

СОДЕРЖАНИЕ

Том 141, номер 1, 2021

Взаимодействие катехоламинов с микроорганизмами, нейронами и с клетками иммунной системы <i>А. В. Олескин, Е. В. Сорокина, Г. А. Шиловский</i>	3
Роль эндогенных ретровирусов в процессе доместикиации <i>С. И. Алипкина, Д. С. Налобин, М. С. Краснов, А. А. Галиакберова, Д. В. Трошев, Д. В. Богуславский</i>	14
Тималин: применение для иммунокоррекции и молекулярные аспекты биологической активности <i>В. Х. Хавинсон, Н. С. Линькова, Н. И. Чалисова, О. М. Ивко</i>	25
Оценка эффективности седативных препаратов для коррекции токсического отека легких у лабораторных животных при интоксикации продуктами пиролиза фторопласта-4 <i>П. Г. Толкач, В. А. Башарин, С. В. Чепур, П. К. Потапов, Д. Т. Сизова, Ю. В. Димитриев</i>	32
Роль факторов врожденного и адаптивного иммунитета в формировании дифтерийного бактерионосительства <i>Г. Г. Харсеева, А. А. Алиева, Л. П. Алексеева, О. С. Чемисова, А. Л. Трухачев, С. Ю. Тюкавкина, А. В. Чепусова, О. И. Сылка</i>	40
Эволюционная история цветка Бобовых (Leguminosae) <i>А. А. Синюшин</i>	50
Наследование ITS рДНК у реципрокных гибридов плотвы <i>Rutilus rutilus</i> (L.) и леща <i>Abramis brama</i> (L.) в раннем онтогенезе <i>В. В. Столбунова, Ю. В. Кодухова</i>	66
Гипотеза о механизмах эволюционного процесса и его канализации на примере позвоночных животных. Часть I. Эволюция, связанная с высокой температурой тела <i>В. А. Черлин</i>	78

Contents

Vol. 141, No. 1, 2021

Interaction of Catecholamines with Microorganisms, Neurons and with the Cells of the Immune System <i>A. V. Oleskin, E. V. Sorokina, G. A. Shilovsky</i>	3
Role of Endogenic Retroviruses in the Domestication Process <i>S. I. Alipkina, D. S. Nalobin, M. S. Krasnov, A. A. Galiakberova, D. V. Troshev, D. V. Boguslavsky</i>	14
Thymalin: Application for Immunocorrection and Molecular Aspects of Biological Activity <i>V. Kh. Khavinson, N. S. Linkova, N. I. Chalisova, O. M. Ivko</i>	25
Evaluation of the Effectiveness of Sedative Medicals for the Correction of Toxic Pulmonary Edema during Intoxication Products of Pyrolysis of Fluoroplast-4 <i>P. G. Tolkach, V. A. Basharin, S. V. Chepur, P. K. Potapov, D. T. Sizova, Yu. V. Dimitriev</i>	32
The Role of Congenital and Adaptive Immunity Factors in the Formation of Diphtheria Bacteria <i>G. G. Kharseeva, A. A. Alieva, L. P. Alekseeva, O. S. Chemisova, A. L. Trukhachev, S. Yu. Tyukavkina, A. V. Chepusova, O. I. Sylka</i>	40
Evolutionary History of the Leguminous Flower <i>A. A. Sinjushin</i>	50
Inheritance of ITS DNA in Reciprocal Hybrids <i>Rutilus rutilus</i> (L.) and <i>Abramis brama</i> (L.) in Early Ontogenesis <i>V. V. Stolbunova, Y. V. Koduhova</i>	66
The Hypothesis on Mechanisms of the Evolutionary Process and Its Canalization on the Example of Vertebrate Animals. Part 1. Evolution Related to High Body Temperature <i>V. A. Cherlin</i>	78

УДК 579.0;579.6;612.8

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КАТЕХОЛАМИНОВ С МИКРООРГАНИЗМАМИ, НЕЙРОНАМИ И С КЛЕТКАМИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

© 2021 г. А. В. Олескин¹, Е. В. Сорокина^{1,*}, Г. А. Шиловский^{1,2}

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

²Институт проблем передачи информации РАН, Москва, Россия

*e-mail: evsorokina77@mail.ru

Поступила в редакцию 17.07.2020 г.

После доработки 09.08.2020 г.

Принята к публикации 10.08.2020 г.

Представлены современные данные о коммуникации клеток в бинарной системе организм хозяина — микробы. Создание микробных сообществ свойственно многим микроорганизмам. Эти сообщества напоминают многоклеточные организмы. В настоящее время ученые пришли к выводу, что внутри сообщества клетки не только общаются друг с другом, но дифференцируются в этом надклеточном организме. Данные литературы и собственных исследований авторов свидетельствуют о важной роли катехоламинов (биогенных аминов) как во внутри- и межвидовой микробной коммуникации, так и в диалоге микробиота—хозяин. Обсуждается значение этого диалога для поддержания различных физиологических и психофизиологических процессов, а также возможность создания новых лекарственных препаратов с направленным нейрхимическим воздействием.

Ключевые слова: нейромедиаторы, катехоламины, серотонин, дофамин, норадреналин, адреналин, коммуникация микроорганизмов

DOI: 10.31857/S004213242101021X

ВВЕДЕНИЕ

Катехоламины (дофамин, норадреналин, адреналин) являются производными аминокислоты тирозина, гидроксилирование которой дает дигидроксифенилаланин (ДОФА). ДОФА — непосредственный предшественник катехоламинов. В организме позвоночных катехоламины в основном вырабатываются клетками мозгового слоя надпочечников и аксонами симпатической нервной системы, отвечающей за ответ организма на стресс; они образуются также в мозгу. Значительные концентрации катехоламинов характерны для ЖКТ; например, около 50% дофамина, содержащегося в организме человека, находится в кишечнике (Liang et al., 2018). Нейромедиаторная функция установлена для дофамина и норадреналина и сомнительна в случае адреналина (Болдырев и др., 2010).

Катехоламины распространены и выполняют важные функции у беспозвоночных, в частности у насекомых (Грицай, 2017), у растений (Roshchina, 2010; Kulma, Szora, 2007), у различных одноклеточных организмов (Roshchina, 2010). Интересно, что, например, у растений, катехоламины выделяются, как и у высших животных, в ответ на стресс: стрессированные томаты (при холодовом стрессе) значимо увеличивают продукцию ка-

техоламинов (Lyte, 2014). В последние годы накопилось значительное количество данных, что катехоламины также способны существенно влиять на физиологию и жизнеспособность различных прокариотических организмов и модулировать иммунные реакции в организме человека.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КАТЕХОЛАМИНОВ С МИКРООРГАНИЗМАМИ

В литературе накоплен значительный массив данных (Freestone et al., 2007) о стимулирующем эффекте катехоламинов на рост различных микроорганизмов. Повышение уровня норадреналина в организме мыши путем разрушения содержащих норадреналин окончаний симпатических нервов с помощью нейротоксина 6-гидроксидофамина примерно в 10 тыс. раз увеличивало количество клеток *E. coli* в слепой кишке мыши. Предварительная обработка *in vitro* клеток *Salmonella enterica* var. *typhimurium* норадреналином повышала скорость размножения этого патогена в различных тканях экспериментально инфицированных свиней (Verbrugge et al., 2012).

Такие факты объясняют, почему холодовой стресс у мышей, сопровождающийся выбросом катехоламинов в кровяное русло, так же, как и

введение им норадrenalина (Williams et al., 2006), увеличивает частоту возникновения у них сальмонеллезной инфекции. Описаны случаи гангрены и молниеносного сепсиса со смертельным исходом у больных крапивницей, которым назначали адреналин, причем применяли недостаточно простерилизованные многоразовые шприцы, где могли накапливаться споры *Clostridium perfringens* (Lyte, 2011, 2014).

Интересно, что норадrenalин и адреналин повышают чувствительность также и растений к бактериальным и грибным инфекциям (Lyte, 2014).

Стимуляция катехоламинами роста бактерий в тканях организма-хозяина может быть обусловлена как прямым, так и опосредованным действием этих соединений на микроорганизмы. Норадrenalин и другие катехоламины способны подавлять синтез и экскрецию иммуноглобулина А, а также миграцию фагоцитов к очагу инфекции, что снижает антимикробную эффективность локальной иммунной системы (Lyte, 2014). Катехоламины, стимулируя выделение желчи и ускоряя транспорт ионов через эпителий слизистой кишечника, создают такие физико-химические условия в пищеварительном тракте, которые стимулируют рост отдельных представителей кишечной микробиоты, например бактерий рода *Bacteroides* (Verbrugghe et al., 2012).

Прямое стимулирующее действие катехоламинов на рост микроорганизмов продемонстрировано на примере различных патогенных, оппортунистических и сапротрофных бактерий: *Yersinia enterocolitica*, энтеротоксических, энтерогеморрагических штаммах *E. coli*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Pseudomonas aeruginosa* (Freestone et al., 2007), *Bordetella pertussis*, *B. bronchiseptica* (Freestone, Lyte, 2008), *Aeromonas hydrophila* (Kinney et al., 1999), *Helicobacter pylori*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae* (Шпаков, 2009), *Listeria monocytogenes* (Verbrugghe et al., 2012), *Campylobacter jejuni*, *Borrelia burgdorferi*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*, симбиотических штаммах *E. coli* (Анучин и др., 2008; Freestone et al., 2007), а также дрожжах *Saccharomyces cerevisiae* (Маликина и др., 2010; Oleskin et al., 2010). У *C. jejuni*, которая растет в микроаэрофильных условиях (при наличии в газовой смеси кислорода в более низких, чем в атмосферном воздухе, концентрациях), норадrenalин, помимо ускорения роста, вызывает способность расти при полном отсутствии кислорода (Lyte, 2014).

Все катехоламины обуславливали стимуляцию роста (судя по нарастанию оптической плотности культуры и числу колониеобразующих единиц) пробиотика *Lactobacillus acidophilus* НК-1 и его биохимической активности (снижения рН среды в результате образования органических кислот).

Дофамин также стимулировал рост и антибактериальную активность всех тестированных штаммов (К-205, К-729, К-194, F-116) пробиотика *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, в то время как другие испытанные амины (адреналин и серотонин) оказывали стимуляторное действие только на один из этих штаммов – К-194 (Vodolazov et al., 2018).

Дофамин в низких концентрациях стимулировал, а в высоких – ингибировал свечение (биолюминесценцию) штамма *E. coli* TGI с встроенным люциферазным *lux*-геном из *Photobacterium luminescens* ZMI. Норадrenalин ингибировал свечение при всех испытанных концентрациях. Эта биолюминесценция рассматривается как интегральная характеристика физиологического состояния клеток *E. coli* (Oleskin et al., 2017b).

Катехоламины в высоких концентрациях способны оказывать цитотоксическое действие, что связывают с возможностью индукции ими оксидативного стресса. Так, миллимолярные концентрации дофамина (а также 6-гидроксидофамина) не только подавляли рост дрожжей (*S. cerevisiae*, *Pichia pastoris*, *Candida albicans* и др.), но и убивали их. Добавление в среду культивирования антиоксидантов (аскорбата и глутатиона) ослабляло ингибирующее и токсическое действие дофамина (Macreadie et al., 2010).

Катехоламины усиливают адгезию микроорганизмов ЖКТ к слизистой кишечника, образование необходимых для адгезии пилей типа I у симбиотических штаммов *E. coli*, адгезию *Staphylococcus epidermidis* к клеткам кожи, а также формирование этими микроорганизмами биопленок (Lyte, 2010, 2011). У энтеротоксического штамма *E. coli* катехоламины, кроме пролиферации клеток, стимулировали также образование токсинов и адгезинов (Freestone et al., 2007). Повышение вирулентности и способность колонизировать ЖКТ отмечена в этих условиях и для других патогенных бактерий (Шпаков, 2009; Clarke et al., 2006).

У *Salmonella typhimurium* под влиянием норадrenalина возрастает экспрессия факторов вирулентности, особенно системы секреции типа III (молекулярной иглы, служащей для инъекции бактериальных белков в цитоплазму клеток хозяина), усиливается жгутиковая подвижность (Lyte, 2011). Адгезия клеток энтерогеморрагической кишечной палочки (штамм O157:H7), в частности к слизистой стенки слепой кишки, в присутствии норадrenalина усиливается (Lyte, 2011) из-за его способности индуцировать экспрессию пилей F5, ответственных за прикрепление бактериальных клеток к эпителию тонкого кишечника (Verbrugghe et al., 2012). Норадrenalин усиливает также интернализацию патогенного штамма кишечной палочки в Пейеровы бляшки (лимфоидную ткань кишечника) (Lyte, 2011).

На мышинной модели было продемонстрировано, что частичное хирургическое удаление печени, повышая концентрацию норадреналина в просвете кишечника, стимулировало адгезию *Pseudomonas aeruginosa* к его слизистой оболочке (Freestone et al., 2007).

Эффекты катехоламинов варьировали в зависимости от концентрации и таксономической принадлежности тестируемых микроорганизмов. Норадреналин, адреналин и дофамин стимулировали рост *Vibrio parahaemolyticus*, *V. mimicus*, но не *V. vulnificus* и *V. cholerae* (Nakano et al., 2007). Норадреналин ингибировал рост *Mycoplasma hyopneumoniae*, подавляя экспрессию необходимых для пролиферации генов (Oneal et al., 2008). Дофамин существенно стимулировал пролиферацию дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, норадреналин, напротив, был малоэффективен (Маликина и др., 2010). Дофамин и норадреналин, добавленные в плотную питательную среду, различались по своему эффекту на образование микроколоний *E. coli* K-12: норадреналин стимулировал этот процесс, а дофамин ингибировал его (Анучин и др., 2008). Норадреналин и адреналин сдвигают в кишечнике человека баланс между *Clostridium* и *Bacteroides* в пользу *Clostridium* (Bailey et al., 2011).

Дофамин и адреналин стимулировали прорастание спор у актинобактерии *Saccharopolyspora erythraea* (штаммы RIA 1387 и RIA 120) и стабилизировали состав ее популяции, повышая долю колониеобразующих единиц доминирующего фенотипа (наиболее эффективного продуцента антибиотика эритромицина). В то же время только дофамин, но не адреналин, повышал выживаемость и способствовал переходу в активное (вегетативное) состояние спор *S. erythraea* после хранения в течение трех месяцев или кратковременного (10-минутного) замораживания, то есть и в этой системе налицо различие эффектов разных катехоламинов на микроорганизмы (Filippova et al., 2010).

Норадреналин и дофамин меняют профиль экспрессии генов у ряда прокариот: *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, *Vibrio parahaemolyticus* (Lyte, 2014).

Эффекты катехоламинов на микроорганизмы допускают два объяснения, обсуждаемых в литературе.

Первое: эти соединения способны хелатировать трехвалентное железо, отнимая его у лактоферрина и трансферрина в кровяной сыворотке и других биологических жидкостях. Связанное катехоламинами железо становится доступным для микроорганизмов, которые используют для его переноса в клетку специальные переносчики — сидерофоры (энтеробактин). В результате стимулируется рост железозависимых штаммов *E. coli*, *Salmonella enterica* var. *enteritidis*, *Campylobacter je-*

juni, *Bordetella bronchiseptica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes* и коагулазо-отрицательных стафилококков (Verbrugghe et al., 2012). Подобный механизм эффекта катехоламинов позволяет объяснить, почему инкубация энтеробактерий в бедной питательными веществами, лимитированной по железу среде, которая до определенной степени воспроизводит условия в организме хозяина, при добавлении норадреналина приводит к увеличению числа бактерий на несколько порядков по сравнению с контрольной системой без катехоламинов (Lyte, 2011). Чем меньше взятое для посева количество бактериальных клеток, тем более значительны эффекты катехоламинов. Именно наличием катехоламинов в организме хозяина можно объяснить, почему очень малое число клеток патогенных бактерий, например, энтерогеморрагического штамма *E. coli* O157:H7, оказывается достаточным для пищевых инфекций (Lyte, 2011).

Второе объяснение интерпретирует эффекты катехоламинов на бактериальные объекты с позиций quorum sensing-коммуникации (Clarke et al., 2006; Bansal et al., 2007). Предполагается, что они функционируют как аналоги аутоиндуктора AI-3 и, подобно ему, связываются рецепторными гистидинкиназами QseC и QseE, которые поэтому можно рассматривать как функциональные аналоги рецепторов эукариотических клеток, хотя по своей структуре они отличаются от рецепторов эукариот, G-белков (Clarke et al., 2006; Hughes et al., 2009). Гены, родственные гену гистидинкиназы QseC, обнаружены, кроме представителей родов *Salmonella* и *Shigella* и вида *Haemophilus influenzae*, также у большого числа бактерий, не связанных с организмом человека, например, у *Erwinia carotovora*, *Thiobacillus denitrificans*, *Psychrobacter* sp., а также у гриба *Aspergillus nidulans* (Шпаков, 2009). Это указывает на возможное участие подобных рецепторов в контроле развития микробных сообществ.

Бактериальные рецепторы QseC функционально напоминают α -адренергические рецепторы эукариот, так как их взаимодействие с катехоламинами норадреналином и адреналином, а также с AI-3, блокируется α -адреноблокаторами фентоламином, феноксibenзамином и празозином, но не β -адреноблокаторами пропранололом и лабеталололом у патогенного штамма *E. coli* O157:H7, *Salmonella enterica*, *Yersinia enterocolitica* (Clarke et al., 2006; Freestone et al., 2007). В частности, было установлено, что стимулирующее действие норадреналина на адгезию *E. coli* O157:H7 к эпителию слепой кишки и на интернализацию клеток патогенного штамма кишечной палочки в Пейеровы бляшки предотвращается предварительной обработкой кишечной ткани фентоламином (Freestone et al., 2007; Lyte, 2011).

В свете имеющихся данных можно полагать, что рецепторные системы микроорганизмов ЖКТ, взаимодействуя с аутоиндуктором AI-3 и катехоламинами, вносят свой вклад в общение микробных клеток между собой и химический диалог между микроорганизмами и организмом-хозяином. Стрессорные агенты и факторы, повышающие уровень синтеза катехоламинов, могут влиять на количество, видовое разнообразие и функции микробиоты, обитающей в ЖКТ, а также, возможно, на коже и слизистых других частей тела млекопитающих, включая человека. Синтезируемые симбиотическими бактериями молекулы AI-3, в свою очередь, могут модифицировать эффекторные системы клеток хозяина и клеток населяющих его микробных сообществ (Шпаков, 2009). В процессе длительной совместной эволюции организма-хозяина и его микробиоты нейрoактивные вещества эукариотического и/или прокариотического происхождения стали, вероятно, необходимой частью системы оповещения как для клеток хозяина, так и для патогенных и оппортунистических бактерий (Trueba, Ritz, 2013).

Антагонисты адренорецепторов и рецепторов к дофамину представляют потенциальный медицинский интерес. Например, адренергические антагонисты могут ингибировать зависимый от AI-3, адреналина или норадреналина quorum sensing-каскад у патогенных штаммов *E. coli*, лишая их возможности экспрессировать гены вирулентности. Эти антагонисты могут стать новым классом антимикробных препаратов (Clarke et al., 2006).

Диалог в системе микробиота–хозяин, осуществляемый с помощью катехоламинов, имеет двунаправленный характер, поскольку не только клетки хозяина, но и сами микроорганизмы активно продуцируют эту группу биогенных аминов. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с амперометрической детекцией было количественно определено содержание катехоламинов в культурах многих про- и эукариотических микроорганизмов (Цавкелова и др., 2000). Например, норадреналин в концентрациях 0.2–2 мкМ присутствовал в биомассе *B. mycooides*, *B. subtilis*, *P. vulgaris* и *S. marcescens*; дофамин в количестве 0.5–2 мкМ – в биомассе большинства тестированных прокариот. Их концентрации существенно превышали таковые в крови человека, где содержится 0.1–0.5 нМ дофамин и 1–2 нМ норадреналина (Eldrup, 2004).

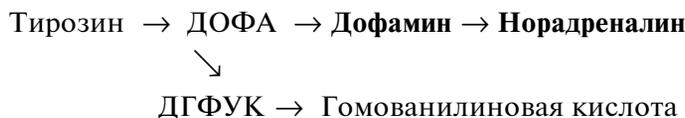
На примере богатой матриксом бактерии *Bacillus subtilis* (вариант М) показано, что нейромед-

диаторные амины (норадреналин и дофамин) содержатся не внутриклеточно, а в покрывающем клетки матриксе. Данный факт представляет довод в пользу возможной межклеточной коммуникативной роли этих аминов, поскольку слагающие матрикс биополимеры способствуют диффузии низкомолекулярных химических сигналов в пределах колонии или биопленки. У большинства микроорганизмов обнаружены также продукты метаболизма (окислительного дезаминирования) нейротрансмиттеров – 5-гидроксииндолуксусная кислота (5-ГИУК) и дигидрофенилуксусная кислота (ДФУК) (Цавкелова и др., 2000).

Дофамин в микромолярных концентрациях детектирован также у *M. morganii* (2.46 мг/л, ~16 мкМ), *K. pneumonia* (1.06 мг/л; 6.9 мкМ) и *H. alvei* (0.73 мг/л; 4.7 мкМ), изолированных из рыбных продуктов (Özogul, 2004). Некоторые исследователи убеждены в универсальной распространенности дофамин в мире про- и эукариотических микроорганизмов (Vidal-Gadea, Pierce-Shimomura, 2012). У *Saccharomyces cerevisiae* и *Penicillium chrysogenum* обнаружили достаточно высокие концентрации норадреналина: 0.21 и 21.1 мкМ соответственно (Цавкелова и др., 2000). У *B. subtilis* норадреналин и дофамин присутствовали, в основном, не внутриклеточно, а снаружи клеточной стенки. В свете предположения о коммуникативной функции нейротрансмиттеров они, возможно, служат информационными молекулами ограниченного радиуса действия не только у животных, где они передают информацию от нейрона к нейрону, но и у прокариот.

На модели *E. coli* (Шишов и др., 2009) было показано, что максимальные (микромолярные) концентрации катехоламинов накапливаются в лаг-фазе роста культуры, на основании чего можно предположить, что нейромедиаторные амины являются своеобразными триггерами, активирующими рост и деление клеток в начальной фазе онтогенеза микробной культуры. Это сопоставимо с эффектами других известных ауторегуляторных соединений. В биомассе *E. coli*, *S. cerevisiae*, *Bacillus cereus*, лактобацилл детектировали также ДОФА, который в животных клетках известен как предшественник катехоламинов, и продукты окислительного дезаминирования катехоламинов – ДГФУК, гомованилиновую кислоту.

Анализ данных литературы позволяет предположить, что пути метаболизма нейромедиаторных аминов универсальны для прокариотических и эукариотических организмов и протекают по следующей схеме:



с участием ферментов синтеза катехоламинов (гидроксилаз и декарбоксилаз аминокислот) и их деградации, в частности, моноаминоксидаз (МАО). Имеются данные о наличии подобных МАО у микроорганизмов. Так, *Sarcina lutea* содержит МАО, которая способна окислять дофамин, но не гистамин и диамины (Yagodina et al., 2000).

Наличие всех стадий пути синтеза катехоламинов у микроорганизмов согласуется с гипотезой, что межклеточная сигнализация у позвоночных животных (включая передачу импульсов через синаптическую щель между нейронами) была результатом горизонтального переноса генов от микробиоты (Lyte, 2011).

Анализ культуральной жидкости *E. coli*, выращенной на синтетической минеральной среде, показал на поздних фазах роста бактерий содержание в ней наномолярных концентраций внеклеточных серотонина, дофамина и норадреналина (Шишов и др., 2009), которых достаточно для связывания этих нейромедиаторов с соответствующими рецепторами пищеварительного тракта животных или человека.

Заслуживает внимания обнаружение в культуре *E. coli*, выращенной на среде М-9, предшественника катехоламинов 3,4-дигидроксифенилаланина (ДОФА), который детектировался в микромолярных концентрациях как в клетках, так и в культуральной жидкости. Можно предположить, что ДОФА выступает в качестве регулятора дальнего радиуса действия, а его превращение в дофамин, который является стимулятором роста *E. coli* (Анучин и др., 2008), происходит внутри поглотившей ДОФА клетки. Известный уже более ста лет феномен сокращения лаг-фазы и стимуляции пролиферации клеток бактериальной культуры под воздействием бесклеточного супернатанта культуры экспоненциальной фазы роста может быть объяснен, наряду с другими уже найденными аутоstimуляторами, также и воздействием внеклеточного ДОФА.

В отличие от *E. coli*, *S. cerevisiae* накапливал только внутриклеточно как нейромедиаторы (дофамин, норадреналин, а также серотонин), так и продукты их метаболизма (гомованилиновую кислоту, ДГФУК). При росте на богатой нейромедиаторами среде Сабуро концентрации всех указанных соединений снижались в процессе культивирования дрожжей, что указывает на их активное поглощение из среды клетками *S. cerevisiae* (Маликина и др., 2010; Шишов, 2010; Oleskin et al., 2010). По-видимому, нейромедиаторные амины не служат межклеточными коммуникативными факторами в популяциях *S. cerevisiae*, но могут участвовать в регуляции развития дрожжевых культур в случае их синтеза другими компо-

нентами экосистемы, ибо дрожжи реагируют на экзогенные нейромедиаторы.

Катехоламины и серотонин химически сходны с ароматическими спиртами (фенилэтанолом и триптофолом), функционирующими у *S. cerevisiae* в качестве ауторегуляторов, контролирующих цитодифференцировку от одиночных клеток к разветвленным нитям (псевдомицелию) при дефиците в среде культивирования источников азота (Chen, Fink, 2006), и, возможно, воспринимаются клетками дрожжей как их функциональные аналоги. У дрожжей выявлен структурно сходный с предшественником катехоламинов тирозинном ауторегулятор тирозол (Chen et al., 2004), относящийся к семейству алкилоксибензолов, которые контролируют образование покоящихся форм у многих представителей прокариот и у дрожжей (Эль-Регистан и др., 2006).

Большое значение имеет обнаружение катехоламинов в кисломолочных продуктах, ферментированных пробиотическими бактериями. Так, в различных образцах йогурта выявлены норадреналин и дофамин в концентрациях 0.1–2 мкМ и 1–10 мкМ соответственно, тогда как в исходном сырье (цельное молоко 2.5%-ной жирности) содержание норадреналина не превышало 0.09 мкМ, а дофамин полностью отсутствовал. ДОФА содержался в йогуртах в количествах 80–250 мкМ, а в молоке его содержание не превышало 57 мкМ (Жиленкова и др., 2013).

Заквасочные штаммы лактобацилл (*Lactobacillus helveticus* 100аш, *L. helveticus* NK-1, *L. casei* КЗП24 и *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) различались продуктивностью катехоламинов: на 1%-ном молоке или среде с панкреатическим гидролизатом молока дофамин синтезировали только *L. helveticus* NK-1 и *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; все штаммы, кроме *L. casei* КЗП24, обогащали обе среды норадреналином. Все штаммы образовывали ДОФА, его максимальная концентрация (свыше 5 мкМ) достигалась при использовании штамма NK-1 (Олескин и др., 2014; Oleskin et al., 2014). Поскольку ДОФА проникает через кишечный и гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и используется для лечения болезни Паркинсона (Дубынин и др., 2010), эти результаты открывают перспективы использования кисломолочных продуктов в качестве источника ДОФА. Продукция ДОФА выявлена также у одноклеточного паразитического простейшего *Toxoplasma gondii*. В мозговой ткани промежуточного хозяина (мыши или крысы) клетки токсоплазмы превращают тирозин в ДОФА, затем превращающийся в дофамин, концентрация которого в гиппокампе и миндалине мозга увеличивается примерно на 14%. В результате поведение грызуна становится активнее, более того, его начинает привлекать запах кошачьей мочи. Все это повышает вероятность поедания

зараженной токсоплазмой мыши или крысы кошкой, что позволяет токсоплазме попасть в организм своего окончательного хозяина – кошки (Rohrscheib, Brownlie, 2013).

T. gondii при попадании в человеческий мозг вызывает психические нарушения (бред и галлюцинации; кроме продукции предшественника дофамина, токсоплазма меняет экспрессию генов, связанных с синтезом дофамина в организме хозяина; паразит влияет также на экспрессию генов, необходимых для функционирования и других нейрохимических систем в мозгу, которые зависят от серотонина, глутаминовой и гамма-аминомасляной кислот). Выработка антител к токсоплазме повышена у индивидов с тяжелыми психическими расстройствами, включая шизофрению. Выдвинута гипотеза о роли *T. gondii* в возникновении шизофрении (для которой характерны повышенные концентрации дофамина в функциональных зонах мозга), а также, возможно, и маниакально-депрессивного психоза (Yolken, Torrey, 2015).

На модели безмикробных мышей, интрагастралью инокулированных смесью 46 видов кластридий групп *cocoides* и *leptum* (*Clostridium*-коктейль), было установлено, что в просвете слепой кишки содержание дофамина и норадреналина превышало таковое до введения этих бактерий. При этом в кишечнике контрольных мышей 90% дофамина и 40–50% норадреналина находились в связанной форме, в то время как у мышей с интродуцированными кластридиями 90% катехоламинов находилось в свободной, активной форме (Asano et al., 2012). Основываясь на этих наблюдениях, авторы делают вывод, что микробиота кишечника играет важную роль в образовании биологически активных форм катехоламинов в просвете кишечника (Asano et al., 2012).

Использование пробиотиков имеет большое значение для производства катехоламинов, вызывает изменения в нейрохимических процессах кишечника и микробиоме высших животных.

Широко распространенный класс металлоферментов позволяет кишечным микробам метаболизировать катехоламины, полученные из организма хозяина и рациона питания. В кишечнике человека бактерия *Eggerthella lenta* производит фермент Dadh, который может метаболизировать дофамин. Это имеет значение для взаимодействия между микробиомом кишечника и нервной системой и неразрывно связано со здоровьем человека (Maini Rekdal et al., 2020).

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КАТЕХОЛАМИНОВ С НЕРВНОЙ СИСТЕМОЙ

Катехоламины дофамин и норадреналин относятся к числу важнейших нейромедиаторов и в

то же время гормонов (норадреналин – гормон надпочечников, дофамин – нейрогормон гипоталамуса). Адреналин – только гормон надпочечников, но, вероятно, не нейромедиатор, в отличие от комбинирующего гормональную и нейромедиаторную нагрузку норадреналина. Уровни катехоламинов в крови повышаются при стрессовых состояниях. Функциональная роль катехоламинов в организме связана с активацией симпатической части периферической нервной системы, готовящей организм к реализации реакций типа бей-или-беги (fight-or-flight response), что сопряжено с ускорением сердечного ритма, усилением сокращений миокарда и повышением артериального давления. Катехоламины выполняют также более специфические функции. Например, дофамин способствует вазодилатации – расширению кровеносных сосудов (при невысоких концентрациях), вызывает повышение сердечного выброса, улучшает кровоток, стимулирует распад гликогена, экскрецию ионов натрия и выделение мочи почками, подавляет секрецию инсулина поджелудочной железой и кишечную моторику (Bronwen, Knights, 2011). Катехоламины участвуют в общей регуляции эндокринной системы. Они также задействованы в когнитивных процессах, в формировании памяти, эмоций (Аверина, Даниленко, 2017; Oleskin et al., 2017a).

Активность дофамина обусловлена его связыванием с D-рецепторами пяти подтипов (D1–5), которые сопряжены с G-белками. Рецепторы D1 и D5 активируют, а рецепторы D2–4 ингибируют аденилатциклазу, соответственно повышая или понижая уровень внутриклеточного циклического аденозинмонофосфата (цАМФ). Недавно описанный дополнительный рецептор TAAR1 (trace amine-associated receptor 1) также действует на активность внутриклеточной аденилатциклазы (Grandy et al., 2016). Преобладают рецепторы D1, составляющие около $\frac{3}{4}$ всех дофаминовых рецепторов в организме человека (Дубынин и др., 2010).

Дофамин как нейромедиатор ЦНС вырабатывается нервными клетками зон ствола мозга – черной субстанции (substantia nigra) и покрышки среднего мозга, а также в различных ядрах гипоталамуса (Дубынин и др., 2010). Выделение дофамина нейронами вентральной части покрышки ведет к их распространению по аксонам в прилежащее ядро гипоталамуса и в префронтальную кору (мезолимбический и мезокортикальный пути). Этими путями дофаминергическая система мозга способствует активному бодрствованию и поиску интересных занятий и удовольствий (гедонистическому поведению). Дофамин вовлечен не только в мотивацию получения удовольствий, но и, наряду с опиоидами (через стимуляцию их выделения), в сам акт наслаждения вкусной едой, любовной игрой или видеороликом (Arias-Carrión, Röppe, 2007). Уже предвкушение того или

иногое вознаграждения ведет к повышению уровня дофамина в мозгу, и многие наркотики стимулируют выделение дофамина или блокируют обратное поглощение дофамина выделившим его нейроном. Часть дофаминергической системы мозга — черная субстанция — имеет ключевое значение для мотивации и эмоциональной регуляции материнского поведения (Марков, 2011).

Напомним, что предшественником дофамина служит ДОФА, способный проходить через барьер между кишкой и кровотоком и ГЭБ. Это представляет интерес в рамках понимания оси микробиота—кишечник—мозг, ибо вырабатывающие ДОФА микроорганизмы как пробиотические (лактобациллы), так и потенциально патогенные, включая *Vacillus cereus* (Шишов, 2010; Oleskin et al., 2010), могут вызывать у контактирующего с ними индивида состояние эйфории в результате превращения микробной ДОФА в дофамин в мозгу. Такая эйфория будет особенно примечательной в случае патогенных продуцентов ДОФА, поскольку будет развиваться на фоне бактериальной инфекции и ухудшенного общего состояния. Повышенное настроение больного на фоне тягостной симптоматики заболевания может показаться парадоксальным.

Дофаминергические нейроны участвуют в поддержании уровня двигательной активности и, кроме того, позволяют человеку (животному) точно выполнять произвольные движения, подавляя непроизвольные. По мере повышения активности дофаминергических систем мозга снижается порог активации для реализации различных форм двигательного поведения. Чувство гибкости и легкости, радость от снятия усталости, возникающие при активации дофаминергических синапсов, часто связаны с удовольствием, получаемым, например, от танца и сложных спортивных упражнений.

Дофамин также необходим для переключения внимания с одного этапа когнитивной деятельности на другой.

Дефицит дофамина в функционально важных зонах мозга (обонятельная и зрительная кора, лобная кора, миндалевидное тело, таламус и гипоталамус и др.) ведет к апатии и потере инициативы, более серьезный дефицит — к полной невозможности совершить активное действие, так что лишенная дофамина крыса тонет в воде. Затрудненный запуск движений (акинезия), усиленный мышечный тонус (ригидность), дрожание конечностей (тремор) и навязчивые повторяющиеся движения характерны для болезни Паркинсона, при которой гибнет большинство образующих дофамин нейронов *substantia nigra*. Препараты, повышающие уровни дофамина в мозгу, являются стимуляторами физической и психической активности человека, некоторые из

этих препаратов приобрели также статус наркотиков (например амфетамины, стимулирующие выделение дофамина в синаптическую щель).

Нейромедиаторная функция норадреналина связана с активацией мозга, повышением уровня двигательной активности и агрессивности (Дубынин и др., 2010). Нейромедиаторное и гормональное действие норадреналина (и только гормональное — адреналина) обусловлено связыванием метаболитными α - и β -рецепторами. α -рецепторы включают подтип α_1 , который, связывая норадреналин, активирует фосфолипазу С и повышает внутриклеточные концентрации инозитолтрифосфата и ионов кальция, и подтип α_2 , который функционирует через ингибирование аденилатциклазы и понижение уровня цАМФ. Рецепторы β -типа (подтипы β_1 , β_2 , β_3) связаны с G-белками и, напротив, активируют аденилатциклазу при связывании норадреналина.

В мозгу норадреналин в основном вырабатывается нейронами голубого пятна (*locus coeruleus*), латеральной ретикулярной формации, продолговатого мозга и ядер одиночного тракта (Болдырев и др., 2010); их аксоны формируют синапсы в большой концентрации в разных отделах ЦНС, в том числе в коре мозжечка и больших полушарий (Дубынин и др., 2010). Норадреналин усиливает кровоснабжение мозга, активирует бодрствующую ЦНС (тормозя центры сна), повышает двигательную активность, снижает тревожность и повышает агрессивность, участвует в развитии эмоций азарта и удовольствия от риска, а также в процессе обучения. Норадреналин называется гормоном ярости, так как в результате выброса в кровь норадреналина всегда возникает реакция агрессии, значительно увеличивается мышечная сила. Норадреналин способствует бдительности, стимулирует запоминание информации и ее извлечение из памяти, также усиливает беспокойство и тревожное поведение. Норадреналин принимает участие в реализации реакций типа бей-или-беги, ускоряя сердечный ритм, повышая кровяное давление, стимулируя выход глюкозы из депо в кровоток, повышая кровоснабжение скелетных мышц и в то же время снижая кровоток через сосуды ЖКТ, замедляя перистальтику кишечника и подавляя опорожнение мочевого пузыря. Это оказывает влияние на условия фиксации микробиоты в ЖКТ (например, способствуя адгезии микробных биопленок к клеткам эпителия). Норадреналин расширяет зрачок и усиливает увлажнение глаза слезной жидкостью.

Действие норадреналина, а также его метилированного производного адреналина на сердце связано со стимулирующим его влиянием на β -адренорецепторы (β -АР) сердечной мышцы, что приводит к увеличению сердечного выброса и

ускорению сердечных сокращений. Гормональное влияние норадреналина как фактора стрессового ответа дополняется его нейротрансмиссерным эффектом, направленным на мобилизацию мозга при стрессе. Уровень норадреналина в мозгу, особенно в зоне голубого пятна, минимален во время сна (опускаясь почти до нуля во время сна со сновидениями — REM-сна) и возрастает в бодрствующем состоянии (Berridge et al., 2012); дополнительные количества норадреналина выделяются при воздействии стрессорных факторов, при шоке, травмах, кровопотерях, ожогах, тревоге, страхе, нервном напряжении; при сильном стрессе существенное значение приобретает обезболивающее (анальгетическое) действие норадреналина (Дубынин и др., 2010).

