бактериями или вирусами (Сакс, Бандер, 1975; Коровин и др., 2003; Исаков и др., 2011); **анатомо-морфологической**, связанной со структурно-функциональными изменениями в работе камбия (Любавская, 1978; Погиба, 2011; Щетинкин, Щетинкина, 2018 и др.); **физиолого-биохимической**, связанной с изменением уровня фитогормонов, обеспечивающих эндогенный контроль роста и дифференциации тканей (Косиченко, Щетинкин, 1987), или содержания транспортной формы сахарозы, которая локализуется в проводящей флоэме ствола и обладает морфогенетическим эффектом (Новицкая, 2008), или с изменением в соотношении активностей сахарозосинтазы и апопластной инвертазы в сторону последней (Галибина и др., 2015а, 2015б и др.) и **генетической**, согласно которой появление узорчатой текстуры в древесине обусловлено действием комплекса генетических факторов, а наследование данного признака осуществляется за счет серии множественных аллелей в одном локусе или несколькими генами, расположенными в разных локусах (Любавская, 1978; Романовский, 1986; Kärkkäinen et al., 2017 и др.). Однако выбор и пред-

почтение одной из них позволят сделать лишь будущие исследования.

Новые возможности в этом плане открываются с развитием молекулярной биологии и ее методов. Так, в ряде стран уже ведутся геномные исследования карельской березы, хотя имеющиеся публикации пока единичны (Баранов и др., 2019; Jadwiszczak et al., 2020). Тем не менее известно, что при изучении хлоропластного генома не удалось обнаружить наличие существенных различий между карельской березой и березой повислой (Кирьянов и др., 2019; Баранов и др., 2019). Очевидно, для их выявления и установления особенностей наследования уникальных признаков карельской березы необходимо изучать ядерную ДНК (Ветчинникова, Титов, 2016; Баранов и др., 2016).

Отметим, что недавно с помощью ПЦР-анализа получены данные о том, что дифференциация производных камбия в зонах нахождения узорчатой древесины сопровождается снижением уровня экспрессии генов *VND6*, *VND7* и увеличением уровня экспрессии гена *APL*, которые кодируют транскрипционные факторы, участвующие в регуляции развития и дифференцировки клеток ксилемы и флоэмы соответственно (Галибина и др., 2019). В другой работе дифференциацию клеток ксилемы у карельской березы эти же авторы связывают с накоплением ауксина и повышенным уровнем транскрипции гена *PIN3*, который способен регулировать латеральный транспорт гормона (Novitskaya et al., 2020). Совсем недавно они обратили внимание на работу сигнальной системы *CLE41-PXY* и гена, контролирующего деление клеток сосудистого камбия *WOX4*, подчеркивая, что их пролиферация и дифференцировка осуществляется под генетическим контролем (Galibina et al., 2022).

Резюмируя изложенное выше, можно заключить, что существующие к настоящему времени гипотезы не позволяют пока в полной мере раскрыть причины и механизмы образования узорчатой текстуры в ее древесине. Однако накапливается все больше данных, свидетельствующих в пользу молекулярно-генетического подхода как наиболее перспективного в решении этого вопроса.

ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ СТАТУС КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ

Вопрос о том, считать ли карельскую березу самостоятельным видом или разновидностью, не столь прост, как возможно кажется на первый взгляд. Впервые карельская береза получила латинское название в ранге разновидности *Betula alba* L. var. *carelica* Mercklin в 1857 году (Мерклин, 1857) и несмотря на отсутствие морфологического описания оно оказалось в современной таксономии приоритетным — *Betula pendula* Roth var.

carelica (Mercklin) Hämet-Ahti (Hämet-Ahti, 1992), хотя многие авторы (Любавская, 1975; Ермаков, 1986; Побирушко, 1992 и др.) неоднократно высказывались в пользу ее выделения в качестве самостоятельного вида.

