

ЭКОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА

ВЛИЯНИЕ УДАЛЕННОСТИ МЕСТА РОЖДЕНИЯ ПРЕДКОВ НА АКТИВНОСТЬ ЯДРЫШКООБРАЗУЮЩИХ РАЙОНОВ ХРОМОСОМ У ЧЕЛОВЕКА

И.В. Амелина

Курский институт социального образования (филиал) РГСУ
ул. К. Маркса, 51, Курск, Россия, 305029

Оценен полиморфизм активных ядрышкообразующих районов (ЯОР) хромосом в популяции коренных жителей Курской области в условиях изоляции расстоянием по методу серебрения ЯОР. Общий уровень функционального состояния ЯОР хромосом в Курской области оказался $19,46 \pm \pm 0,13$ у.е. при небольшом присутствии ЯОР с размерами 0 и 4 у.е. в условиях изоляции расстоянием. Обнаружена зависимость между расстоянием, разделяющим место рождения предков, и транскрипционной активностью ЯОР у обследуемых обоих полов.

Ключевые слова: ядрышкообразующие районы хромосом, Ag-полиморфизм, изоляция расстоянием, удаленность места рождения предков, коренные жители Курской области.

Отмечаемое в последние десятилетия интенсивное развитие цитологии во многом связано с изучением хромосомного аппарата, в том числе методом серебрения [4]. Внедрение в практику данной методики позволило безошибочно оценивать транскрипционную активность ядрышкообразующих районов (ЯОР) хромосом различных биологических объектов [8; 9]. Выяснено, что ЯОР хромосом у человека находятся в коротких плечах (вторичных перетяжках) пяти пар акроцентрических хромосом (13—15 и 21—22). В ЯОР локализуются рибосомные гены, представленные у человека множественными копиями (от 350 до 600 на диплоидный набор хромосом), которые в период интерфазы объединяются в одно или несколько ядрышек [6; 7] для активного синтеза рРНК. В качестве критерия активности ЯОР рассматривается суммарный размер AgЯОР десяти акроцентрических хромосом (10AgЯОР), выраженный в условных единицах (у.е.) [2]. Различия суммарных размеров 10AgЯОР, характеризующих количество активных ЯОР в клетке, служит основой для сравнения геномов отдельных индивидуумов по данному признаку (Ag-полиморфизм) [1; 6].

Несмотря на широкие исследования Ag-полиморфизма, встречается крайне мало работ, описывающих зависимость активности ЯОР от выраженности изоляции расстоянием в человеческой популяции.

Целью работы явилось изучение закономерностей проявления транскрипционной активности ЯОР в популяции, испытывающей изоляцию расстоянием.

Методика исследования. Материалом исследования послужила случайная выборка из 215 добровольцев, предки которых на протяжении не менее трех поколений проживали в Поньровском, Октябрьском и Курском районах Курской области. У обследованных из локтевой вены производился забор периферической крови, которую в последующем культивировали с приготовлением препаратов метафазных хромосом по общепринятой методике [3]. Клетки фиксировали в фиксаторе Карнуа (метанол + уксусная кислота) в соотношении 3 : 1 в течение трех и более часов. После приготовления препараты выдерживали при комнатной температуре для окраски нитратом серебра 7—14 дней. Транскрипционно активные ЯОР выявляли по методу [9] с помощью светового микроскопа «Биолам» (увеличение 10 × 90), подсчитывая в каждой анализируемой метафазной пластинке число окрашенных ЯОР.

Активность ЯОР определяли визуально по величине преципитата серебра индивидуальных акроцентрических хромосом по пятибалльной системе: 0 баллов — окраска отсутствует, данный ЯОР неактивен; 1 балл — слабая окраска, выпавшие зерна серебра на спутничных нитях уже ширины хроматиды; 2 балла — средняя окраска, зерна серебра соответствуют ширине хроматиды; 3 балла — интенсивная окраска, зерна серебра превышают по размерам ширину хроматиды; 4 балла — высокоинтенсивная окраска, зерна серебра, выпавшие на каждой хроматиде, значительно шире ее и слипаются вместе, образуя общий конгломерат.