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КАТЕХОЛАМИНОВ С ИММУННОЙ СИСТЕМОЙ

Иммуноциты реагируют на биогенные амины и в то же время синтезируют и выделяют эти соединения. Среди рецепторов к катехоламинам иммунные клетки в наибольшей степени экспрессируют β 2-АР. Ответ макрофагов и моноцитов на β 2-АР-стимуляцию носит в основном противовоспалительный характер. Дендритные клетки, ответственные за презентацию антигенов, экспрессируют как α -АР, так и β -АР. При этом α -АР рассматриваются преимущественно как рецепторы, связанные со стимуляцией иммунного ответа, тогда как взаимодействие с β -АР, скорее, сопровождается ингибированием активности иммунной системы и развития воспалительных процессов.

Экспозиция дендритных клеток в присутствии норадреналина после стимуляции агонистами Толл-подобных рецепторов приводит к снижению секреции IL-12, а также IL-6, TNF- α , IL-23 и повышению секреции IL-10 и, как следствие, к потенциальной иммуносупрессии и нарушенному Th1-праймингу. Вследствие этого норадреналин может вносить вклад в стресс-индуцированную прогрессию Th2-ассоциированных заболеваний (например, различные аллергические патологии). Применение β 2-АР-агонистов, напротив, может иметь успех в терапии преимущественно Th1-опосредованных заболеваний (например рассеянный склероз, диабет I типа) (Cosentino, Marino, 2012). Катехоламины (в том числе норадреналин, адреналин, дофамин) также могут синтезироваться различными иммунными клетками. Синтез и метаболизм этих соединений в иммунной системе близок таковому в клетках нейрогуморальной системы. И те и другие клетки экспрессируют тирозингидроксилазу, а также ферменты для деградации катехоламинов — MAO и катехол-О-метилтрансферазу (Jiang et al., 2006; Cosentino et al., 2013).

Предполагается, что секреция норадреналина в иммуноцитах является ацетилхолин- и кальций-зависимой, подобно хромаффинным клеткам надпочечников (Jiang et al., 2006). Дофаминовые рецепторы экспрессированы на поверхности всех клеток иммунной системы (включая Т- и В-лимфоциты, дендритные клетки, макрофаги, нейтрофилы, NK-клетки, Т-регуляторные клетки) (Cosentino et al., 2013). Аутоиммунные Т-клетки, лейкоэмические и лимфомные Т-клетки также экспрессируют дофаминовые рецепторы. Дофамин уже в достаточно малых концентрациях $\sim 10^{-8}$ М играет важные аутокринную и паракринную роли (Levite, 2016). Противовоспалительное действие дофамина проявляется в виде подавления функций макрофагов. Так, на модели мышинных перитонеальных макрофагов установлено, что дофамин ингибирует синтез активатора воспаления IL-12p40 в ответ на бактериальный LPS-антиген и усиливает продукцию подавляющего воспаления IL-10 (Орлова и др., 2012). Дофамин также участвует в супрессии активированных Т-клеток (Cosentino et al., 2013).

Опубликовано значительное количество данных, свидетельствующих об иммуностимулирующем действии дофамина. Так оказалось, что дофамин способен активировать покоящиеся/наивные Т-клетки. У наивных Т-лимфоцитов дофамин через D2/D3-рецепторы стимулировал адгезию к фибронектину. Помимо этого, взаимодействуя с D2/D3- и D1/D5-рецепторами этих лимфоцитов, дофамин мог стимулировать секрецию TNF- α и IL-10 (Cosentino et al., 2013). Активация покоящихся Т-клеток дофамином реализуется как путем прямого на них воздействия, так и через ингибирование активности Т-регуляторных клеток (T_{reg}). T_{reg}-клетки играют важную роль в иммуносупрессии. Они имеют дофаминовые рецепторы и именно через них этот катехоламин участвует в аутокринной и паракринной регуляции T_{reg}.

При дофаминовой стимуляции D1-рецепторов у Т-регуляторных клеток человека (CD4⁺CD25^{high}) происходит подавление их иммуносупрессивной активности, и снижается продукция IL-10 и TGF- β (Орлова и др., 2012). Будучи супрессором иммуносупрессии, дофамин способен проявлять активирующее действие на иммунный ответ. Подтверждением этому является также ингибирование дофамином функций второго важнейшего клеточного компонента иммуносупрессии — супрессорных клеток миелоидного происхождения MDSC (myeloid derived suppressor cells). Исследования показали, что дофамин, действуя на D1-рецепторы MDSC, в значительной степени нивелирует их супрессорную активность в отношении пролиферации и секреции Т-клеток, усиливая, в частности, противоопухолевый иммунитет. Этот

эффект дофамина связывают также с его противовоспалительными свойствами (Levite, 2016). Как известно, дофамин является одним из медиаторов счастья. Иммуномодулирующие свойства дофамина могут быть компонентами его благотворного влияния на позитивные эмоциональные проявления человека.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Кишечные бактерии содержат ферменты, метаболизующие нейромедиаторы. Это имеет существенное значение для взаимодействия между микробиомом кишечника и нервной и иммунной системами человека. Нейромедиаторы способны выступать в качестве пищевых субстратов, эффекторов, кофакторов, что наиболее важно в контексте их воздействия на микробный консорциум и на организм хозяина. Они являются важным видом метаболитов, представляющих структурные компоненты микроорганизмов, их метаболиты и сигнальные молекулы с определенной химической структурой, которые могут воздействовать на организм хозяина, на его микробиологическую, нервную и иммунную системы, что исключительно важно для медицины, психологии и биотехнологии.

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 исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Аверина О.В., Даниленко В.Н. Микробиота кишечника человека: роль в становлении и функционировании нервной системы // Микробиология. 2017. Т. 86 (1). С. 5–24.
- Анучин А.М., Чувелев Д.И., Кировская Т.А., Олескин А.В. Действие нейромедиаторных моноаминов на ростовые характеристики *Escherichia coli* K-12 // Микробиология. 2008. Т. 77. № 6. С. 758–765.
- Болдырев А.А., Ещенко Н.Д., Илюха В.А., Князьваряине Е.И. Нейрохимия. М.: Дрофа, 2010. 400 с.
- Грицай О.Б. Поведение насекомых: роль биогенных аминов. М.: Альтекс, 2017. 182 с.
- Дубынин В.А., Каменский А.А., Сапин М.Р. Регуляторные системы организма человека. М.: Дрофа, 2010. 365 с.
- Жиленкова О.Г., Шендеров Б.А., Клодт П.М. и др. Молочные продукты как потенциальный источник соединений, модифицирующих поведение потребителей // Молоч. пром-ть. 2013. № 10. С. 45–49.
- Маликина К.Д., Шишов В.И., Чувелёв Д.И. и др. Регуляторная роль нейромедиаторных аминов в клетках *Saccharomyces cerevisiae* // Прикл. биохим. микробиол. 2010. № 6. С. 672–677.
- Марков А.В. Эволюция человека. Книга 2. Обезьяны, нейроны и душа. М.: Corpus, 2011. 512 с.
- Олескин А.В., Жиленкова О.Г., Шендеров Б.А. и др. Заквасочные культуры лактобацилл – продуценты нейромедиаторов: биогенных аминов и аминокислот // Молоч. пром-ть. 2014. № 9. С. 42–43.
- Орлова Е., Пащенко М., Давыдовская М. и др. Роль дофамина в регуляции взаимодействия нервной и иммунной систем при рассеянном склерозе // Журн. неврол. психиатрии. 2012. Т. 112 (2). С. 34–40.
- Цавкелова Е.А., Ботвинко И.Б., Кудрин В.С., Олескин А.В. Детекция нейромедиаторных аминов у микроорганизмов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Докл. АН. 2000. Т. 372. С. 840–842.
- Шишов В.А. Биогенные амины в динамике роста микроорганизмов: Автореф. дис... канд. биол. наук. М.: МГУ, Биол. фак-т, 2010. 27 с.
- Шишов В.А., Кировская Т.А., Кудрин В.С., Олескин А.В. Нейромедиаторные амины, их предшественники и продукты окисления в биомассе и супернатанте культуры *Escherichia coli* K-12 // Прикл. биохим. микробиол. 2009. Т. 45. № 5. С. 550–554.
- Шнаков А.О. Сигнальные молекулы бактерий непептидной природы QS-типа // Микробиология. 2009. Т. 78. № 2. С. 163–175.
- Эль-Регистан Г.И., Мулюкин А.Л., Николаев Ю.А. и др. Адаптогенные функции внеклеточных ауторегуляторов микроорганизмов // Микробиология. 2006. Т. 75. № 4. С. 446–456.
- Arias-Carrión O., Pöppel E. Dopamine, learning and reward-seeking behavior // Acta Neurobiol. Exp. 2007. V. 67. № 4. P. 481–488.
- Asano Y., Hiramoto T., Nishino R. et al. Critical role of gut microbiota in the production of biologically active, free catecholamines in the gut lumen of mice // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 2012. V. 303. P. 1288–1295.
- Bailey M.T., Dowd S.E., Galley J.D. et al. Exposure to a social stressor alters the structure of the intestinal microbiota: implications for stressor-induced immunomodulation // Brain Behav. Immunol. 2011. V. 25. P. 397–407.
- Bansal T., Englert D., Lee J. et al. Differential effects of epinephrine, norepinephrine, and indole on *Escherichia coli* O157:H7 chemotaxis, colonization, and gene expression // Infect. Immun. 2007. V. 75. P. 4597–4607.
- Berridge C.W., Schmeichel B.E., España R.A. Noradrenergic modulation of wakefulness/arousal // Sleep Med. Rev. 2012. V. 16. № 2. P. 187–197.
- Bronwen B., Knights K. Pharmacology for health professionals. 3th ed. Sydney: Mosby Elsevier, 2011. 1062 p.
- Chen H., Fink G.R. Feedback control of morphogenesis in fungi by aromatic alcohols // Gen. Dev. 2006. V. 20. P. 1150–1161.

- Chen H., Fujita M., Feng Q. et al. Tyrosol is a quorum-sensing molecule in *Candida albicans* // PNAS USA. 2004. V. 101. P. 5048–5052.
- Clarke M.B., Hughes D.T., Zhu C. et al. The QseC sensor kinase: a bacterial adrenergic receptor // PNAS USA. 2006. V. 103. P. 10420–10425.
- Cosentino M., Marino F. Nerve-driven immunity: noradrenaline and adrenaline / Ed. M. Levite. Vienna: Springer, 2012. P. 47–96.
- Cosentino M., Kustrimovic N., Marino F. Endogenous catecholamines in immune cells: discovery, functions and clinical potential as therapeutic targets // Brain Imm. Trends. 2013. <http://brainimmune.com/endogenous-catecholamines-in-immune-cells-discovery-functions-and-clinical-potential-as-pharmacotherapeutic-targets-3>.
- Eldrup E. Significance and origin of DOPA, DOPAC, and dopamine-sulphate in plasma, tissues and cerebrospinal fluid // Dan. Med. Bull. 2004. V. 51. P. 34–62.
- Filippova S.N., Surgucheva N.A., Gal'chenko V.F. et al. Growth induction and stabilization of population composition in *Saccharopolyspora erythraea* by catecholamine compound // Microbiology. 2010. V. 79. № 2. P. 191–196.
- Freestone P.P.E., Lyte M. Microbial endocrinology: experimental design issues in the study of interkingdom signaling in infectious disease // Adv. Appl. Microbiol. 2008. V. 64. P. 75–105.
- Freestone P.P.E., Haigh R.D., Lyte M. Blockade of catecholamine-induced growth by adrenergic and dopaminergic receptor antagonists in *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* and *Yersinia enterocolitica* // BMC Microbiol. 2007. V. 7. P. 8.
- Grandy D.K., Miller G.M., Li J.X. “TAARgeting addiction” – The Alamo bears witness to another revolution: an overview of the plenary symposium of the 2015 Behavior, Biology and Chemistry Conference // Drug Alcohol. Depend. 2016. V. 159. P. 9–16.
- Hughes D.T., Clarke M.B., Yamamoto K. et al. The QseC adrenergic signaling cascade in enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) // PLoS Pathog. 2009. V. 5. P. e1000553.
- Jiang J.-L., Qiu Y.-H., Peng Y.-P., Wang J.-J. Immunoregulatory role of endogenous catecholamines synthesized by immune cells // Acta Physiol. Sinica. 2006. V. 58. № 4. P. 309–317.
- Kinney K.S., Austin C.E., Morton D.S., Sonnenfeld G. Catecholamine enhancement of *Aeromonas hydrophila* growth // Microb. Pathog. 1999. V. 26. P. 85–91.
- Kulma A., Szopa J. Catecholamines are active compounds in plants // Plant Sci. 2007. V. 172. № 3. P. 433–440.
- Levite M. Dopamine and T cells: dopamine receptors and potent effects on T cells, dopamine production in T cells, and abnormalities in the dopaminergic system in T cells in autoimmune, neurological and psychiatric diseases // Acta Physiol. 2016. V. 216. № 1. P. 42–89.
- Liang S., Wu X., Jin F. Gut-brain physiology: rethinking psychology from the microbiota-gut-brain axis // Front. Integr. Neurosci. 2018. V. 12. P. 1–24.
- Lyte M. The microbial organ in the gut as a driver of homeostasis and disease // Med. Hypoth. 2010. V. 74. P. 634–638.
- Lyte M. Probiotics function mechanistically as delivery vehicles for neuroactive compounds: microbial endocrinology in the design and use of probiotics // Bioessays. 2011. V. 33. P. 574–581.
- Lyte M. Microbial endocrinology and the microbiota–gut–brain axis // Adv. Exp. Med. Biol. 2014. V. 817. P. 3–24.
- Macreadie I.G., Bartone N., Sparrow L. Inhibition of respiratory growth and survival in yeast by dopamine and counteraction with ascorbate or glutathione // J. Biomol. Screen. 2010. V. 15. P. 297–301.
- Maini Rekdal V., Nol Bernadino P., Luescher M.U. et al. A widely distributed metalloenzyme class enables gut microbial metabolism of host- and diet-derived catechols // Elife. 2020. № 9. P. e50845.
- Nakano M., Takahashi A., Sakai Y. et al. Catecholamine-induced stimulation of growth in *Vibrio* species // Lett. Appl. Microbiol. 2007. V. 44. P. 649–653.
- Oleskin A.V., Malikina K.D., Shishov V.A. Symbiotic biofilms and brain neurochemistry. Hauppauge, N.Y.: Nova Science Publ., 2010. 57 p.
- Oleskin A.V., Zhilenkova O.G., Shenderov B.A. et al. M. Lactic-acid bacteria supplement fermented dairy products with human behavior-modifying neuroactive compounds // J. Pharm. Nutr. Sci. 2014. V. 4. P. 199–206.
- Oleskin A.V., Shenderov B.A., Rogovsky V.S. Role of neurochemicals in the interaction between the microbiota and the immune and the nervous system of the host organism // Probiot. Antimicrob. Proteins. 2017a. V. 9. № 3. P. 215–234.
- Oleskin A.V., Sorokina E.V., Zarubina A.P. Testing neurotransmitters for toxicity with a luminescent biosensor: implications for microbial endocrinology // J. Pharm. Nutr. Sci. 2017b. V. 7. P. 88–94.
- Oneal M.J., Schafer E.R., Madsen M.L., Minion F.C. Global transcriptional analysis of *Mycoplasma hyopneumoniae* following exposure to norepinephrine // Microbiology. 2008. V. 154. P. 2581–2588.
- Özogul F. Production of biogenic amines by *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae* and *Hafnia alvei* using a rapid HPLC method // Eur. Food Res. Technol. 2004. V. 219. P. 465–469.
- Rohrscheib C.E., Brownlie J.C. Microorganisms that manipulate complex animal behaviours by affecting the host's nervous system // Spring. Sci. Rev. 2013. V. 1. P. 133–140.
- Roshchina V.V. Evolutionary considerations of neurotransmitters in microbial, plant, and animal cells // Microbial endocrinology: interkingdom signaling in infectious disease and health / Eds M. Lyte, P.P.E. Freestone. N.Y.: Springer, 2010. P. 17–52.
- Trueba A.F., Ritz T. Stress, asthma, and respiratory infections: pathways involving airway immunology and microbial endocrinology // Brain Behav. Immun. 2013. V. 29. P. 11–27.
- Verbrugghe E., Boyen F., Gaastra W. et al. The complex interplay between stress and bacterial infections in animals // Veterin. Microbiol. 2012. V. 155. P. 115–127.
- Vidal-Gadea A.G., Pierce-Shimomura J.T. Conserved role of dopamine in the modulation of behavior // Commun. Integr. Biol. 2012. V. 5. P. 440–447.
- Vodolazov I.R., Dbar S.D., Oleskin A.V., Stoyanova L.G. Exogenous and endogenous neuroactive biogenic amines //

- Appl. Biochem. Microbiol. 2018. V. 54. № 6. P. 603–610.
- Williams P.H., Rabsch W., Methner U. et al. Catecholase receptor proteins in *Salmonella enterica*: role in virulence and implications for vaccine development // Vaccine. 2006. V. 24. P. 3840–3844.
- Yagodina O.V., Nikol'skaya E., Shemarova I.Y., Khovanskikh A. Amine oxidase in unicellular microorganisms *Methanobrevibacter* and *Tetrahymena pyriformis* // J. Evol. Biochem. Physiol. 2000. V. 36. № 3. P. 244–248.
- Yolken R.H., Torrey E.F. Exposure to microorganisms and adult psychiatric disorders: the case for a causal role of *Toxoplasma gondii* // Immunology and psychiatry / Eds N. Müller, A.-M. Myint, M.J. Schwarz. Switzerland: Springer Int. Publ., 2015. P. 137–145.

Interaction of Catecholamines with Microorganisms, Neurons and with the Cells of the Immune System

A. V. Oleskin^a, E. V. Sorokina^{a, *}, and G. A. Shilovsky^{a, b}

^aLomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, Moscow, Russia

^bInstitute for Information Transmission Problems, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

*e-mail: evsorokina77@mail.ru

The modern data on cell communication in the binary system of the host organism – microbes are presented. Microbial systems are inherent in many microorganisms and resemble those inherent in eukaryotic multicellular organisms. At the present time, scientists have come to the conclusion that there are communities of cells that communicate with each other and differentiate in this supercellular organism. Literature data and the authors' own studies indicate the important role of catecholamines (biogenic amines) both in intra- and interspecific microbial communication and in the two-way microbiota – host dialogue. The importance of this dialogue for maintaining human health, psyche and social behavior, as well as the possibility of creating new drugs with targeted neurochemical effects, are discussed. The review presents current data on cellular communication in the host – microbe binary system. Microbial systems are common to many microorganisms and resemble those of eukaryotic multicellular organisms; these microbial communities are similar to multicellular organisms. Currently, many scientists have come to the conclusion that there are communities of cells that communicate with each other and differentiate in this supracellular organism. Literature data and the authors' own research indicate the important role of catecholamines (biogenic amines) as for intra- and interspecies microbial communication, as well as in the bilateral dialogue between the host and microbiota. The importance of this dialogue for maintaining human health, mental health, and social behavior is discussed, as well as the possibility of creating new drugs with targeted neurochemical effects.

Keywords: neurotransmitters, catecholamines, serotonin, dopamine, norepinephrine, adrenaline, communication microorganisms

УДК 577.1;577.2;57.054

РОЛЬ ЭНДОГЕННЫХ РЕТРОВИРУСОВ В ПРОЦЕССЕ ДОМЕСТИКАЦИИ

© 2021 г. С. И. Алипкина¹, Д. С. Налобин¹, М. С. Краснов^{2,*}, А. А. Галиакберова¹,
Д. В. Трошев¹, Д. В. Богуславский³

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

²Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, Москва, Россия

³Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

*e-mail: embbrmsk@mail.ru

Поступила в редакцию 14.08.2020 г.

После доработки 14.08.2020 г.

Принята к публикации 14.08.2020 г.

Эндогенные ретровирусы (ЭРВ) играют важнейшую роль в регуляции экспрессии множества генов животных и человека, вовлечены в процессы транскрипционного и посттранскрипционного редактирования. ЭРВ сохраняют определенное генетическое сходство с экзогенным родовым вирусом. Исследования ЭРВ помогают узнать возраст и темпы эволюции экзогенных вирусов, которые являются контагиозными для животных и человека. Известна гипотеза, что ретровирусы возникли до появления позвоночных животных. Эта асинхрония предполагает весомый вклад ретровирусов в эволюционные процессы в генах, в частности ответственных за развитие нейронов головного мозга и нервной системы, то есть ретротранспозоны могут быть ответственными за возникновение синдрома доместикации. Инфицирование половых клеток ретровирусами постепенно привело к обеспечению ими репродуктивных функций у млекопитающих. К таким функциям относят слияние трофобластов в плаценте. Гены ЭРВ встраиваются в геном через вирусные инфекции или через ретротранспозиции. В обзоре систематизированы и обобщены знания об эволюции и переносе ЭРВ в организме, об их функциях в геноме, представлены описания основных и наиболее распространенных ЭРВ, их молекулярной структуры и свойств.

Ключевые слова: эндогенные ретровирусы (ЭРВ), ретротранспозоны, длинные терминальные повторы (LTR), кроличий эндогенный лентивирус типа К (RELIK), RD114-and-D-type-retrovirus (RDR), плацентарные ЭРВ, доместикация

DOI: 10.31857/S0042132421010178

ВВЕДЕНИЕ

Геном ретровирусов (семейство Retroviridae) представлен РНК, репликативный цикл которых основан на использовании обратной транскрипции и интеграции вирусной геномной и провирусной ДНК в геном клетки-хозяина (Weiss, 2006). Ретровирусы попадают в хромосомы хозяина — это обязательный шаг в их жизненном цикле, другие вирусы делают это реже и, как правило, случайно (Katzourakis et al., 2007). В ситуациях, когда эндогенные ретровирусы (ЭРВ) не оказывают значительного вредного воздействия на хозяев, частота их встречаемости в попу-

ляции хозяина увеличивается, что может привести к их фиксации. Мобильные диспергированные генетические элементы играют важнейшую роль в регуляции экспрессии генов животных и, в частности, человека и вовлечены в процессы транскрипционного и посттранскрипционного редактирования путем репрограммирования некодирующего транскриптома (Steitz et al., 2011). Множественная интеграция ретровирусных геномов произошла на определенном этапе эволюции млекопитающих и закрепилась с выделением полезных для эволюции признаков (Жданов и др., 1978). После эндогенизации большинство ЭРВ

сохраняют сходство с родовым экзогенным вирусом на протяжении многих миллионов лет. Эти ЭРВ дают исследователям беспрецедентные возможности непосредственно наблюдать древние вирусы в геномах хозяина и изучить, как они могли эволюционировать и взаимодействовать с этими хозяевами. Кроме того, изучение ЭРВ глубоко повлияло на наше понимание участия вирусов в эволюции и динамичном развитии видов. Первичное инфицирование половых клеток этими вирусами с течением времени привело к дифференцировке некоторых из интегрированных генов первичных ретровирусов в направлении обеспечения репродуктивной функции млекопитающих (Cornelis et al., 2013). К важнейшим функциям ЭРВ в плаценте относятся слияние трофобластов и их дифференцировка в условиях индуцированного ЭРВ синцитиообразования. Считается, что ЭРВ возникли от древних инфекций зародышевой линии хозяина экзогенными ретровирусами. Ретротранспозиция или реинфекция зародышевой линии может генерировать дальнейшие вставки, увеличивающие количество определенной линии в геноме. ЭРВ присутствуют в геноме всех позвоночных и вертикально передаются от родителей потомству как стабильно унаследованные менделевские гены (Boeke, Stoye, 1997). ЭРВ сильно колонизировали геном всех видов животных; например, они составляют примерно 8% генома человека (Lander et al., 2001). Полный провирус ЭРВ, то есть ретровирусный геном, интегрированный в геном клетки-хозяина, имеет геномную структуру экзогенного ретровируса: четыре вирусных гена (*gag*, *pro*, *pol* и *env*) между двумя длинными терминальными повторами LTR (long terminal repeats) (Varela et al., 2009). Ген *gag* кодирует главный вирусный структурный белок, в то время как *pro* и *pol* – вирусный ферментативный механизм, необходимый для цикла репликации вируса. Ген *env* кодирует гликопротеин оболочки, который вставлен в липидный бислой клеточной мембраны, с образованием вирусной оболочки. Гликопротеин опосредует проникновение вируса в чувствительные клетки. LTR содержат элементы-энхансеры, которые обеспечивают прямую экспрессию вирусных генов. ЭРВ обречены на вымирание, если их экспрессия приносит последовательности, вызывающие делеции в геноме у хозяина. Таким образом, их устойчивость в геноме хозяина – результат тонкого баланса, достигнутого на протяжении эволюции. Большинство ЭРВ не имеют экзогенного аналога, но некоторые тесно связаны с экзогенными ретровирусами, включая ретровирус овец Jaagsiekte (JSRV), вирус опухоли молочной железы мыши (MMTV), вирус кошачьего лейкоза (FeLV) и вирус птичьего лейкоза (ALV), которые в настоящее время активны и заражают овец, мышей, кошек и птиц соответственно. Было показана-

но, что некоторые ЭРВ могут вызывать аутоиммунные заболевания у человека. Эти ЭРВ обычно называют современными ЭРВ, поскольку они интегрируются в геном хозяина после процесса видообразования и тесно связаны с экзогенными вирусами, которые все еще контагиозны. Некоторые современные ЭРВ способны производить инфекционный вирус из-за отсутствия инактивирующих мутаций. Напротив, древние ЭРВ проникли в геномы раньше видообразования и, следовательно, присутствуют в каждом организме в том же геномном локусе филогенетически родственных видов. Биологическое значение ЭРВ обсуждалось в течение нескольких десятилетий, долгое время последовательности ЭРВ считались мусорной ДНК. Тем не менее, последние исследования показывают, что ЭРВ дают разнообразные преимущества для их хозяина. По крайней мере, обилие этих элементов в геноме хозяина обеспечивает его пластичность. Кроме того, наличие транскрипционно активных ЭРВ с интактными открытыми рамками считывания, сохраняющимися миллионы лет после интеграции, говорит о том, что некоторые ЭРВ были выбраны хозяином для конкретной биологической роли. Обнаружено, что ЭРВ играют важную роль в различных физиологических процессах. ЭРВ обладают способностью регулировать экспрессию клеточных генов (Varela et al., 2009). Предполагается, что ЭРВ играют физиологическую роль в морфогенезе плаценты, ретровирусные частицы часто наблюдаются в репродуктивном тракте и плаценте некоторых видов животных.

ЭВОЛЮЦИЯ ЭНДОГЕННЫХ РЕТРОВИРУСОВ

Вирусы – возможно, самая быстроразвивающаяся биологическая сущность на этой планете. Скорость их обновления в миллион раз выше скорости эволюционирования клеточных организмов-хозяев (Jenkins et al., 2002; Kumar, Subramanian, 2002; Hanada et al., 2004; Sanjuán, 2012). Необычайно высокие темпы изменений позволяют вирусам противостоять иммунитету и быстро адаптироваться к новому хозяину. Эта уникальная особенность вызывает быстрое изменение вирусных геномных последовательностей на молекулярном уровне, таким образом накапливается информация, которая может быть использована для восстановления этапов их эволюции (Holmes, 2004). При тщательном исследовании некоторых аспектов истории развития современных вирусов были получены оценки возраста, темпов эволюции и эпидемиологической динамики многих вирусов, которые в настоящее время инфицируют людей, домашних животных и сельскохозяйственные культуры (Holmes, 2008; Rybus, Rambaut, 2009). Согласно исследованиям, эволюци-

онные временные рамки современных вирусов лежат в прошлом миллионе лет, а большинство человеческих РНК-вирусов появилось менее 1000 лет назад (Holmes, 2008).

Способность ретровирусов интегрироваться в геномы хозяина и становиться ЭРВ позволяет изучать их долгосрочную эволюцию (Xu et al., 2018). В исследованиях ЭРВ, относящихся к геномам многих видов, большое внимание уделялось млекопитающим и птицам, и было выявлено множество аспектов распределения, разнообразия и эволюции ретровирусов (Bolisetty et al., 2012; Magiorkinis et al., 2012; Hayward et al., 2013, 2015; Brown et al., 2014). В настоящий момент ретровирусы позвоночных, за исключением млекопитающих и птиц, недостаточно охарактеризованы, что препятствует пониманию разнообразия и ранней эволюции ретровирусов. В недавнем исследовании был выполнен сравнительный геномный и эволюционный анализ ЭРВ у 92 позвоночных, не являющихся птицами/млекопитающими (у рыб, амфибий и рептилий). Было обнаружено присутствие ЭРВ в геномах всех челюстных позвоночных (Xu et al., 2018). Распределение ЭРВ у позвоночных показывает, что ретровирусы возникли в пределах линий позвоночных, вероятно, до появления челюстных позвоночных — более 450 млн лет назад (Hedges et al., 2015). Однако нельзя полностью исключить возможность того, что ретровирусы возникли до появления позвоночных и не смогли колонизировать зародышевую линию у ранее ветвящихся животных. Во всех видах челюстных позвоночных находят ЭРВ, что свидетельствует о высокой способности ретровирусов к эндогенизации и делает крайне маловероятной неспособность колонизировать геномы ранее разветвленных животных (Xu et al., 2018).

Эти данные показывают древнее происхождение ретровирусов и имеют принципиальное значение для понимания глубокой истории и эволюции ретровирусов, что даст возможность прогнозировать дальнейшие вспышки экзогенных контагиозных ретровирусов и разрабатывать меры контроля.

Вирусы иногда оставляют длительные отпечатки в геномах-хозяевах, известные как эндогенные вирусные элементы (ЭВЭ). Обнаружение этих вирусных импринтов позволяет более детально исследовать историю вирусов. ЭВЭ — результат процесса эндогенизации, при котором вирусные копии ДНК интегрируются в хромосомы зародышевой линии хозяина и, в свою очередь, передаются по вертикали от родителя к потомству. В тех случаях, когда ЭВЭ не оказывают значительного вредного воздействия на хозяев, их частота может увеличиться в популяции и привести к фиксации. После эндогенизации большинство ЭВЭ сохраняют сходство с наследственным экзогенным вирусом в течение многих миллио-

нов лет, поскольку они эволюционируют в соответствии со скоростью эволюции хозяина, которая на несколько порядков ниже, чем вирусов (Aiewsakun, Katzourakis, 2015).

Открытие последовательностей ЭВЭ, которые окаменели в геномах за миллионы лет, но все еще связаны с последовательностями современных вирусов и прямо сопоставимы с ними, дает возможность получить показатели вирусного замещения в гораздо более широких временных рамках. Удивительно, но такие долгосрочные показатели вирусного замещения значительно ниже, чем краткосрочные показатели, оцененные с использованием только современных вирусных последовательностей (Gilbert, Feschotte, 2010; Lefevre et al., 2011). Возможно, что краткосрочные показатели искусственно завышены большей долей вредных мутаций, которые еще не удалены из популяции посредством очищающего отбора (Patel et al., 2011; Wertheim, Kosakovsky Pond, 2011). Мутационное насыщение является фактором, который может приводить к недооценке генетических расстояний между ЭВЭ и циркулирующими вирусами и, следовательно, долгосрочных показателей замещения (Feschotte, Gilbert, 2012). Согласно сальтационной модели, более быстрые темпы замещения связаны с экологическими переменными — с колонизацией новых хозяев или эффективностью иммунного ответа хозяина. Таким образом, повышение краткосрочных показателей замещения может отражать переходное состояние адаптации, связанное с интенсивным конфликтом с новым хозяином, тогда как большая часть оставшейся эволюционной истории вируса будет характеризоваться медленными показателями замещения, которые ближе к долгосрочным временным рамкам (Feschotte, Gilbert, 2012).

РОЛЬ ЭНДОГЕННЫХ РЕТРОВИРУСОВ В ДОМЕСТИКАЦИИ КРОЛИКОВ

Помимо исследования патогенных свойств по отношению к человеку и многим растительным и животным организмам (Jern, Coffin, 2008; Mager, Stoye, 2015), выявления возможностей использования в генной терапии (Huebner, Todaro, 1969), прояснения роли ретровирусов в эволюции животных (Feschotte, Gilbert, 2012), данная группа представляет интерес в плане изучения процессов доместикиции (Rivas-Carrillo et al., 2018).

Доместичированные животные обладают рядом фенотипических и поведенческих признаков, которые не обнаруживаются у их диких предков. К таким признакам можно отнести изменение окраски шерсти, неотение, уменьшение размера зубов, снижение зрительной, обонятельной и слуховой чувствительности, покорное поведение и т.д. Проявление совокупности данных признаков называют синдромом доместикиции (Wilkins

et al., 2014). Анализ полногеномных последовательностей одомашненных животных и их диких предков (на примере одомашненной иранской овцы) показал, что основные отличия сосредоточены в областях генов, отвечающих за развитие нервной и иммунной систем, а также в участках, отвечающих за продуктивность одомашнированных животных. Данные выводы были получены при использовании маркеров SNP и CNV (Zamani et al., 2018). Гены, влияющие на развитие нейронов головного мозга и нервной системы, являются критически важными при одомашнивании и другого животного – кролика (Carneiro et al., 2014). Однонуклеотидный полиморфизм и ЭРВ играют важную роль в развитии покорного поведения животных и синдроме доместикации в целом.

Известно, что в геномах одомашненных животных представлено большое количество ЭРВ (Garcia-Etxebarria et al., 2014). Возможностью для идентификации последовательностей провирусных ДНК в генетическом материале организма-хозяина служит сходство некоторых участков последовательности ДНК эндогенных и экзогенных ретровирусов. Такими участками являются длинные концевые повторы, консервативные последовательности в провирусных ДНК (важно и расстояние между ними) и остатки последовательностей белков, присущих ретровирусам (Sperber et al., 2007). Ретротранспозоны, участвуя в процессах транспозиции и рекомбинации, приводят к изменению нуклеотидных последовательностей молекул ДНК и, по сути, выступают в качестве значимого мутагенного фактора. Таким образом, активность ретротранспозонов может являться причиной возникновения различных мутаций в вышеописанных участках генов, изменения в которых приводят к синдрому доместикации.

Помимо мутационной активности, ретротранспозоны могут оказывать регуляторное влияние, так как они являются источниками микроРНК. Было показано, что в геноме крупного рогатого скота консенсусная последовательность 266 пар нуклеотидов, состоящая из мобильных генетических элементов LINE и BovB, – это источник целого семейства микроРНК – miR-30. Данное семейство микроРНК участвует в регуляции процессов производства молока, развития мышечной массы, стрессового и иммунного ответов, а также вовлечено в развитие психических заболеваний и онкологии (Glazko et al., 2019). Данный пример демонстрирует влияние ретротранспозонов на продуктивность сельскохозяйственных животных.

RELİK (КРОЛИЧИЙ ЭНДОГЕННЫЙ ЛЕНТИВИРУС ТИПА К)

В 2006 г. был обнаружен первый эндогенный лентивирус (Katzourakis et al., 2007), получивший

название RELİK (rabbit endogenous lentivirus type K – кроличий эндогенный лентивирус типа К). Лентивирусы (от лат. *lentus* – медленный) – род вирусов из семейства ретровирусов (Retroviridae) с длительным инкубационным периодом. Экзогенные лентивирусы способны доставлять значительное количество генетического материала в клетку хозяина и обладают уникальной среди ретровирусов способностью реплицироваться в неделящихся клетках, что делает лентивирусы удобным вектором для доставки генетического материала в молекулярной биологии. Представителями этого рода являются вирусы иммунодефицита человека, обезьян, кошек, крупного рогатого скота и другие.

Все последовательности RELİK имеют многократные дефекты, некоторые из них также содержат короткие вставки с ядерными элементами. Большое количество полноразмерных и одиночных последовательностей LTR RELİK указывает на установленную инфекцию зародышевой линии. Примерно треть последовательностей RELİK возникла в результате сегментарной дубликации в геноме кролика, следовательно, вторжение зародышевой линии RELİK должно быть старше этого события. Анализ сегментно дублированных вставок показал предполагаемый минимальный возраст ~7–11 млн лет для RELİK. Установлено, что эволюцию лентивирусов следует рассматривать в масштабе времени, охватывающего миллионы лет, а не короткие временные рамки, ранее показанные анализом последовательностей известных экзогенных лентивирусов (Keckesova et al., 2009). Альтернативным подходом является идентификация ортологичных вставок ЭРВ у нескольких видов. Идентификация таких ортологов показывает, что интеграция должна была произойти до расхождения соответствующих видов (хозяев), и, таким образом, может позволить рассчитать предполагаемый минимальный возраст на основе предполагаемого момента расхождения видов (хозяев) (van der Loo et al., 2009).