Расхождение мнений относительно таксономического статуса карельской березы сохранилось до сих пор. Заметим, что в дискуссии о систематическом положении карельской березы, которая активно велась в течение XX в., была упущена важная деталь о том, что сам К.Е. Мерклин (1857), давая латинское название карельской березе, подчеркнул ее обособленность от других видов березы, в том числе и от березы повислой и березы пушистой. Отметим также и тот факт, что в середине XVIII в. древовидные белокорые березы, согласно К. Линнею, считались одним видом — березой белой *Betula alba* L. Принятию решения о самостоятельном таксономическом статусе карельской березы долгое время препятствовало и то обстоятельство, что после разделения *B. alba* на два вида — *B. verrucosa* Ehrh. (pro syn. *B. pendula* Roth) и *B. pubescens* Ehrh. большинство авторов стали считать карельскую березу разновидностью березы повислой, хотя некоторые находили ее внешнее сходство и с березой пушистой (Любавская, 1978; Hintikka, 1922; Sarvas, 1966 и др.). Но главной причиной, которая в XX в. сдерживала решение вопроса о видовом статусе карельской березы, было отсутствие у исследователей полной уверенности в ее генетическом происхождении и устойчивом наследовании в поколениях отличительных свойств, прежде всего узорчатой текстуры древесины, поскольку в ее потомстве при свободном опылении часто встречаются особи с обычной древесиной.

Накопленные к настоящему моменту данные позволили нам вернуться к вопросу о таксономическом статусе и систематическом положении карельской березы. На их основе и в соответствии с общепринятыми критериями вида (морфологическим, биохимическим, генетическим, репродуктивным, географическим и экологическим) были проанализированы многочисленные факты и наблюдения, которые, по нашему мнению, свидетельствуют о соответствии карельской березы таксономическому рангу вида (Ветчинникова, Титов, 2020г).

Следовательно, биологические особенности карельской березы — уникальные анатомо-морфологические свойства древесины; хорошо выраженный полиморфизм по форме роста и типу поверхности ствола; наличие определенной экологической ниши и локальный, но четко выраженный дизъюнктивный ареал; наличие миксоплоидии, собственной гибридам, а главное, устойчивое наследование признаков узорчатой текстуры в древесине при вегетативном размножении и семенами (полученными от контролируемого опыления) — указывают не только на ее очевидную генетиче-

скую обособленность, но и, что в данном случае еще более важно, на соответствие общепринятым критериям вида (Ветчинникова, Титов, 2019, 2020в). А появление безузорчатых особей в потомстве карельской березы при ее свободном опылении, является лишь дополнительным подтверждением ее гибридного происхождения. Укажем, что признание карельской березы в качестве самостоятельного биологического вида важно не только с научной точки зрения, но и имеет определенное природоохранное значение, так как существующие ныне международные и национальные природоохранные документы, и нормативно-правовые акты ориентированы только на животные и растительные организмы, имеющие видовой статус (Convention..., 1992).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последние два–три десятилетия исследования карельской березы значительно продвинулись вперед, заметно расширив и углубив наши знания об этом уникальном биологическом объекте. Поэтому сегодня с большой долей уверенности можно утверждать, что карельская береза обладает отчетливо выраженной генетической обособленностью и является особым направлением в эволюции представителей рода *Betula*. Ее ареал располагается исключительно на северо-западе континентальной Европы и соответствует определенным местообитаниям (которые во многих случаях являются непригодными для других древесных видов из-за низкого плодородия почвы). При этом узорчатая древесина, которая по сути является не только главным отличительным признаком карельской березы, но и ее высокоценным свойством, устойчиво наследуется в семенном потомстве (при контролируемом опылении) и сохраняется при вегетативном размножении как в естественных популяциях, так и в искусственно созданных насаждениях, а также при ее интродукции и реинтродукции. Отсюда следует, что признак “узорчатая древесина” детерминирован генетически, хотя пока и остается открытым вопрос об особенностях его наследования, требующий проведения новых исследований.

Согласно эколого-генетической гипотезе происхождения карельской березы, как самостоятельная форма она выделилась в условиях так называемого Малого ледникового периода (под влиянием резко изменившихся свето-температурных условий), а ее географическая приуроченность связана с наличием зон вторичной интродукции, в частности на территории Фенноскандии, где в результате межвидовой гибридизации могли появиться и закрепиться в процессе эволюции необычные генотипы и гаплотипы.