Определяли суммарную интенсивность окраски серебром всех ЯОР хромосом метафазной пластинки путем деления суммы баллов интенсивности окраски во всех (в проведенном исследовании 20) метафазных пластинках делили на число исследованных метафаз.

В качестве популяционных характеристик изоляции расстоянием учитывалось расстояние (км) между местом рождения предков обследованных (родителей, бабушек и дедушек пробандов). В случае, когда предки происходили из одного населенного пункта, расстояние между ними приравнивалось к нулю.

Статистическая обработка материала проведена на ПВМ IBM PC/AT (486) с использованием программы GEN 1 и пакета прикладных программ. Для проверки статистических гипотез использовали параметрический критерий Стьюдента. Уровень значимости принимали равный $> 1,98$ [5].

Результаты исследования. Общая функциональная активность ЯОР хромосом среди коренных жителей Курской области составила $19,46 \pm 0,13$ у.е. При этом величина D-ЯОР оказалась $11,68 \pm 0,09$ у.е., G-ЯОР — $7,78 \pm 0,07$ у.е.

Анализ размеров ЯОР хромосом группы D показал, что в основном они были представлены хромосомами с активностью ЯОР равной 3, 2 и 1 у.е. при незначительном преобладании D-ЯОР с 1 у.е. ($33,8 \pm 1,32\%$). При анализе размеров ЯОР хромосом группы G выявлено, что они также были представлены в своей массе ЯОР 3, 2 и 1 у.е., но с преобладанием размера 3 у.е. ($42,0 \pm 1,86\%$).

С учетом суммарной активности ЯОР индивидуумы были подразделены на три группы: I группа с низким (15—17,99 у.е.) — 28%; II группа со средним (18—20,49 у.е.) — 40%; III группы с высоким ($> 20,5$ у.е.) количеством 10AgЯОР — 32%.

Выявлено, что по мере уменьшения расстояния между местом рождения предков в клетках обследуемых отмечалось увеличение количества ЯОР. Наиболь-

шие различия среди обследованных без деления по полу найдены между группами с низким и средним количеством 10AgЯОР (табл. 1) по расстоянию между местом рождения бабушек по линии матери и дедушек по отцу ($t = 33,75$), бабушек ($t = 32,74$) и бабушек и дедушек по линии матери ($t = 19,79$).

Таблица 1

Зависимость количества активных ЯОР хромосом среди коренных жителей Курской области ($n = 215$) от показателей изоляции расстоянием

Средние расстояния между местом рождения, км	Группа I, $n = 61$ $\bar{X}_1 \pm Sx$	Группа II, $n = 87$ $X_2 \pm Sx$	Группа III, $n = 67$ $X_3 \pm Sx$	Величина t при сравнении групп		
				I—II	II—III	I—III
Родителей	78,27 ± 1,97	45,98 ± 2,27	17,3 ± 1,40	15,23	15,59	36,08
Бабушки и дедушки по линии отца	5,48 ± 0,33	4,88 ± 0,26	1,13 ± 0,04	2,07	25,00	22,89
Бабушки и дедушки по линии матери	55,37 ± 2,40	15,19 ± 1,65	2,10 ± 0,08	19,79	15,05	42,96
Всех предков	32,11 ± 1,20	17,90 ± 0,83	7,51 ± 0,05	13,93	23,61	39,04
Бабушек	112,79 ± 3,80	35,20 ± 0,94	18,61 ± 0,39	32,74	24,76	44,85
Дедушек	74,62 ± 3,85	42,02 ± 1,86	30,27 ± 2,5	11,40	5,38	13,95
Бабушек по линии матери и дедушек по отцу	119,39 ± 4,07	34,66 ± 0,95	16,19 ± 2,7	33,75	10,09	30,44
Бабушек по линии отца и дедушек по линии матери	67,82 ± 3,56	42,59 ± 1,86	29,88 ± 2,5	9,31	5,83	12,52

Максимально выраженные различия между группами обследованных со средним и высоким количеством 10AgЯОР отмечены по расстояниям между местом рождения бабушек и дедушек по отцу ($t = 25,00$), бабушек ($t = 24,76$) и всех предков ($t = 23,61$).