Данный вирус, несмотря на свое древнее происхождение, обладает многими чертами современных лентивирусов: последовательность ретровируса содержит длинные ORF (open reading frame – открытая рамка считывания), кодирующие полипротеины Gag, Pol и Env; два дополнительных белка Tat и Rev идентифицированы по сходству последовательностей с дополнительными белками других лентивирусов (рис. 1); ген *tat* расположен непосредственно ниже *pol*, частично перекрывая ген *env*, тогда как *rev* расположен ближе к 3'-концу *env* в альтернативной рамке считывания. Другие лентивирусные особенности RELİK: область TAR, реагирующая на трансактивацию (trans-activation response), – ниже вирусного промотора; Rev-отзывчивый элемент RRE (Rev responsive element) – в пределах *env*; рибосомный

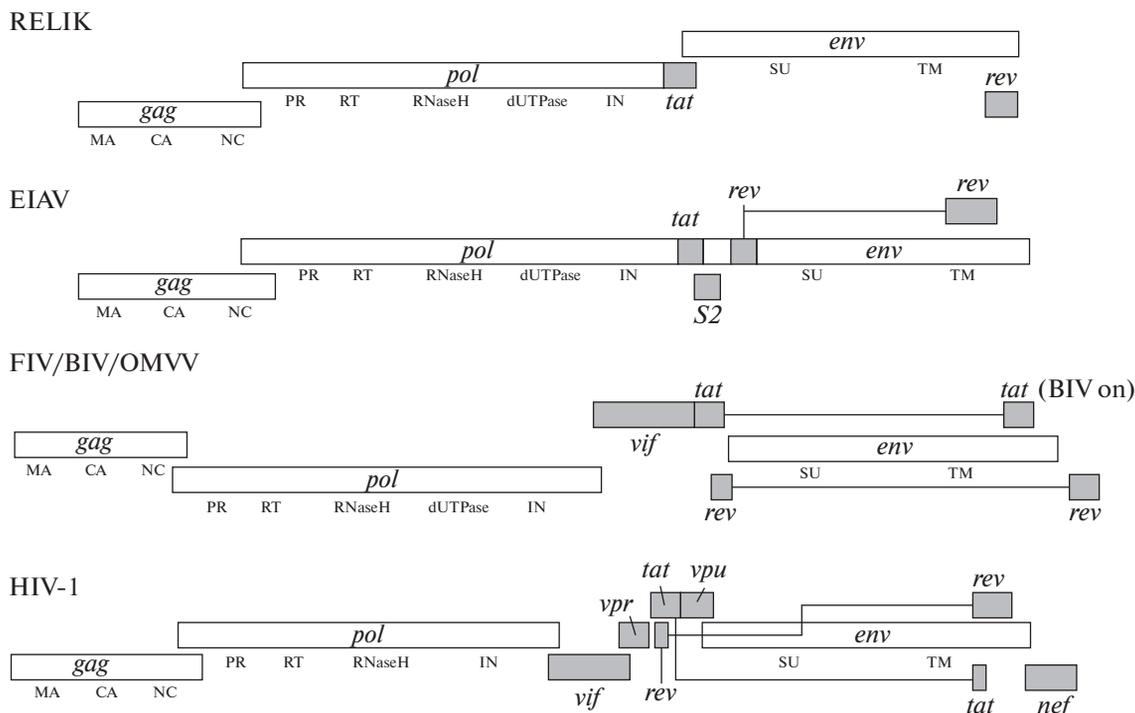


Рис. 1. Геномная организация провируса RELIK показана в сравнении с организациями генома других подгрупп лентивирусов: лошади (вирус инфекционной анемии лошадей EIAV), кошки (вирус иммунодефицита кошек FIV), быка (вирус иммунодефицита крупного рогатого скота BIV), овцы (вирус овцы маеди-висна OMVV) и приматов (HIV-1). У большинства линий приматов отсутствует ген *vpu* (Katzourakis et al., 2007).

сайт смещения – в начале *pol*; dUTPase – между RNaseH и интегразой в *pol*, обнаруженная у неприматных лентивирусов; сайт связывания с консервативной лентивирусной tРНК лизина и с отмеченным смещением нуклеотидной композиции, с сильным предпочтением аденина (А) над гуанином (G) и тимина (Т) над цитозином (С) – через всю область кодирования. RELIK имеет геномную организацию, простейшую из всех лентивирусов, и не имеет гена *vif*, что свойственно также вирусу инфекционной анемии лошадей. Можно предположить, что лентивирусы кроликов или, возможно, других вымерших зайцеобразных могли быть предшественниками современных экзогенных лентивирусов. При этом сами кролики не болеют экзогенными лентивирусными инфекциями (Keckesova et al., 2009).

RD114-AND-D-TYPE-RETROVIRUS

Вирусные интерференционные группы представляют собой сборные группы таксономически различных ретровирусов, обнаруженных у млекопитающих и птиц, которые различаются по генам *gag* и *pol*, но имеют общие гомологи гена *env* и используют один и тот же рецептор на клеточной поверхности для проникновения в клетку (Sommerfelt, Weiss, 1990).

Интерференционная группа RD114-and-D-type-retrovirus (RDR) включает в себя ряд таксономически разнообразных ретровирусов, в том числе вирусы типа С (ЭРВ) и типа D (экзогенные ретровирусы), вирусы, классифицируемые как β-ретровирусы и γ-ретровирусы, а также растущий список локусов ЭРВ с последовательностями, очень похожими на ген RDR (Sinha, Johnson, 2017).

Десять представителей интерференционной группы RDR – вирусы, классифицируемые либо морфологически как тип С или тип D, либо по их способности передаваться по зародышевой линии хозяина (эндогенные) или горизонтально (экзогенные). Ретровирус RD114 впервые был обнаружен в начале 1970-х гг. в качестве кандидата онкогенных вирусов человека.

В настоящее время известно, что RD114 является кошачьим эндогенным вирусом типа С, который, кроме того, заражает и клетки человека, приматов и собак, вызывая синцитиальный цитопатический эффект (Klement, McAllister, 1972; McAllister et al., 1972; Niman et al., 1977).

Два других вируса типа С в группе RDR – вирус некроза селезенки SNV и эндогенный вирус бабуина BaEV. SNV – вирус птичьего ретикулоэндотелиоза, который приводит к смерти или иммунодефициту уток в зависимости от возраста на момент заражения и вызывает цитопатический

эффект в культивируемых клетках птиц, собак и крыс (Kalter et al., 1973; Kewalramani et al., 1992).

Вирусы типа D, относящиеся к группе интерференции RD114/типе D, включают вирус очкового лангура PO-1-Lu, вирус беличьих обезьян, вирус обезьян Мэйсона–Пфайзера (MPMV, также называемый SRV-3) и другие ретровирусы обезьян, сгруппированные в отдельные серотипы (SRV-1, SRV-2, SRV-4 и SRV-5), которые вызывают глубокий иммунодефицит, забрюшинный фиброз и анемию, наблюдаемые у многих видов азиатских макаков (Chopra, Mason, 1970; Stromberg et al., 1984).

Ген *env* кодирует гликопротеин оболочки вируса, который позволяет ему прикрепляться к мембранам определенных типов клеток хозяина и проникать в них. Продукт гена *env* состоит из двух частей: поверхностного белка SU и трансмембранного белка TM. Именно поверхностный домен определяет тропизм вируса, поскольку он отвечает за рецептор-связывающую функцию. Таким образом, домен SU определяет специфичность вируса к определенному рецептору (Vogt, 1997).

Хотя сходство в белках Env среди вирусов RDR-группы составляет всего около 20%, как SU-, так и TM-домены имеют консервативные мотивы, позволяющие узнавать один и тот же тип клеточного рецептора. Основными типами элементов, распознаваемыми ретровирусами RDR-группы, являются ASC-аминокислотные транспортеры 1 и 2 (ASCT1, ASCT2). ASCT2, который используется большинством RDR-вирусов, – натрий-зависимый аминокислотный транспортер с широкой субстратной специфичностью. Он принимает в качестве субстрата нейтральные аминокислоты, в том числе глутамин, аспарагин, лейцин, а также аминокислоты с разветвленной цепью и ароматические (Rasko et al., 1999).

Экспрессия ретровирусного гликопротеина Env часто вызывает устойчивость к повторному заражению клетки тем же типом вируса или неродственными вирусами, которые используют один и тот же клеточный поверхностный рецептор. Это явление называют суперинфекционной интерференцией (СИ). В основе явления лежит подавление экспрессии рецептора на поверхности клетки или блокирование его вирус-связывающего домена. Исследования СИ позволяют определять тропизм разных ретровирусов к одному рецептору и объединять вирусы в интерференционные группы (Sinha, Johnson, 2017).

ПЛАЦЕНТА И СИНЦИТИЙ И ИХ СВЯЗЬ С ЭНДОГЕННЫМИ РЕТРОВИРУСАМИ

Оплодотворенные яйцеклетки дифференцируются во внутреннюю клеточную массу (ВКМ) и наружную трофобластодерму. Из ВКМ в дальней-

шем развивается сам эмбрион, а также амнион, желточный мешок и аллантоис, тогда как трофобластодерма образует хорионическую мембрану и позже становится основной частью зародышевой плаценты. Для получения питательных веществ и газообмена в утробе матери формируется плацента, строение которой значительно отличается у разных млекопитающих. Можно выделить следующие типы клеток, которые формируют барьер между эмбриональной и материнской кровью: эндотелий материнских капилляров, эндометрий матки (stroma и/или децидуа), эпителиальный слой эндометрия матки, слой/слои трофобластов, которые составляют эпителий хориона, соединительные ткани плода и эндотелий капилляров плода. Материнские питательные вещества и газы должны пройти через эти клеточные слои, чтобы достичь плода, а метаболиты должны быть удалены обратно в материнскую кровеносную систему (Гилберт, 2010). В эпителиохориальной плаценте эпителий матки контактирует с мембраной хориона. Этот тип плаценты встречается у копытных, китов и дельфинов, а также у низших приматов. В эндотелиохориальной плаценте эндотелий материнских капилляров расположен близко к трофобласту, что обусловлено истончением стромы и потерей эпителия матки. Этот тип плаценты наблюдается у плотоядных, но также встречается у слонов (Enders, Carter, 2004). В гемохориальной плаценте, напротив, материнская кровь находится в непосредственном контакте с трофобластом, функционируя без эндотелия капилляров. Этот тип плаценты наблюдается у многих грызунов и у высших приматов, включая людей. Когда-то считалось, что эволюция плаценты прошла от наименее инвазивной формы – эпителиохориальной плаценты – до самой инвазивной – гемохориальной плаценты. Тем не менее, филогенетический анализ наборов молекулярных данных не подтверждает вывод о том, что наиболее инвазивный трофобласт является новейшим и более совершенным типом плаценты. Например, гиены относятся к отряду плотоядных, но, в отличие от собак и кошек, для гиен характерна гемохориальная плацента (Enders et al., 2006). Кроме того, крупные животные, в том числе домашние, имеют эпителиохориальную или эндотелиохориальную плаценту, которая служит не только для обмена питательными веществами и газами, но также и для поддержки роста эмбриона в утробе матери. Эти плацентарные вариации и сходства между отдельными филогенетическими деревьями подтверждают конвергентную эволюцию плаценты у млекопитающих (Lavialle et al., 2013).

ЭВОЛЮЦИЯ ПЛАЦЕНТЫ ЧЕРЕЗ СИНЦИТИОТРОФОБЛАСТЫ

Образование и функционирование синцитиотрофобласта также подтверждает конвергентную эволюцию плаценты. Клетки синцитиотрофобласта, составляющие хорионическую мембрану, образуются в результате слияния поверхностных клеток трофэктодермы и участвуют в эффективном обмене питательных веществ и газа, а также производстве плацентарного лактогена и хорионического гонадотропина (Bischof, Irminger-Finger, 2005; Moffett, Loke, 2006). Эта структура также играет ключевую роль в иммунотолерантности эмбриона к материнской иммунной системе. В случае гемохориальной плаценты можно рассматривать следующие типы структур синцитиотрофобласта в зависимости от количества слоев трофобласта: у крыс плацента характеризуется как монохориальная с одним слоем синцитиотрофобласта; человеческая плацента классифицирована как монохориальная, несмотря на отсутствие лабиринтной зоны, подобной крысиной; мыши и хомяки имеют три слоя трофобластов, поэтому их плацента классифицируется как трихориальная (Bhiwgade et al., 1992; Pfarrer et al., 1999). Эти наблюдения указывают на то, что, хотя плаценты выполняют аналогичные функции питания и газообмена, их морфология гораздо более разнообразна, и морфологические вариации не ограничиваются принадлежностью к специфическому участку эволюционного древа млекопитающих (Imakawa et al., 2015).

ПЛАЦЕНТАРНЫЕ ЭНДОГЕННЫЕ РЕТРОВИРУСЫ

Благодаря многочисленным анализам геномной ДНК млекопитающих было выявлено, что повторяющиеся последовательности составляют по меньшей мере 45 и 40% генома человека и мыши соответственно (Lander et al., 2001; Chinwalla et al., 2002). Из них ЭРВ и ретротранспозоны с LTR составляют 8 и 10% этих геномов соответственно. Как часть генома организма ЭРВ могут потенциально проявлять некоторые функции, хотя их нуклеотидные структуры в основном демонстрируют делеции и/или мутации. Было выявлено, что белки Env индуцируют слияние клеток (Dupressoir et al., 2012; Laviolle et al., 2013). У людей было идентифицировано 18 нуклеотидных структур ЭРВ-*env*, среди которых 16 генов полностью кодируют гены *env* и транскрибируются в нескольких здоровых тканях; однако только три из 18 ЭРВ обладают фузогенной активностью (De Parseval et al., 2003; Blaise et al., 2005).

У человека были выявлены синцитин-1, принадлежащий к семейству HERV-W, и синцитин-2, относящийся к семейству HERV-FRD — они оба

экспрессируют белки Env и обладают фузогенной активностью (Blaise et al., 2003). При анализе генома мыши были найдены и названы два *env*-гена, кодирующих белки с фузогенной активностью — синцитин-А и синцитин-В (Dupressoir et al., 2005). В последнее время были выявлены и охарактеризованы новые синцитин-подобные гены. Несмотря на то, что семейство Leporidae (кролики и зайцы) лишь отдаленно связано с видами приматов и мышей, их плацентарные структуры имеют сходную морфологию. Было установлено, что *синцитин-Ory1* кодирует специфический плацентарный белок с фузогенной активностью, который обнаружен у Leporids (Heidmann et al., 2009). Он существует у этих видов более 12 млн лет, и что более важно, его рецептор ASCT2 является ортологом человеческого рецептора синцитин-1, хотя их происхождение различно (Heidmann et al., 2009). Экспрессия этого гена в зоне контактов плаценты предполагает, что *синцитин-Ory1* может участвовать в формировании синцитиотрофобластов.

Гены, происходящие из ЭРВ, появляются главным образом через вирусные инфекции и/или ретротранспозиции; они обычно не образуют кластеров в геноме. Например, *Fematin-1* был интегрирован в интрон 18 гомолога опухолевого супрессора 2 (*Fat2*), и в соседних регионах не было обнаружено никаких ЭРВ (Nakaya et al., 2013). Кроме того, интеграция экзогенного вируса всегда связана с различными компонентами генов (например, *gag*, *pol* и *env*), а также с сайтами регуляции транскрипции LTR, и поэтому эволюционные пути приобретения ЭРВ должны быть функциональными, а также специфичными для конкретного локуса.

При экспрессии генов синцитина-1 и -2 человека GCM1 является транскрипционным фактором, регулирующим их транскрипционную активность (Yu et al., 2002). CD9 — еще один регуляторный фактор, контролирующий гены *GCM1* и *синцитин* (Muroi et al., 2009). Как и у людей, GCM1 контролирует экспрессию мышечных генов синцитина-А и синцитина-В (Schubert et al., 2008). Транскрипционный фактор GCM1 контролирует эти гомологичные гены у разных видов, что объясняется тем, что ортологичные гены были заменены гомологичными посредством интеграции ЭРВ. Интеграция одного ЭРВ может также сопровождаться интеграцией другого ЭРВ; хотя окончательный вывод сделать невозможно, изначально релевантными генами были не обязательно ЭРВ, а скорее общие ортологичные гены, возможно, *ADAM1*, *ADAM2* и *ITG*. Вновь приобретенные ЭРВ могут функционировать в плацентарном морфогенезе с большей эффективностью, чем ранее существовавшие гены. При исследовании синцитина-Rum1 и Fematin-1 было показано, что последний обладал гораздо лучшей фузоген-

ностью, чем первый (Nakaya et al., 2013). Таким образом, происходят последовательные приобретения ЭРВ с той же функцией благодаря использованию гомологичных генов (Carter, 2014). Получается, что два (или более) гена выполняют одну и ту же функцию в геноме данного вида хозяина, и в конце концов недавно приобретенный ген берет верх, становясь более значимым, чем предыдущий (Nakaya et al., 2013; Imakawa et al., 2015). Предыдущий ген может быть потерян или использован для другой функции, например, для регуляции иммуносупрессии, которая также необходима для нормального прохождения беременности у млекопитающих (Lavialle et al., 2013). В этой гипотезе эволюция генов посредством интеграции ЭРВ может протекать быстрее, чем в более традиционных моделях эволюции генов, поскольку транскрипция тканеспецифичных и/или соседних генов может регулировать экспрессию генов ЭРВ (Yu et al., 2002; Muroi et al., 2009; Nakaya et al., 2013). Для ЭРВ, которые функционируют в репродуктивных процессах, интеграция ЭРВ должна быть специфичной для локуса, потому что они могут транскрибироваться с их собственными LTR или вместе с генами, специфичными для плаценты (Dewannieux, Heidmann, 2013; Nakaya et al., 2013).

Эта гипотеза также может быть применена для объяснения структурного разнообразия плаценты среди млекопитающих. Функции трофобластов и их фузогенная активность демонстрируют больше сходства, чем различий, независимо от их инвазивной и неинвазивной природы. Из-за своего распределения среди генов млекопитающих *Peg10* и *Peg11* можно считать общими генами, первоначально необходимыми для эволюции плацентарных млекопитающих (Ono et al., 2006; Sekita et al., 2008). Сохраняя те же функции, плацентарные структуры были диверсифицированы благодаря приобретению новых генов, таких как ЭРВ. По мере того как хозяин приобретает новые ЭРВ, ген обеспечивает репродуктивные преимущества, которые затем отбираются в популяции, в конечном итоге становясь общими для вида (Imakawa et al., 2015).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эндогенные ретровирусы могут быть использованы как маркеры в сравнительной геномике в дополнение к анализу SNP и использоваться в популяционных генетических исследованиях (Carneiro et al., 2014; Meadows, Lindblad-Toh, 2017; Rivas-Carrillo et al., 2018). Этому способствует и то, что ЭРВ сегрегированы в основном вдоль филогении хозяина, что позволяет датировать вирусные вставки в геном и оценивать их эволюционные последствия в развитии отношений вирус—хозяин. Таким образом, присутствие гомологичных

последовательностей (от 65 до 95% гомологичности) ЭРВ связано с экспансией экзогенных ретровирусов. ЭРВ не являются участниками горизонтального переноса, они являются самим объектом горизонтального переноса, за счет чего происходят микро- и макроэволюции. В геноме млекопитающих представлено большое количество ЭРВ, их число может различаться в зависимости от того, является ли животное диким или одомашненным. Наибольшее количество вставок ЭРВ обнаружено не у одомашненных, а у диких животных вне зависимости от ареала их проживания, что указывает на снижение генетического разнообразия среди домашних животных и коррелирует с ранее описанным снижением SNP-разнообразия у них.

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 исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Гилберт С. Биология развития // СПб: Информ-планета, 2010. 850 с.
- Жданов В.М., Лапин Б.А., Быковский А.Ф. и др. Биофизические и биохимические свойства лейковируса, пассируемого на обезьянах // Докл. АН СССР. 1978. Т. 208. С. 230–232.
- Aiewsakun P., Katzourakis A. Endogenous viruses: connecting recent and ancient viral evolution // *Virology*. 2015. V. 479–480. P. 26–37.
- Bhiwgade D.A., Singh A.B., Manekar A.P., Menon S.N. Ultrastructural development of chorioallantoic placenta in the Indian *Miniopterus* bat, *Miniopterus schreibersii fuliginosus* (Hodgson) // *Acta Anat.* 1992. V. 145 (3). P. 248–264.
- Bischof P., Irminger-Finger I. The human cytotrophoblastic cell, a mononuclear chameleon // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2005. V. 37. P. 1–16.
- Blaise S., De Parseval N., Bénit L., Heidmann T. Genomewide screening for fusogenic human endogenous retrovirus envelopes identifies syncytin 2, a gene conserved on primate evolution // *PNAS USA*. 2003. V. 100 (22). P. 13013–13018.
- Blaise S., De Parseval N., Heidmann T. Functional characterization of two newly identified human endogenous retrovirus coding envelope genes // *Retrovirology*. 2005. V. 2. Art. 19.
- Boeke J.D., Stoye J.P. Retrotransposons, endogenous retroviruses and the evolution of retroelements // *Retroviruses* / Eds J.M. Coffin, S.H. Hughes, H.E. Varmus. Plainview, N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1997. P. 343–436.

- Bolisetty M., Blomberg J., Benachenhou F. et al.* Unexpected diversity and expression of avian endogenous retroviruses // *mBio*. 2012. V. 3 (5). P. e00344–12.
- Brown K., Emes R.D., Tarlinton R.E.* Multiple groups of endogenous epsilon-like retroviruses conserved across primates // *J. Virol.* 2014. V. 88. P. 12464–12471.
- Carneiro M., Rubin C., Di Palma F. et al.* Rabbit genome analysis reveals a polygenic basis for phenotypic change during domestication // *Science*. 2014. V. 345. P. 1074–1079.
- Carter A.M.* Evolution of placental structure and function in ruminants // *Reproduction in domestic ruminants VIII* / Eds J.L. Juengel, A. Miyamoto, C. Price, L.P. Reynolds, M.F. Smith, R. Webb. Leicestershire, UK: Context Prod. Ltd., 2014. P. 387–398.
- Chinwalla A.T., Cook L.L., Delehaunty K.D. et al.* Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome // *Nature*. 2002. V. 429. P. 520–562.
- Chopra H.C., Mason M.M.* A new virus in a spontaneous mammary tumor of a rhesus monkey // *Canc. Res.* 1970. V. 30 (8). P. 2081–2086.
- Cornelis G., Heidmann O., Degrelle S.A. et al.* Captured retroviral envelope syncytin gene associated with the unique placental structure of higher ruminants // *PNAS USA*. 2013. V. 110 (9). P. E828–E837.
- De Parseval N., Lazar V., Casella J.F. et al.* Survey of human genes of retroviral origin: identification and transcriptome of the genes with coding capacity for complete envelope proteins // *J. Virol.* 2003. V. 77 (19). P. 10414–10422.
- Dewannieux M., Heidmann T.* Endogenous retroviruses: acquisition, amplification and taming of genome invaders // *Curr. Opin. Virol.* 2013. V. 3. P. 646–656.
- Dupressoir A., Marceau G., Vernochet C. et al.* Syncytin-A and syncytin-B, two fusogenic placenta-specific murine envelope genes of retroviral origin conserved in Muridae // *PNAS USA*. 2005. V. 102 (3). P. 725–730.
- Dupressoir A., Lavielle C., Heidmann T.* From ancestral infectious retroviruses to bona fide cellular genes: role of the captured syncytins in placentation // *Placenta*. 2012. V. 33 (9). P. 663–671.
- Enders A.C., Carter A.M.* What can comparative studies of placental structure tell us? // *Placenta*. 2004. V. 25. P. 3–9.
- Enders A.C., Blankenship T.N., Conley A.J., Jones C.J.* Structure of the midterm placenta of the spotted hyena, *Crocuta crocuta*, with emphasis on the diverse hemophagous regions // *Cells Tiss. Org.* 2006. V. 183. P. 141–155.
- Feschotte C., Gilbert C.* Endogenous viruses: insights into viral evolution and impact on host biology // *Nat. Rev. Genet.* 2012. V. 13. № 4. P. 283–296.
- Garcia-Etxebarria K., Sistiaga-Poveda M., Jugo B.M.* Endogenous retroviruses in domestic animals // *Curr. Genom.* 2014. V. 15 (4). P. 256–265.
- Gilbert C., Feschotte C.* Genomic fossils calibrate the long-term evolution of hepadnaviruses // *PLoS Biol.* 2010. V. 8 (9). P. e1000495.
- Glazko V.I., Glazko T.T., Zybaylov B.L., Glazko G.V.* Domestication and mobile genetic elements // *Holocene*. 2019. V. 29 (3). P. 518–522.
- Hanada K., Suzuki Y., Gojobori T.* A large variation in the rates of synonymous substitution for RNA viruses and its relationship to a diversity of viral infection and transmission modes // *Mol. Biol. Evol.* 2004. V. 21. P. 1074–1080.
- Hayward A., Grabherr M., Jern P.* Broad-scale phylogenomics provides insights into retrovirus–host evolution // *PNAS USA*. 2013. V. 110 (50). P. 20146–20151.
- Hayward A., Cornwallis C.K., Jern P.* Pan-vertebrate comparative genomics unmasks retrovirus macroevolution // *PNAS USA*. 2015. V. 112 (2). P. 464–469.
- Hedges S.B., Marin J., Suleski M. et al.* Tree of life reveals clock-like speciation and diversification // *Mol. Biol. Evol.* 2015. V. 32 (4). P. 835–845.
- Heidmann O., Vernochet C., Dupressoir A., Heidmann T.* Identification of an endogenous retroviral envelope gene with fusogenic activity and placenta-specific expression in the rabbit: a new “syncytin” in a third order of mammals // *Retrovirology*. 2009. V. 6. P. 107.
- Holmes E.C.* The phylogeography of human viruses // *Mol. Ecol.* 2004. V. 13. P. 745–756.
- Holmes E.C.* Evolutionary history and phylogeography of human viruses // *Ann. Rev. Microbiol.* 2008. V. 62. P. 307–328.
- Huebner R.J., Todaro G.J.* Oncogenes of RNA tumor viruses as determinants of cancer // *PNAS USA*. 1969. V. 64 (3). P. 1087–1094.
- Imakawa K., Nakagawa S., Miyazawa T.* Baton pass hypothesis: successive incorporation of unconserved endogenous retroviral genes for placentation during mammalian evolution // *Genes Cells*. 2015. V. 20. № 10. P. 771–788.
- Jenkins G.M., Rambaut A., Pybus O.G., Holmes E.C.* Rates of molecular evolution in RNA viruses: a quantitative phylogenetic analysis // *J. Mol. Evol.* 2002. V. 54. P. 156–165.
- Jern P., Coffin J.M.* Effects of retroviruses on host genome function // *Ann. Rev. Genet.* 2008. V. 42. P. 709–732.
- Kalter S.S., Helmke R.J., Panigel M. et al.* Observations of apparent C-type particles in baboon (*Papio cynocephalus*) placentas // *Science*. 1973. V. 179 (4080). P. 1332–1333.
- Katzourakis A., Tristem M., Pybus O.G., Gifford R.J.* Discovery and analysis of the first endogenous lentivirus // *PNAS USA*. 2007. V. 104 (15). P. 6261–6265.
- Keckesova Z., Ylinen L.M.J., Towers G.J. et al.* Identification of a RELIK orthologue in the European hare (*Lepus europaeus*) reveals a minimum age of 12 million years for the lagomorph lentiviruses // *Virology*. 2009. V. 384 (1). P. 7–11.
- Kewalramani V.N., Panganiban A.T., Emerman M.* Spleen necrosis virus, an avian immunosuppressive retrovirus, shares a receptor with the type D simian retroviruses // *J. Virol.* 1992. V. 66 (5). P. 3026–3031.
- Klement V., McAllister R.M.* Syncytial cytopathic effect in KB cells of a C-type RNA virus isolated from human rhabdomyosarcoma // *Virology*. 1972. V. 50 (1). P. 305–308.
- Kumar S., Subramanian S.* Mutation rates in mammalian genomes // *PNAS USA*. 2002. V. 99. P. 803–808.

- Lander E.S., Linton L.M., Birren B. et al. Initial sequencing and analysis of the human genome // *Nature*. 2001. V. 409. P. 860–921.
- Lavialle C., Cornelis G., Dupressoir A. et al. Paleovirology of ‘syncytins’, retroviral *env* genes exapted for a role in placentation // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 2013. V. 368 (1626). P. e20120507.
- Lefevre P., Harkins G.W., Lett J.M. et al. Evolutionary time-scale of the begomoviruses: evidence from integrated sequences in the *Nicotiana* genome // *PLoS One*. 2011. V. 6. № 5. P. e19193.
- Mager D., Stoye J. Mammalian endogenous retroviruses // *Microbiol. Spectr.* 2015. V. 3 (1). P. 1079–1100.
- Magiorkinis G., Gifford R.J., Katzourakis A. et al. Env-less endogenous retroviruses are genomic superspreaders // *PNAS USA*. 2012. V. 109. P. 7385–7390.
- McAllister R.M., Nicolson M., Gardner M.B. et al. C-type virus released from cultured human rhabdomyosarcoma cells // *Nat. New Biol.* 1972. V. 235 (53). P. 3–6.
- Meadows J.R.S., Lindblad-Toh K. Dissecting evolution and disease using comparative vertebrate genomics // *Nat. Rev. Genet.* 2017. V. 18. P. 624–636.
- Moffett A., Loke C. Immunology of placentation in eutherian mammals // *Nat. Rev. Immunol.* 2006. V. 6. P. 584–594.
- Muroi Y., Sakurai T., Hanashi A. et al. CD9 regulates transcription factor GCM1 and ERVWE1 expression through cAMP/protein kinase A signaling pathway // *Reproduction*. 2009. V. 138. P. 945–951.
- Nakaya Y., Koshi K., Nakagawa S. et al. Fematrin-1 is involved in fetomaternal cell-to-cell fusion in Bovinae placenta and has contributed to diversity of ruminant placentation // *J. Virol.* 2013. V. 87 (19). P. 10563–10572.
- Niman H.L., Stephenson J.R., Gardner M.B., Roy-Burman P. RD-114 and feline leukaemia virus genome expression in natural lymphomas of domestic cats // *Nature*. 1977. V. 266 (5600). P. 357–360.
- Ono R., Nakamura K., Inoue K. et al. Deletion of *Peg10*, an imprinted gene acquired from a retrotransposon, causes early embryonic lethality // *Nat. Genet.* 2006. V. 38. P. 101–106.
- Patel M.R., Emerman M., Malik H.S. Paleovirology – ghosts and gifts of viruses past // *Curr. Opin. Virol.* 2011. V. 1. P. 304–309.
- Pfarrer C., Winther H., Leiser R., Dantzer V. The development of the endotheliochorial mink placenta: light microscopy and scanning electron microscopical morphometry of maternal vascular casts // *Anat. Embryol.* 1999. V. 199 (1). P. 63–74.
- Pybus O.G., Rambaut A. Evolutionary analysis of the dynamics of viral infectious disease // *Nat. Rev. Genet.* 2009. V. 10. P. 540–550.
- Rasko J.E., Battini J.L., Gottschalk R.J. et al. The RD114/simian type D retrovirus receptor is a neutral amino acid transporter // *PNAS USA*. 1999. V. 96 (5). P. 2129–2134.
- Rivas-Carrillo S.D., Pettersson M.E., Rubin C.-J., Jern P. Whole-genome comparison of endogenous retrovirus segregation across wild and domestic host species populations // *PNAS USA*. 2018. V. 115 (43). P. 11012–11017.
- Sanjuán R. From molecular genetics to phylodynamics: evolutionary relevance of mutation rates across viruses // *PLoS Pathog.* 2012. V. 8. P. e1002685.
- Schubert S.W., Lamoureux N., Kilian K. et al. Identification of integrin- α 4, Rb1, and syncytin A as murine placental target genes of the transcription factor GCMA/Gcm1 // *J. Biol. Chem.* 2008. V. 283. P. 5460–5465.
- Sekita Y., Wagatsuma H., Nakamura K. et al. Role of retrotransposon-derived imprinted gene, *Rtl1*, in the fetomaternal interface of mouse placenta // *Nat. Genet.* 2008. V. 40. P. 243–248.
- Sinha A., Johnson W.E. Retroviruses of the RDR superinfection interference group: ancient origins and broad host distribution of a promiscuous *env* gene // *Curr. Opin. Virol.* 2017. V. 25. P. 105–112.
- Sommerfelt M.A., Weiss R.A. Receptor interference groups of 20 retroviruses plating on human cells // *Virology*. 1990. V. 176 (1). P. 58–69.
- Sperber G.O., Airola T., Jern P., Blomberg J. Automated recognition of retroviral sequences in genomic data – RetroTector // *Nucl. Ac. Res.* 2007. V. 35. P. 4964–4976.
- Steitz J., Borah S., Cazalla D. et al. Noncoding RNPs of viral origin // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2011. V. 3. P. a005165.
- Stromberg K., Benveniste R.E., Arthur L.O. et al. Characterization of exogenous type D retrovirus from a fibroma of a macaque with simian AIDS and fibromatosis // *Science*. 1984. V. 224 (4646). P. 289–292.
- van der Loo W., Abrantes J., Esteves P.J. Sharing of endogenous lentiviral gene fragments among leporid lineages separated for more than 12 million years // *J. Virol.* 2009. V. 83 (5). P. 2386–2388.
- Varela M., Spencer T.E., Palmarini M., Arnaud F. Friendly viruses: the special relationship between endogenous retroviruses and their host // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2009. V. 1178. P. 157–172.
- Vogt V.M. Retroviral virions and genomes // *Retroviruses* / Eds J.M. Coffin, S.H. Hughes, H.E. Varmus. Plainview, N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1997. P. 27–69.
- Weiss R.A. The discovery of endogenous retroviruses // *Retrovirology*. 2006. V. 3. P. 67–78.
- Wertheim J.O., Kosakovsky Pond S.L. Purifying selection can obscure the ancient age of viral lineages // *Mol. Biol. Evol.* 2011. V. 28. P. 3355–3365.
- Wilkins A.S., Wrangham R.W., Tecumseh Fitch W. The ‘domestication syndrome’ in mammals: a unified explanation based on neural crest cell behavior and genetics // *Genetics*. 2014. V. 197 (3). P. 795–808.
- Xu X., Zhao H., Gong Z., Han G. Endogenous retroviruses of non-avian/mammalian vertebrates illuminate diversity and deep history of retroviruses // *PLoS Pathog.* 2018. V. 14. № 6. P. e1007072.
- Yu C., Shen K., Lin M. et al. GCMA regulates the syncytin-mediated trophoblastic fusion // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 50062–50068.
- Zamani W., Ghasempouri S.M., Rezaei H.R. et al. Comparing polymorphism of 86 candidate genes putatively involved in domestication of sheep, between wild and domestic Iranian sheep // *Meta Gene*. 2018. V. 17. P. 223–231.

Role of Endogenic Retroviruses in the Domestication Process

S. I. Alipkina^a, D. S. Nalobin^a, M. S. Krasnov^{b, *}, A. A. Galiakberova^a,
D. V. Troshev^a, and D. V. Boguslavsky^c

^a*Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

^b*Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds, RAS, Moscow, Russia*

^c*Koltsov Institute of Developmental Biology, RAS, Moscow, Russia*

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

Endogenous retroviruses (ERVs) play an important role in the regulation of the expression of many animal and human genes, and are involved in the processes of transcriptional and post-transcriptional editing. ERVs retain a certain genetic similarity to the exogenous generic virus. ERV research helps to know the age and rate of evolution of exogenous viruses that are contagious to animals and humans. It is known that retroviruses arose before the appearance of vertebrates, which makes it possible to assess their contribution to the evolutionary development of organisms. ERVs have no species boundaries, which is due to horizontal transfer, however, the movement of retrotransposons in the genome of animals can lead to cytogenetic defects and bring a negative effect on the fitness of the species genome of the organism. One of the striking examples of horizontal transfer is the LINE 1 retrotransposon, which encompasses 559 species, including animals, plants, and fungi, which confirms the assumption about the time of the emergence of retroviruses. Retrotransposons, participating in the processes of transposition and recombination, lead to a change in the nucleotide sequences in DNA, which leads to mutational processes in genes, in particular those responsible for the development of neurons in the brain and nervous system and, thereby, to be responsible for the occurrence of the “domestication syndrome”. Infection of germ cells with retroviruses gradually led them to ensure reproductive functions in mammals. These functions include the fusion of trophoblasts in the placenta. Genes derived from ERV are incorporated into the genome through viral infections or through retrotransposition. The review systematizes and summarizes knowledge about the evolution and transfer of ERVs in the body, their functions in the genome, presents the main and widespread ERVs, their molecular structure and properties.

Keywords: endogenous retroviruses (ERV), retrotransposons, long terminal repeats (LTR), rabbit endogenous lentivirus type K (RELİK), RD114-and-D-type-retrovirus (RDR), placental ERV, domestication

УДК 571.27

ТИМАЛИН: ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ИММУНОКОРРЕКЦИИ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

© 2021 г. В. Х. Хавинсон^{1,2}, Н. С. Линькова^{1,3,4,*}, Н. И. Чалисова^{1,2}, О. М. Ивко¹

¹Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, Санкт-Петербург, Россия

²Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

³Академия постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, Москва, Россия

⁴Белгородский национальный исследовательский государственный университет, Белгород, Россия

*e-mail: niayu@yandex.ru

Поступила в редакцию 12.06.2020 г.

После доработки 12.06.2020 г.

Принята к публикации 12.06.2020 г.

Лекарственный пептидный препарат тималин применяется при различных заболеваниях, связанных с нарушением функций иммунной системы, при вирусных и бактериальных инфекциях, для нормализации регенерации тканей, при угнетении иммунитета и кроветворения после химио- или лучевой терапии. Работа посвящена анализу молекулярного механизма действия тималина и его компонентов, к которым относятся дипептид EW (лекарственный препарат тимоген), дипептид KE, трипептид EDP. Эти короткие пептиды регулируют экспрессию генов и синтез белков теплового шока, цитокинов, системы фибринолиза, геронтогенов, дифференцировки, пролиферации и апоптоза клеток. Тималин и тимоген практически не имеют побочных эффектов и применяются при различных вирусных инфекциях. Вероятно, эти пептидные препараты могут быть эффективны в комплексной терапии коронавирусной инфекции COVID-19.

Ключевые слова: тималин, тимоген, короткие пептиды, механизм действия, иммунокоррекция

DOI: 10.31857/S0042132420060046

Создание эффективных и безопасных лекарственных препаратов, способных повышать защитные функции организма – одно из приоритетных направлений молекулярной медицины и иммунологии. Пептиды, образующиеся путем ограниченного протеолиза, являются эндокринными и аутокринными носителями информации о локальном состоянии функций органа или ткани. Низкомолекулярные короткие пептиды размером до 10 аминокислотных остатков обладают широким спектром активности и координируют биологические функции различных органов и тканей (Рыжак и др., 2015; Khavinson, Porovich, 2017). Известно большое количество пептидов, регулирующих дифференцировку, пролиферацию и апоптоз клеток в норме, при патологии и старении организма (Khavinson et al., 2020).