Важно, что в результате эволюционных изменений карельская береза оказалась в числе расте-

ний, наиболее приспособленных к определенным местообитаниям, неподходящим для других древесных пород. Так, полиморфизм по форме роста способствовал расширению ее экологической ниши, в которой она чаще всего встречается, а узорчатая древесина — усилению механической функции ствола деревьев и появлению возможности накопления (а при необходимости быстрой мобилизации) большего количества запасных веществ.

К сожалению, повышенный интерес к использованию узорчатой древесины в хозяйственных целях и длительный период активной эксплуатации (зачастую бесконтрольной) сыграли для карельской березы отрицательную роль, так как стали основной причиной значительного сокращения ее ресурсов, поставив ее во многих странах, включая Россию, на грань исчезновения. Следствием этого стало существенное ухудшение генофонда карельской березы, уменьшение естественного ареала и изменение его границ.

Подытоживая, следует сказать, что за последние 2–3 десятилетия наши знания о природе и особенностях карельской березы как биологического объекта существенно пополнились. Однако по-прежнему остаются нерешенными два крайне важных вопроса: (а) происхождение карельской березы и (б) причины и механизмы образования узорчатой текстуры в ее древесине. Ответы на них важны прежде всего в теоретическом отношении. В практическом плане они способны помочь поиску подходов к решению проблемы сохранения генофонда карельской березы, а в перспективе и его расширенного воспроизводства. Кроме того, они будут полезны в случае создания плантаций карельской березы и ее хозяйственного использования, в том числе в промышленных масштабах. Наконец, следует вернуться к дискуссии о таксономическом статусе карельской березы и поставить в этом вопросе окончательную точку, так как помимо прочего это может иметь положительный природоохранный эффект.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа осуществлялась при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 22-16-00096.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Байбурина Р.К. Микрклональное размножение взрослых гибридов березы карельской в культуре тканей // Раст. ресурсы. 1998. Т. 34. Вып. 2. С. 9–22.
- Баранов О.Ю., Балюцкас В.М. Использование молекулярно-генетических маркеров для анализа плоидности осины и березы // Пробл. лесовед. и лесовод. 2009. Вып. 69. С. 129–135.
- Баранов О.Ю., Каган Д.И., Падутов В.Е. Оценка влияния различных факторов на формирование генетической структуры и уровень генетической изменчивости популяций лесных древесных видов // Мол. и прикл. генетика. 2016. Т. 20. С. 5–14.
- Баранов О.Ю., Кирьянов П.С., Пантелеев С.В. и др. Анализ структурно-функциональной организации хлоропластного генома карельской березы на основании данных высокопроизводительного секвенирования // Докл. НАН Беларуси. 2019. Т. 63. № 3. С. 312–316.
- Буторина А.К. Цитогенетика хозяйственно-ценных форм карельской березы // Генетика. 1985. Т. 21. № 7. С. 1192–1198.
- Ветчинникова Л.В. Карельская береза и другие редкие представители рода *Betula* L. М: Наука, 2005. 269 с.
- Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф. Происхождение карельской березы: эколого-генетическая гипотеза // Экол. генетика. 2016. Т. 14. № 2. С. 3–18.
- Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф. Карельская береза в заказниках Республики Карелия: история, современное состояние и проблемы // Ботан. журн. 2018. Т. 103. № 2. С. 256–265.
- Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф. Карельская береза — уникальный биологический объект // Успехи соврем. биол. 2019. Т. 139. № 5. С. 419–433.
- Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф. Современное состояние ресурсов *Betula pendula* var. *carelica* (Betulaceae) // Раст. ресурсы. 2020а. Т. 56. № 1. С. 16–33.
- Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф. Особенности структуры популяций карельской березы // Успехи соврем. биол. 2020б. Т. 140. № 6. С. 601–615.
- Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф. О границах ареала карельской березы // Изв. вузов. Лесн. журн. 2020в. № 6. С. 9–21.
- Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф. Карельская береза: новизна или самостоятельный вид? // Изв. вузов. Лесн. журн. 2020г. № 1. С. 26–48.
- Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф. Интродукция карельской березы // Успехи соврем. биологии. 2021. Т. 141. № 3. С. 296–309.
- Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф. Реинтродукция карельской березы // Изв. вузов. Лесн. журн. 2022. № 3. С. 9–31.
- Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф., Кузнецова Т.Ю. Карельская береза: биологические особенности, динамика ресурсов и воспроизводство. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2013. 312 с.
- Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф., Топчиева Л.В. Изучение генетического разнообразия и дифференциации северных и южной популяций карельской березы // Генетика. 2021. Т. 57. № 4. С. 412–419.
- Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф., Топчиева Л.В., Рендаков Н.Л. Оценка генетического разнообразия популяций карельской березы в Карелии с помощью микросателлитных маркеров // Экол. генетика. 2012. Т. 10. Вып. 1. С. 34–37.
- Галибина Н.А., Новицкая Л.Л., Красавина М.С., Мощенская Ю.Л. Активность сахарозосинтазы в тканях ствола карельской березы в период камбиального роста // Физиол. раст. 2015а. Т. 62. № 3. С. 410–419.
- Галибина Н.А., Новицкая Л.Л., Красавина М.С., Мощенская Ю.Л. Активность инвертазы в тканях ствола карельской березы // Физиол. раст. 2015б. Т. 62. № 6. С. 804–813.
- Галибина Н.А., Новицкая Л.Л., Никерова К.М. и др. Регуляция активности апопластной инвертазы в камбиальной зоне карельской березы // Онтогенез. 2019. Т. 50. № 1. С. 53–64.
- Ермаков В.И. Механизмы адаптации березы к условиям Севера. Л.: Наука, 1986. 144 с.
- Исаков Ю.Н., Соустова Н.М., Исаков И.Ю. Интеграционно-эпигенетическое происхождение карельской березы: гипотеза и факты // Структурные и функциональные отклонения от нормального роста и развития растений под воздействием факторов среды / Мат. междунар. конф. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2011. С. 98–103.
- Казанцева Е.В., Васильев С.Б. Карельская береза как один из перспективных видов для лесной рекультивации нарушенных земель // Вестн. МГУЛ. Лесн. вестн. 2006. № 5 (47). С. 95–99.
- Кирьянов П.С., Баранов О.Ю., Маслов А.А., Падутов А.В. Молекулярно-генетические подходы к идентификации межвидовых и внутривидовых гибридов берез Восточно-Европейского региона // Мол. и прикл. генетика. 2019. Т. 26. С. 45–55.
- Коллекция *in vitro* клонов редких растений семейства Betulaceae. 2016. <http://www.ckrp-rf.ru/usu/465691/>
- Коновалов В.В., Махрова Т.Г., Романовский М.Г. Ивантеевские культуры карельской березы // Вестн. МГУЛ. Лесн. вестн. 2016. № 1. С. 129–139.
- Коровин В.В., Новицкая Л.Л., Курносоев Г.А. Структурные аномалии стебля древесных растений. М.: МГУЛ, 2003. 280 с.
- Коропачинский И.Ю. Естественная гибридизация и проблемы систематики берез Северной Азии // Сиб. лесн. журн. 2013. № 4. С. 459–479.
- Косиченко Н.Е., Щетинкин С.В. Анатомическое строение искусственно индуцированной узорчатой древесины березы // Мат. I Всесоюз. совещ. по экологической анатомии растений. Ташкент, 1987. С. 122–124.
- Костина Е.Э., Крышень А.М., Геникова Н.В. Анализ видового состава сосудистых растений на отвалах и карьерах на территории Республики Карелия // Ботан. журн. 2021. Т. 106. № 12. С. 1147–1166.
- Красная книга Владимирской области. Владимир: Транзит-ИКС, 2010. С. 95.
- Красная книга Карелии: редкие и нуждающиеся в охране растения и животные. Петрозаводск: Карелия, 1985. С. 77.
- Красная книга Республики Карелия. Петрозаводск: Карелия, 2007. С. 45–46.