Между группами обследуемых с низким и высоким количеством 10AgЯОР наиболее значительные различия наблюдались по расстоянию между местом рождения бабушек ($t = 44,85$), бабушек и дедушек по линии матери ($t = 42,96$), родителей ($t = 36,08$) и бабушек по линии матери и дедушек по линии отца ($t = 30,44$).

У женщин при уменьшении расстояния между местом рождения предков пробандов регистрировалось достоверное увеличение количества ЯОР (табл. 2).

Таблица 2

Зависимость количества активных ядрышкообразующих районов хромосом среди женщин — коренных жительниц Курской области от показателей изоляции расстоянием ($n = 150$)

Средние расстояния между местом рождения, км	Группа I, $n = 41$ $\bar{X}_1 \pm Sx$	Группа II, $n = 64$ $X_2 \pm Sx$	Группа III, $n = 45$ $X_3 \pm Sx$	Величина t при сравнении групп		
				I—II	II—III	I—III
Родителей	30,29 ± 1,97	25,23 ± 1,88	20,29 ± 1,36	1,97	2,46	2,41
Бабушки и дедушки по линии отца	4,37 ± 0,33	4,35 ± 0,22	1,27 ± 0,03	—	24,64	17,22
Бабушки и дедушки по линии матери	23,93 ± 2,40	16,93 ± 1,39	1,78 ± 0,07	3,70	20,75	17,86
Всех предков	14,11 ± 1,16	10,59 ± 0,70	1,54 ± 0,04	3,78	24,46	20,95
Бабушек	55,72 ± 3,80	16,43 ± 0,79	8,78 ± 0,38	17,16	12,97	22,46
Дедушек	54,84 ± 3,85	25,62 ± 1,57	8,63 ± 0,38	10,78	17,34	21,79
Бабушек по линии матери и дедушек по отцу	62,56 ± 4,07	15,91 ± 0,80	9,49 ± 0,39	19,12	10,7	23,79
Бабушек по линии отца и дедушек по линии матери	47,21 ± 3,63	26,10 ± 1,56	8,81 ± 0,38	8,58	17,82	19,20

Наибольшие различия между группами женщин с низким и средним количеством 10AgЯОР отмечены по расстоянию между местом рождения, бабушек по линии матери и дедушек по отцу ($t = 19,12$), бабушек ($t = 17,16$), дедушек ($t = 10,78$) и дедушек по линии матери и бабушек по отцу ($t = 8,58$).

При сравнении групп женщин со средним и высоким количеством 10AgЯОР наибольшие различия регистрировались по расстоянию между местом рождения бабушек и дедушек по отцу ($t = 24,64$), всех предков ($t = 24,46$) и матери ($t = 20,75$).

Максимальные различия между группами женщин с низким и высоким количеством 10AgЯОР наблюдались по расстояниям между местом рождения бабушек по линии матери и дедушек по отцу ($t = 23,79$), бабушек ($t = 22,46$), дедушек ($t = 21,79$) и всех предков ($t = 20,95$).

Сравнительный анализ у мужчин показал высокую степень различий между группами, имевшими различную активность ЯОР по всем показателям изоляции расстоянием. В мужской выборке также при уменьшении расстояния между местами рождений предков обследуемых наблюдалось увеличение количества ЯОР (табл. 3).