Разработана технология выделения полипептидных комплексов из различных органов и тканей молодых животных. Первым пептидным лекарственным препаратом, созданным по этой технологии, стал полипептидный комплекс, выделенный из тимуса телят – тималин (Морозов, Хавинсон, 1981; Морозов и др., 1982; Хавинсон, Мо-

розов, 1982). Этот препарат нормализует функции иммунной системы, стимулирует процессы регенерации и кроветворения в случае их угнетения. Иммунопротекторное действие тималина выражается в восстановлении количества и соотношения Т- и В-лимфоцитов, их субпопуляций, повышении их функциональной активности, усилении фагоцитоза (Морозов и др., 2000; Anisimov, Khavinson, 2010). Тималин применяется при лечении различных заболеваний, связанных с нарушением функций иммунной системы у детей и взрослых (острые и хронические вирусные и бактериальные инфекции, инфекционные гнойные и септические процессы, нарушение процессов регенерации, угнетение иммунитета и кроветворения после химио- или лучевой терапии) (Хавинсон и др., 1991, 2013, 2014a; Хавинсон, Морозов, 2002; Кузник и др., 2002; Khlystova et al., 2003). Применение тималина способствовало снижению частоты возникновения острых респираторных заболеваний у людей пожилого и старческого возраста в 2.0–2.4 раза (Хавинсон, Морозов, 2002). Установлено, что тималин накапливается в клетках эпителия дыхательных путей человека во вре-

мя раннего эмбриогенеза (Khlystova et al., 2003). Применение тималина в терапии пациентов с острым абсцессом легкого приводило к снижению синдрома системного воспалительного ответа, фибринолитической активности плазмы и прекращению гиперкоагуляции (Кузник и др., 2002). Тималин проявлял геропротекторные свойства в экспериментах на животных и в клинических исследованиях. Препарат способствовал восстановлению функций иммунной системы и снижал смертность у пациентов пожилого возраста (Коркушко и др., 2002; Anisimov, Khavinson, 2010). Таким образом, тималин нормализует функции иммунной и дыхательной систем, а кроме того, обладает геропротекторным действием. Применение тималина в эксперименте и у пациентов с пневмониями различной этиологии, вирусными инфекционными заболеваниями сопровождалось нормализацией свертывания и фибринолитической активности крови (Кузник и др., 2011, 2013; Хавинсон и др., 2012б, 2013).

В настоящее время одним из перспективных подходов к комплексному лечению вирусного заболевания COVID-19, тяжелая форма которого сопровождается пневмонией, тромбообразованием и дисбалансом цитокинового статуса, являются иммуномодулирующая терапия и применение препаратов, нормализующих систему гемостаза. Учитывая, что в группе риска при COVID-19 находятся в основном лица пожилого и старческого возраста, можно рассматривать тималин как один из препаратов для комплексной терапии инфекции, вызванной SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) (Tang et al., 2020; Wang et al., 2020; Zhang et al., 2020).

В связи с этим важным является изучение молекулярных аспектов механизма действия тималина. Следует отметить, что активными компонентами полипептидного препарата являются короткие пептиды в его составе (Хавинсон и др., 2017). Ранее из тималина методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (RP-HPLC) был выделен дипептид EW, который впоследствии был синтезирован и получил наименование “timoген”. Дальнейшие экспериментальные и клинические исследования показали, что тимоген является высокоэффективным иммуномодулятором (Морозов и др., 2000). Идентификация коротких пептидов в составе тималина осуществлялась методами масс-спектрометрии и высокоэффективной жидкостной хроматографии (Журкович и др., 2020). В результате этого исследования были выявлены дипептид KE (вилон) и трипептид EDP (кристаген), которые обладают высокой биологической активностью.

Области применения лекарственных препаратов тималина и тимогена во многом сходны. Имеются следующие показания к применению тимогена: профилактика и комплексная терапия острых и хронических вирусных и бактериальных заболеваний верхних дыхательных путей, профилактика угнетения иммунитета, кроветворения, процессов регенерации в посттравматическом и послеоперационном периодах. Проведено двойное слепое рандомизированное плацебо-контролируемое исследование эффективности тимогена у пациентов пожилого возраста после удаления солидных опухолей в брюшной полости и забрюшинном пространстве. Дооперационное использование тимогена восстанавливало структурные и функциональные параметры иммунитета и приводило к статистически значимому уменьшению количества и спектра послеоперационных осложнений и сокращению послеоперационного периода (Смирнов и др., 2011). Тимоген так же, как и тималин, проявлял геропротекторные свойства в экспериментах на животных. Аналогично тималину, применение тимогена в эксперименте и у пациентов с пневмониями различной этиологии и вирусными инфекционными заболеваниями сопровождалось нормализацией свертывания и фибринолитической активности белков плазмы крови (Кузник и др., 2011; Хавинсон и др., 2013). Следует отметить, что введение тимогена крысам приводило к повышению выживаемости и снижению числа опухолей в 1.5 раза (Anisimov et al., 2000).

Выявлено, что короткие пептиды – тимоген, вилон, кристаген активируют дифференцировку, повышают жизнеспособность и пролиферацию, снижают апоптоз различных субпопуляций иммунных клеток.

Обнаружено, что применение пептида KE стимулирует клеточный иммунитет и неспецифическую резистентность организма, оказывает активизирующее действие на макрофаги, лимфоциты крови, тимоциты и нейтрофилы (Щербак и др., 2004; Севостьянова и др., 2012). Вилон индуцирует экспрессию молекул CD4 и CD5 на клетках тимуса, стимулируя их дифференцировку в направлении Т-хелперов (Севостьянова и др., 2012). Пептид KE при введении в организм трансгенных мышей подавляет экспрессию онкогена *HER-2/neu* в 2 раза (Хавинсон, 2009). Вилон способствует увеличению доли транскрибируемого эухроматина и снижению количества гетерохроматина в лимфоцитах крови лиц старческого возраста (Хавинсон и др., 2004). Пептид KE нормализует длину теломер ФГА-стимулированных лимфоцитов крови людей разного возраста (Хавинсон и др., 2019). Вилон также регулирует экспрессию генов *IGF1*, *FOXO1*, *TERT*, *TNKS2*, *NFκB* в эмбриональных мезенхимальных стволовых клетках человека ли-

нии FetMSC при их репликативном и стационарном старении (Asharkin et al., 2020). Пептид KE обнаружен в числе 57 дипептидов, способных к селективному связыванию с двуниевой ДНК. При изучении влияния пептидов на экспрессию 15247 генов методом микрочиповой технологии установлено, что пептид KE регулирует экспрессию генов *EPS15*, *MCM10 homologue*, *Culline 5*, *APG5L*, *FUSED*, *ZNF01*, *FLJ12848 fis*, *ITPK1*, *SLC7A6*, *FLJ22439 fis*, *KIAA0029*, *FLJ13697 fis*, *KIAA0699*, *FLJ10914*, *Gdap1*, *MSTP028*, *MLLT3*, *PEPP2* и синтез белков цитоскелета, пролиферацию и метаболизм клетки, что объясняет его высокую биологическую активность (Khavinson, Malinin, 2005). Экспериментально выявлено выраженное селективное связывание пептида KE с последовательностью TCGA ДНК, которая входит в состав этих генов. Предполагается, что пептид KE может регулировать экспрессию генов и синтез белков теплового шока (HSP), цитокинов (IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF- α), тканевого фактора, белков системы фибринолиза (плазминоген, тканевой и урокиназный активаторы плазминогена, антитромбин III), белков “молодости” и “старости” (GDF11, FNDC5, бетатрофин, FGF19, FGF21, FGF23, HMGB1, MIC1/GDF15, JAM-A) (Хавинсон и др., 2011а, 2014б, 2015а,б, 2018; Кузник и др., 2014, 2017). Установлено, что мотив KE встречается в аминокислотных последовательностях некоторых цитокинов и пептидных гормонов, по своим функциям сходных с пептидом KE. В протеоме человека ядерные белки содержат наибольшее количество мотивов KE, тогда как цитоплазматические и все прочие белки имеют минимум содержания KE. В ходе ограниченного протеолиза молекулы пептида KE, высвобождаемые из ядерных белков, могут связываться с ДНК и регулировать экспрессию генов (Терехов и др., 2019). Пептид KE снижает экспрессию матричной металлопротеиназы-9 (MMP-9) и повышает экспрессию молекул Ki-67, CD98hc, синтез которых нарушается при старении фибробластов кожи (Линькова и др., 2016).

Пептид EDP способствует дегетерохроматинизации хроматина лимфоцитов крови лиц пожилого возраста (Хавинсон и др., 2006). Эффективность перорального применения кристагена оценивали у людей пожилого и старческого возраста с нарушенным иммунитетом. Кристаген в сочетании со стандартным лечением способствовал нормализации иммунограммы у 82% пациентов, тогда как в контрольной группе (только стандартное лечение) нормализация иммунограммы наблюдалась у 56% пациентов. Кристаген в большей степени влиял на Т-клеточное звено иммунитета (повышение количества CD3⁺-, CD4⁺-клеток, нормализация соотношения CD4⁺/CD8⁺) и оказывал

менее выраженное действие на В-лимфоциты. У всех пациентов, применявших кристаген, наблюдалось снижение выраженности астенического синдрома, сопровождающего вторичные иммунодефициты (Хавинсон и др., 2006). Установлено иммуногеропротекторное действие кристагена на клетки тимуса крыс, подвергшихся гамма-облучению (модель ускоренного старения). После введения кристагена животным в тимусе сохранялось разделение на корковое и мозговое вещество (его отсутствие — один из признаков старения), повышалось количество макрофагов, тучных клеток, усиливалась пролиферация тимоцитов, оцениваемая по экспрессии PCNA (proliferating cell nuclear antigen, ядерный антиген пролиферирующих клеток) (Хавинсон и др., 2006). Показано стимулирующее влияние пептида EDP на способность перитонеальных макрофагов молодых и старых мышей секретировать цитокины IL-1, IL-6, TNF- α . Кроме того, пептид EDP активировал пролиферацию эпителиальных клеток тимуса человека линии VTEC2.H/S (Хавинсон и др., 2006). Пептид EDP угнетает пролиферацию опухолевых клеток линии K-562 эритромиелома человека. Угнетение пролиферации под действием кристагена, направленное на иммортализованные клетки, может указывать на его противоопухолевую активность. Пептид EDP усиливает спонтанную пролиферативную активность нормальных лимфоцитов, что показывает его стимулирующее влияние на неопухолевые иммунные клетки человека (Хавинсон и др., 2011б). Пероральное применение кристагена в комплексе с другими короткими пептидами способствует повышению стрессоустойчивости и нормализации иммунитета у спортсменов. Пептиды в 2 раза повышали экспрессию гена белка теплового шока *HSPA1A* и нормализовывали экспрессию гена *IL-6*. После приема пептидных биорегуляторов у спортсменов снизилась заболеваемость острыми респираторными вирусными инфекциями (Хавинсон и др., 2012а).

Выполнены исследования, в которых проводилось сравнительное изучение тималина и коротких пептидов EW, KE, EDP на иммуногенез. В органотипических культурах ткани селезенки молодых и старых крыс было изучено влияние пептидов на процессы пролиферации и апоптоза клеток (лимфобласты, лимфоциты, макрофаги). Тималин, пептиды EW, KE, EDP повышали индекс площади зоны роста эксплантатов селезенки животных на 20–50%, стимулировали пролиферацию и снижали апоптоз клеток на 29–42% по сравнению с контролем. Эффект тималина был выражен сильнее, чем у коротких пептидов (Чалисова и др., 2006, 2008, 2011, 2015, 2016; Червякова и др., 2013). Полученные данные можно объяс-



Рис. 1. Предполагаемая схема реализации молекулярно-биологических эффектов тималина и входящих в его состав коротких пептидов.

нить тем, что в тималине содержатся все 3 исследуемых коротких пептида, а также большое количество других пептидов, которые могут обладать иммунопротекторными свойствами.

Изучено влияние пептидов EW, KE, EDP на экспрессию маркеров рецепторного (белки p16, p21, p53, Caspase-8, -9) и митохондриального (AIF, прохибитин) апоптоза в культурах лимфоцитов крови человека. Установлено, что эти пептиды снижают уровень рецепторного и митохондриального апоптоза в лимфоцитах крови при их репликативном старении. Пептиды EW и KE оказывают более выраженное антиапоптотическое действие в “молодых” и “старых” культурах лимфоцитов крови, чем пептид EDP (Дудков, 2019). Предполагается, что антиапоптотическое действие пептидов может быть связано не только с их способностью эпигенетически регулировать экспрессию генов, но и с другим механизмом. Антиапоптотическое и геропротекторное действие пептидов может быть реализовано путем активации транскрипции генов апоптоза при изменении конформаций гистонов под воздействием коротких пептидов. Методом молекулярного моделирования установлено, что пептиды предпочтительнее всего связываются с гистонами H1/1, H1/3, H1/6, H2b, H3, H4 по сайтам, которые взаимодействуют с ДНК. Наиболее энергетически выгодное взаимодействие с гистонами H1/3 образует пептид EW.

Информация, поступающая в живой организм, контролируется регуляторными системами, действие которых направлено на сохранение высокой степени стабильности функционирования генома. Следовательно, основная задача системы биорегуляции заключается в управлении экспрессией генов, процессами синтеза белков и защитными функциями организма. Информация об изменениях внешней и внутренней среды служит фактором, который индуцирует трансформацию в системе биорегуляции, необходимую для сохранения функциональной активности клеток.

Поэтому взаимодействие информационных молекул, в частности, регуляторных пептидов, с геномом играет важную роль в поддержании клеточного гомеостаза.

Иммуно- и геропротекторные эффекты тималина, который нормализует дифференцировку, пролиферацию и снижает апоптоз лимфоидных клеток, активизирует реакции клеточного иммунитета и процессы регенерации, обусловлены эффектами входящих в его состав коротких пептидов EW, KE, EDP. Пептиды EW, KE, EDP в составе лекарственного препарата тималина способны комплементарно связываться с определенными последовательностями ДНК или гистоновыми белками. В результате этого связывания происходит изменение экспрессии генов и синтеза белков теплового шока, цитокинов, системы фибринолиза, геронтогенов, протеинов, участвующих в дифференцировке, пролиферации и апоптозе иммунных клеток. Нормализация синтеза белков, активирующих функции иммунной и антиоксидантной систем, процессы регенерации, гомеостаза проявляется в восстановлении функций регуляторных систем организма и объясняет высокую эффективность тималина в терапии широкого спектра заболеваний (рис. 1). В связи с тем, что тималин и входящий в его состав тимоген применяются при вирусных инфекциях и для бронхопротекции, можно предположить, что эти препараты будут эффективны в комплексной терапии коронавирусной инфекции. Все это указывает на актуальность дальнейших исследований тималина и входящих в его состав коротких пептидов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Дудков А.В.* Пептидная регуляция каспаза-зависимого апоптоза при клеточном старении // *Соврем. пробл. науки и образ.* 2019. № 2. С. 1–11. <http://www.science-education.ru/article/view?id=28701>.
- Журкович И.К., Ковров Н.Г., Рыжак Г.А. и др.* Идентификация коротких пептидов в составе полипептидных комплексов, выделенных из органов животных // *Успехи соврем. биол.* 2020. Т. 140. № 2. С. 140–148.
- Коркушко О.В., Хавинсон В.Х., Бутенко Г.М., Шатило В.Б.* Пептидные препараты тимуса и эпифиза в профилактике ускоренного старения. СПб.: Наука, 2002. 202 с.
- Кузник Б.И., Будажабон Г.Б., Даренская С.Д., Лиханов И.Д.* Влияние тималина на иммунитет и гемостаз у больных с абсцессами легких // *Тромбоз, гемостаз, реол.* 2002. № 3 (11). С. 55–61.
- Кузник Б.И., Линькова Н.С., Тарновская С.И., Хавинсон В.Х.* Цитокины и регуляторные пептиды: возрастные особенности изменения, развитие атеросклероза и тромботических заболеваний (обзор собственных данных) // *Успехи геронтол.* 2013. Т. 26. № 1. С. 38–51.
- Кузник Б.И., Линькова Н.С., Хавинсон В.Х.* Белки теплового шока: возрастные изменения, развитие тромботических осложнений и пептидная регуляция генома // *Успехи геронтол.* 2011. Т. 24. №4. С. 539–552.
- Кузник Б.И., Хавинсон В.Х., Линькова Н.С. и др.* Факторы роста фибробластов FGF19, FGF21, FGF23 как эндокринные регуляторы физиологических функций и геропротекторы. Эпигенетические механизмы регуляции // *Успехи соврем. биол.* 2017. Т. 137. № 1. С. 84–99.
- Кузник Б.И., Хавинсон В.Х., Тарновская С.И. и др.* Эпигенетические механизмы действия пептидов Lys-Glu и Ala-Glu-Asp-Gly на систему гемостаза, цитокиновый профиль и продолжительность жизни // *Успехи клин. мед.* 2014. № 1–2. С. 29–42.
- Линькова Н.С., Дробинцева А.О., Орлова О.А. и др.* Пептидная регуляция функций фибробластов кожи при их старении *in vitro* // *Клет. технол. биол. мед.* 2016. №1. С. 40–44.
- Морозов В.Г., Хавинсон В.Х.* Выделение, очистка и идентификация иммуномодулирующего полипептида, содержащегося в тимусе телят и человека // *Биохимия.* 1981. Т. 46. Вып. 9. С. 1652–1659.
- Морозов В.Г., Хавинсон В.Х., Кожемякин А.Л., Кожемякин Л.А.* Влияние полипептидного фактора тимуса на систему циклических нуклеотидов иммунокомпетентных клеток // *Вопр. мед. химии.* 1982. Т. 28. Вып. 4. С. 114–118.
- Морозов В.Г., Хавинсон В.Х., Малинин В.В.* Пептидные тимомиметики. СПб.: Наука, 2000. 158 с.
- Рыжак А.П., Чалисова Н.И., Линькова Н.С. и др.* Влияние полипептидов на регенерацию клеток в культуре разных тканей молодых и старых крыс // *Успехи геронтол.* 2015. Т. 28. №1. С. 97–103.
- Севостьянова Н.Н., Линькова Н.С., Полякова В.О. и др.* Иммуномодулирующее действие вилона и его аналога в культурах клеток тимуса человека и животных // *Клет. технол. биол. мед.* 2012. № 4. С. 220–223.
- Смирнов В.С., Петленко С.В., Ельцин С.С.* Применение тимогена для предоперационной подготовки больных пожилого возраста с опухолевыми процессами в брюшной полости // *Успехи геронтол.* 2011. Т. 24. №2. С. 278–284.
- Терехов А.Ю., Кормилец Д.Ю., Линькова Н.С. и др.* Пептид КЕ в протеоме человека // *Бюл. эксперим. биол. мед.* 2019. Т. 168. № 11. С. 569–572.
- Хавинсон В.Х.* Пептидная регуляция старения. СПб.: Наука, 2009. 50 с.
- Хавинсон В.Х., Морозов В.Г.* Экспериментальное и клиническое изучение нового иммунорегулирующего препарата – тималина // *Военно-мед. журн.* 1982. № 5. С. 37–39.
- Хавинсон В.Х., Морозов В.Г.* Геропротекторная эффективность тималина и эпителина // *Успехи геронтол.* 2002. Вып. 10. С. 74–84.
- Хавинсон В.Х., Винер И.А., Трофимова С.В. и др.* Методика повышения резервных возможностей организма спортсменов высокой квалификации с помощью пептидных биорегуляторов. Методические рекомендации. СПб.: Институт биорегуляции и геронтологии, 2012а. 22 с.
- Хавинсон В.Х., Григорьев Е.И., Малинин В.В., Рыжак Г.А.* Пептид, обладающий иммуногеропротекторным действием, фармацевтическая композиция на его основе и способ его применения. Патент РФ 2301074 от 30.05.2006.
- Хавинсон В.Х., Копылов А.Т., Васьковский Б.В. и др.* Идентификация пептида AEDG в полипептидном комплексе эпифиза // *Бюл. эксперим. биол. мед.* 2017. Т. 164. №7. С. 52–55.
- Хавинсон В.Х., Кузник Б.И., Линькова Н.С.* Влияние пептидных биорегуляторов и белков теплового шока на возрастные изменения системы гемостаза // *Тромбоз, гемостаз и реол.* 2011а. № 4. С. 15–32.
- Хавинсон В.Х., Кузник Б.И., Рыжак Г.А. и др.* Ирисин, бетатрофин, сахарный диабет, ожирение и метаболический синдром. Эпигенетические механизмы регуляции // *Успехи физиол. наук.* 2018. Т. 49. № 1. С. 72–86.
- Хавинсон В.Х., Кузник Б.И., Рыжак Г.А.* Пептидные биорегуляторы – новый класс геропротекторов. Сообщение 1. Результаты экспериментальных ис-

- следований // Успехи геронтол. 2012б. Т. 25. № 4. С. 696–708.
- Хавинсон В.Х., Кузник Б.И., Рыжак Г.А.* Пептидные биорегуляторы – новый класс геропротекторов. Сообщение 2. Результаты клинических исследований // Успехи геронтол. 2013. Т. 26. № 1. С. 20–37.
- Хавинсон В.Х., Кузник Б.И., Рыжак Г.А.* Пептидные геропротекторы – эпигенетические регуляторы физиологических функций организма. СПб.: РГПУ им. А.И. Герцена, 2014а. 271 с.
- Хавинсон В.Х., Кузник Б.И., Тарновская С.И. и др.* Пептиды и молекулярные маркеры старения ССЛ11 и НМGB1: обзор литературы и собственных данных // Успехи геронтол. 2014б. № 3. С. 397–406.
- Хавинсон В.Х., Кузник Б.И., Тарновская С.И. и др.* Геропротекторные свойства белка GDF11 // Успехи соврем. биол. 2015а. Т. 135. № 4. С. 170–179.
- Хавинсон В.Х., Кузник Б.И., Тарновская С.И. и др.* Короткие пептиды и регулятор длины теломер гормон ирисин. // Бюл. эксперим. биол. мед. 2015б. Т. 9. С. 332–336
- Хавинсон В.Х., Лежава Т.А., Малинин В.В.* Влияние коротких пептидов на хроматин в лимфоцитах лиц старческого возраста // Бюл. эксперим. биол. мед. 2004. Т. 137. № 1. С. 89–93.
- Хавинсон В.Х., Линькова Н.С., Пендина А.А. и др.* Изучение влияния пептида КЕ на длину теломер хромосом ФГА-стимулированных лимфоцитов человека // Мед. академ. журн. 2019. Специальный выпуск. С. 166–168.
- Хавинсон В.Х., Никольский И.С., Никольская В.В. и др.* Влияние трипептидов на лимфоидные и стволовые клетки // Бюл. эксперим. биол. мед. 2011б. Т. 151. № 6. С. 668–671.
- Хавинсон В.Х., Серый С.В., Малинин В.В.* Коррекция пептидами тимуса и костного мозга радиационных нарушений иммуно- и гемопоэза // Радиобиология. 1991. Т. 31. Вып. 4. С. 501–505.
- Чалисова Н.И., Закуцкий А.Н., Анискина А.И. и др.* Тканеспецифическое влияние синтетических биорегуляторных пептидов в органотипической культуре тканей молодых и старых крыс // Успехи геронтол. 2006. Вып. 19. С. 93–96.
- Чалисова Н.И., Лесняк В.В., Рыжак Г.А., Оганезова Е.В.* Протекторное влияние трипептида в присутствии циклофосфана в культуре лимфоидной ткани крыс // Бюл. эксперим. биол. мед. 2008. Т. 145. № 6. С. 605–608.
- Чалисова Н.И., Линькова Н.С., Дудков А.В., Концевая Е.А.* Влияние пептидов на пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов селезенки // Вестн. Белгород. ун-та. 2011. Т. 3. С. 94–97.
- Чалисова Н.И., Рыжак А.П., Линькова Н.С. и др.* Влияние полипептидов на регенерацию клеток в культуре разных тканей молодых и старых крыс // Успехи геронтол. 2015. Т. 28. № 1. С. 93–107.
- Чалисова Н.И., Рыжак А.П., Линькова Н.С. и др.* Влияние полипептидов на пролиферацию и апоптоз клеток при старении // Клет. технол. биол. мед. 2016. Т. 4. С. 221–225.
- Червякова Н.А., Линькова Н.С., Чалисова Н.И. и др.* Молекулярные аспекты иммунопротекторного действия пептидов в селезенке при ее старении // Успехи геронтол. 2013. Т. 26. № 2. С. 224–228.
- Щербак В.А., Патеюк А.В.* Влияние вилона на иммунный ответ при остром иммобилизационном стрессе у крыс // Сиб. мед. журн. 2004. Т. 44. № 3. С. 26–29.
- Anisimov V.N., Khavinson V.Kh.* Peptide bioregulation of aging: results and prospects // Biogerontology. 2010. V. 11. P. 139–149.
<https://doi.org/10.1007/s10522-009-9249-8>
- Anisimov V.N., Khavinson V.Kh., Morozov V.G.* Immunomodulatory synthetic dipeptide L-Glu-L-Trp slows down aging and inhibits spontaneous carcinogenesis in rats // Biogerontology. 2000. V. 1. P. 55–59.
<https://doi.org/10.1023/a:1010042008969>
- Ashapkin V., Khavinson V., Shilovsky G. et al.* Gene expression in human mesenchymal stem cell aging cultures: modulation by short peptides // Mol. Biol. Rep. 2020. V. 47. P. 4323–4329.
<https://doi.org/10.1007/s11033-020-05506-3>
- Khavinson V.Kh., Malinin V.V.* Gerontological aspects of genome peptide regulation. Basel (Switzerland): Karger AG, 2005. 104 p.
- Khavinson V., Linkova N., Diatlova A., Trofimova S.* Peptide regulation of cell differentiation // Stem Cell Rev. Rep. 2020. V. 16. P. 118–125.
<https://doi.org/10.1007/s12015-019-09938-8>
- Khavinson V., Popovich I.* Short peptides regulate gene expression, protein synthesis and enhance life span RSC drug discovery series № 57 // Anti-aging drugs: from basic research to clinical practice / Ed. A.M. Vaiserman. 2017. Chapter 20. P. 496–513.
- Khlystova Z.S., Kalinina I.I., Shmeleva S.P.* Thymalin in developing respiratory organs of human fetus // Bull. Exp. Biol. Med. 2003. V. 135. P. 600–602.
<https://doi.org/10.1023/a:1025449923475>
- Tang N., Bai H., Chen X. et al.* Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy // J. Thromb. Haemost. 2020. V. 18. P. 1094–1099.
<https://doi.org/10.1111/jth.14817>
- Wang D., Hu B., Hu C. et al.* Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China // JAMA. 2020. V. 323. P. 1061–1069.
<https://doi.org/10.1001/jama.2020.1585>
- Zhang C., Wu Z., Li J.-W. et al.* The cytokine release syndrome (CRS) of severe COVID-19 and interleukin-6 receptor (IL-6R) antagonist tocilizumab may be the key to reduce the mortality // Int. J. Antimicrob. Agents. 2020. P. 105954.
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105954>

Thymalin: Application for Immunocorrection and Molecular Aspects of Biological Activity

V. Kh. Khavinson^{a, b}, N. S. Linkova^{a, c, d, *}, N. I. Chalisova^{a, b}, and O. M. Ivko^a

^a*Saint Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, Saint Petersburg, Russia*

^b*Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia*

^c*Academy of Postgraduate Education under FSBU FSCC of FMBA of Russia, Moscow, Russia*

^d*Belgorod State University, Belgorod, Russia*

**e-mail: miayy@yandex.ru*

Polypeptide drug thymalin is applying in various diseases, connected with immune dysfunction, viral and bacterial infections, regeneration normalization, immunodepression, hematogenesis depression after chemical and radiotherapy. The review described the analysis of molecular mechanism of thymalin and its actives pharmaceutical ingredients – EW dipeptide (drug thymogen), KE dipeptide and EDP tripeptide biological activity. These short peptides regulate gene expression and synthesis of heat shock protein, cytokines, fibrinolysis, gerontogenes, differentiation, proliferation, apoptosis of cells. The influence of thymalin on these proteins synthesis restores organism regulatory systems function. Thymalin and thymogen almost haven't side effects and applying for various viral infection therapy. Probably, these peptide drugs can be effective in the complex therapy of coronavirus infection COVID-19.

Keywords: thymalin, thymogen, short peptides, mechanisms of action, immunocorrection

УДК 615.214.24:615.917'2/9

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ СЕДАТИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ТОКСИЧЕСКОГО ОТЕКА ЛЕГКИХ У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ПРОДУКТАМИ ПИРОЛИЗА ФТОРОПЛАСТА-4

© 2021 г. П. Г. Толкач^{1, *}, В. А. Башарин¹, С. В. Чепур², П. К. Потапов¹,
Д. Т. Сизова³, Ю. В. Димитриев²

¹Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

²Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины,
Санкт-Петербург, Россия

³Войсковая часть 33952 Министерства обороны РФ, Ханкала, Россия

*e-mail: pgtolkach@gmail.com

Поступила в редакцию 07.08.2020 г.

После доработки 10.08.2020 г.

Принята к публикации 10.08.2020 г.

Эффективные средства коррекции острого легочного отека при интоксикации пульмонотоксикантами, обладающими ацилирующим действием, в настоящее время отсутствуют. В проведенном исследовании у крыс и кроликов моделировали токсический отек легких, вызванный острой ингаляционной интоксикацией перфторизобутиленом, полученным при пиролизе фторопласта-4. Введение животным α_2 -адреномиметика ксилазина в суммарной дозе 45 мг/кг приводило к снижению средней продолжительности жизни, увеличению легочного коэффициента после интоксикации. Комбинированный препарат золетил (тилетамина гидрохлорид + золазепам) в суммарной дозе 50 мг/кг способствовал увеличению средней продолжительности жизни, снижению легочного коэффициента у крыс и кроликов через 3–6 ч после воздействия. Отмечали значимое увеличение индекса оксигенации, снижение $PaCO_2$ и купирование декомпенсированного респираторного ацидоза. При гистологическом исследовании выявляли сохранение гистоархитектоники тканей легких леченых золетилом кроликов. Действие золетила, вероятно, связано с эффектом тилетамина гидрохлорида (производное группы фенциклидина), направленным на снижение давления в системе легочной микроциркуляции. Дальнейший поиск фармакологических препаратов из группы фенциклидина может быть эффективным направлением фармакологической коррекции токсического отека легких, вызванного интоксикацией пульмонотоксикантами, обладающими ацилирующим действием.

Ключевые слова: пульмонотоксиканты, перфторизобутилен, интоксикация, золетил, ксилазин, кетамин, крысы, кролики, механизм действия

DOI: 10.31857/S0042132421010245

ВВЕДЕНИЕ

Среди пульмонотоксикантов, обладающих ацилирующим действием, можно выделить фосген, перфторизобутилен (ПФИБ), метилизоцианат и др. Данные соединения могут образовываться при аварийных ситуациях на химически опасных объектах. Образование ПФИБ может происходить при термическом разложении фторсодержащих полимеров, например фторопластов (Tsai, 2009). Ингаляционное воздействие токсикантов этой группы, в том числе и ПФИБ, в концентрациях выше пороговых приводит к нарушению функции дыхательной системы, вплоть до

развития острого легочного отека и летального исхода. На сегодня однозначно эффективных схем коррекции острого легочного отека, вызванного интоксикацией пульмонотоксикантами, обладающими ацилирующим действием, не разработано (Башарин и др., 2019).

В случае невозможности увеличения поступления кислорода через поврежденный аэрогемастический барьер (АГБ) у пострадавших можно снизить потребление кислорода путем проведения седативной терапии. Данный подход рекомендован в действующем руководстве по терапии дыхательной недостаточности (Указания..., 2019).

В качестве фармакологических средств, которые вызывают состояния седации, можно рассматривать препараты из группы фенциклидина (кетамин), центральные α_2 -адреномиметики (дексомедетомидин), бензодиазепины (мидазолам) и др. При моделировании токсического отека легких (ТОЛ) на лабораторных животных целесообразно изучать эффекты фармакопейных ветеринарных препаратов, обладающих седативным действием – ксилазина и золетила (Смирнова и др., 2012; Корнюшенков, 2013; Старокожева, Климов, 2017).

Ксилазин – агонист α_2 -адренорецепторов, обладающий седативным действием (Корнюшенков, 2013), зарегистрирован в РФ для проведения хирургической и анестезиологической практики у мелких лабораторных животных. Механизм седативного действия главным образом связан со стимуляцией постсинаптических α_2 -адренорецепторов голубого пятна ствола головного мозга. Доза ксилазина, которую, согласно рекомендациям, используют для седации животных во время операции, составляет 10 ± 1.4 мг/кг, длительность седативного эффекта составляет до 1 ч (Корнюшенков, 2013; Старокожева, Климов, 2017).

Золетил (тилетамина гидрохлорид + золазепам) зарегистрирован в РФ как комплексный неингаляционный анестетик для ветеринарии (Смирнова и др., 2012). Тилетамина гидрохлорид – конкурентный антагонист, блокирующий сайт связывания NMDA-рецептора с глутаматом. Взаимодействие тилетамина гидрохлорида с рецептором приводит к закрытию ионного канала и ингибированию его активности. Данное состояние в медицине описано как диссоциативная анестезия (каталепсия, амнезия и аналгезия) (Смирнова и др., 2012). Тилетамина гидрохлорид, как и другие производные фенциклидина, может вызывать судороги, поэтому его комбинируют с бензодиазепинами (Flecknell, 2009). Золазепам – второй действующий компонент в препарате золетил. Данный препарат относят к группе бензодиазепинов – соединений, обладающих гипнотическим, седативным и антиконвульсантным действием. Эти эффекты обусловлены блокированием бензодиазепиновых рецепторов (сайт ГАМК-рецептора) (Смирнова и др., 2012). Антиконвульсантная активность золазепам позволяет применять препараты на основе тилетамина у животных (Flecknell, 2009). Седативный эффект при введении золетила наступает через 6–7 мин после однократного внутрибрюшинного введения препарата в дозе 15 мг/кг. Длительность седации составляет около 2–3 ч (Савенко и др., 2012).

Цель исследования – оценка влияния седативных ветеринарных препаратов ксилазина и золе-

тила на проявления ТОЛ у крыс и кроликов при интоксикации ПФИБ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальное исследование выполнено на крысах-самцах линии Вистар, кроликах-самцах породы Советская шиншилла. Животные были разделены на группы: контроль (К), интоксикация (И), опыт 1 (получали в качестве лечения ксилазин – И+К) и опыт 2 (получали в качестве лечения золетил – И + З). При проведении экспериментов выполняли требования Правил надлежащей лабораторной практики (ГОСТ 33044-2014 “Межгосударственный стандарт”).

ПФИБ получали путем термодеструкции фторопласта-4 (ФП-4) в камере для пиролиза при температуре 620–680°C в течение 4 мин. Статическое ингаляционное воздействие продуктов пиролиза на животных трех групп: интоксикация, опыт 1 и опыт 2 – моделировали в герметичной камере объемом 0.1 м³, экспозиция – 15 мин. После окончания интоксикации животных извлекали из камеры, и они дышали атмосферным воздухом. Животных группы контроль помещали в ингаляционную камеру на 15 мин без воздействия продуктов пиролиза.

Качественное определение ПФИБ в газовой смеси осуществляли методом газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (Agilent 7890В с масс-селективным детектором Agilent 240 ms, США). Содержание монооксида углерода и кислорода в ингаляционной камере определяли при помощи газоанализатора ДАХ-М (“Аналитприбор”, Россия).

В исследовании использовали фармакопейные ветеринарные препараты: ксилазин (Ксила, 2%, Interchemie Werken “de Adelaar” BV, Голландия) и золетил (Золетил 100, Virbac S.A., Франция).

Для индукции седации крысам и кроликам вводили ксилазин подкожно (в холку) в дозе 15 мг/кг, золетил – подкожно (в холку) в дозе 20 мг/кг. Первое введение препаратов осуществляли через 30 мин после воздействия. Для поддержания состояния седации ксилазин вводили повторно подкожно (в холку) в дозе 10 мг/кг трехкратно в течение 6 ч; золетил – повторно подкожно (в холку) в дозе 10 мг/кг трехкратно в течение 6 ч. Для обоих видов животных общая доза введенного ксилазина составила 45 мг/кг, золетила – 50 мг/кг. Животным групп К и И вводили подкожно (в холку) 0.9%-ный раствор NaCl в эквивалентном объеме с животными групп опыт 1 и опыт 2.

Определяли среднюю продолжительность жизни (СПЖ) лабораторных животных групп: интоксикация, опыт 1 и опыт 2 – после воздействия продуктов пиролиза ФП-4. Для косвенной оценки содержания внесосудистой воды в легких определяли легочный коэффициент (ЛК) у крыс через 6 ч, у кроликов – через 3 ч после воздействия.

Артериальную кровь для исследования у крыс после вскрытия брюшной полости забирали в месте бифуркации брюшной аорты. У кроликов артериальную кровь забирали из центральной ушной артерии. Забор артериальной крови у крыс проводили через 6 ч после воздействия, у кроликов – через 3 ч после воздействия. Определяли индекс оксигенации ($IO = PaO_2/FiO_2$) и показатели кислотно-основного состояния (рН, $PaCO_2$) артериальной крови при помощи прибора iSTAT (I-STAT Corporation, USA). Выбор сроков для исследования был обусловлен развитием наиболее выраженных нарушений функций дыхательной системы. Карбоксигемоглобин определяли спектрофотометрическим методом в венозной крови животных (полученной у крыс из хвостовой вены, у кроликов – из ушной вены) однократно непосредственно после окончания воздействия.

Легкие кроликов фиксировали 10%-ным раствором формалина, приготовленные гистологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином. При проведении световой микроскопии оценивали качественные изменения в тканях легких, осуществляли фоторегистрацию.

Статистический анализ результатов экспериментальных исследований проводили при помощи программы Statistica 10.0. К сравнению полученных данных, распределенных по закону, отличному от нормального, применяли непараметрические критерии Краскела–Уолиса и Ньюмана–Кейлса для множественных попарных сравнений. Данные в тексте представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей – $Me [Q_H; Q_B]$. Вывод о статистической значимости различий между группами принимали при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При проведении предварительных токсикологических исследований методом пробит-анализа Финни было установлено, что масса навески ФП-4, ингаляционное воздействие продуктов пиролиза которого вызывает гибель (в течение суток) 50% лабораторных животных (LD_{50}), составляет 2.6 ± 0.5 г. В дальнейшем крыс и кроликов подвергали интоксикации продуктами пиролиза ФП-4 в дозе

LD_{50} (масса навески ФП-4 – 2.6 г) и $1.5LD_{50}$ (масса навески ФП-4 – 3.9 г).