- Красная книга Республики Карелия. Белгород: КОН-СТАНТА, 2020. С. 86–87.
- Литвак П.В., Евдокимов А.П. Опыт культур карельской березы в условиях Украинского Полесья // Изв. вузов. Лесн. журн. 1977. № 5. С. 149–151.
- Любавская А.Я. Карельская береза и ее место в системе рода *Betula* // Закономерности внутривидовой изменчивости лиственных древесных пород. Свердловск: УНЦ РАН, 1975. С. 111–114.
- Любавская А.Я. Карельская береза. М.: Лесн. пром., 1978. 158 с.
- Маслов А.А. Разграничение видов березы по форме листьев: сравнение дискриминантных методов // Лесоведение. 2021. № 53. С. 523–530.
- Маслов А.А., Баранов, Сири А.А. Идентификация видов берез в заболоченных лесах центра Русской равнины по результатам молекулярно-генетического анализа // Лесоведение. 2019. № 3. С. 177–187.
- Машикина О.С., Буторина А.К., Табацкая Т.М. Карельская береза (*Betula pendula* Roth var. *carelica* Merkl.) как модель для изучения генетической и эпигенетической изменчивости при формировании узорчатой древесины // Генетика. 2011. Т. 47. № 8. С. 1073–1080.
- Мерклин К. Анатомия коры и древесины стебля разных лѣсных деревьев и кустарниковъ Россіи. Санкт Петербургъ: Типографія Якова Трея, 1857. 101 с.
- Молотков П.И. Проявление признаков “кареловости” у березы при выращивании ее в районе г. Харькова // Лесоводство и агролесомелиорация. Киев: Урожай, 1984. Вып. 69. С. 21–23.
- Никитина О.А. Коллективизация и раскулачивание в Карелии: Автореф. дис. ... канд. ист. наук. М.: Ин-т Рос. истории, 1993. 21 с.
- Новицкая Л.Л. Карельская береза: механизмы роста и развития структурных аномалий. Петрозаводск: Verso, 2008. 144 с.
- Особо охраняемые природные территории Республики Карелия. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2017. 432 с.
- Побирушко В.Ф. Распространение и изменчивость березы карельской в Беларуси // Ботаника. Минск: Навука і тэхніка, 1992. Вып. 31. С. 31–39.
- Погиба С.П. Полиморфизм жизненных форм карельской березы в свете теории соматической эволюции // Структурные и функциональные отклонения от нормального роста и развития растений под воздействием факторов среды / Мат. междунар. конф. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2011. С. 245–249.
- Романовский М.Г. Статистический подход к описанию полиморфизма карельской березы // Генетика. 1986. Т. 22. № 1. С. 86–94.
- Сакс К.А., Бандер В.Л. Опыт по выращиванию карельской березы в Латвийской ССР // Лесная генетика, селекция и семеноводство. Петрозаводск: Карелия, 1970. С. 294–300.
- Сакс К.А., Бандер В.Л. Новые данные о происхождении карельской березы // Закономерности внутривидовой изменчивости лиственных древесных пород. Свердловск: УНЦ РАН, 1975. С. 91–97.
- Сельговые ландшафты Заонежского полуострова: природные особенности, история освоения и сохранение. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2013. 180 с.
- Соколов Н.О. Карельская береза. Петрозаводск: Гос. изд. Карело-Финской ССР, 1950. 116 с.
- Соколов А.И. Повышение ресурсного потенциала таежных лесов лесокультурным методом. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2016. 178 с.
- Табацкая Т.М., Бутова Г.П., Машикина О.С. Объект № 95. Опытные плантационные культуры хозяйственно ценных форм карельской березы, созданные на основе технологии *in vitro* // Опытно-производственные селекционно-семеноводческие объекты НИИЛГиС. Т. 2. Воронеж: НИИЛГиС, 2004. С. 171.
- Федулова Т.П., Исаков Ю.Н., Корчагин О.М. и др. Молекулярно-генетическая дифференциация генотипов березы на основе полиморфизма SSR-маркеров // Лесотехн. журн. 2017. Т. 7. № 4. Р. 6–16.
- Цвелев Н.Н. О родах *Betula* L. и *Alnus* Mill (Betulaceae) в Восточной Европе // Новости систематики высших растений. 2002. Т. 34. С. 47–73.
- Щетинкин С.В., Щетинкина Н.А. К формированию узорчатой древесины карельской березы // Актуальные проблемы лесного комплекса // Сб. науч. тр. / Ред. Е.А. Памфилов. Вып. 51. Брянск: БГИТУ, 2018. С. 180–186.
- Щурова М.Л. Будущее карельской березы в Карелии // Лесн. вестник. 2006. № 5. С. 64.
- Convention on Biological Diversity. Rio de Janeiro: United Nations, 1992. 28 p.
- Galibina N.A.; Moshchenskaya Y.L.; Tarelkina T.V. et al. Changes in the activity of the *CLE41/PXY/WOX* signaling pathway in the birch cambial zone under different xylogenesis patterns // Plants. 2022. V. 11. № 1727.
- Hagman M. On self- and cross-incompatibility shown by *Betula verrucosa* Ehrh. and *Betula pubescens* Ehrh. // Communicationes Instituti Forestalis Fenniae, 1971. V. 73 (6). P. 1–125.
- Haggvist R., Mikkola A. Visakoivun kasvatus ja käyttö. Metsäkustannus Oy, 2008. 168 s.
- Hämet-Ahti L., Palmén A., Alanko P., Tigerstedt P.V.A. Suomen puu- ja pensaskasvio [Woody Flora of Finland]. Helsinki, Dendrologian Seura, 1992. 373 p.
- Hejtmánek J. *Betula pendula* var. *carelica* Sokolov v Československu // Preslia. 1957. V. 29. P. 264–268.
- Hewitt G.M. Speciation, hybrid zones and phylogeography – on seeing genes in space and time // Mol. Ecol. 2001. V. 10. P. 537–549.
- Hintikka T.J. Die “Wisa” – Krankheit der Birken in Finnland // Zeitschrift für Pflanzenernährung. 1922. B. 32. № 5/6. S. 193–210.
- Howland D.E., Oliver R.P., Davy A.J. Morphological and molecular variation in natural populations of *Betula* // New phytologist. 1995. V. 130. Iss. 1. P. 117–124.
- Jadwiszczak K.A., Vetchinnikova L.V., Bona A. et al. Analyses of molecular markers and leaf morphology of two rare birches, *Betula obscura* and *B. pendula* var. *carelica* // Ann. Forest Res. 2020. V. 63. № 2. P. 121–137.
- Järvinen P., Palmé A., Morales L.O. et al. Phylogenetic relationships of *Betula* species (Betulaceae) based on nuclear *ADH* and chloroplast *matK* sequences // Am. J. Bot. 2004. V. 9. № 11. P. 1834–1845.