Таблица 3

Зависимость количества активных ядрышкообразующих районов хромосом среди мужчин – коренных жителей Курской области от показателей изоляции расстоянием (n = 65)

Средние расстояния между местом рождения, км	Группа I, n = 41 $\bar{X}_1 \pm Sx$	Группа II, n = 64 $X_2 \pm Sx$	Группа III, n = 45 $X_3 \pm Sx$	Величина t при сравнении групп		
				I—II	II—III	I—III
Родителей	159,65 ± 3,66	70,26 ± 2,86	39,97 ± 0,63	27,42	17,3	55,66
Бабушки и дедушки по линии отца	5,40 ± 0,73	4,10 ± 0,49	1,33 ± 0,12	2,13	9,23	9,46
Бабушки и дедушки по линии матери	10,05 ± 1,71	2,27 ± 0,06	3,71 ± 0,41	111,63	6,00	91,30
Всех предков	57,88 ± 0,98	3,18 ± 0,35	2,53 ± 0,21	81,64	2,32	92,35
Бабушек	190,70 ± 23,86	69,48 ± 8,68	26,39 ± 3,14	7,45	7,29	12,17
Дедушек	89,10 ± 13,47	66,34 ± 8,71	26,38 ± 3,14	2,05	6,74	5,74
Бабушек по линии матери и дедушек по отцу	194,15 ± 23,80	68,48 ± 8,68	27,72 ± 3,14	7,68	7,06	12,35
Бабушек по линии отца и дедушек по линии матери	86,75 ± 13,49	66,57 ± 8,71	25,06 ± 3,15	1,82	7,00	7,41

При сравнении групп мужчин с низким и средним количеством 10AgЯОР наиболее достоверные различия отмечены по расстоянию между местом рождения бабушек и дедушек по матери ($t = 111,63$) и родителей ($t = 27,42$).

Максимальные различия между группами обследованных мужского пола со средним и высоким количеством 10AgЯОР регистрировались по показателям расстояния между местом рождения бабушек и дедушек по отцу ($t = 9,23$), бабушек ($t = 7,29$), бабушек по линии матери и дедушек по отцу ($t = 7,06$), бабушек по отцу и дедушек по матери ($t = 7,00$).

Сравнение групп мужчин с низким и средним количеством 10AgЯОР выявило наиболее значимые различия по расстоянию между местом рождения бабушек и дедушек по матери ($t = 91,3$) и родителей ($t = 55,66$).

Обсуждение результатов. Широкие исследования зависимости активности ЯОР от условий обитания показали, что наибольшее количество ЯОР хромосом регистрируется в ходе приспособления к сложным условиям существования. При этом нарастание активности ЯОР во многом обуславливается снижением гетерохроматина в популяции, вызывающим изменения функциональной активности, в том числе рибосомных генов [2].

Считается, что отмечаемое в ходе эволюции уменьшение числа ЯОР в значительной мере связано с понижением энергетических затрат в специализированных клетках живых организмов [1]. Увеличение числа ЯОР можно связать с повышением устойчивости системы клетки к внешним воздействиям, рассматривая его как выход из эволюционного тупика, к которому ведет любая специализация.

В проведенном исследовании выявлены особенности Ag-полиморфизма жителей Курской области, испытывающих изоляцию расстоянием, заключающиеся в преобладании у хромосом группы D-ЯОР размера в 1 у.е., группы G — в 3 у.е. при малом количестве ЯОР с размерами 0 и 4 у.е. По мере увеличения расстояния между местами рождения предков двух поколений отмечалось уменьшение количества 10AgЯОР, что, видимо, может объясняться физиологической гетерохроматизацией части участков, кодирующих рибосомные гены. Вероятно, увеличение гетерохроматина в клетке вызывает инактивацию не только входящей в него ДНК, но и части расположенной около него рибосомной ДНК. В этих условиях может развиваться компенсаторная активация значительного числа разбросанных по геному и не выявляемых Ag-окрашиванием рибосомных генов, представленных иногда в отдельном локусе одной-двумя копиями и обычно находящихся в неактивном состоянии [1]. Возможно, усиление гетерохроматизации является толчком к активации этих рибосомных генов, начинающих в сложившихся условиях работать как ЯОР.