При анализе газовой смеси в ингаляционной камере методом газожидкостной хроматографии обнаруживали ПФИБ. Содержание монооксида углерода в камере составило 520 ± 70 ppm, кислорода – при одновременном нахождении в камере 6 крыс (или 3 кроликов) снижалось не более чем на 0.6–0.7 об. %.

Ингаляционное воздействие продуктов пиролиза не приводило к возникновению признаков раздражающего действия. Содержание карбоксигемоглобина в венозной крови у крыс составляло 21.3% [18.6; 24.1], у кроликов – 25.9% [23.3; 28.6]. Внешнее состояние животных группы И не отличалось от животных группы К. Тем не менее, за 30–40 мин до летального исхода у животных группы интоксикация выявляли снижение двигательной активности и изменение паттерна дыхания (увеличение частоты и снижение глубины дыхательных движений). За 3–5 мин до летального исхода возникали судороги и отделение пенистой жидкости из полости носа и рта. У животных групп опыт 1 и опыт 2 через 4–5 мин после введения исследуемых препаратов отмечали состояние седации (положение животного на животе, снижение частоты дыхательных движений), которое поддерживали после воздействия в течение 3–10 ч у кроликов и 8–11 ч – у крыс.

Введение животным ксилазина приводило к снижению СПЖ на 33% у крыс и на 29% у кроликов по сравнению с животными группы И (рис. 1). В то же время введение животным золетила способствовало увеличению СПЖ крыс в 2 раза ($p < 0.05$) и кроликов в 2.5 раза, по сравнению с животными группы И после воздействия продуктов пиролиза ФП-4 в навеске, соответствующей $1.5LD_{50}$ (рис. 1).

У крыс и кроликов при воздействии продуктов пиролиза ФП-4 в навесках, соответствующих LD_{50} и $1.5LD_{50}$, отмечали увеличение ЛК по сравнению с контрольными животными. Введение ксилазина крысам приводило к увеличению ЛК в 1.15 и 1.6 раза ($p < 0.05$) по сравнению с животными группы И при воздействии продуктов пиролиза в дозах LD_{50} и $1.5LD_{50}$ соответственно. У кроликов, подвергшихся воздействию продуктов пиролиза в дозе $1.5LD_{50}$, введение ксилазина способствовало увеличению ЛК, по сравнению с животными группы И, в 1.8 раза ($p > 0.05$). Введение крысам золетила способствовало снижению ЛК в 1.2 раза ($p > 0.05$) и 1.5 раза ($p < 0.05$), по сравнению с животными группы И, при воздействии продуктов пиролиза в дозах LD_{50} и $1.5LD_{50}$ соответ-

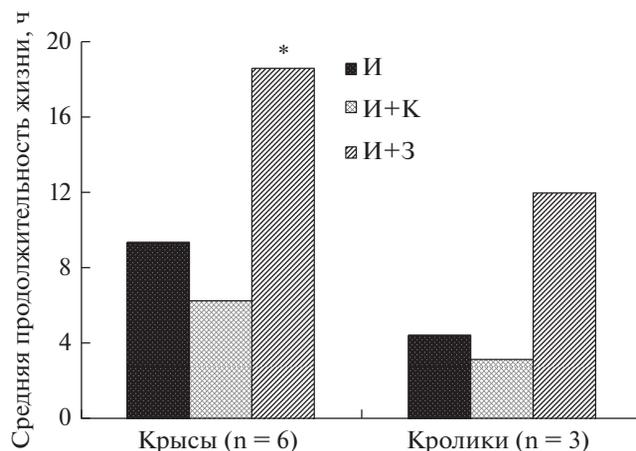


Рис. 1. Средняя продолжительность жизни лабораторных животных после воздействия продуктов пиролиза ФП-4 в навеске, соответствующей 1.5LD₅₀ на фоне введения исследуемых препаратов. * – различия значимы по сравнению с группой И ($p < 0.05$). Группы: И – интоксикация, И + К – интоксикация + ксилазин (опыт 1), И + З – интоксикация + золетил (опыт 2).

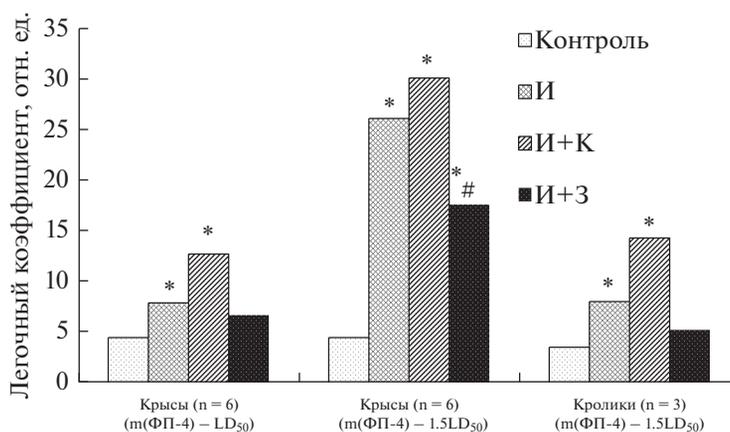


Рис. 2. Легочной коэффициент у крыс через 6 ч после воздействия и у кроликов через 3 ч после воздействия продуктов пиролиза ФП-4 на фоне введения исследуемых препаратов. * – различия значимы по сравнению с группой К ($p < 0.05$); # – различия значимы по сравнению с группой И ($p < 0.05$).

ственно (рис. 2). У кроликов применение золетила также способствовало снижению ЛК в 1.5 раза ($p > 0.05$), по сравнению с животными группы И, при этом значимых различий с животными группы К не прослежено (рис. 2).

С учетом того, что применение ксилазина у крыс и кроликов после интоксикации продуктами пиролиза ФП-4 приводило к снижению СПЖ и увеличению ЛК, в дальнейших исследованиях данный препарат не использовали.

В следующей серии экспериментов изучали влияние золетила на динамику показателей оксигенации и кислотно-основного состояния у крыс и кроликов на пике проявлений интоксикации продуктами пиролиза ФП-4 в дозе 1.5LD₅₀. Интоксикация крыс и кроликов продуктами пиро-

лиза приводила к снижению ИО ($p < 0.05$), увеличению РаСО₂ ($p < 0.05$) и развитию декомпенсированного респираторного ацидоза (табл. 1). В то же время применение золетила у лабораторных животных способствовало нормализации оксигенации (значимое увеличение ИО) и компенсации респираторного ацидоза (снижение РаСО₂ и нормализация рН, по сравнению с группой И) в исследуемые сроки (табл. 1).

Для оценки изменений гистоархитектоники тканей легких кроликов, полученных через 3 ч после воздействия продуктов пиролиза ФП-4 в дозе 1.5LD₅₀, проводили гистологическое исследование.

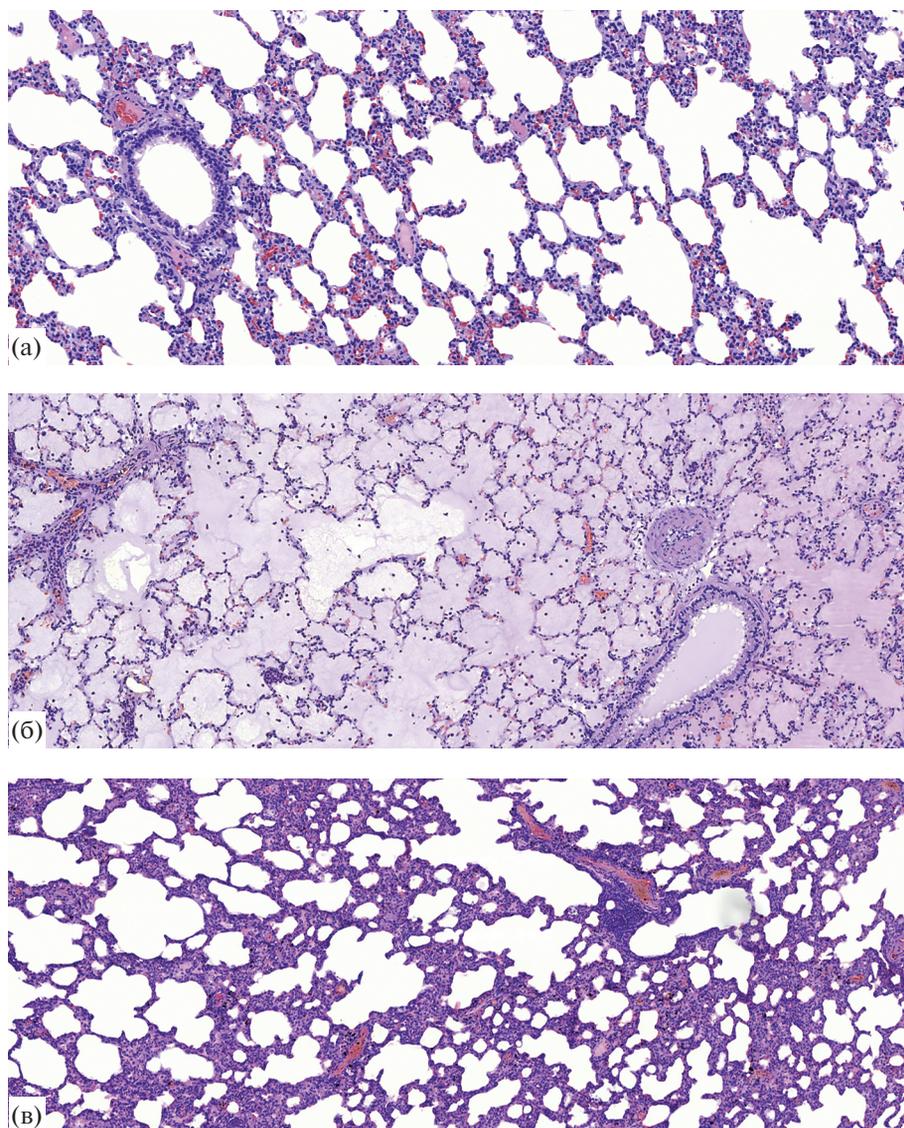


Рис. 3. Микропрепараты легких кроликов через 3 ч после интоксикации продуктами пиролиза ФП-4 в навеске, соответствующей $1.5LD_{50}$, окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$. (а) – контроль: участки обычной воздушности паренхимы легких, чистые просветы бронхов, умеренное кровенаполнение легочных сосудов, отсутствие признаков альвеолярного и интерстициального отеков; (б) – интоксикация: альвеолы, заполненные гомогенным трансудатом, содержащим нейтрофилы и эритроциты, истонченные межальвеолярные перегородки, просвет бронхов, заполненный трансудатом; (в) – опыт 2 (интоксикация + золетил): утолщение межальвеолярных перегородок, кровенаполнение легочных сосудов, просветы альвеолы нормальной воздушности с выходом единичных эритроцитов.

На микропрепаратах легких кроликов группы К выявляли участки обычной воздушности паренхимы легких, чистые просветы бронхов, умеренное кровенаполнение легочных сосудов, отсутствие признаков альвеолярного и интерстициального отеков (рис. 3а). Интоксикация животных продуктами пиролиза ФП-4 приводила к выраженному нарушению гистоархитектоники паренхимы легких. Альвеолы и просветы бронхов были заполнены гомогенным трансудатом, содержащим нейтрофилы и эритроциты, межальвеолярные перегородки истончены (рис. 3б). Примене-

ние золетила снижало выраженность нарушений паренхимы легких. Отмечали утолщение межальвеолярных перегородок, повышение кровенаполнения легочных сосудов, просветы альвеол сохраняли нормальную воздушность с выходом единичных эритроцитов (рис. 3в).

ОБСУЖДЕНИЕ

Ингаляционное воздействие продуктов пиролиза ФП-4, содержащих ПФИБ, на лабораторных животных разных видов (крысы и кролики) при-

Таблица 1. Динамика показателей оксигенации и кислотно-основного состояния у кроликов и крыс на пике проявлений интоксикации (через 3 ч и 6 ч после воздействия продуктов пиролиза ФП-4 в навеске, соответствующей 1.5LD₅₀) на фоне введения золетила, Ме [Qн;Qв]

Группа	Крысы (через 6 ч, n = 6, в группе)			Кролики (через 3 ч, n = 3, в группе)		
	ИО	pH	PaCO ₂ , мм рт. ст.	ИО	pH	PaCO ₂ , мм рт. ст.
Контроль	455 [352; 528]	7.42 [7.38; 7.46]	42.8 [36.9; 52.4]	442 [438; 447]	7.38 [7.35; 7.42]	30.6 [28.2; 31.4]
Интоксикация	147 [84; 172]*	7.06 [6.89; 7.23]*	70.8 [62.4; 87.3]*	163 [141; 192]*	7.13 [7.08; 7.28]	52.4 [51.1; 64.1]*
Опыт 2	214 [190; 376]#	7.37 [7.29; 7.39]#	43.3 [39.6; 44.1]#	374 [305; 418]#	7.37 [7.25; 7.41]	28.3 [26.6; 41.2]#

Примечание: * – различия значимы по сравнению с группой К ($p < 0.05$); # – различия значимы по сравнению с группой И ($p < 0.05$).

водило к развитию ТОЛ, что подтверждалось увеличением ЛК (рис. 2) и появлением в тканях гистологических изменений, характерных для альвеолярной фазы отека легких (рис. 3). Механизм формирования ТОЛ, вызванного интоксикацией ПФИБ, связан с воздействием токсиканта на макромолекулы клеточных компонентов АГБ, что приводит к выбросу провоспалительных медиаторов и биологически активных веществ в системный кровоток (Zhang et al., 2017). Увеличение содержания подобных молекул в микроциркуляторном русле способствует спазму сосудов, увеличению периферического сосудистого сопротивления, нарастанию гидростатического давления в легочных капиллярах и, согласно закону Старлинга, выходу жидкости из системного кровотока в интерстициальное пространство легких. В случае недостаточности функционирования компенсаторных механизмов (дренажная функция лимфатической системы) происходит выход жидкости в альвеолярное пространство и манифестация отека легких (Гриппи, 2005).

В качестве подхода к коррекции ТОЛ у животных создавали состояние фармакологической седации. Эффективность седативной терапии сопряжена со снижением потребления кислорода организмом. В качестве седативных средств исследовали фармакопейные ветеринарные препараты: ксилазин и золетил.

Применение ксилазина приводит к незначительному снижению частоты сердечных сокращений и частоты дыхательных движений у лабораторных животных уже через 15–30 мин после вве-

дения, не вызывая при этом гипоксемии (Старокожева, Климов, 2017). Однако активация постсинаптических α_2 -адренорецепторов гладкомышечных клеток кровеносных сосудов приводит к вазоконстрикции и возрастанию периферического сосудистого сопротивления в течение всего времени действия препарата (Корнюшенков, 2017; Vainio, Palmu, 1989). В случае развития ТОЛ дополнительное нарастание гидростатического давления в легочных сосудах приводит к большему выходу жидкости в интерстициальное пространство и к манифестации отека. По-видимому, с этим связано снижение СПЖ (рис. 1) и нарастание ЛК (рис. 2) у лабораторных животных на фоне проведения седативной терапии ксилазином.

Золетил в рекомендуемых дозировках не оказывает значимого влияния на показатели системной гемодинамики и функции дыхательной системы животных (Савенко и др., 2012; Корнюшенков, 2013). Применение золетила приводило к увеличению СПЖ крыс после интоксикации продуктами пиролиза ФП-4 (в навесках, соответствующих LD₅₀ и 1.5LD₅₀) (рис. 1), увеличению СПЖ кроликов после интоксикации продуктами пиролиза ФП-4 (в навеске, соответствующей 1.5LD₅₀) (рис. 1). У лабораторных животных, получавших золетил, отмечали значимое снижение ЛК (рис. 2) и менее выраженные гистологические изменения в тканях легких (рис. 3) в исследуемые сроки, по сравнению с животными группы И. Сохранение структуры АГБ способствовало поддержанию газообмена через альвеолярную–капил-

лярную мембрану, что подтверждалось у животных обоих видов на пике интоксикации увеличением ИО и снижением PaCO_2 в артериальной крови. Обнаруженный эффект золетила может быть связан с наличием в его составе тилетамина гидрохлорида, схожего по действию с кетамином (Корнюшенков, 2013).

Было выявлено (Busch et al., 2010), что применение кетамина в высоких дозировках (10 мг/кг) способствует снижению давления в легочной артерии после моделирования у животных гипоксии за счет снижения легочной гипоксической вазоконстрикции (Busch et al., 2010). Этот эффект может быть связан с действием высоких доз кетамина на кальциевые каналы L-типа, которые обуславливают вазодилатацию в сосудах легких (Kaye et al., 1998).

В данном исследовании крысам и кроликам вводили золетил в суммарной дозе 50 мг/кг. С учетом того, что содержание тилетамина гидрохлорида в препарате Золетил 100 составляет 25% (250 мг во флаконе), а тилетамина гидрохлорид химически близок к кетамину (Корнюшенков, 2013), животные получали аналог кетамина в дозе 12.5 мг/кг. Вероятно, протективный эффект золетила обусловлен купированием легочной вазоконстрикции у лабораторных животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенного исследования было выявлено, что применение золетила приводило у двух видов лабораторных животных к коррекции токсического отека легких, вызванного интоксикацией перфторизобутиленом, полученным путем пиролиза фторопласта-4. Механизм протективного действия данного препарата, вероятно, связан со снижением давления в системе легочной микроциркуляции.

Дальнейший поиск фармакологических препаратов из группы фенциклидина может быть эффективным направлением фармакологической коррекции токсического отека легких, вызванного интоксикацией пульмонотоксикантами, обладающими ацилирующим действием.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

При проведении экспериментов были выполнены требования нормативно-правовых актов о порядке экспериментальной работы с использованием живот-

ных, в том числе по гуманному отношению к ним. Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Башарин В.А., Чепур С.В., Щеголев А.В. и др.* Роль и место респираторной поддержки в схемах терапии острого легочного отека, вызванного ингаляционным воздействием токсичных веществ // Воен.-мед. журн. 2019. № 11. С. 26–32.
- Гриппи М.А.* Патолофизиология легких. 2 изд. М.: Бином, 2005. 304 с.
- Корнюшенков Е.А.* Особенности клинической фармакологии препаратов для анестезии и седации мелких домашних животных. Ч. 2 // Рос. ветерин. журн. мелк. дом. дик. жив. 2013. № 1. С. 33–39.
- Корнюшенков Е.А.* Применение Медетина (медетомидина) в качестве компонента седации // Рос. ветерин. журн. 2017. № 5. С. 30–33.
- Савенко И.А., Усманский Ю.В., Ивашев М.Н. и др.* Возможность применения ветеринарного препарата в экспериментальной фармакологии // Фундам. иссл. 2012. № 5 (2). С. 422–425.
- Смирнова А.В., Лагутина Л.Д., Трубицына И.Е. и др.* Особенности проведения анестезии у крыс при полостных операциях // Эксперим. клин. гастроэнтерол. 2012. № 5. С. 62–65.
- Старокожева Я.К., Климов П.В.* Оценка клинических эффектов агонистов альфа2-адренорецепторов — Медетомидина и Ксилозина в рандомизированном двойном слепом исследовании // Вопр. норм. прав. регулир. ветерин. 2017. № 4. С. 105–108.
- Указания по военно-полевой терапии. СПб.: Медиздат-СПб, 2019. 463 с.
- Busch C.J., Spöhr F.A., Motsch J.G. et al.* Effects of ketamine on hypoxic pulmonary vasoconstriction in the isolated perfused lungs of endotoxaemic mice / Eur. J. Anaesthesiol. 2010. № 1. P. 61–66.
- Flecknell P.* Laboratory animal anaesthesia. 3 ed. L.: Academic Press, 2009. 304 p.
- Kaye A.D., Banister R.E., Anwar M. et al.* Pulmonary vasodilation by ketamine is mediated in part by L-type calcium channels // Anesth. Analg. 1998. V. 87. P. 956–962.
- Tsai W.T.* Environmental hazards and health risk of common liquid perfluoro-n-alkanes, potent greenhouse gases // Environ. Int. 2009. V. 35. P. 418–424.
- Vainio O., Palmu L.* Cardiovascular and respiratory effects of medetomidine in dogs and influence of anticholinergics // Acta Vet. Scand. 1989. V. 30. P. 401–408.
- Zhang Y. L., Fan L., Xi R. et al.* Lethal concentration of perfluoroisobutylene induced acute lung injury in mice mediated via cytokines storm, oxidative stress and apoptosis // Inhal. Toxicol. 2017. V. 29. № 6. P. 255–265.

Evaluation of the Effectiveness of Sedative Medicals for the Correction of Toxic Pulmonary Edema during Intoxication Products of Pyrolysis of Fluoroplast-4

P. G. Tolkach^{a,*}, V. A. Basharin^a, S. V. Chepur^b, P. K. Potapov^a,
D. T. Sizova^c, and Yu. V. Dimitriev^b

^a*Kirov Military Medical Academy, Ministry of Defense of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia*

^b*State Scientific Research Test Institute of Military Medicine, Ministry of Defense of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia*

^c*Military Unit 33952, Ministry of Defense of the Russian Federation, Khankala, Russia*

**e-mail: pgtolkach@gmail.com*

There are currently no effective remedies for the correction of acute pulmonary edema in case of intoxication with pulmonotoxicants with acylating action. In this study, toxic pulmonary edema was modeled in rats and rabbits, caused by acute inhalation intoxication with perfluoroisobutylene obtained during the pyrolysis of fluoroplast-4. Administration of the central α_2 -adrenomimetic xylazine to animals in a total dose of 45 mg/kg led to a decrease in average life expectancy and an increase in the lung coefficient. The combined preparation zoletil (tiletamine hydrochloride + zolazepam) in a total dose of 50 mg/kg contributed to an increase in the average life expectancy, a decrease in the lung coefficient in rats and rabbits 3–6 hours after exposure. Significant increase in oxygenation index, decrease in PaCO₂ and relief of decompensated respiratory acidosis were noted. Histological examination revealed the preservation of the histoarchitectonics of lung tissues of rabbits treated with zoletil. The action of zoletil is probably associated with the effect of tiletamine hydrochloride, aimed at reducing the pressure in the pulmonary microcirculation system. Further search for pharmacological drugs from the phencyclidine group can be an effective direction for the pharmacological correction of toxic pulmonary edema caused by intoxication with pulmonary toxicants with acylating action.

Keywords: pulmonary toxicants, perfluoroisobutylene, intoxication, zoletil, xylazine, ketamine, rats, rabbits, mechanism of action

УДК 616-022.7

РОЛЬ ФАКТОРОВ ВРОЖДЕННОГО И АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА В ФОРМИРОВАНИИ ДИФТЕРИЙНОГО БАКТЕРИОНОСИТЕЛЬСТВА

© 2021 г. Г. Г. Харсеева¹, *, А. А. Алиева¹, Л. П. Алексеева², О. С. Чемисова², А. Л. Трухачев², С. Ю. Тюкавкина¹, А. В. Чепусова¹, О. И. Сылка¹

¹Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия

²Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт, Ростов-на-Дону, Россия

*e-mail: galinagh@bk.ru

Поступила в редакцию 14.07.2020 г.

После доработки 15.07.2020 г.

Принята к публикации 15.07.2020 г.

Цель работы – определение роли факторов врожденного и адаптивного иммунитета в формировании бактерионосительства токсигенных штаммов *C. diphtheriae*. Установлено, что под влиянием сыворотки крови бактерионосителей происходит увеличение ($p \leq 0.05$) адгезивной активности планктонных культур токсигенных штаммов *C. diphtheriae gravis tox+* в 1.5–2 раза. Воздействие сыворотки крови пациентов с манифестированными формами дифтерии способствует резкому (в 82 раза) снижению их адгезивности ($p \leq 0.05$). У бактерионосителей на фоне низкого содержания антибактериальных антител, высокого уровня антитоксических антител и лактоферрина, а также более широкого спектра сывороточных белков, обладающих способностью ингибировать апоптоз (Humanin-like protein) и связывать тяжелые металлы (Metallothionein), в том числе и железа, адгезивность токсигенных штаммов *C. diphtheriae* повышается. Образцы сыворотки крови больных манифестированными формами дифтерии и привитых противодифтерийными препаратами обладают наибольшим сродством по масс-спектру белков, тогда как образцы бактерионосителей и непривитых АКДС- и АДС-М-препаратами существенно отличаются от них. Указанные особенности воздействия факторов врожденного и адаптивного иммунитета бактерионосителей предрасполагают к формированию биопленки, понижению выделения токсина за ее пределы и, как следствие, длительной персистенции возбудителя в организме.

Ключевые слова: бактерионосительство, факторы врожденного и адаптивного иммунитета, адгезия, *C. diphtheriae*

DOI: 10.31857/S0042132421010191

ВВЕДЕНИЕ

Проблема бактерионосительства является актуальной при многих инфекциях (стафилококковой, стрептококковой, менингококковой, сальмонеллезной и др.) (Михайлова и др., 2015). Однако несмотря на многочисленные исследования, посвященные этой проблеме, ответа на вопрос, почему у одной части инфицированных возбудителями бактериальных инфекций развиваются клинически выраженные формы заболевания, а у других – бактерионосительство, до сих пор нет. Дифтерийная инфекция в этом отношении не является исключением, несмотря на плановую вакцинацию в рамках Национального календаря прививок препаратами дифтерийного анатоксина, которая привела к резкому сокращению ареала распространения и снижению заболеваемости этой инфекцией, но не полной ее эрадикации (Костюкова, Бехало, 2018).

В настоящее время в Индии, Индонезии, странах Латинской Америки и, особенно, Венесуэле зафиксирован подъем заболеваемости дифтерией (<https://www.who.int/ru/news-room/detail/06-12-2017-diphtheria-is-spreading-fast-in-cox-s-bazar-bangladesh>).

Случаи заболевания регистрируются в странах Европейского Союза (https://www.rosпотребнадзор.ru/about/info/news/news_details.php?ELEMENT_ID=12046&sphrase_id=1731051).

Резервуар возбудителя дифтерии сохраняется и в России (https://www.rosпотребнадзор.ru/upload/iblock/d9d/gd_2017_seb.pdf?fbclid=IwAR0Ctf6FskpwnIdtvC4x4qcNS5e-GzpM4Stk7x1zawiuFC-Mg8mtru9czOk).

Особую важность в сложившейся ситуации представляет проведение вакцинопрофилактики, направленной на создание напряженного специфического иммунитета. Однако высокий уровень

антитоксина в организме привитых не препятствует циркуляции штаммов возбудителя дифтерии в популяции. Связано это, прежде всего, с тем, что формирующийся при вакцинации противодифтерийный иммунитет не способен предотвратить адгезию и колонизацию возбудителем слизистой оболочки респираторного тракта человека (Костюкова, Бехало, 2018). У лиц с защитным уровнем антитоксических антител могут сформироваться различные по степени выраженности клинические формы дифтерии: от бессимптомных (бактерионосительство) до тяжелых клинически выраженных (Покровский, Фокина, 2016). Почему так происходит, однозначного ответа пока нет. Известно, что бактерионосительство, в отличие от манифестированных форм инфекции, формируется у лиц с изначально высоким уровнем антитоксических и низким содержанием антибактериальных антител (Костюкова, Гукасян, 1977). Имеет значение и состояние местного иммунитета: уровень секреторного IgA в слюне при кратковременном и транзитном бактерионосительстве ниже, чем при длительном (Кветная и др., 2000). С другой стороны, важную роль играют и свойства изолированных штаммов коринебактерий. Так, при длительном носительстве выделяются только высокоадгезивные штаммы, независимо от их токсигенности (Костюкова, Карась, 1991). Помимо этого, известно, что возбудитель дифтерии обладает способностью формировать биопленку (Sharma et al., 2019). В целом, приведенные факты не могут дать более или менее полного ответа на поставленный вопрос.

В соответствии с этим, целью исследования явилось определение роли факторов врожденного и адаптивного иммунитета в формировании бактерионосительства токсигенных штаммов *C. diphtheriae*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследованы штаммы: *C. diphtheriae gravis tox+* № 665, полученный из ГИСК им. Л.А. Тарасевича; *C. diphtheriae gravis tox+*, выделенный от больного с диагнозом локализованная форма дифтерии бактериологической лабораторией ФГКУ "1002 ЦГСЭН" Минобороны России г. Ростова-на-Дону; *C. diphtheriae gravis* с "молчащим" *tox*-геном (отрицательный в тесте Элека и положительный при определении гена дифтерийного токсина в ПЦР), предоставленный МБУЗ "Городская больница № 1 им. Н.А. Семашко Ростова-на-Дону".

Использовали образцы сыворотки крови больных с дифтерией ротоглотки локализованной (30 чел.) и токсической (30 чел.), отобранные на 1–7 сутки заболевания до проведения специфического лечения; бактерионосителей токсигенных штаммов *C. diphtheriae* (30 чел.); здоровых не привитых (30 чел.) и привитых АКДС-

АДС-М-препаратами (30 чел.) в соответствии с Национальным календарем прививок. Образцы сыворотки крови больных дифтерией были взяты в период эпидемии дифтерии в г. Ростове-на-Дону за период с 1997 г. по 1999 г. и хранились при -20°C .

Биопленочные (120- и 720-часовые) культуры штаммов возбудителя дифтерии получали по методу (Watnick, Kolter, 2000).

Адгезивные и инвазивные свойства штаммов коринебактерий определяли на культуре клеток карциномы фарингеального эпителия Her-2 (Ott et al., 2010). При постановке опытов по прерыванию адгезии и инвазии использовали и коммерческие препараты комплемента (цельного) (НПО "Микроген" МЗ РФ, г. Пермь), лактоферрина ("Nucult Biotechnology (НТВ) BV", Нидерланды) в дозе 270 мкг/мл, антитоксина диагностического дифтерийного (НПО "Микроген" МЗ РФ, г. Пермь) в дозе 5 МЕ/мл, а также образцы сыворотки крови (цельные), которые предварительно отфильтровывали с помощью мембранных фильтров фирмы "Millipore" с размером пор 0.45 мкм и проверяли на стерильность путем посева на 20%-ный сывороточный агар. Непосредственно перед опытом в пробирки вносили по 1.0 мл взвеси коринебактерий густотой 10^6 колониеобразующих единиц в 1 мл (КОЕ/мл) и 1.0 мл стерильной сыворотки (или указанных препаратов). Полученную смесь выдерживали в термостате 60 мин при 37°C . Далее пробирки центрифугировали при 10000 об./мин в течение 5 мин, удаляли надосадочную жидкость, осадок ресуспендировали в среде RPMI-1640 до густоты микробной взвеси 10^6 КОЕ/мл. После этого производили заражение культуры клеток Her-2. Количество коринебактерий, адгезированных на клетках Her-2, определяли путем посева смыва на 20%-ный сывороточный агар с последующим подсчетом среднего количества КОЕ в 1 мл. Адгезивные свойства штаммов коринебактерий выражали в $(\text{КОЕ} \pm m) \times 10^2$. Для определения числа инвазировавшихся коринебактерий в лунки планшета добавляли гентамицин (ОАО "Дальхимфарм", Россия) в концентрации 1.2 ± 0.4 мг/мл с целью уничтожения коринебактерий, адгезированных на поверхности клеток Her-2. Затем клетки Her-2 подвергались воздействию в течение 5 мин 0.025%-ного раствора Твин-20, после чего содержимое лунок высевали на мясо-пептонный агар с добавлением 20%-ной сыворотки лошадиной нормальной для культивирования микроорганизмов и подсчитывали количество КОЕ в 1 мл. Инвазивные свойства штаммов коринебактерий выражали в $(\text{КОЕ} \pm m) \times 10^2$.

Образцы сыворотки крови исследовали с помощью электрофореза в полиакриламидном геле в денатурирующих условиях по методу (Laemmli et al., 1970) и масс-спектрометрическим методом

с использованием масс-спектрометра Autoflex (“Bruker Daltonics”, Германия), в качестве матрицы использовали НССА (α -циано-4-гидроксикоричную кислоту). Идентификацию белков проводили по наборам значений масс пептидов с использованием программы Mascot Search Results (www.matrixscience.com, “Matrix Science”, США), базы данных SwissProt 2014_04. Были заданы следующие параметры поиска: точность определения массы стомиллионных долей, таксон *Homo sapiens*. Погрешность определения масс ионов пептидных фрагментов составляла примерно 0.03%.

В исследованных образцах сыворотки крови определяли иммунохимическим методом наличие С3-/С4-компонентов системы комплемента (“Beckman Coulter”, США); иммуноферментным методом – уровень лактоферрина (“Нускулт Биотехнология (НТБ) BV”, Нидерланды), антител к лактоферрину (“Orgentec Diagnostika GmbH”, Германия), противодифтерийных антибактериальных и антитоксических антител (Лабушкина, 2010).

Статистический анализ результатов исследования проводили с применением программы Statistica 12.0 (StatSoft, США). Уровень значимости p при множественном сравнении рассчитывали по критерию Крускала–Уолиса. При попарном сравнении средних величин между группами использовался критерий Манна–Уитни с учетом поправки Бонферрони на множественные сравнения (Омельченко, Демидова, 2017).

РЕЗУЛЬТАТЫ

При исследовании воздействия образцов сыворотки крови различных контингентов обследованных на адгезивные свойства циркулирующего в популяции штамма *C. diphtheriae gravis tox+* (рис. 1) обнаружили увеличение ($p \leq 0.05$) адгезивной активности планктонной культуры под влиянием сыворотки крови бактерионосителей почти в 2 раза по сравнению с показателями контроля. При этом наблюдали резкое (в 82 раза) снижение адгезивности ($p \leq 0.05$) под воздействием сыворотки крови пациентов с манифестированными формами дифтерии (дифтерией ротоглотки токсической и локализованной) и значительно менее выраженное (в 1.3 раза), но достоверное ($p \leq 0.05$) – сыворотки крови привитых АКДС- и АДС-М-препаратами. Под влиянием образцов сыворотки крови непривитых адгезивные свойства коринебактерий не изменялись. При исследовании биопленочных культур этого штамма показатели адгезивности понижались ($p \leq 0.05$) под воздействием образцов сыворотки крови как больных с клинически выраженными формами дифтерии, так и бактерионосителей. Но тенденция к более выраженной адгезивной активности культур, обрабо-

танных сывороткой крови бактерионосителей, сохранялась ($p \leq 0.05$). Под воздействием образцов сыворотки привитых и непривитых АКДС- и АДС-М-препаратами адгезивные свойства биопленочных культур штамма *C. diphtheriae gravis tox+* (циркулирующий) также снижались ($p \leq 0.05$). При рассмотрении адгезивных свойств планктонной культуры музейного штамма *C. diphtheriae gravis tox+* № 665 под воздействием образцов сыворотки бактерионосителей наблюдали увеличение ($p \leq 0.05$) показателей адгезии в 1.5 раза, а под воздействием сыворотки крови больных манифестированными формами дифтерии – достоверное ($p \leq 0.05$) их снижение. При исследовании биопленочных культур этого штамма коринебактерий обнаружили, что их адгезивность понижалась ($p \leq 0.05$) под воздействием образцов сыворотки крови как больных дифтерией, так и бактерионосителей. Воздействие образцов сыворотки привитых и непривитых АКДС- и АДС-М-препаратами не влияло на адгезивные свойства 120-часовых биопленочных культур, но снижало адгезивность 720-часовых биопленочных культур этого штамма коринебактерий. При исследовании штамма *C. diphtheriae gravis* с “молчащим” *tox*-геном результаты были иными: адгезивность как планктонной, так и биопленочных культур этого штамма снижалась ($p \leq 0.05$) под воздействием всех исследованных образцов сыворотки крови.

При исследовании воздействия образцов сыворотки крови различных контингентов обследованных на инвазивные свойства циркулирующего в популяции штамма *C. diphtheriae gravis tox+* (рис. 2) обнаружили снижение ($p \leq 0.05$) инвазивной активности планктонной культуры этого штамма при обработке сывороткой крови больных дифтерией и привитых противодифтерийными препаратами. При этом инвазивные свойства коринебактерий никак не изменялись под влиянием сыворотки крови бактерионосителей и непривитых. Инвазивная активность биопленочных культур этого штамма при исследовании воздействия на нее всех исследованных образцов сыворотки крови резко снижалась ($p \leq 0.05$). При рассмотрении инвазивных свойств планктонной и биопленочных культур музейного штамма *C. diphtheriae gravis tox+* № 665 под воздействием всех исследованных образцов сыворотки наблюдали ее статистически значимое ($p \leq 0.05$) снижение. При исследовании штамма *C. diphtheriae gravis* с “молчащим” *tox*-геном установили, что инвазивность планктонной культуры снижалась ($p \leq 0.05$) под воздействием сыворотки крови больных дифтерией, бактерионосителей и непривитых и никак не изменялась под влиянием сыворотки крови привитых АКДС- и АДС-М-препаратами. Инвазивная активность биопленочных культур этого штамма снижалась ($p \leq 0.05$) под влиянием всех взятых в исследовании образцов сыворотки.