- Johnsson H. Genetic characteristics of *Betula verrucosa* Ehrh. and *Betula pubescens* Ehrh. // Anal. Sumarstvo. 1974. № 4. P. 91–133.
- Kärkkäinen K., Viherä-Aarnio A., Vakkari P. et al. Simple inheritance of a complex trait: figured wood in curly birch is caused by one semi-dominant and lethal Mendelian factor? // Can. J. For. Res. 2017. V. 47. № 7. P. 991–995.
- Kosonen M., Leikola M., Hagqvist R. et al. Visakoivu. Curly Birch. Metsälehti Kustannus, 2004. 208 p.
- Lindquist B. Forstgenetik in der schwedischen Waldbaupraxis. Radebeul und Berlin: Neumann, 1954. 156 s.
- Naujoks G., Schneck V., Dietrich E. 30 Jahre In-vitro-Vermehrung der Braumnaser-Birke // AFZ-DerWald. 2017. B. 5. S. 32–35.
- Niemistö P., Viherä-Aarnio A., Velling P. et al. Koivun karvatus ja käyttö. Hämeenlinna: Karisto Oy, 2008. 254 p.
- Novitskaya L.L., Tarelkina T.V., Galibina N.A. et al. The formation of structural abnormalities in Karelian birch wood is associated with auxin inactivation and disrupted basipetal auxin transport // J. Plant Growth Regul. 2020. V. 39. P. 378–394.
- Paganová V. Analysis of inheritance and growth of curly birch progenies from controlled hybridisation and possibilities of their utilisation for timber production in agricultural landscape // Czech J. Genet. Plant Breed. 2004. V. 40. № 2. P. 51–62.
- Raulo J., Sirén G. Neljän visakoivikon päätehakkuun tuotos ja tuotto // Silva Fennica. 1978. V. 12. № 4. P. 245–252.
- Remington C. Suture-zones of hybrid interaction between recently joined biotas // Evol. Biol. 1968. V. 2. P. 321–428.
- Ruden T. Om valbjørk og endel andre unormale veddannelser hos bjørk // Medd. Foren. Det. Norske Skogforsøksv. 1954. B. 43. S. 451–505.
- Ryynänen L., Ryynänen M. Propagation of adult curly birch succeeds with tissue culture // Silva Fennica. 1986. V. 20. № 2. P. 139–147.
- Saarnio R. Viljeltyjen visakoivikoiden laatu ja kehitys Etelä-Suomessa // Folia Forestalia. 1976. № 263. P. 3–28.
- Saarnio R. Visakoivu – vuoden puu // Dendrologian seuran tiedotuksia. 1980. V. 11. № 1. P. 4–14.
- Salojärvi J., Smolander O.-P., Nieminen K. et al. Genome sequencing and population genomic analyses provide insights into the adaptive landscape of silver birch // Nat. Genet. 2017. V. 49. № 6. P. 904–912.
- Sarvas R. Visakoivikon perustaminen ja hoito // Metsätal. Aikakauslehti. 1966. V. 83. № 8. P. 331–333.
- Scholz E. Das Verbreitungsgebiet der Braumnaserbirke // Archiv für Forstwesen. 1963. B. 12. № 12. S. 1243–1253.
- Thomson A.M., Dick Ch.W., Pascoini A.L., Dayanandan S. Despite introgressive hybridization, North American birches (*Betula* spp.) maintain strong differentiation at nuclear microsatellite loci // Tree Genet. Genom. 2015. V. 11. № 101. P. 1–12.
- Thórsson Æ., Salmela E., Anamthawat-Jónsson K. Morphological, cytogenetic, and molecular evidence for introgressive hybridisation in birch // J. Heredity. 2001. V. 92. № 5. P. 404–408.
- Václav E. Rozšíření, stanovištní podmínky a růst svalcovité břízy (karelské) v Evropě // Sborník lesnické fakulty VŠZ v Praze. 1963. № 6. S. 217–237.
- Wang N., McAllister H.A., Bartlett P.R., Buggs R.J.A. Molecular phylogeny and genome size evolution of the genus *Betula* (Betulaceae) // Ann. Bot. 2016. V. 117. P. 1023–1035.