Выяснено, что при уменьшении расстояния между местами рождения предков двух поколений отмечается нарастание количества 10AgЯОР, что, видимо, обусловлено накоплением в популяции функционально активных аллелей рибосомных генов в ЯОР на фоне снижения гетерохроматинизации хромосом [6].

В группе со средним количеством 10AgЯОР показатели удаленности между местами рождения предков носили промежуточный характер, указывая на оптимальность процесса гетерохроматинизации ДНК в их клетках.

Таким образом, Ag-полиморфизм в человеческой популяции, испытывающей воздействие изоляции расстоянием, в значительной мере зависит от удаленности между местами рождений предков обследуемого.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. 2-е изд., перераб. и доп. — М.: Наука, 1989.
- [2] Викторов В.В., Егорова Н.А., Ляпунова Н.А. Сравнение Ag-вариантов ядрышкообразующих хромосом человека в популяциях Москвы и Забайкалья // Второй всесоюзный съезд медицинских генетиков: тезисы докладов. — М., 1990. — С.77—78.
- [3] Залетаева Т.А., Кулешов Н.П., Залетаев Д.В. и др. Современные методы хромосомного анализа в клинико-цитогенетических исследованиях: Российская мед. акад. последип. образ. — М.: Медицина, 1994.

- [4] Каралова Е.М., Аброян Л.О., Акопян Л.О. и др. Поведение ядер и ядрышкообразующих районов хромосом лимфоцитов на разных стадиях развития периодической болезни // *Цитология*. — 2004. — Т. 46. — № 4. — С. 376—380.
- [5] Лакин Г.Ф. Биометрия. — М.: Высшая школа, 1990.
- [6] Ляпунова Н.А. Полиморфизм ядрышкообразующих районов хромосом человека: структурные и функциональные аспекты // Второй всесоюзный съезд медицинских генетиков: Тезисы докладов. — М., 1990. — С. 537—538.
- [7] Ляпунова Н.А., Егорова Н.А., Кравец-Мандрон И.А. и др. Цитогенетика ядрышкообразующих районов (ЯОР) хромосом человека: выделение четырех морфофункциональных вариантов ЯОР, их межиндивидуальное и межхромосомное распределение // *Генетика*. — 1998. — № 9. — С. 1298—1306.
- [8] Hofgartner F.I., Schmid M., Krone M. Pattern of activity of nucleolus organizer during spermatogenesis in mammals as analyzed by silver-staining // *Chromosoma*. — 1979. — Vol. 71. — № 2. — P. 197—216.
- [9] Howell W.M. Visualization of ribosomal gene activity: silver stains proteins associated with rRNA transcribed from oocyte chromosomes // *Chromosome*. — 1977. — Vol. 62. — № 4.

INFLUENCE OF REMOTENESS OF THE BIRTHPLACES OF ANCESTORS ON ACTIVITY OF NUCLEUS ORGANIZING REGIONS AT THE PERSON

I.V. Amelina

Kursk Institute of Social Education (branch)
Russian State Social University
K. Marx str., 51, Kursk, Russia, 305029

Polymorphism active nucleus organizing regions (NOR) chromosomes in population of aboriginals of Kursk area in the conditions of isolation in distance on a silvering method NOR (Howell W.M is estimated., 1978). The general level of a functional condition nucleus organizing regions chromosomes in Kursk area has appeared $19,46 \pm 0,13$ c.u. at small presence NOR with the sizes 0 and 4 c.u. in the conditions of isolation of races-standings. Between the distance dividing the birthplaces of ancestors, and transcriptional activity NOR dependence is found out in surveyed both floors.

Key words: nucleus organizing regions chromosomes, Ag-polymorphism, isolation in distance, remoteness of the birthplaces of ancestors, aboriginals of Kursk area.