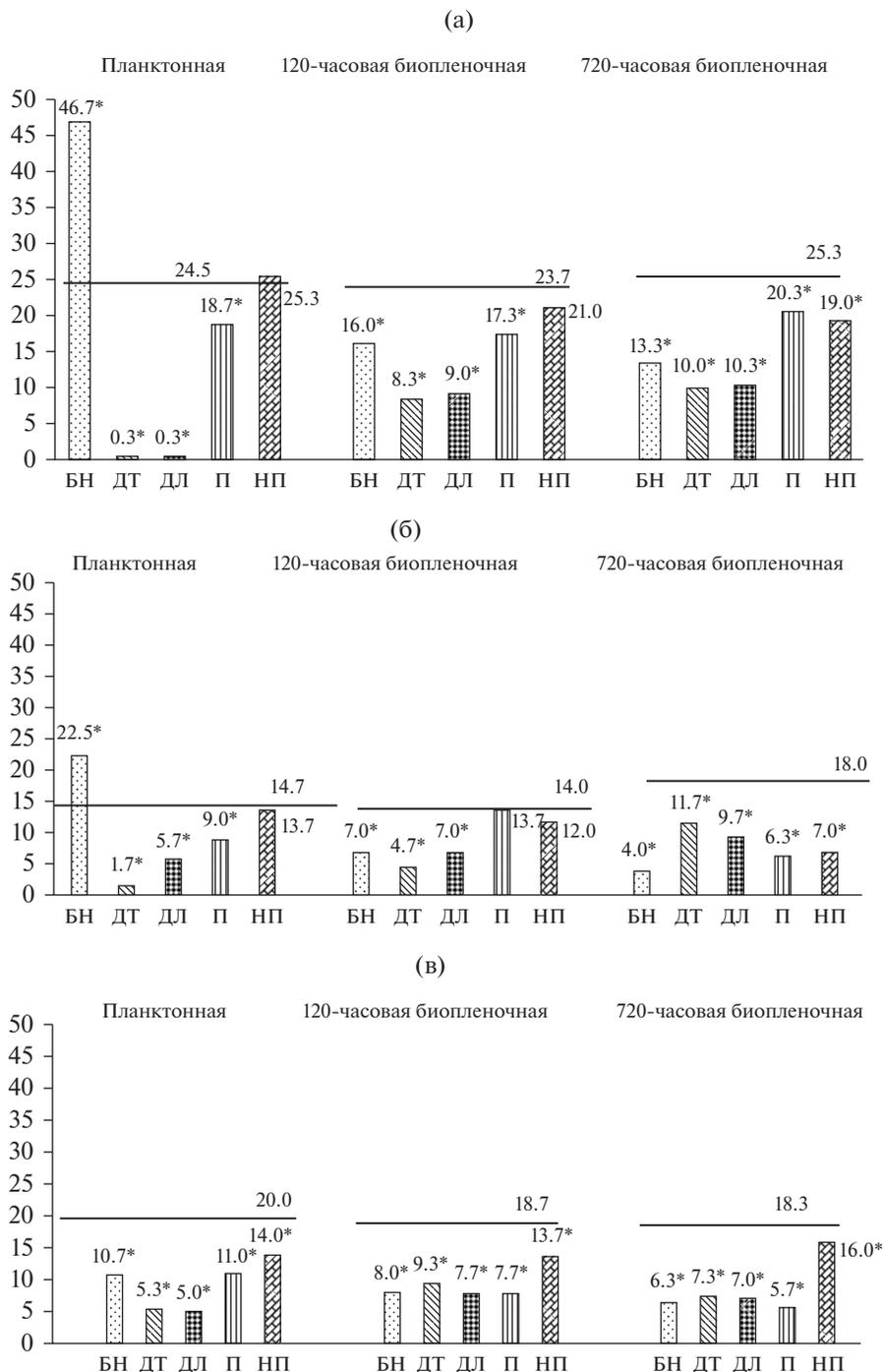


Рис. 1. Показатели адгезии планктонных и биопленочных культур штаммов *C. diphtheriae* при воздействии образцов сыворотки крови различных контингентов обследованных. (а) – *C. diphtheriae* *gravis* *tox+* (циркулирующий); (б) – *C. diphtheriae* *gravis* *tox+* № 665; (в) – *C. diphtheriae* с “молчащим” *tox*-геном; по оси ординат – уровень адгезивной активности (КОЕ/мл); по оси абсцисс – контингент обследованных (БН – бактерионосители; ДТ – дифтерия ротоглотки токсическая; ДЛ – дифтерия ротоглотки локализованная; П – привитые; НП – непривитые). Условные обозначения: — — показатели адгезии исследованных культур, не подвергшихся воздействию образцов сыворотки крови обследованных (контроль); * – статистическая значимость отличий ($p \leq 0.05$) по сравнению с контролем.

Различный характер воздействия образцов сыворотки крови больных дифтерией, бактерионосителей и привитых противодифтерийными препаратами на адгезивные и инвазивные свойства

планктонных и биопленочных культур штаммов *C. diphtheriae* предполагает определение отличий использованных образцов сыворотки крови по содержанию в них факторов врожденного и адап-

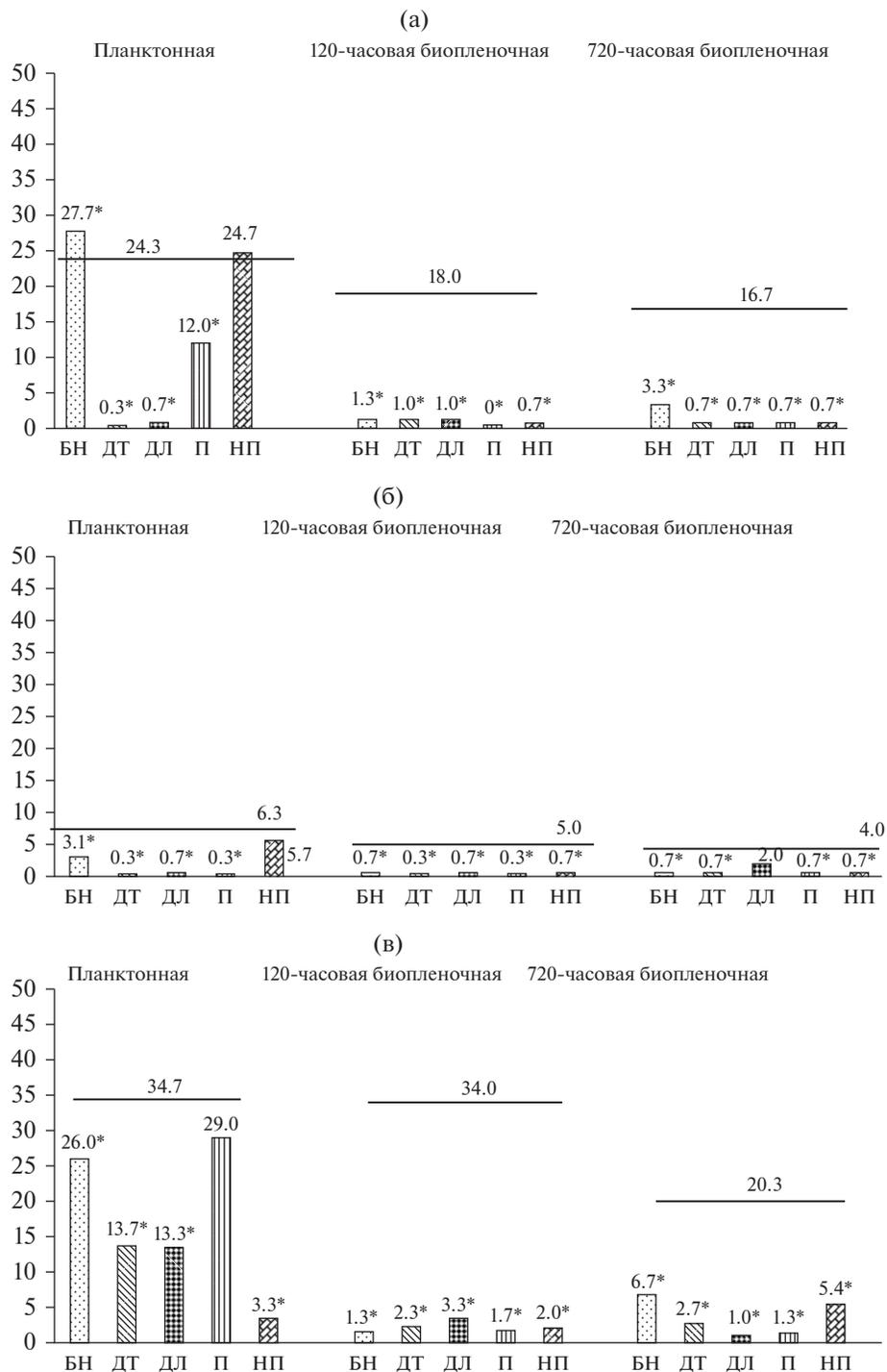


Рис. 2. Показатели инвазии планктонных и биопленочных культур штаммов *C. diphtheriae* при воздействии образцов сыворотки крови различных контингентов обследованных. (а) – *C. diphtheriae gravis tox+* (циркулирующий); (б) – *C. diphtheriae gravis tox+* № 665; (в) – *C. diphtheriae* с “молчащим” *tox*-геном; по оси ординат – уровень адгезивной активности (КОЕ/мл); по оси абсцисс – контингент обследованных (БН – бактерионосители; ДТ – дифтерия ротоглотки локализованная; ДЛ – дифтерия ротоглотки локализованная; П – привитые; НП – непривитые). Условные обозначения: — — показатели адгезии исследованных культур, не подвергшихся воздействию образцов сыворотки крови обследованных (контроль); * – статистическая значимость отличий ($p \leq 0.05$) по сравнению с контролем.

Таблица 1. Содержание факторов врожденного и адаптивного иммунитета в образцах сыворотки крови различных контингентов обследованных

Контингент обследованных	Параметры сравнения				
	С3-/С4-компоненты системы комплемента, г/л	Лактоферрин, нг/мл	Антитела к лактоферрину, МЕ/мл	Противодифтерийные антибактериальные антитела, МЕ/мл	Противодифтерийные антитоксические антитела (СГТ)
Бактерионосители	0.95/0.31	1000.0 ± 0.2	<10	0.0023 ± 0.0001	1:316.2 (234.4–426.5)
Дифтерия ротоглотки токсическая	1.53/0.38	760.3 ± 0.1	<10	0.031 ± 0.002	1:20.8 (19.9–21.87)
Дифтерия ротоглотки локализованная	1.26/0.35	754.2 ± 0.1	<10	0.013 ± 0.001	1:47.9 (42.67–53.70)
Привитые	1.03/0.23	800.4 ± 0.1	<10	0.011 ± 0.002	1:181.9 (154.54–229.08)
Непривитые	1.32/0.30	750.7 ± 0.1	<10	0.006 ± 0.001	<1:10

тивного иммунитета. При определении факторов врожденного иммунитета (табл. 1) обнаружили, что содержание С3-/С4-компонентов комплемента во всех исследованных образцах сыворотки крови находилось в пределах нормы и не имело никаких отличий вне зависимости от контингента обследованных. При определении уровня лактоферрина установили, что максимальное его количество ($p \leq 0.05$) обнаружено в образцах сыворотки бактерионосителей (1000 ± 0.2 нг/мл). Антитела к лактоферрину не обнаружены ни в одном из исследованных образцов сыворотки крови. При определении факторов адаптивного иммунитета установлено, что содержание противодифтерийных антибактериальных антител минимально ($p \leq 0.05$) в образцах сыворотки крови бактерионосителей и непривитых противодифтерийными препаратами. Содержание противодифтерийных антитоксических антител в образцах сыворотки крови бактерионосителей (средняя геометрическая величина титров антител СГТ – 1:316.2) максимально ($p \leq 0.05$), по сравнению с другими контингентами обследованных, в том числе и с привитыми АКДС- и АДС-М-препаратами. При этом в образцах сыворотки крови больных дифтерией ротоглотки токсической уровень антитоксина (СГТ – 1:20.8) был ниже ($p \leq 0.05$), чем у больных дифтерией ротоглотки локализованной (СГТ – 1:47.9).

Следующим этапом работы стало изучение влияния указанных факторов врожденного и адаптивного иммунитета на адгезивные свойства штаммов *C. diphtheriae*. Для этого использовали коммерческие препараты комплемента, лактоферрина и антитоксина диагностического дифтерийного.

При определении влияния препарата комплемента (цельного) на планктонные культуры исследованных штаммов *C. diphtheriae* обнаружили, что их адгезивные свойства во всех случаях достоверно ($p \leq 0.05$) понижались. При оценке воздействия на адгезивные свойства исследованных штаммов *C. diphtheriae* препарата лактоферрина в

дозе 270 мкг/мл, соответствующей его нормальному содержанию в сыворотке крови людей, была обнаружена полная блокада адгезивности как планктонных, так и биопленочных культур всех исследованных штаммов коринебактерий. При определении влияния препарата антитоксина диагностического дифтерийного в концентрации 5 МЕ/мл на адгезивные свойства токсигенных штаммов *C. diphtheriae* никакого изменения адгезивности не обнаружено ни у одного из исследованных штаммов коринебактерий.

При проведении электрофореза в полиакриламидном геле в денатурирующих условиях (рис. 3) исследованные образцы сыворотки крови сравнивали с молекулярными массами стандартных белков в диапазоне от 10 до 170 кДа. Обнаружено, что в зоне 26–43 и 72–170 кДа интенсивность белковых пятен наиболее выражена в образцах сыворотки крови бактерионосителей по сравнению с другими контингентами обследованных. В диапазоне 20–10000 Да определяли сывороточные белки с помощью масс-спектрометрического метода (MALDI-TOF MS). Последовательность белков на 97–100% соответствовала референсной. Кластерный анализ исследованных образцов сыворотки крови показал следующее (рис. 4). Первую агрегацию образовал кластер, состоящий из показателей S1 – сыворотка крови больных дифтерией ротоглотки токсической и S2 – сыворотка крови больных дифтерией ротоглотки локализованной. К данному кластеру на втором шаге кластеризации присоединился показатель S4 – сыворотка крови привитых АКДС- и АДС-М-препаратами, на третьем – показатель S3 – сыворотка крови бактерионосителей. На последнем шаге кластеризации присоединился показатель S5 – сыворотка крови здоровых, не привитых АКДС- и АДС-М-препаратами. При идентификации белков сыворотки крови обследованных контингентов обнаружено, что в образцах сыворотки крови бактерионосителей более широко представлен спектр сывороточных белков, обладающих способностью ингибировать апоптоз (Humanin-like protein) и связывать

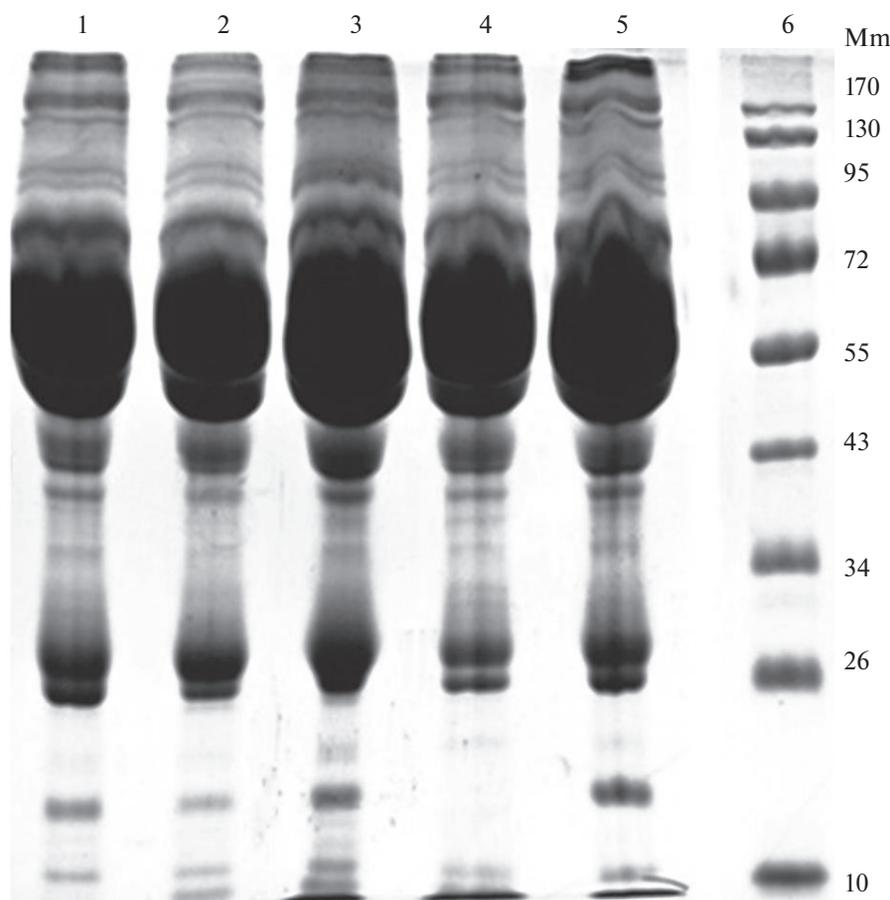


Рис. 3. Электрофоретическое исследование в полиакриламидном геле в денатурирующих условиях образцов сыворотки крови (разведение 1 : 3) различных контингентов обследованных (1 – дифтерия ротоглотки токсическая; 2 – дифтерия ротоглотки локализованная; 3 – бактерионосители; 4 – привитые АКДС- и АДС-М-препаратами; 5 – непривитые АКДС- и АДС-М-препаратами; 6 – стандартные белки).

тяжелые металлы (Metallothionein), в том числе и железо.

ОБСУЖДЕНИЕ

Попадая в организм, возбудитель дифтерии сталкивается с воздействием факторов врожденного и адаптивного иммунитета, которые оказывают определенное влияние на способность коринебактерий прикрепляться к эпителиальным клеткам. В связи с этим представляло интерес исследовать воздействие образцов сыворотки крови различных контингентов обследованных, содержащих эти факторы, на адгезивные и инвазивные свойства штаммов *C. diphtheriae*. При воздействии образцов сыворотки крови бактерионосителей на продуцирующие токсин штаммы *C. diphtheriae* адгезивная активность их планктонных культур увеличивалась ($p \geq 0.05$) в 1.3–2 раза, а биопленочных – понижалась ($p \geq 0.05$). В то же время под действием образцов сыворотки крови бактерионосителей на штамм *C. diphtheriae*, не продуциру-

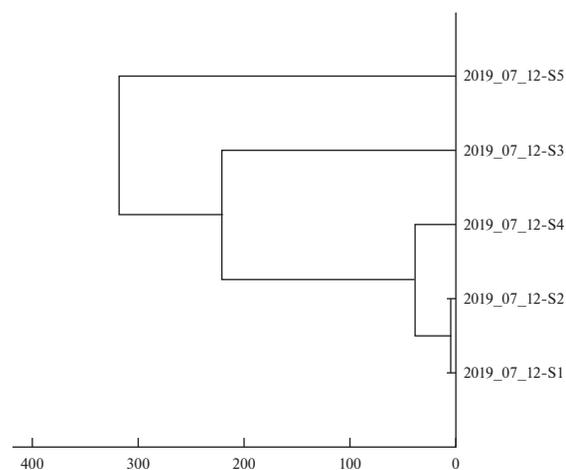


Рис. 4. Дендрограмма масс-спектрометрического анализа образцов сыворотки крови различных контингентов обследованных (S1 – дифтерия ротоглотки токсическая; S2 – дифтерия ротоглотки локализованная; S3 – бактерионосители; S4 – привитые АКДС- и АДС-М-препаратами; S5 – непривитые АКДС- и АДС-М-препаратами).

ющий токсин, но несущий ген токсигенности, наблюдали снижение адгезивности ($p \geq 0.05$) как его планктонной, так и биопленочных культур. Это свидетельствует о том, что определенную роль в повышении адгезивной активности коринебактерий играет выделяемый ими токсин. В организме бактерионосителей, имеющих повышенный уровень антитоксических антител в сыворотке крови, выделяемый *C. diphtheriae* токсин эффективно нейтрализуется антитоксическими антителами на клеточной поверхности в месте входных ворот инфекции, в результате чего повреждения эпителия не происходит (Кветная и др., 2000). Образующийся иммунный комплекс токсин–антитоксин модифицирует клеточную поверхность и создает благоприятные условия для адгезии и колонизации дифтерийной палочки. Противодифтерийные антитоксические антитела блокировать адгезины коринебактерий не могут, что и обнаружено при исследовании *in vitro* воздействия антитоксина на адгезивные свойства планктонных и биопленочных культур коринебактерий. Уровень антибактериальных антител, направленных против поверхностных структур коринебактерий, у бактерионосителей низок, поэтому адгезины у *C. diphtheriae* свободны и формируют биопленку. Это подтверждает тот факт, что межмикробный матрикс дифтерийной биопленки имеет преимущественно белковую природу (Харсеева и др., 2013) и, по всей видимости, сформирован адгезинами. За пределы биопленки выделяется меньшее количество токсина, эффективно блокирующегося антитоксическими антителами, а также лактоферрином, содержание которого у носителей выше ($p \geq 0.05$), по сравнению с больными манифестированной формой дифтерии. В свою очередь известно, что антимикробные пептиды могут выступать в роли адьювантов, стимулируя адаптивный иммунный ответ (Чеботарь и др., 2020), в том числе и выработку антитоксических антител. Изолированно *in vitro* лактоферрин полностью блокировал адгезию планктонных и биопленочных культур *C. diphtheriae*. Однако известно, что повышенный уровень лактоферрина может стимулировать комплемент-зависимое формирование биопленки, а образовавшийся вследствие этого межмикробный матрикс устойчив к прямому воздействию лактоферрина (Kapwar et al., 2015).

Изменения показателей инвазивной активности исследованных штаммов *C. diphtheriae* под воздействием образцов сыворотки крови бактерионосителей имели в целом такие же закономерности. Это указывает на существующую взаимосвязь адгезивности и инвазивности возбудителя дифтерии, что объясняется общностью поверхностных структур (DIP0733, DIP1281), отвечающих за эти процессы.

Под воздействием образцов сыворотки крови больных манифестированными формами дифтерии наблюдали наиболее выраженное ($p \leq 0.05$) снижение адгезивной и инвазивной активности как планктонных, так и биопленочных культур исследованных штаммов *C. diphtheriae*, по сравнению с образцами сыворотки других контингентов обследованных. Это можно объяснить наличием антибактериальных антител, блокирующих поверхностные структуры коринебактерий, обуславливающих адгезию и инвазию. Однако в образцах сыворотки крови привитых противодифтерийными препаратами уровень антибактериальных антител не отличался от такового у больных локализованной и токсической формами дифтерии ротоглотки, но снижения адгезивных свойств планктонных и 120-часовых биопленочных культур продуцирующих токсин штаммов *C. diphtheriae* не наблюдали. В то же время аналогичные результаты обнаружены и при исследовании воздействия на адгезивность и инвазивность штаммов *C. diphtheriae* образцов сыворотки крови непривитых, содержащих относительно низкий уровень антибактериальных антител. Отличий в воздействии образцов сыворотки различных контингентов обследованных на адгезивность и инвазивность штаммов *C. diphtheriae* могут быть связаны с наличием в них не только антибактериальных антител и лактоферрина, но и иных белков. Об этом свидетельствовали данные дендрограммы, где видно, что наибольшим сродством по масс-спектру белков обладали образцы сыворотки крови больных манифестированными формами дифтерии и привитых противодифтерийными препаратами. Образцы сыворотки крови бактерионосителей и непривитых АКДС- и АДС-М-препаратами существенно отличались от них. Можно предположить, что различный масс-спектр белковых субстанций, содержащихся в образцах сыворотки крови указанных контингентов обследованных, связан с различным характером их воздействия на адгезивные свойства штаммов *C. diphtheriae*. Так, в образцах сыворотки крови бактерионосителей более широко, по сравнению с другими контингентами обследованных, представлен спектр белков Humanin-like protein, являющихся мощным ингибитором апоптоза и способных при воздействии на митохондрии увеличивать выработку АТФ, что и обуславливает выживание клеток в стрессовых условиях. Помимо этого, у бактерионосителей, как и у здоровых привитых и непривитых противодифтерийными препаратами, шире спектр и Metallothionein, по сравнению с больными манифестированными формами дифтерии. Эти белки связывают тяжелые металлы, в том числе, железо и цинк, утилизируя их в организме. Известно, что удержание железа в человеческих клетках — один из важнейших механизмов защиты хозяина, используемый для предотвращения

роста бактерий (Rosa et al., 2017; Peng et al., 2018; Ibraim et al., 2019; Sharma et al., 2019). В свою очередь возбудитель дифтерии в условиях низкого содержания железа в свободном состоянии в организме размножается менее интенсивно, происходит активация адгезивного аппарата коринебактерий и усиливается биопленкообразование. *C. diphtheriae* начинают выделять токсин, который задерживается матриксом биопленки, а выйдя за ее пределы, блокируется антитоксическими антителами и лактоферрином. Перечисленные особенности белкового спектра сыворотки крови бактерионосителей способствуют, по-видимому, активации адгезивного аппарата коринебактерий, биопленкообразованию и длительной персистенции в организме.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Под воздействием факторов врожденного и адаптивного иммунитета у бактерионосителей на фоне низкого содержания антибактериальных антител, высокого уровня антитоксических антител и лактоферрина, а также более широкого спектра сывороточных белков, обладающих способностью ингибировать апоптоз и связывать тяжелые металлы, в том числе и железо, адгезивность *C. diphtheriae* повышается, что предрасполагает к формированию биопленки, понижению выделения токсина за ее пределы и, как следствие, длительной персистенции в организме.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследования выполнялись в рамках двухстороннего договора о сотрудничестве Ростовского государственного медицинского университета с Ростовским-на-Дону противочумным институтом Роспотребнадзора (договор № 18177 от 01.03.2015 г.). Договор о совместной научно-исследовательской работе — безвозмездный, не предполагает финансирования.

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

Кветная А.С., Иванова В.В., Корженевская Г.Б. и др. Адаптационные механизмы формирования бактерионосительства *Corynebacterium diphtheriae* // Журн. микробиол. 2000. № 4. Прил. С. 31–36.

- Костюкова Н.Н., Бехало В.А. Дифтерийное бактерионосительство // Эпидемиол. вакцинопрофил. 2018. Т. 5. № 18. С. 60–70.
- Костюкова Н.Н., Гукасян Л.А. Патогенез дифтерийного носительства в иммунологическом аспекте // Журн. гиг. эпидемиол. микробиол. иммунол. 1977. Т. 21. № 4. С. 394–398.
- Костюкова Н.Н., Карась С.Р. Адгезивная активность дифтерийных штаммов в зависимости от особенностей вызываемого ими инфекционного процесса // Журн. микробиол. 1991. № 11. С. 24–27.
- Лабушкина А.В. Дифтерийный диализатный антиген и некоторые аспекты противодифтерийного иммунитета у детей с аллергическими заболеваниями: Дис. ... канд. мед. наук. М.: ММА им. И.М. Сеченова, 2010. 146 с.
- Михайлова Е.А., Киргизова С.Б., Миронов А.Ю. и др. Стафилококкового бактерионосительства — новые возможности и перспективы // Клини. лаб. диагн. 2015. Т. 60. № 7. С. 56–57.
- Омельченко В.П., Демидова А.А. Медицинская информатика. Руководство к практическим занятиям: учебное пособие. Глава 10. Статистическая обработка результатов медико-биологического исследования с помощью Microsoft Office Excel. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. С. 324–356.
- Покровский В.И., Фокина Г.Г. Дифтерия: болезнь забытая, но не исчезнувшая // Эпидемиол. инфекц. бол. 2016. № 5. С. 4–12.
- Харсеева Г.Г., Миронов А.Ю., Фролова Я.Н., Ченусова А.В. Способность к формированию биопленки возбудителем дифтерии // Клини. лаб. диагн. 2013. № 2. С. 36–38.
- Чеботарь И.В., Бочарова Ю.А., Гурьев А.С., Маянский Н.А. Стратегии выживания бактерий в условиях контакта с антибиотиками // Клини. лаб. диагн. 2020. Т. 65. № 2. С. 116–121.
- Ibraim I.C., Parise M.T.D., Parise D. et al. Transcriptome profile of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in response to iron limitation // BMC Genomics. 2019. V. 20. Art. 663.
- Kanwar J.R., Roy K., Patel Y., Zhou S. Multifunctional iron bound lactoferrin and nanomedicinal approaches to enhance its bioactive functions // Molecules. 2015. V. 20. P. 9703–9731.
- Laemmli U.K., Beguin F., Gujer-Kellenberger G. A factor preventing the major head protein of bacteriophage T4 from random aggregation // J. Mol. Biol. 1970. V. 47. № 1. P. 69–74.
- Ott L., Höller M., Gerlach R.G. et al. *Corynebacterium diphtheriae* invasion-associated protein (DIP1281) is involved in cell surface organization, adhesion and internalization in epithelial cells // BMC Microbiol. 2010. № 10. Art. 2.
- Peng E.D., Oram D.M., Battistel M.D. et al. Iron and zinc regulate expression of a putative ABC metal transporter in *Corynebacterium diphtheriae* // J. Bacteriol. 2018. V. 200. № 10. P. e00051-18.
- Rosa L., Cutone A., Lepanto M.S. et al. Lactoferrin: a natural glycoprotein involved in iron and inflammatory homeostasis // Int. J. Mol. Sci. 2017. V. 18. № 9. P. e1985.
- Sharma N.C., Efstratiou A., Mokrousov I. et al. Diphtheria // Nat. Rev. Dis. Prim. 2019. V. 5. № 1. P. 81.
- Watnick P., Kolter R. Biofilm, city of microbes // J. Bacteriol. 2000. V. 182. P. 2675–2679.

The Role of Congenital and Adaptive Immunity Factors in the Formation of Diphtheria Bacteria

G. G. Kharseeva^{a, *}, A. A. Alieva^a, L. P. Alekseeva^b, O. S. Chemisova^b, A. L. Trukhachev^b,
S. Yu. Tyukavkina^a, A.V. Chepusova^a, and O. I. Sylka^a

^aRostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

^bRostov-on-Don Plague Control Research Institute, Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights
Protection and Human Welfare, Rostov-on-Don, Russia

*e-mail: galinagh@bk.ru

The aim of this work is to determine the role of factors of innate and adaptive immunity in the formation of bacterial carriers of toxigenic strains of *C. diphtheriae*. It was found that under the influence of the blood serum of the bacterial carriers, the adhesive activity of planktonic cultures of toxigenic strains of *C. diphtheriae gravis tox+* increased by 1.5–2 times ($p \leq 0.05$). Exposure to blood serum of patients with manifest forms of diphtheria contributes to a sharp (82-fold) decrease in their adhesiveness ($p \leq 0.05$). Bacterial carriers, against the background of a low content of antibacterial antibodies, a high level of antitoxic antibodies and lactoferrin, as well as a wider range of serum proteins capable of inhibiting apoptosis (Humanin-like protein) and binding heavy metals (Metallothionein), including iron, the adhesiveness of toxigenic *C. diphtheriae* strains are increasing. Blood serum samples from patients with manifest forms of diphtheria and those vaccinated with anti-diphtheria drugs have the highest affinity for the mass spectrum of proteins, while samples of bacterial carriers and unvaccinated DTP- and ADS-M drugs differ significantly from them. These features of the influence of factors of innate and adaptive immunity of bacterial carriers predispose to the formation of a biofilm, a decrease in the release of toxin beyond its limits and, as a consequence, a prolonged persistence of the pathogen in the body.

Keywords: carrier of bacteria, factors of innate and adaptive immunity, *C. diphtheriae*, adhesion

УДК 581.145.1:581.462:581.465

ЭВОЛЮЦИОННАЯ ИСТОРИЯ ЦВЕТКА БОБОВЫХ (LEGUMINOSAE)

© 2021 г. А. А. Синюшин*

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

*e-mail: asinjushin@mail.ru

Поступила в редакцию 11.06.2020 г.

После доработки 11.06.2020 г.

Принята к публикации 11.06.2020 г.

Современная эволюционная биология развития включает в свой инструментарий молекулярную филогению, изучение морфологии и морфогенеза, генетику и геномику. Эволюцию цветка удобно изучать на примере высокополиморфной группы, охарактеризованной с позиций современной систематики и молекулярной биологии развития. Такой группой является семейство Бобовых (Leguminosae), демонстрирующее исключительное разнообразие в строении цветка. Исходный план строения цветка в семействе – зигоморфный, пятикратный, с пятичленными околоцветником и андроцеом, с одночленным гинецеом. Однако в разных эволюционных линиях независимо возникают актиноморфный околоцветник, различные варианты редукции или полимеризации андроцея, многочленный гинецей. Отмечается чрезвычайно высокий уровень гомоплазии. Помимо эволюционной тенденции к стабилизации структуры цветка, неоднократно формируется своеобразный синдром нестабильности, связанный с актиноморфной симметрией и характеризующийся вариабельными числом и положением органов цветка.

Ключевые слова: актиноморфия, гомоплазия, зигоморфия, мерность цветка, полимеризация, редукция, симметрия

DOI: 10.31857/S0042132421010221

ВВЕДЕНИЕ

Эволюционный успех покрытосеменных растений в значительной степени связан с разнообразием уникальной для этого отдела структуры – цветка, адаптированного к различным способам опыления. Начиная со второй половины XX в. формируется плодотворный синтез систематики, вооруженной новыми подходами, классической морфологии и генетики развития. Возникшее направление исследований получило название эволюционной биологии развития – evo-devo. Результатом стало понимание механизмов, лежащих в основе эволюционных событий. Абстрактные формулировки вида “произошла редукция” сменило точное знание того, какие гены ответственны за те или иные морфологические изменения и как давно эти изменения произошли. Точнее было бы сказать, что появились методические возможности для достижения подобных заключений.

В изучении эволюции цветка первый шаг был сделан при исследовании модельных объектов – в основном, *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae) и *Antirrhinum majus* (Plantaginaceae). Полученные сведения дали возможность идентифицировать гены, связанные с регуляцией морфогенеза цветка, у представителей других семейств. В их числе было и чрезвычайно интересное с точки зрения

разнообразия и эволюции цветка, третье по величине среди покрытосеменных семейство Бобовых (Leguminosae).

Бобовые являются рекордсменом по числу окультуренных представителей (Harlan, 1992). Именно к Бобовым относится старейший модельный объект генетики – горох посевной *Pisum sativum* L., и именно Бобовые в настоящее время удерживают рекорд по числу полученных полногеномных последовательностей (Vauchet et al., 2019). Эти особенности открывают возможность детального изучения генетической регуляции флорального морфогенеза у представителей данного семейства.

Обширна литература, посвященная развитию цветка у Бобовых. Среди пионеров в этой области уместно упомянуть имя Ширли Такер, которая посвятила флоральному морфогенезу Leguminosae цикл публикаций с середины 1980-х (Tucker, 1984, 1989a,b) до начала 2000-х гг. Эти работы вошли в резонанс с пересмотром системы семейства. Остается только удивляться, как много принципиально важных аспектов, касающихся морфологии цветков Бобовых, было затронуто в этих статьях.

Кроме того, последние десятилетия систематика Бобовых была предметом активного изуче-

ния с привлечением современных молекулярно-генетических подходов. Одним из наиболее значительных итогов стала обновленная система семейства, включающая не три, а шесть подсемейств (LPWG, 2017). Именно этой системе мы и будем следовать в дальнейшем, а потому перечислим подсемейства: *Caesalpinioideae* (148 родов), *Cercidoideae* (12 родов), *Detarioideae* (84 рода), *Dialioideae* (17 родов), *Duparquetioideae* (1 род) и *Papilionoideae* (503 рода). По сравнению с традиционной классификацией (Яковлев, 1991), *Caesalpinioideae* разделились на несколько подсемейств меньшего объема, но *Caesalpinioideae* s.s. включили бывшее подсемейство *Mimosoideae*.

Современные методы анализа генома и транскриптома позволяют отойти от концепции модельного объекта. Так, активные исследования в области филогеномики подсемейства *Detarioideae* — экзотических растений, мало известных европейским морфологам, — за короткое время подвели к возможности использования этой группы в качестве модельной клады в эволюционной морфологии Бобовых (Ojeda et al., 2019).

При попытке обзора доступной литературы, посвященной цветкам Бобовых, обнаруживается, что различные аспекты освещены в неравной степени. Морфология цветка большинства представителей описана достаточно детально для сопоставления (по крайней мере, в формате видовых и родовых диагнозов). Напротив, ход морфогенеза документирован для существенно меньшего числа родов — включающих, впрочем, большинство узловых таксонов, важных для понимания разнообразия в основных кладах. Генетическая и физиологическая регуляция морфогенеза охарактеризована лишь в некоторых аспектах и изучена в основном на узком круге модельных объектов.

В дальнейшем из соображений конспективности мы, как правило, не станем приводить ссылки на работы, описывающие морфологию цветков, и ограничимся лишь публикациями, посвященными морфогенезу и его регуляции.

Говоря об эволюции цветка, мы отдаем себе отчет в том, что невозможно рассмотреть все возможные апоморфии таксонов невысокого ранга (например триб или родов), хотя их появление, безусловно, подпадает под понятие эволюционной истории. Так, возникновение различных типов строения столбика или опушения чашечки останется за пределами настоящего обзора. Напротив, предметом рассмотрения станут случаи, когда нарушаются симплезиоморфные признаки, присущие интуитивно понимаемому типичному цветку Бобовых. Перечислим их: цветок зигоморфный, круговое расположение органов, пятичленный околоцветник, пятичленный андроцей в двух кругах, одночленный гинецей. Иными словами, основное внимание работы уделено не про-

цессу дифференцировки, а событиям заложения структур цветка *Leguminosae*.

ЧАШЕЧКА

У всех Бобовых круг чашелистиков закладывается первым и, вероятно, определяет геометрию всего цветка, поскольку органы всех кругов правильно (за исключением случаев, интерпретируемых как редукция одного или нескольких кругов, например *Ceratonia*, *Caesalpinioideae*) чередуются друг с другом. Речь, разумеется, идет о цветках с круговым расположением органов, а гинецей составляет исключение почти всегда.

Одним из наиболее важных событий в морфогенезе цветка Бобовых можно считать разметку медианного (лежащего на абаксиально-адаксиальной оси симметрии) чашелистика. В подавляющем большинстве случаев медианный чашелистик имеет абаксиальное положение, что определяет адаксиальное положение медианного лепестка. Этот лепесток имеет особые свойства — в зигоморфном цветке отличается от остальных лепестков и чаще всего сохраняется при частичной редукции венчика.