Curly Birch: Some Secrets Remain

L. V. Vetchinnikova^{a, c, *} and A. F. Titov^{b, c, **}

^aForest Research Institute, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia

^bInstitute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia

^cKirov Saint Petersburg State Forest Technical University, St. Petersburg, Russia

*e-mail: vetchin@krc.karelia.ru

**e-mail: titov@krc.karelia.ru

The article briefly recapitulates on and systematizes major results of the studies of curly (or Karelian) birch *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti, mainly from the past two or three decades. Its main biological characteristics are described. Facts regarding curly birch resources are provided; the important role of protected areas in conserving its gene pool is emphasized. Good experience of its introduction and re-introduction is demonstrated. The origin of curly birch, the process of figured grain formation in its wood and the question of its taxonomic status are touched upon. It is pointed out that our knowledge of the nature and characteristics of curly birch as a biological object has advanced substantially over the past two or three decades, but two essential questions remain unresolved: a) origin of the curly birch and b) causes and mechanisms of figured grain formation in its wood. Answers to these questions are of much interest both theoretically and for practical causes as they would help preserve the gene pool of curly birch and contribute to augmented reproduction of its resources.

Keywords: *Betula pendula* var. *carelica*, distinctive features, resources, introductions, distribution, origin, figured timber, taxonomic status