Однако есть несколько исключений. Хорошо известно, что в адаксиальном положении зачастую, но не всегда, закладывается медианный чашелистик у представителей бывшего подсемейства *Mimosoideae*. Уверенно подобное можно утверждать только о *mimosoids* с пятичленной чашечкой, однако и в таких цветках медианный чашелистик может закладываться по-разному, например у *Inga* этот показатель изменчив на меж- и внутривидовом уровне (Paulino et al., 2017). Более верно, что в этой группе возможно адаксиальное положение медианного чашелистика. Сходный и столь же пластичный морфогенез чашечки описан у *Gleditsia* (Tucker, 1991), *Ceratonia*, *Erythrophleum* (Tucker, 1992). Сопоставление морфологических и филогенетических данных показывает, что такое положение медианного чашелистика присуще целой кладе цезальпиниевых с актиноморфными цветками, в которую входит в качестве субклады бывшее подсемейство Мимозовых (De Barros et al., 2017). Обращает на себя внимание высокая вариабельность в развитии цветка, касающаяся не только положения медианного чашелистика, но и мерности, размера органов, пола зрелого цветка и даже ориентации шва плодолистика (Tucker, 1992).

С учетом особого значения именно адаксиального лепестка в зигоморфном венчике становится понятным, что адаксиальное положение медианного чашелистика несовместимо с зигоморфией у Бобовых. По крайней мере, такое сочетание (обычное, например, для *Violaceae* или *Geraniaceae*) у *Leguminosae* неизвестно. Не очевидно, какое

событие было первичным – необычное заложение чашелистика или формирование актиноморфного околоцветника. Однако в обсуждаемом семействе эти черты составляют синдром, включающий также иные черты нестабильности: переменную мерность и неустойчивое положение шва плодолистика (Tucker, 1991, 1992).

Сопоставление данных о морфологии околоцветника с филогенией покрытосеменных показывает, что эволюционно исходным в пятичленном цветке было адаксиальное положение медианного чашелистика. Смена геометрии происходила в эволюции независимо около 30 раз (Bukhari et al., 2017). Абаксиальное положение медианного чашелистика в порядке Fabales является синапоморфией для Leguminosae и нехарактерно для остальных семейств (Bello et al., 2012). Вероятно, в подсемействе Caesalpinioideae произошла реверсия к анцестральному положению медианного чашелистика. Возможно, имели место даже два события реверсии: группа родов, в которую входят *Ceratonia* и *Gleditsia*, относится к самым рано отделившимся от общего ствола Caesalpinioideae линиям, а бывшие Mimosoideae – к продвинутым цезальпиниевым.

У некоторых базальных Papilionoideae (*Swartzia*, *Bocoa*, *Candolleodendron*, *Cordyla*) чашечка зрелого цветка представляет собой полностью замкнутый покров, в котором невозможно различить отдельные чашелистики. При зацветании такая чашечка разрывается. Заложение такой чашечки происходит в виде трех (или большего числа) лопастей, которые иногда интерпретируют как отдельные чашелистики (Tucker, 2003a). У некоторых *Swartzia*, впрочем, описано привычное заложение пяти примордиев, предположительно соответствующих чашелистикам (Tucker, 2003a). Иногда рост чашечки происходит кольцеобразно, без формирования различимых лопастей, причем разные варианты могут сочетаться у одного и того же вида или даже в одном соцветии (Sinjushin, 2018). Эти наблюдения подводят к заключению о том, что три лопасти, с которых начинается развитие чашечки у этих растений, представляют собой не примордии чашелистиков, а, скорее, складки единой кольцеобразной меристемы. Такая интерпретация избавляет от неизбежного затруднения относительно природы трехчленной чашечки в кладе, в которой у многих родов цветок пятичленный.

У многих Detarioideae два адаксиальных чашелистика закладываются в виде отдельных примордиев, но срстаются на ранних стадиях, что производит в зрелом цветке впечатление четырехчленной чашечки. Прочие части цветка остаются пятичленными. В этом подсемействе известны роды и с пятью чашелистиками (Tucker, 2002a, 2003b). У нескольких родов трибы Loteae (Papilionoideae) эти же чашелистики закладыва-

ются в виде единственного примордия, который затем распадается на две части (Sokoloff et al., 2007). Наконец, два адаксиальных чашелистика, появляясь независимо, срстаются при образовании двугубой чашечки (например *Aeschynomene*, Papilionoideae).

ВЕНЧИК

Самая заметная часть цветка, венчик, более всего вносит вклад в субъективную оценку того, насколько типичен цветок у того или иного представителя Бобовых.

Известны многочисленные примеры Бобовых, имеющих радиально симметричный (актиноморфный) венчик. Исторически актиноморфному венчику у Бобовых зачастую придавали большое значение при филогенетических построениях. С применением молекулярной систематики многие таксоны, выделяемые по признакам симметрии цветка, получили новый статус. Так, были переформированы трибы Swartzieae и Sophoreae. Неоправданным оказался родовой статус некоторых морфологически отличающихся таксонов: например, *Etaballia* является одним из видов *Pterocarpus* (Klitgård et al., 2013). Вообще, было обнаружено множество случаев, когда выделяемая по молекулярным данным группа весьма разнородна по морфологическим признакам (Повыдыш и др., 2014; Cardoso et al., 2012a,b). Подобные сопоставления в системе Бобовых, группы с чрезвычайно разнообразными цветками, указывают, с одной стороны, на ценность молекулярных методов в филогении, а с другой – на возможность неожиданно высокого уровня гомоплазии (Pennington et al., 2000; Fougère-Danezan et al., 2010).

Генетическая регуляция формирования зигморфного венчика достаточно детально изучена на модельных объектах – *Antirrhinum* (Plantaginaceae), *Lotus*, *Pisum* (Papilionoideae). Основную роль в определении симметрии играют гены семейства TCP. Их продукты – белки с мотивом спираль–петля–спираль (bHLH), ответственным за взаимодействие с ДНК и между белками (Martín-Trillo, Cubas, 2010). Морфогенетическую роль этих белков видят в подавлении пролиферации клеток за счет ускорения их перехода к дифференцировке. К этому семейству относятся гены *CYC* (*CYCLOIDEA*) и *DICH* (*DICHOTOMA*) львиного зева (Luo et al., 1999). Оба гена экспрессируются в адаксиальной части флорального примордия; у мутантов *cyc* происходит расширение программы развития абаксиальных лепестков на латеральные лепестки – вентрализация. У двойных мутантов *cyc dich* львиного зева вентрализация достигает предела: все лепестки выглядят как абаксиальные, их число обычно увеличено до ше-

сти, вместо стаминодия формируется полноценная тычинка (Luo et al., 1999).

С момента идентификации генов *CYC* и *DICH* было установлено, что сходные гены определяют зигоморфную симметрию у множества других покрытосеменных и обычно экспрессируются в адаксиальной части цветка (Preston, Hileman, 2009). Геномы Бобовых содержат по несколько ортологов гена *CYC*, представляющих результат как минимум одной древней дупликации (Citerne et al., 2003). Роль этих генов в морфогенезе цветка детально изучена у *Pisum* и *Lotus* (Wang et al., 2008; Xu et al., 2013; He et al., 2020). У гороха известны рецессивные мутации, влияющие на симметрию венчика. У мутантов *keeled wings* (ген *K* соответствует *PsCYC3*) лепестки-весла дифференцируются как элементы лодочки. Флаг мутантов *lobed standard 1* (ген *LST1* соответствует *PsCYC2*) развивается с симметричными вырезками на краях. У мутантов *symmetric petals 1* (ген *SYP1* кодирует транскрипционный фактор, не сходный с продуктом *CYC*) все лепестки становятся симметричными относительно срединной жилки. Таким образом, и у Бобовых *CYC*-подобные гены участвуют в определении симметрии цветка. Их роль в эволюции была продемонстрирована на примере *Cadia* (Papilionoideae). Таксономическое положение этого рода давно вызывало затруднения: черты, традиционно интерпретируемые как продвинутое, сочетаются у него с актиноморфным цветком, но по молекулярным данным *Cadia* входит в достаточно продвинутую кладу core genistoids (Cardoso et al., 2012b). Ближайшим родственником *Cadia* оказался род *Calpurnia* с типично мотыльковым венчиком. Было установлено, что радиальная симметрия венчика у *Cadia* связана с эктопической экспрессией одного из ортологов *CYC* в примordiaх всех лепестков, а не только адаксиального лепестка (Citerne et al., 2006). Иными словами, недавняя гомеозисная мутация приводит к тому, что все лепестки дифференцируются как флаги и цветок становится актиноморфным. Аномальные формы с дорсализацией всех лепестков известны и у других видов Бобовых (Sinjushin et al., 2015).

Совершенно иной случай описан у *Etaballia* – монотипного рода (или вида в составе *Pterocarpus*) (Klitgård et al., 2013) с актиноморфным цветком в филогенетическом окружении таксонов с мотыльковым венчиком. Узкие, симметричные, не разделенные на ноготок и отгиб лепестки *Etaballia* не сходны с ноготковыми лепестками прочих *Pterocarpus* и, следовательно, не могут быть результатом гомеозиса. Эпидерма лепестков *Etaballia* состоит из мелких клеток, расположенных длинными проксимо-дистальными цепочками (Sinjushin, 2019). Вероятнее всего, у этого растения возникла мутация, препятствующая делению клеток лепестков в латеральном направлении и приводя-

щая к развитию узких одинаковых лепестков во всех положениях. Сходные мутации описаны, например, у *Rhododendron*, Ericaceae (Tasaki et al., 2012). Гомеозис, впрочем, может быть причиной актиноморфии у других родов *Pterocarpus* clade (Sinjushin, 2019).

Приведенные примеры и анализ филогении Бобовых (LPWG, 2017) убеждают в том, что зигоморфная симметрия цветка является симплезиоморфией семейства. Вероятнее всего, она установилась единожды, но возможны различные пути ее нарушения, которые в разных подсемействах реализовывались неоднократно, порождая таксономические курьезы. В перспективе, по мере изучения морфогенеза цветка и его регуляции, будут открыты новые механизмы перехода от зигоморфной к актиноморфной симметрии. Можно предположить множество подобных механизмов. Например, у *Vicia sativa* было установлено существование 462 генов, специфически экспрессирующихся в адаксиальном лепестке и предположительно находящихся под контролем двух ортологов *CYC* (Liu et al., 2013).

Типично мотыльковый венчик многих Papilionoideae состоит из трех типов лепестков. Общей для порядка Fabales особенностью являются свободные лепестки (Bello et al., 2012), но у многих Papilionoideae абаксиальные лепестки постгениально срastaются в лодочку и тем или иным образом соединены с латеральными. В ряде случаев латеральные и абаксиальные лепестки имеют практически одинаковое строение (неясно мотыльковый венчик). Велик соблазн считать, что у Papilionoideae эволюция венчика шла по пути усложнения от неясно мотылькового к истинно мотыльковому. Однако описанный выше пример мутантов *keeled wings* гороха показывает, что уподобление латеральных лепестков абаксиальным может происходить очень легко. У представителей трибы Amorphae постулировано вторичное упрощение венчика, завершающееся полной редукцией латеральных и абаксиальных лепестков у некоторых родов (McMahon, Hufford, 2005). У некоторых видов *Lotus* программа дифференцировки латеральных лепестков распространяется на адаксиальные и абаксиальные лепестки, что приводит к развитию венчика, приспособленного к орнитофилии (Ojeda et al., 2017). Флаг-капюшон, характерный для многих садовых форм *Lathyrus odoratus* (Papilionoideae), является результатом переноса программы развития латеральных лепестков на флаг, вызванного мутацией в *CYC*-подобном гене (Woollacott, Cronk, 2018).

Эти и другие примеры убеждают в том, что симметрия венчика и дифференцировка различных типов лепестков весьма пластичны. Даже в пределах одного подсемейства переходы от венчика с двумя видами лепестков к венчику с тремя

видами лепестков или полностью актиноморфному происходили неоднократно (Ojeda et al., 2019). Система семейства (LPWG, 2017) указывает, скорее, на то, что исходным состоянием является зигоморфия, утраченная вторично у некоторых родов в каждом подсемействе. Для большинства *Caesalpinioideae* в их современном объеме свойственны актиноморфные цветки. Мотыльковый или сходный с ним венчик нехарактерен только для *Detarioideae* и *Duparquetioideae* (LPWG, 2017). Уже в работе (Tucker, 2002b) указано, что у *Cercis* (*Cercidoideae*) и *Papilionoideae* сходная морфология венчика есть результат конвергенции.

Различные части венчика могут редуцироваться. Во многих случаях сохраняется только адаксиальный лепесток: *Amburana*, *Vococa*, *Swartzia* р.р. (базальные *Papilionoideae*), *Amorpha* (продвинутые *Papilionoideae*), *Aphanocalyx*, *Monopetalanthus* (*Detarioideae*). Изредка два абаксиальных лепестка сильно недоразвиты по сравнению с остальными: *Hymenaea*, *Neochevalierodendron* (*Detarioideae*). Значительно уменьшены латеральные лепестки у *Onobrychis* р.р. (*Papilionoideae*). Встречаются безлепестные цветки: *Swartzia* р.р., *Cordyla* (базальные *Papilionoideae*), *Ceratonia* (*Caesalpinioideae*), *Colophospermum*, *Crudia*, *Saraca* (*Detarioideae*), *Dialium* (*Dialioideae*).

Обращение к онтогенетическим данным показывает, что сходное конечное состояние, например отсутствие лепестков, обусловлено неодинаковой степенью редукции. Если у *Cordyla*, безлепестных *Swartzia* и *Dialium* нет никаких признаков заложения недостающих лепестков (Tucker, 2003a; Zimmerman et al., 2013; Sinjushin, 2018), то у *Crudia* и *Amburana* примордии четырех или пяти лепестков формируются, но не развиваются (Tucker, 2001; Leite et al., 2015). Иногда сохраняются (*Copaifera*, *Detarioideae*) или изредка развиваются (*Ceratonia*) рудименты лепестков (Tucker, 1992; Pedersoli et al., 2010).

Традиционно для описания разных степеней редукции используют понятия аборта и абласта (Чуб, 2010; Schmitz, 1872). В первом случае развитие начинается, но орган не достигает типичных размеров и строения; под типичными мы понимаем сопоставимые с другими органами того же типа (например прочими лепестками) или с такими же органами у родственных таксонов. Абласт предполагает, что нет никаких признаков заложения и развития, но в сходном положении у родственных таксонов орган есть. Гипотеза о наличии абластированного органа может потребоваться, чтобы объяснить особенности строения всей системы — например противоположение органов цветка в случае, когда в цветках родственных таксонов обычно чередование. Абортированный орган может достигать значительных размеров. В случае тычинок, например, к аборту мы отно-

сим формирование стаминодиев. Таким образом, в венчике также возможны явления аборта и абласта, которые зачастую приводят к сходному строению сформированного цветка, но, вероятно, достигаются за счет разных механизмов.

АНДРОЦЕЙ

Андроцей представляет собой наиболее изменчивую часть цветка Бобовых как в эволюционном, так и в онтогенетическом смысле (Prenner, 2013; Sinjushin, Karasyova, 2017). Симплезиоморфией Бобовых являются десять тычинок в двух кругах (Bello et al., 2012), но зачастую этот план претерпевает изменения.

Нередки случаи редукции части тычинок. Хотя степень этой редукции неодинакова в разных группах Бобовых, можно выделить два основных паттерна, связанных с положениями редуцированных органов (рис. 1).

1. Редукция тычинок одного или обоих кругов в адаксиальной части цветка. У *Abrus* (*Papilionoideae*) отсутствуют какие-либо признаки закладки тычинки внутреннего круга, противоположной адаксиальному лепестку, — вексиллярная тычинка (Prenner, 2013). У *Castanospermum* (базальные *Papilionoideae*), *Amherstia*, *Brownea* (*Detarioideae*) эта же тычинка остается недоразвитой. У *Arachis* (*Papilionoideae*) вексиллярная тычинка и смежные с ней одна—две тычинки наружного круга стерильны, превращены в стаминодии. Вероятно, к этой категории можно отнести превращение тех же трех адаксиальных тычинок в лепестковидные стаминодии у большинства видов *Senna* (*Caesalpinioideae*). Эти стаминодии (Marazzi et al., 2007) считают синапоморфией *Senna*, причем в одной из клад рода предполагается вторичная фертилизация адаксиальных тычинок. Изучение транскриптома различных по положению тычинок у *S. bicapsularis* показывает, что в тычинках каждого морфологического типа, включая стаминодии, активны несколько сот уникальных генов (Luo et al., 2016). Формирование стаминодиев преимущественно связывают с пониженным уровнем экспрессии генов, предположительно кодирующих белки с мотивом bHLH, и особенностями гормональной регуляции (Luo et al., 2016).

Чрезвычайно разнообразны редукционные явления в андроцее *Bauhinia* s.l., *Cercidoideae* (Taubert, 1894); у *B. petiolata* вексиллярная тычинка недоразвита. Преобразования абаксиальных тычинок встречаются реже — например, абласт медианной абаксиальной тычинки у *Duparquetia*, *Duparquetioideae* (Prenner, Klitgaard, 2008) или превращение в стаминодии абаксиальных тычинок обоих кругов у *Neptunia*, мimosoid *Caesalpinioideae* (Tucker, 1988). У некоторых *Senna* превращены в стамино-

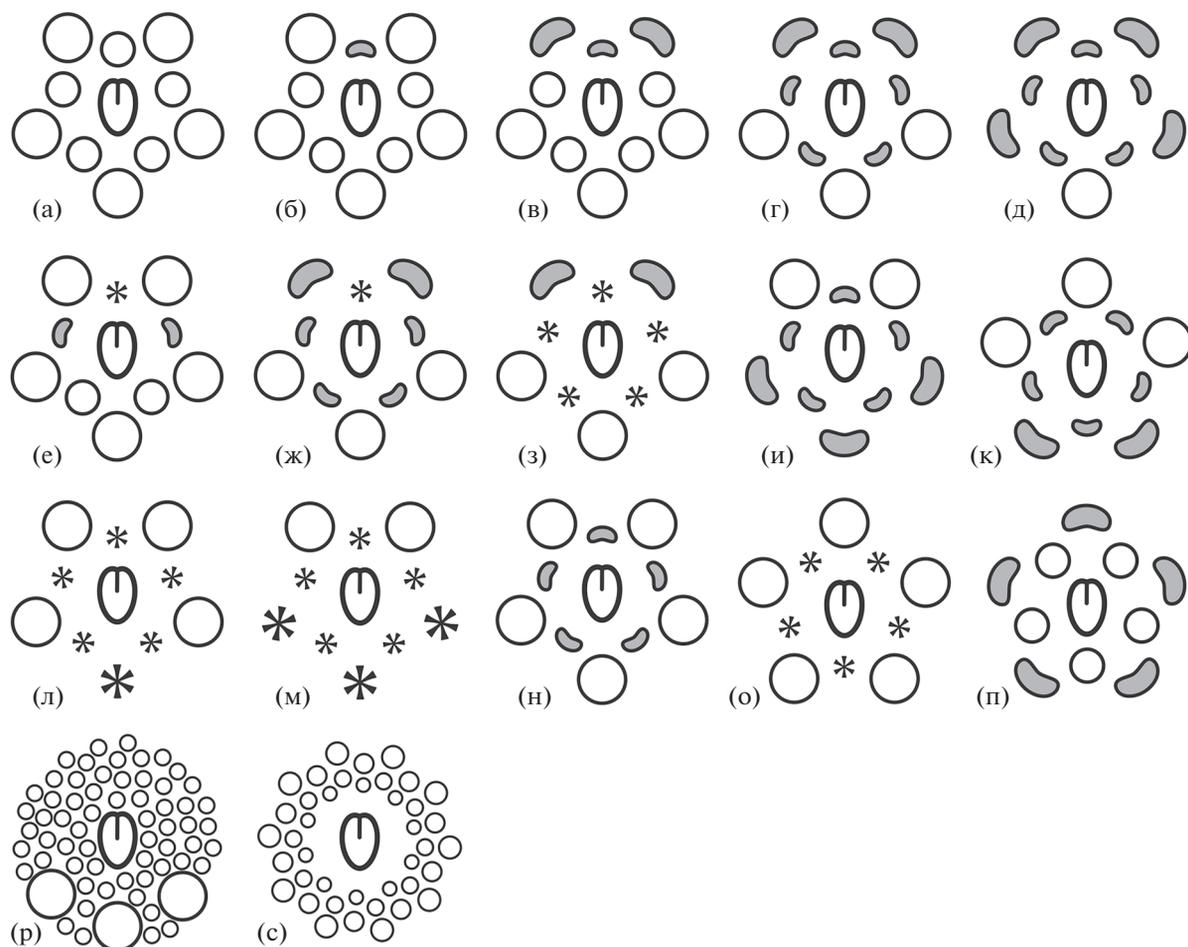


Рис. 1. Примеры преобразований андроцея в семействе Бобовых. Околоцветник и срастание тычинок не отображены. (а) – исходный план строения андроцея в семействе; (б) – *Amherstia*, *Bauhinia petiolata*, *Brownea*, *Castanospermum*; (в) – *Arachis*, *Senna* р.р.; (г) – *Gilbertiodendron*, *Phanera*; (д) – *Bauhinia monandra*; (е) – *Azelia*; (ж) – *Tamarindus*; (з) – *Petalostylis*; (и) – *Sindora*; (к) – *Neptunia* (мужской цветок); (л) – *Duparquetia*; (м) – *Dialium* р.р., *Distemonanthus*; (н) – *Astragalus* р.р., *Bauhinia variegata*, *Staminodianthus*; (о) – *Ceratonia*; (п) – *Dimorphandra*; (р) – *Swartzia* р.р.; (с) – *Cordyla*. Окружностями показаны тычинки, серыми фигурами – стаминодии, звездочками – абластированные органы. Фигура большего размера соответствует наружному кругу.

дии по три тычинки с адаксиальной и абаксиальной сторон (Magazzi et al., 2007).

Обращаясь к разнообразию покрытосеменных в целом, можно заметить, что редукция адаксиальной тычинки (или нескольких) достаточно часто сопутствует зигоморфии. Таковы цветки у представителей порядков Lamiales (многие *Ascanthaceae*, *Gesneriaceae*, *Lamiaceae*, *Plantaginaceae*, *Scrophulariaceae* и др.); Sapindales (*Aesculus*, *Sapindaceae*; *Galipea*, *Rutaceae*); Myrtales (*Cuphea*, *Lythraceae*); Zingiberales (*Musaceae*, *Strelitziaceae*, *LoWiaceae* и *Heliconiaceae*).

Редукция адаксиальных тычинок напрямую связана с экспрессией *СУС*-подобных генов. У мутантов *suc dich* львиного зева все тычинки развиваются полноценно (Luo et al., 1999). У *Saintpaulia* (*Gesneriaceae*) известны садовые формы с дорсализацией (все лепестки выглядят

как адаксиальные) и вентрализацией (все лепестки выглядят как абаксиальные) венчика. Оба нарушения связаны с изменением уровня и/или паттерна экспрессии двух ортологов *СУС* (Hsu et al., 2018). В норме три адаксиальные тычинки недоразвиты, превращены в стаминодии. В вентрализованных цветках все тычинки развиваются полностью (медианная адаксиальная несколько меньше прочих), а в дорсализованных – все тычинки заменены на стаминодии. Таким образом, адаксиальная программа развития околоцветника (обычно *СУС*-опосредованная) определяет и степень развития, и иные особые свойства (например срастание) адаксиальных тычинок¹.

¹ Интересно, что у Бобовых адаксиальная тычинка внутреннего круга наиболее часто подвергается редукции, а противолежащий ей адаксиальный лепесток – наиболее редко.

2. Полная или частичная редукция одного круга тычинок. Симплезиоморфией порядка Fabales является андроцей из двух пятичленных кругов. В различных группах описано недоразвитие одного круга или его полное отсутствие. Обычно изменению подвергается внутренний круг — например, преобразуется в стаминодии у настолько далеких родов, как *Astragalus* (*A. epiglottis* и *A. pelecinus*), *Tetrapterocarpon*, *Staminodianthus* (Papilionoideae), *Pentaclethra* (mimosoid Caesalpi-noideae). У цезальпиниевого *Dimorphandra* стаминодии формируются из тычинок наружного круга — это менее типичный случай (De Barros et al., 2017). Внутренний круг тычинок преобразован в стаминодии и у некоторых Surianaceae (*Cadellia*, *Suriana*), также принадлежащих к порядку Fabales.

В разных подсемействах возможен абласт внутреннего круга — если судить по тому, что сохраняются тычинки, противоположные чашелистикам. У некоторых *Bauhinia* (*B. variegata*, Cercidoideae) единственный (наружный) круг тычинок сочетается с двойным околоцветником. Существует предположение (Tucker, 2000), что у *Saraca* (Detarioideae) происходит превращение лепестков в тычинки, а ярко окрашенные чашелистики приобретают свойства лепестков. Тычинки с адаксиальной стороны не развиваются, а у *S. declinata*, в соответствии с этой гипотезой, в принципе нет тычинок в тех же положениях, что и у других Бобовых.

Само по себе лепестковидное строение чашелистиков у Бобовых встречается нечасто, возникает в разных эволюционных линиях и необязательно связано с редукцией других частей. Ярко окрашена внутренняя поверхность чашечки у *Delonix*, Caesalpinioideae, имеющего нормальное число органов цветка. Лепестковидные чашелистики сочетаются с некрупными, слабо развитыми лепестками у *Duparquetia*, Duparquetioideae.

Исчезновение одновременно лепестков и части тычинок встречается в разных семействах покрытосеменных. Среди Бобовых таковы роды *Ceratonia*, *Saraca* и, возможно, некоторые другие, но приведенные выше примеры убеждают, что редукция тычинок может происходить независимо от лепестков. Отсутствуют лепестки и тычинки наружного круга у *Seetzenia*, Zygophyllaceae, хотя и в этом семействе тычинки могут редуцироваться при наличии венчика (*Tribulopsis*, *Kallstroemia*). Хорошо известен пример *Lepidium*, Brassicaceae, демонстрирующий гомопластическое разнообразие редукционных процессов в венчике и/или андроцее (Bowman et al., 1999). Развитие тычинок и лепестков на генетическом уровне контролируется во многом сходно, и в экспериментальных условиях показана возможность одновременного подавления их развития (Yun et al., 2002).

У ряда Бобовых (в первую очередь подсем. Caesalpinioideae и Cercidoideae) сочетаются два вышеречисленных паттерна редукции тычинок — по крайней мере, это объясняет число и расположение тычинок в цветках этих экзотических растений. Лишь три абаксиальных тычинки наружного круга сохраняются у многих видов *Cheniella* (= *Phanera* s.l., Cercidoideae), а остальные семь — преобразованы в стаминодии; пять из них с адаксиальной стороны образуют мясистый ярко окрашенный диск, предположительно привлекающий опылителей (Clark et al., 2017). У *Bauhinia monandra*, Cercidoideae, полноценно развивается лишь медианная абаксиальная тычинка наружного круга, остальные образуют стаминодии; вообще *Bauhinia* s.l. демонстрируют практически все возможные варианты редукции андроцея.

В необычных цветках подсемейства Dialioideae абласт внутреннего круга андроцея (присущ не всем родам) сочетается с недоразвитием (абортом) членов внешнего круга — как правило, с адаксиальной (*Petalostylis*), реже с абаксиальной (*Dialium*) стороны. Сходным образом абластированы все тычинки внутреннего круга и медианная абаксиальная тычинка наружного круга у *Duparquetia*, Duparquetioideae (Prenner, Klitgaard, 2008). Лишь две адаксиальные тычинки полноценно развиты у *Sindora*, Detarioideae.

Полный абласт тычинок среди Бобовых, по-видимому, не встречается. В функционально женских цветках Бобовых (например *Ceratonia*) тычинки всегда закладываются, но их развитие останавливается. Полностью превращены в лепестковидные стаминодии тычинки в стерильных цветках *Neptunia* (Tucker, 1988).

Таким образом, более обычно недоразвитие или недоразвитие тычинок в адаксиальной части цветка, которое мы связываем с активностью СУС-подобных генов. Исключения, когда преобразуются абаксиальные тычинки, редки. В целом такая изменчивость объяснима терминологической неоднозначностью — тем, насколько широко можно трактовать понятия недоразвития или преобразования и, следовательно, тем, насколько разнообразными могут быть причины таких явлений. Редукционные явления в андроцее Бобовых также демонстрируют высокий уровень гомоплазии.

У части Бобовых отмечена полиандрия. В этом отношении наиболее известны некоторые роды Caesalpinioideae — бывшего подсемейства Mimosoideae (*Acacia*, *Inga*), Detarioideae (*Colophospermum*, *Maniltoa*, *Polystemonanthus*) и Papilionoideae (*Swartzia*, *Bocoa*, *Cordyla*). Не для всех этих растений изучен ход морфогенеза, но уже имеющиеся данные позволяют сделать вывод о разнообразных механизмах формирования полимерного андроцея. У *Acacia* имеет место так называемая ком-

плексная акропетальная полиандрия (Ремизова, 2019). Весь андроцей формируется из кольцевой меристемы, и первые примордии отдельных тычинок противостоят чашелистикам (Gómez-Acevedo et al., 2007; Prenner, 2011). По мере акропетального формирования примордиев отдельных тычинок упорядоченность в их расположении утрачивается. Вероятно, правильное чередование венчика и первых тычинок связано с формой кольцевой меристемы, которой давление со стороны примордиев лепестков физически придает форму четырех-пятиугольника.

Кольцевая меристема андроцея описана и у *Swartzia* (Tucker, 2003a). В зигоморфных цветках этого рода, однако, тычинки обычно диморфные; редко мономорфные (*S. auriculata*) или триморфные (*S. trimorphica*). В абаксиальной части кольцевой меристемы практически сразу после ее формирования обособляются примордии нескольких крупных тычинок. Оставшаяся кольцевая меристема дает начало примордиям мелких тычинок, причем этот процесс начинается с абаксиальной части и происходит базипетально (Tucker, 2003a).

У *Cordyla*, ранее сближаемой с *Swartzia* (Cardoso et al., 2015), характер развития полимерного андроцея иной. Примордии тычинок закладываются в акропетальном порядке, то есть морфологически сверху вниз, на развивающемся гипантии (отсутствует у *Swartzia*), имеют разный размер и по крайней мере на ранних стадиях выглядят правильно чередующимися (Sinjushin, 2018). Если у *Swartzia* все мелкие тычинки одинаковы уже на стадии примордиев, у *Cordyla* внутренние тычинки часто оказываются без пыльников. Именно из-за этого было предложено выделить мадагаскарские виды *Cordyla* в отдельный род *Dupuuya* (Kirkbride, 2005), хотя наличие стаминодиев и не уникально для форм с Мадагаскара.

Развитие полимерного андроцея описано и у *Colophospermum* из подсемейства Detarioideae (Krüger et al., 1999). Тычинки, вероятно, закладываются на кольцевой меристеме в акропетальной последовательности. Все примордии одинакового размера и не имеют явно упорядоченного расположения.

Наблюдения убеждают в том, что полиандрия возникла в разных группах Бобовых независимо и разными путями. Ни у одного изученного представителя Бобовых полимерный андроцей не формируется из нескольких первичных общих примордиев, которые правильно чередовались бы с элементами околоцветника, как это происходит у многих других семейств (Ronse Decraene, Smets, 1993).

В различных подсемействах Бобовых отмечается срастание тычинок. Обзор доступной литературы показывает, что во многих случаях под срастанием понимают разные явления и описы-

вают в разных терминах. Зачастую наличие и тип срастания тычинок оказываются предметом дискуссии (Соколов, 1995). Особенности срастания андроцея весьма пластичны даже в пределах достаточно небольших групп. Для представителей высокоспециализированной клады Papilionoideae, лишенной обращенного повтора хлоропластной ДНК (inverted repeat-lacking clade), в целом характерен двубратственный андроцей со свободной вексиллярной тычинкой. Однако полностью срастаются тычинки у *Ononis*, триба Trifolieae, нескольких видов *Astragalus* из разных секций (*A. donianus*, *A. himalayanus*, *A. oxyodon*), *Galega*, триба Galegeae s.l. Кроме того, в нескольких родах клады формируется так называемый ложнооднобратственный андроцей, в котором вексиллярная тычинка постгенитально прирастает или плотно прилегает к остальным (Tucker, 1989a). Обычно в основании этой тычинки остаются отверстия, через которые есть доступ к нектарникам. Подобный андроцей описан в разных группах и, вероятно, возник независимо из двубратственного.

На регуляторном уровне особые свойства вексиллярной тычинки связаны с экспрессией *CYC*-подобных генов в адаксиальной области цветка. Такая экспрессия отмечена в примордиях адаксиального лепестка и вексиллярной тычинки у *Lotus* (Feng et al., 2006). Если в результате мутации или эктопической экспрессии *CYC*-подобных генов (Feng et al., 2006) все лепестки приобретают свойства флага, срастания тычинок не происходит – как, например, у *Cadia* или садовой формы *Clitoria* (Sinjushin et al., 2015). Отмечено, что мотыльковый венчик может сочетаться с любыми формами срастания тычинок, но актиноморфный околоцветник – по крайней мере, у Papilionoideae – крайне редко ассоциирован со сросшимися тем или иным образом тычинками (Sinjushin et al., 2015). Исключение, возможно, единственное, составляет *Etaballia*, триба Dalbergieae, с актиноморфным венчиком и сросшимися в замкнутую трубку тычинками; о возможной природе актиноморфии у этого необычного рода см. выше. За пределами Papilionoideae такое сочетание встречается, хотя и редко: *Brownea* и другие роды из *Brownea* clade (Detarioideae), *Inga* (mimosoid Caesalpinoideae).

Особенности срастания тычинок связаны со стратегией опыления и, в частности, с наличием и структурой флоральных нектарников. Наиболее детально в этом отношении описаны представители Papilionoideae. Обычно нектарники есть в цветках с несросшимися тычинками, двубратственным или ложнооднобратственным (при наличии отверстий в основании вексиллярной тычинки) андроцеом. Напротив, цветки с однобратственным андроцеом обычно привлекают опылителей пыльцой и редко (например *Galega orientalis*) секретируют нектар (Bernardello, 2007).

В обоих случаях описаны исключения. При сходстве общего плана строения нектарники в семействе достаточно разнообразны. Их структура и расположение иногда отражают симметрию цветка — например, они могут быть локализованы только в абаксиальной части цветоложа (*Pisum*, *Vicia*).

Если основным аттрактантом является пыльца, возможна специализация тычинок: часть производит пыльцу для привлечения опылителей, другая — непосредственно для опыления. Различия касаются не только размеров тычинок, но и ультраструктуры и физиологических особенностей производимых пыльцевых зерен (Paulino et al., 2016). У *Lupinus*, Papilionoideae, преимущественно функцию привлечения выполняют тычинки внутреннего круга, у *Cytisus*, Papilionoideae, — адаксиальные тычинки обоих кругов. С особым типом опыления (buzz-pollination) связывают дифференцировку тычинок у *Senna* (Marazzi et al., 2007).

Тычинки могут срастаться с элементами венчика; это происходит в разных трибах и, вероятно, за счет разных механизмов. Хорошо известны примеры *Gymnocladus* (Caesalpinioideae), *Trifolium*, *Psoralea*, *Inocarpus* (Papilionoideae). Детально изучен онтогенез цветков с подобным срастанием в трибе Amorphae (McMahon, Hufford, 2002). Зональный рост оснований тычинок приводит к формированию так называемой стемозоны, объединяющей нижние части тычинок и лепестков (вероятно, происходит конгенитальное срастание). В цветках *Dalea* эта стемозона в сочетании с областом тычинок внутреннего круга производит впечатление тычиночной трубки, в которой пять тычинок срастаются и чередуются с лепестками. Эта картина настолько поразила некоторых морфологов, что возникла дискуссия о гомологиях между различными частями цветка *Dalea* и других Papilionoideae, породившая в итоге гипотезу о том, что зигоморфные цветки некоторых Amorphae возникли в эволюции независимо от прочих представителей подсемейства (McMahon, Hufford, 2002). Онтогенетические исследования лишили эту проблему прежней остроты.

ГИНЕЦЕЙ

Одночленный гинецей считается синапоморфией Leguminosae в рамках порядка Fabales (Bello et al., 2012). У Polygalaceae (*Monnina*, *Pteromonnia*) возможен псевдомномерный гинецей, а у Surianaceae (*Guilfoylia*, *Stylobasium*), вероятно, истинно одночленный, хотя его можно считать (Enderess, 2012) также результатом редукции.

В нескольких эволюционных линиях Бобовых описан полимерный гинецей. Случаи срастания двух и более цветков, приводящего к образова-

нию цветка с несколькими плодолистиками, не несут таксономической информации и, вероятно, возможны во всех группах. В норме несколько плодолистиков образуются в большинстве цветков *Inga* p.p., *Archidendron*, *Acacia celsa* (mimosoid Caesalpinioideae), *Swartzia* p.p., *Aldina diplogyne* (базальные Papilionoideae), *Thermopsis turcica* (продвинутые Papilionoideae). Периодически образуются цветки с полимерным гинецеом у *Ceratonotia* (Caesalpinioideae), *Cordyla pinnata* (базальные Papilionoideae) и некоторых других Бобовых.

Филогенетическая интерпретация подобного явления длительное время была предметом дискуссии. Так, Г.П. Яковлев считал, что полимерные гинецеи Бобовых представляют собой “морфологические реликты, сохранившиеся в силу гетеробатмии у групп разного систематического положения и различной эволюционной продвинутости” (Яковлев, 1991, с. 35). Более поздние работы сходятся во мнении о плезиоморфном характере мономерного гинецея в семействе и независимом возникновении полимерного в нескольких эволюционных линиях. Насчитывают (Paulino et al., 2014) семь подобных событий полимеризации. Изучение мутантов модельных Бобовых показывает, что лишние плодолистки могут возникать в результате гомеозисного превращения части тычинок, срастания нескольких флоральных меристем или увеличения размеров (фасциации) единственной флоральной меристемы (Sinjushin, 2014; Sinjushin et al., 2019). Именно последний вариант, судя по всему, чаще всего приводит к полимеризации гинецея у Бобовых. Обращает на себя внимание тот факт, что в большинстве случаев несколько плодолистиков развиваются в актиноморфном цветке с полимерным андроцеом и непостоянной мерностью.

У *Thermopsis turcica* тримерный гинецей сочетается с типично мотыльковым венчиком. Показано, что в таких необычных цветках плодолистки закладываются не одновременно. Происходит не столько увеличение размеров флоральной меристемы (которое привело бы к дестабилизации цветка), сколько ее более длительная пролиферация, допускающая заложение большего числа органов “по вертикали” (Sinjushin et al., 2018). Сочетание зигоморфии с полимерным гинецеом характерно также для некоторых *Swartzia*. В цветках *S. dipetala* обычно развиваются два плодолистика, обращенных швами к адаксиальной части цветка, в которой присутствуют два адаксиальных лепестка. Подобная морфология может быть результатом фасциации — срастания или неполного разделения двух флоральных меристем на ранних стадиях. Более вероятно формирование единой плоской меристемы (Paulino et al., 2013), размеры которой делают возможным заложение парных, а не одиночных органов в каждом узле цветка.

Справедливо мнение, что полимерный гинецей плохо сочетается с типично мотыльковым венчиком (flag blossom) именно из-за того, что нестабильность в числе и расположении органов препятствует скоординированному взаимодействию частей такого цветка (Paulino et al., 2014) — в первую очередь это касается лепестков. Именно поэтому полимерный гинецей у Бобовых зачастую является частью синдрома нестабильности, иными словами — сравнительно безвредным следствием, а не адаптивным преимуществом. Обладающий тримерным гинецеем *T. turcica* образует не больше семян, чем другие виды того же рода с единственным плодолистиком (Sinjushin et al., 2018). Лишь небольшая часть (около 10%) цветков образуют димерный плод у *S. dipetala* (Paulino et al., 2013). Димерные плоды никогда не были описаны у *Cordyla*, хотя димерный гинецей встречается регулярно (Sinjushin, 2018).

Наиболее вероятно, что все случаи полимеризации гинецея у Leguminosae представляют собой результат недавних — в эволюционных масштабах — мутаций, дестабилизирующих размер меристемы цветка и/или продлевающих время ее пролиферации. У *Arabidopsis* описано множество подобных мутаций (Чуб, Синюшин, 2012). Характерно, что нет, пожалуй, ни одного (не монотипного) рода Бобовых, в котором все представители имели бы полимерный гинецей.

Дискуссия о том, терминальное или латеральное положение занимает единственный плодолистик у Бобовых, имеет давнюю историю (Derstine, Tucker, 1991). Преобладает точка зрения, что плодолистик является истинно терминальным производным флоральной меристемы. Возникновение полимерного гинецея интерпретируют как переход от закрытой к открытой системе, то есть очень существенное преобразование меристемы цветка (Paulino et al., 2014).

По нашему мнению, плодолистик представляет собой латеральное производное. В терминальном положении не может находиться структура, имеющая абаксиальную и адаксиальную поверхности, но существуют Бобовые с истинно терминальными обоеполюми цветками в рацемозных (*Gleditsia*, *Gymnocladus*) и, вероятно, цимозных (*Apuleia*, *Dialioideae*²) соцветиях. Изменения мерности гинецея хорошо объяснимы с точки зрения органотаксиса цветка, то есть антотаксиса (Sinjushin, 2015). Существуют два отчасти независимых параметра — размеры флоральной меристемы и время ее пролиферации. Увеличение меристемы

позволяет заложить дополнительные плодолистики в том же узле, что и первый (вероятно, случай *Swartzia*), или сформировать целый круг (*Inga*). Более длительная пролиферация приводит к заложению новых плодолистиков в разных узлах по спирали (*Thermopsis turcica*). Сочетание обоих преобразований делает возможным, например, появление более чем одного круга плодолистиков (*Inga*, *Acacia celastrifolia*). У фасциированных мутантов Бобовых (см. выше) и *Arabidopsis* (Clark et al., 1995) можно наблюдать все перечисленные варианты. Следовательно, переходы между мономерным и полимерным гинецеем представляют собой количественные изменения и с регуляторной точки зрения должны происходить достаточно легко, как и любые события, касающиеся мерности.

Единственный (или первый в полимерном гинецее с неодновременным заложением элементов) плодолистик в подавляющем большинстве случаев обращен швом к адаксиальной стороне. Все известные исключения относятся к актиноморфным цветкам (*Ceratonia*, *Gleditsia*, *Acacia*). Вероятно, абаксиально-адаксиальная поляриность меристемы цветка определяет ориентацию плодолистика — и даже добавочных плодолистиков, которые в цветках *Thermopsis turcica* отчасти повернуты швами к флагу (Sinjushin et al., 2018). Однако плодолистик в большинстве актиноморфных цветков *Gleditsia* ориентирован правильно (Tucker, 1991). Вопрос о механизмах, определяющих ориентацию плодолистика в мономерном гинецее, интересен в масштабах всего отдела покрытосеменных и, по-видимому, не имеет единого решения. По крайней мере, в актиноморфных “хаотических” цветках *Achlys*, *Berberidaceae*, плодолистик ориентирован единообразно (Endress, 1989), а в зигоморфных цветках *Consolida*, *Ranunculaceae*, — нестабильно (собственные данные). У *Posidonia*, *Posidoniaceae*, единственный плодолистик стабильно ориентирован швом в абаксиальную сторону (Remizowa et al., 2012).

ПРОЧИЕ ОСОБЕННОСТИ ЦВЕТКОВ БОБОВЫХ

Для описания разнообразия цветков с круговым расположением органов было предложено пользоваться двумя параметрами: мерностью — числом органов в круге — и полнотой — числом кругов (Чуб, 2010). Эта концепция применима к цветкам Бобовых с некоторыми ограничениями, в первую очередь связанными с зигоморфией.

Хотя исходным для Бобовых представляется пятичленный цветок, в некоторых группах мерность меняется. Такие изменения характерны для групп с актиноморфными цветками независимо от их таксономического положения. Трехчленные цветки описаны у некоторых mimosoid Сae-

² Соцветия *Apuleia* интерпретируют как цимозные (Falcão et al., 2020), но верхушечные цветки в них имеют отчетливо зигоморфное расположение тычинок, что вызывает некоторые сомнения в трактовке их положения. Терминальные цветки у *Ceratonia*, вероятно, возникают в результате слияния нескольких меристем самых верхних боковых цветков (Tucker, 1992).

salpinioideae (*Mimosa ceratonia* и другие виды *Mimosa*, *Sanjappa*) и Dialioideae (*Apuleia*). Четырехчленные цветки обычны у *M. pudica* (mimosoid Caesalpinioideae) и у *Tetrapterocarpum* (Caesalpinioideae). Мерность цветка имеет определенное таксономическое значение для мимоз (Simon et al., 2011). Цветки некоторых *Mimosa* можно назвать минимальными для семейства: низкая мерность сочетается с редукцией одного круга тычинок. Возможна и необычно высокая мерность. Так, венчик у *Aldina diplogyne* (базальные Papilionoideae) и оба круга околоцветника у *Englerodendron usambarense* (Detarioideae) – шестичленные.

Актиноморфные цветки у Бобовых демонстрируют не только более широкий диапазон мерности, чем зигоморфные, но и отличаются меньшей стабильностью. Вариабельна мерность цветка у *Inga*, mimosoid Caesalpinioideae (Paulino et al., 2017), *Gleditsia* (Tucker, 1991), *Ceratonia* (Tucker, 1992). Проведенное сравнение стабильности цветка у Бобовых с разным строением показало, что актиноморфные цветки имеют большую изменчивость, чем зигоморфные (Sinjushin, Karasyova, 2017). Внутривидовые и внутриорганизменные колебания в числе органов цветка отражают не генотипические различия между разными цветками в одном соцветии, а общую стабильность морфогенеза.

Наименее склонны к спонтанным колебаниям числа органы адаксиальной части цветка (Sinjushin, Karasyova, 2017; Sinjushin et al., 2019). Это хорошо объясняется тем, что определяющие симметрию *СУС*-подобные гены активируют переход к дифференцировке, тем самым угнетая клеточные деления. Эти гены подавляют экспрессию ряда факторов, ответственных за осуществление клеточного цикла, например циклинов (Martín-Trillo, Cubas, 2010). Характерно, что у мутантов по *СУС*-подобным генам увеличивается мерность цветка (Luo et al., 1999; Hsu et al., 2015). В цветке *СУС*-подобных мутантов гороха также отмечено развитие избыточных органов (Wang et al., 2008).

При изучении *Arabidopsis* была описана сложная система негативной регуляции размеров апикальной и флоральной меристем (Чуб, Синюшин, 2012). Целый ряд генов, среди которых наиболее известны группы *CLAVATA* и *FASCIATA*, ингибируют пролиферацию клеток меристемы. У мутантов по этим и некоторым другим генам эта негативная регуляция утрачивается, что приводит к фасциации – аномальному увеличению меристемы. В цветке это приводит к закладке дополнительных органов и неизбежной дестабилизации. Однако у большинства известных Бобовых регуляция размеров апикальной и флоральной меристем осуществляется отчасти независимо: цветки фасциированных мутантов Бобовых обычно имеют нормальную структуру (Sinjushin,

2016). Одно из исключений – *Lupinus angustifolius*. В цветках фасциированных мутантов люпина увеличивается число органов во всех кругах, но адаксиальная часть венчика – предполагаемая область экспрессии *СУС*-подобных генов – оказывается стабильнее прочих (Sinjushin et al., 2019). Таким образом, у Бобовых (как, вероятно, у многих таксонов с зигоморфным цветком) есть две независимые системы негативной регуляции размеров флоральной меристемы, и зигоморфия предполагает более устойчивое к флуктуациям развитие цветка.

Многие онтогенетические события в цветке Бобовых можно объяснить в свете представлений о бластонозах. Первоначально этот термин был введен для обозначения областей побегов, компетентных к органогенезу (Hagemann, Gleissberg, 1996). Одно из дополнительных значений – область меристемы, которая при разметке возникает как единое целое, а затем способна к вторичному органогенезу (Чуб, Синюшин, 2012). В этом смысле общие примордии лепестков и тычинок у *Pisum* (см. ниже) можно интерпретировать как бластозоны (Tucker, 1989b).

При увеличении размеров флоральной меристемы зигоморфных цветков Бобовых зачастую происходит именно расширение бластозоны, позволяющее заложить больше органов в ее пределах. Следствием становится нарушение регулярного чередования органов в кругах. Так, при фасциации цветка у *Lupinus* вместо одиночных тычинок могут развиваться пары, и именно пары тычинок одного круга чередуются с одиночными или парными тычинками другого (Sinjushin et al., 2019). Сходная, хотя и совершенно не типичная для Бобовых картина наблюдается в очень нестабильных по числу органов цветках *Mendoravia*, Dialioideae (Zimmerman et al., 2013). Вероятно, производными единой бластозоны являются два адаксиальных лепестка и единой же – два плодolistика у *Swartzia dipetala*.

Представления об изменениях полноты цветка сформированы преимущественно на материале актиноморфных цветков (Чуб, 2010) и в принципе могут быть аппроксимированы на такие цветки Бобовых. Наиболее выраженное обеднение цветка достигается при редукции лепестков и одного круга тычинок (*Ceratonia*). Речь идет именно об абласте недостающих органов, а не о делеции кругов (Чуб, 2010). В противном случае тычинки единственного круга в цветке *Ceratonia* правильно чередовались бы с чашелистиками, чего не наблюдается в реальности. При стохастических колебаниях в структуре актиноморфных цветков Бобовых мерность у противолежащих кругов (например чашечки и наружных тычинок) часто коррелирует сильнее, чем у чередующихся (Sinjushin, Karasyova, 2017). У некоторых специализи-

рованных Papilionoideae (например *Astragalus*) лепесток и противоположная ему тычинка образуются из единого примордия (Movafeghi et al., 2011).

Большое значение придают последовательности заложения органов у Бобовых. В целом для цветков Бобовых характерно акропетальное развитие. Как правило, органы в абаксиальной части цветка появляются первыми и развиваются с некоторым опережением; случаи обратного порядка редки (Tucker, 2003b). Чашелистики и режелепестки могут закладываться в спиральном порядке, что считается примитивной особенностью (Tucker, 1984). Круговое заложение органов (с поправкой на более интенсивные темпы развития в абаксиальной части) интерпретируют как более продвинутую черту. Отмечают общую тенденцию к ускорению развития, когда органы разных кругов закладываются одновременно — например, плодolistик появляется одновременно с тычинками наружного круга или даже лепестками (Tucker, 1984; Prenner, Klitgaard, 2008). Некоторого логического завершения это направление достигает у *Pisum* (и некоторых других членов клады IRLC) в виде так называемых общих примордиев (Tucker, 1989b). После заложения чашелистиков одновременно с плодolistиком образуются четыре примордия, которые затем дают начало венчику и тычинкам.

Хотя в последовательности заложения органов цветка у Бобовых можно выделить архаичные и продвинутые паттерны, отбору в первую очередь подвергается дефинитивное состояние цветка. На этом уровне можно констатировать эквивиальность: одинаковый план строения достигается независимо от последовательности, в которой на флоральной меристеме появляются примордии. Современные представления об эволюции порядка заложения органов цветка также сходятся в том, что переход между различными паттернами происходил легко и в итоге породил высокий уровень гомоплазии (Ремизова, 2019). Имеются наблюдения высокой вариабельности порядка заложения в пределах одного организма. Это касается не только таксонов с хаотичным морфогенезом цветка, например *Gleditsia* и *Ceratonia* (Tucker, 1991, 1992), но и вполне традиционных цветков *Astragalus* (Naghiloo et al., 2012). Изменчивость в порядке заложения чашелистиков у *A. compactus* связывают с механическим давлением, которое оказывает кроющий лист соцветия. Таким образом, пространственно-временной паттерн заложения примордиев не является определяющим для структуры и функции зрелого цветка.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение развития цветков в семействе Бобовых представляет собой, пожалуй, один из самых впечатляющих успехов evo-devo в биологии рас-

тений. Прогресс в систематике семейства сочетается с детальным изучением морфологии и морфогенеза в ключевых группах, с одной стороны, и с генетикой развития модельных объектов — с другой. Такой подход позволяет однозначно установить, какие состояния признаков были исходными, а какие — производными. Во многих случаях можно уверенно постулировать молекулярный механизм того или иного преобразования.

По сути, на примере Бобовых можно видеть своего рода инверсию методологии эволюционной биологии. Веками морфология лежала в основе систематики, однако хорошо известной проблемой оставалась невозможность ранжировать морфологические признаки по их значимости. Помехой оставалась гомоплазия — лишь в последние десятилетия стал понятным ее истинный, весьма высокий уровень. Филогенетика и филогеномика позволяют однозначно реконструировать ход эволюции таксона и дифференцировать морфологические признаки на архаичные и производные. Яркий пример такой инверсии — тот путь, по которому идет изучение подсемейства Dialioideae. Значительный, достигнутый современными методами анализа генома — и умещающийся по сути в одну публикацию — прорыв в систематике этой необычной группы позволил реконструировать ход эволюции цветка в ней и предложить ее в качестве модели в биологии развития Бобовых (Ojeda et al., 2019).

За последние десятилетия стала общепризнанным фактом высокая степень эквивиальности флорального морфогенеза Бобовых при вариабельности промежуточных стадий. Типично мотыльковый венчик, который по сути и является предметом и итогом естественного отбора, может быть сформирован на основе разной последовательности закладки органов.

Исследование цветков Leguminosae вскрыло колоссальный уровень гомоплазии, длительное время мешавший построению непротиворечивой системы семейства. Нынешний уровень развития легуминистики уже не позволяет считать, например, актиноморфный цветок единообразным для всех Бобовых явлением и интерпретировать его как однозначно древнее (или, напротив, однозначно производное) состояние. Конвергентно возникают актиноморфия, не делимая на отдельные элементы чашечка, полимерный или тем или иным образом редуцированный андроцей, полимерный гинецей.

Зигоморфный пятичленный пятикруговой цветок является несомненной симплезиоморфией Бобовых. Вероятно, зигоморфная симметрия цветка во всем семействе поддерживается одним и тем же регуляторным механизмом и сочетается с дополнительной стабилизацией строения. Однако в разных группах симметрия цветка разны-

ми путями меняется на актиноморфную, и зачастую возникает сходный набор апоморфий: пластичный порядок заложения органов в развитии, переменное положение медианного чашелистика и шва плодолистика, нестабильная мерность в разных кругах, полимерные андроец и гинецей. Эти особенности в семействе Бобовых составляют своеобразный синдром нестабильности, который во многих случаях оказывается в адаптивном смысле не менее ценным, чем исходно зигоморфное и стабильное строение цветка.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор благодарит профессоров Д.Д. Соколова и В.В. Чуба за плодотворное обсуждение ряда положений работы.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проект № 19-14-50618).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет, что какой-либо конфликт интересов отсутствует.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

При подготовке данной обзорной работы люди и животные не были использованы в качестве объектов исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Повыдыш М.Н., Гончаров М.Ю., Яковлев Г.П.* Морфологические особенности цветка “базальных мотыльковых” и их таксономическое значение // Ботан. журн. 2014. Т. 99. С. 377–383.
- Ремизова М.В.* Шаг вверх, два шага вниз: порядок заложения органов цветка // Онтогенез. 2019. Т. 50. С. 407–423.
- Соколов Д.Д.* О строении андроеца у *Anthyllis vulneraria* L. (Papilionaceae, Loteae) // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биология. 1995. № 4. С. 51–54.
- Чуб В.В.* Роль позиционной информации в регуляции развития органов цветка и листовых серий побегов. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2010. 263 с.
- Чуб В.В., Синюшин А.А.* Фасциация цветка и побега: от феноменологии к построению моделей преобразования апикальной меристемы // Физиол. раст. 2012. Т. 59. С. 574–590.
- Яковлев Г.П.* Бобовые земного шара. Л.: Наука, 1991. 144 с.
- Bauchet G.J., Bett K.E., Cameron C.T. et al.* The future of legume genetic data resources: challenges, opportunities, and priorities // Legume Sci. 2019. V. 1. P. e16.
- Bello M.A., Rudall P.J., Hawkins J.A.* Combined phylogenetic analyses reveal interfamilial relationships and patterns of floral evolution in the eudicot order Fabales // Cladistics. 2012. V. 28. P. 393–421.
- Bernardello G.* A systematic survey of floral nectaries // Nectaries and nectar / Eds S.W. Nicolson, M. Nepi, E. Pacini. Dordrecht: Springer, 2007. P. 19–128.
- Bowman J.L., Brüggemann H., Lee J.Y., Mummenhoff K.* Evolutionary changes in floral structure within *Lepidium* L. (Brassicaceae) // Int. J. Plant Sci. 1999. V. 160. P. 917–929.
- Bukhari G., Zhang J., Stevens P.F., Zhang W.* Evolution of the process underlying floral zygomorphy development in pentapetalous angiosperms // Am. J. Bot. 2017. V. 104. P. 1846–1856.
- Cardoso D., De Lima H.C., Rodrigues R.S. et al.* The realignment of *Acosmium sensu stricto* with the Dalbergioid clade (Leguminosae: Papilionoideae) reveals a proneness for independent evolution of radial floral symmetry among early-branching papilionoid legumes // Taxon. 2012a. V. 61. P. 1057–1073.
- Cardoso D., De Queiroz L.P., Pennington R.T. et al.* Revisiting the phylogeny of papilionoid legumes: new insights from comprehensively sampled early-branching lineages // Am. J. Bot. 2012b. V. 99. P. 1991–2013.
- Cardoso D., São-Mateus M.B., Cruz D.T. et al.* Filling in the gaps of the papilionoid legume phylogeny. The enigmatic Amazonian genus *Petaladenium* is a new branch of the early-diverging Amburaneae clade // Mol. Phylogenet. Evol. 2015. V. 84. P. 112–124.
- Citerne H.L., Luo D., Pennington R.T. et al.* A phylogenomic investigation of *CYCLOIDEA*-like TCP genes in the Leguminosae // Plant Physiol. 2003. V. 131. P. 1042–1053.
- Citerne H.L., Pennington R.T., Cronk Q.C.B.* An apparent reversal in floral symmetry in the legume *Cadia* is a homeotic transformation // PNAS USA. 2006. V. 103. P. 12017–12020.
- Clark S.E., Running M.P., Meyerowitz E.M.* *CLAVATA3* is a specific regulator of shoot and floral meristem development affecting the same processes as *CLAVATA1* // Development. 1995. V. 121. P. 2057–2067.
- Clark R.P., Mackinder B.A., Banks H.* *Cheniella* gen. nov. (Leguminosae: Cercidoideae) from Southern China, Indochina and Malesia // Eur. J. Taxon. 2017. V. 360. P. 1–37.
- De Barros T.C., Pedersoli G.D., Paulino J.V., Teixeira S.P.* In the interface of caesalpinoids and mimosoids: comparative floral development elucidates shared characters in *Dimorphandra mollis* and *Pentaclethra maculoloba* (Leguminosae) // Am. J. Bot. 2017. V. 104. P. 218–232.
- Derstine K.S., Tucker S.C.* Organ initiation and development of inflorescences and flower of *Acacia baileyana* // Am. J. Bot. 1991. V. 78. P. 816–832.
- Endress P.K.* Chaotic floral phyllotaxis and reduced perianth in *Achlys* (Berberidaceae) // Botanica Acta. 1989. V. 102. P. 159–163.
- Endress P.K.* The immense diversity of floral monosymmetry and asymmetry across angiosperms // Bot. Rev. 2012. V. 78. P. 345–397.
- Falcão M.J.A., Paulino J.V., Kochanowski F.J. et al.* Development of inflorescences and flowers in Fabaceae subfamily Dialioideae: an evolutionary overview and complete onto-

- genetic series for *Apuleia* and *Martiodendron* // Bot. J. Linn. Soc. 2020. V. 193. P. 19–46.
- Feng X., Zhao Z., Tian Z. et al. Control of petal shape and floral zygomorphy in *Lotus japonicus* // PNAS USA. 2006. V. 103. P. 4970–4975.
- Fougère-Danezan M., Herendeen P.S., Maumont S., Bruneau A. Morphological evolution in the variable resin-producing Detarieae (Fabaceae): do morphological characters retain a phylogenetic signal? // Ann. Bot. 2010. V. 105. P. 311–325.
- Gómez-Acevedo S.L., Magallón S., Rico-Arce L. Floral development in three species of *Acacia* (Leguminosae, Mimosoideae) // Aust. J. Bot. 2007. V. 55. P. 30–41.
- Hagemann W., Gleissberg S. Organogenetic capacity of leaves: the significance of marginal blastozones in angiosperms // Plant Syst. Evol. 1996. V. 199. P. 121–152.
- Harlan J.R. Crops and man. Madison: Amer. Soc. Agronomy, 1992. 284 p.
- He L., Lei Y., Li X. et al. SYMMETRIC PETALS 1 encodes an ALOG domain protein that controls floral organ internal asymmetry in pea (*Pisum sativum* L.) // Int. J. Mol. Sci. 2020. V. 21. P. 4060.
- Hsu H.C., Chen C.Y., Lee T.K. et al. Quantitative analysis of floral symmetry and tube dilation in an F₂ cross of *Sinningia speciosa* // Sci. Hortic. 2015. V. 188. P. 71–77.
- Hsu H.J., He C.W., Kuo W.S. et al. Genetic analysis of floral symmetry transitions in African violet suggests the involvement of trans-acting factor for *CYCLOIDEA* expression shifts // Front. Plant Sci. 2018. V. 9. P. 1008.
- Kirkbride J.H. *Dupuya*, a new genus of Malagasy legumes // Novon J. Bot. Nomenclat. 2005. V. 15. P. 305–314.
- Klitgård B., Forest F., Booth T.J., Saslis-Lagoudakis C.H. A detailed investigation of the *Pterocarpus* clade (Leguminosae: Dalbergieae): *Etaballia* with radially symmetrical flowers is nested within the papilionoid-flowered *Pterocarpus* // S. Afr. J. Bot. 2013. V. 89. P. 128–142.
- Krüger H., Tiedt L.R., Wessels D.C.J. Floral development in the legume tree *Colophospermum mopane*, Caesalpinoideae: Detarieae // Bot. J. Linn. Soc. 1999. V. 131. P. 223–233.
- Leite V.G., Teixeira S.P., Mansano V.F., Prenner G. Floral development of the early-branching papilionoid legume *Amburana cearensis* (Leguminosae) reveals rare and novel characters // Int. J. Plant Sci. 2015. V. 176. P. 94–106.
- Liu Z., Ma L., Nan Z., Wang Y. Comparative transcriptional profiling provides insights into the evolution and development of the zygomorphic flower of *Vicia sativa* (Papilionoideae) // PLoS One. 2013. V. 8. P. e57338.
- LPWG. The Legume Phylogeny Working Group. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny // Taxon. 2017. V. 66. P. 44–77.
- Luo D., Carpenter R., Copey L. et al. Control of organ asymmetry in flowers of *Antirrhinum* // Cell. 1999. V. 99. P. 367–376.
- Luo Z., Hu J., Zhao Z., Zhang D. Transcriptomic analysis of heteromorphic stamens in *Cassia bispicularis* L. // Sci. Rep. 2016. V. 6. P. 31600.
- McMahon M., Hufford L. Developmental morphology and structural homology of corolla-androecium synorganization in the tribe Amorpheae (Fabaceae: Papilionoideae) // Am. J. Bot. 2002. V. 89. P. 1884–1898.
- McMahon M., Hufford L. Evolution and development in the amorphoid clade (Amorpheae: Papilionoideae: Leguminosae): petal loss and dedifferentiation // Int. J. Plant Sci. 2005. V. 166. P. 383–396.
- Marazzi B., Conti E., Endress P.K. Diversity in anthers and stigmas in the buzz-pollinated genus *Senna* (Leguminosae, Cassiinae) // Int. J. Plant Sci. 2007. V. 168. P. 371–391.
- Martin-Trillo M., Cubas P. TCP genes: a family snapshot ten year later // Tr. Plant Sci. 2010. V. 15. P. 31–39.
- Movafeghi A., Naghiloo S., Dadpour M.R. Inflorescence and floral development in *Astragalus lagopoides* Lam. (Leguminosae: Papilionoideae: Galegeae) // Flora. 2011. V. 206. P. 219–226.
- Naghiloo S., Dadpour M.R., Movafeghi A. Floral ontogeny in *Astragalus compactus* (Leguminosae: Papilionoideae: Galegeae): variable occurrence of bracteoles and variable patterns of sepal initiation // Planta. 2012. V. 235. P. 793–805.
- Ojeda D.I., Jaén-Molina R., Santos-Guerra A. et al. Temporal, but not spatial, changes in expression patterns of petal identity genes are associated with loss of papillate conical cells and the shift to bird pollination in Macaronesian *Lotus* (Leguminosae) // Plant Biology. 2017. V. 19. P. 420–427.
- Ojeda D.I., Koenen E., Cervantes S. et al. Phylogenomic analyses reveal an exceptionally high number of evolutionary shifts in a florally diverse clade of African legumes // Mol. Phylogenet. Evol. 2019. V. 137. P. 156–167.
- Paulino J.V., Mansano V.F., Teixeira S.P. Elucidating the unusual floral features of *Swartzia dipetala* (Fabaceae) // Bot. J. Linn. Soc. 2013. V. 173. P. 303–320.
- Paulino J.V., Prenner G., Mansano V.F., Teixeira S.P. Comparative development of rare cases of a polycarpellate gynoeceum in an otherwise monocarpellate family, Leguminosae // Am. J. Bot. 2014. V. 101. P. 572–586.
- Paulino J.V., Mansano V.F., Prenner G. Evidence for division of labor and division of function related to the pollen release in Papilionoideae (Leguminosae) with a heteromorphic androecium // Int. J. Plant Sci. 2016. V. 177. P. 590–607.
- Paulino J.V., Mansano V.F., Prenner G., Teixeira S.P. High developmental lability in the perianth of *Inga* (Fabales, Fabaceae): a neotropical woody rosoid with gamopetalous corolla // Bot. J. Linn. Soc. 2017. V. 183. P. 146–161.
- Pedersoli G.D., Paulino J.V., Leite V.G., Teixeira S.P. Elucidating enigmatic floral tissues in *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae, Caesalpinoideae) // Int. J. Plant Sci. 2010. V. 171. P. 834–846.
- Pennington R.T., Klitgaard B.B., Ireland H., Lavin M. New insights into floral evolution of basal Papilionoideae from molecular phylogenies // Advances in Legume Systematics. Pt 9 / Eds P.S. Herendeen, A. Bruneau, P.S. Pollard. L., Kew: Royal Botanic Gardens, 2000. P. 233–248.
- Prenner G. Floral ontogeny of *Acacia celastrifolia*: an enigmatic mimosoid legume with pronounced polyandry and multiple carpels // Flowers on the Tree of Life /

- Eds L. Wannorp, L.P. Ronse De Craene. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 2011. P. 256–278.
- Prenner G. Flower development in *Abrus precatorius* (Leguminosae: Papilionoideae: Abreae) and a review of androecial characters in Papilionoideae // S. Afr. J. Bot. 2013. V. 89. P. 210–218.
- Prenner G., Klitgaard B.B. Towards unlocking the deep nodes of Leguminosae: floral development and morphology of the enigmatic *Duparquetia orchidacea* (Leguminosae, Caesalpinioideae) // Am. J. Bot. 2008. V. 95. P. 1349–1365.
- Preston J.C., Hileman L.C. Developmental genetics of floral symmetry evolution // Tr. Plant Sci. 2009. V. 14. P. 147–154.
- Remizowa M.V., Sokoloff D.D., Calvo S. et al. Flowers and inflorescences of the seagrass *Posidonia* (Posidoniaceae, Alismatales) // Am. J. Bot. 2012. V. 99. P. 1592–1608.
- Ronse Decraene L.P., Smets E.F. Dédoublement revisited: towards a renewed interpretation of the androecium of the Magnoliophytina // Bot. J. Linn. Soc. 1993. V. 113. P. 103–124.
- Schmitz F. Die Blüten-Entwicklung der Piperaceen // Botanische Abhandlungen an dem Gebiet der Morphologie und Physiologie. B. 2 / Ed. J. Hanstein. Bonn: bei Adolph Marcus, 1872. S. 86.
- Simon M.F., Grether R., De Queiroz L.P. et al. The evolutionary history of *Mimosa* (Leguminosae): toward a phylogeny of the sensitive plants // Am. J. Bot. 2011. V. 98. P. 1201–1221.
- Sinjushin A.A. Origin and variation of polymerous gynoecea in Fabaceae: evidence from floral mutants of pea (*Pisum sativum* L.) // Plant Syst. Evol. 2014. V. 300. P. 717–727.
- Sinjushin A.A. Is the leguminous flower closed? // Wulfenia. 2015. V. 22. P. 281–287.
- Sinjushin A.A. Effects of stem fasciation on inflorescence and flower morphology in legumes // Wulfenia. 2016. V. 23. P. 127–134.
- Sinjushin A.A. Floral ontogeny in *Cordyla pinnata* (A. Rich.) Milne-Redh. (Leguminosae, Papilionoideae): away from stability // Flora. 2018. V. 241. P. 8–15.
- Sinjushin A.A. Notes on floral symmetry in the *Pterocarpus* clade (Leguminosae: Papilionoideae: Dalbergiaceae) // Wulfenia. 2019. V. 26. P. 175–188.
- Sinjushin A.A., Karasyova T.A. Stability of the floral structure in Leguminosae with flag versus non-flag blossom // Wulfenia. 2017. V. 24. P. 1–10.
- Sinjushin A.A., Bagheri A., Maassoumi A.A., Rahiminejad M.R. Terata of two legume species with radialized corolla: come correlations in floral symmetry // Plant Syst. Evol. 2015. V. 301. P. 2387–2397.
- Sinjushin A.A., Tekdal D., Ciftci C., Cetiner S. Floral development in *Thermopsis turcica*, an unusual multicarpellate papilionoid legume // Plant Syst. Evol. 2018. V. 304. P. 461–471.
- Sinjushin A.A., Bykova E.A., Choob V.V. Interaction between floral merism and symmetry: evidence from fasciated mutant of *Lupinus angustifolius* L. (Leguminosae) // Symmetry. 2019. V. 11. P. 321.
- Sokoloff D.D., Degtjareva G.V., Endress P.K. et al. Inflorescence and early flower development in Loteae (Leguminosae) in a phylogenetic and taxonomic context // Int. J. Plant Sci. 2007. V. 168. P. 801–833.
- Tasaki K., Nakatsuka A., Cheon K.-S. et al. Morphological and expression analyses of MADS genes in Japanese traditional narrow- and/or staminoid-petaled cultivars of *Rhododendron kaempferi* Planch // Sci. Hort. 2012. V. 134. P. 191–199.
- Taubert P. Leguminosae // Die Natürlichen Pflanzenfamilien / Ed. A. Engler. Leipzig: Verlag von Wilhelm Engelmann, 1894. S. 147–153.
- Tucker S.C. Unidirectional organ initiation in leguminous flower // Am. J. Bot. 1984. V. 71. P. 1139–1148.
- Tucker S.C. Heteromorphic flower development in *Neptunia pubescens*, a mimosoid legume // Am. J. Bot. 1988. V. 75. P. 205–224.
- Tucker S.C. Evolutionary implications of floral ontogeny in legumes // Advances in legume biology / Eds C.H. Stirton, J.L. Zarucchi. St. Louis: Missouri Botanical Garden, 1989a. P. 59–75.
- Tucker S.C. Overlapping organ initiation and common primordia in flowers of *Pisum sativum* (Leguminosae: Papilionoideae) // Am. J. Bot. 1989b. V. 76. P. 714–729.
- Tucker S.C. Helical floral organogenesis in *Gleditsia*, a primitive caesalpinoid legume // Am. J. Bot. 1991. V. 78. P. 1130–1149.
- Tucker S.C. The developmental basis for sexual expression in *Ceratonia siliqua* (Leguminosae: Caesalpinioideae: Cassiaceae) // Am. J. Bot. 1992. V. 79. P. 318–327.
- Tucker S.C. Floral development and homeosis in *Saraca* (Leguminosae: Caesalpinioideae: Detarieae) // Int. J. Plant Sci. 2000. V. 161. P. 537–549.
- Tucker S.C. The ontogenetic basis for missing petals in *Crudia* (Leguminosae: Caesalpinioideae: Detarieae) // Int. J. Plant Sci. 2001. V. 162. P. 83–89.
- Tucker S.C. Comparative floral ontogeny in Detarieae (Leguminosae: Caesalpinioideae). I. Radially symmetrical taxa lacking organ suppression // Am. J. Bot. 2002a. V. 89. P. 875–887.
- Tucker S.C. Floral ontogeny of *Cercis* (Leguminosae: Caesalpinioideae: Cercideae): does it show convergence with papilionoids? // Int. J. Plant Sci. 2002b. V. 163. P. 75–87.
- Tucker S.C. Floral ontogeny in *Swartzia* (Leguminosae: Papilionoideae: Swartzieae): distribution and role of the ring meristem // Am. J. Bot. 2003a. V. 90. P. 1271–1292.
- Tucker S.C. Comparative floral ontogeny in Detarieae (Leguminosae: Caesalpinioideae). III. Adaxially initiated whorls in *Julbernardia* and *Sindora* // Int. J. Plant Sci. 2003b. V. 164. P. 275–286.
- Wang Z., Luo Y., Li X. et al. Genetic control of floral zygomorphy in pea (*Pisum sativum* L.) // PNAS USA. 2008. V. 105. P. 10414–10419.
- Woollacott C., Cronk Q.C.B. The hooded mutant of *Lathyrus odoratus* (Fabaceae) is associated with a *cycloidea* gene mutation // Botany. 2018. V. 96. P. 47–55.
- Yun J.Y., Weigel D., Lee I. Ectopic expression of *SUPERMAN* suppresses development of petals and stamens // Plant Cell Physiol. 2002. V. 43. P. 52–57.

- Xu S., Luo Y., Cai Z. *et al.* Functional diversity of *CY-CLOIDEA*-like TCP genes in the control of zygomorphic flower development in *Lotus japonicus* // J. Integr. Plant Biol. 2013. V. 55. P. 221–231.
- Zimmerman E., Prenner G., Bruneau A. Floral ontogeny in Dialiinae (Caesalpinioideae: Cassieae), a study in organ loss and instability // S. Afr. J. Bot. 2013. V. 89. P. 188–209.

Evolutionary History of the Leguminous Flower

A. A. Sinjushin*

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

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

The contemporary evolutionary developmental biology includes molecular phylogeny, studies on morphology and morphogenesis, genetics, and genomics. The most reliable conclusions about main trends of floral evolution can result from investigations of highly polymorphic group, which is characterized from the positions of both modern systematics and molecular developmental biology. The legume family, Leguminosae, is a group of such kind. It demonstrates an outstanding variation in flower structure. The ancestral floral structure in this family includes monosymmetry, pentacycly, with pentamerous perianth and androecium, and a monomerous gynoecium. However, distinct evolutionary lineages resulted in origin of polysymmetric perianth, different patterns of staminal reduction or polymerization, as well as multicarpellate gynoecium. A strikingly high level of homoplasy is revealed in Leguminosae. Besides the existing evolutionary tendency to stabilize floral structure, the exact “instability syndrome” evolved repeatedly, associated with a polysymmetry and characterized with a highly variable number and position of floral organs.

Keywords: actinomorphy, floral merism, homoplasy, polymerization, reduction, symmetry, zygomorphy

УДК 597.554.3-13

НАСЛЕДОВАНИЕ ITS рДНК У РЕЦИПРОКНЫХ ГИБРИДОВ ПЛОТВЫ *Rutilus rutilus* (L.) И ЛЕЩА *Abramis brama* (L.) В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ

© 2021 г. В. В. Столбунова¹, *, Ю. В. Кодухова¹

¹Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, п. Борок, Ярославская обл., Россия

*e-mail: vvsto@mail.ru

Поступила в редакцию 04.05.2020 г.

После доработки 04.08.2020 г.

Принята к публикации 10.08.2020 г.

В первом поколении межродовых гибридов плотвы *Rutilus rutilus* L. и леща *Abramis brama* L. ранее установлено нарушение кодоминантного наследования ядерного маркера ITS1 рибосомной ДНК (рДНК) с фиксацией одного родительского варианта. При сравнении реципрокных скрещиваний показано, что гомозиготы регистрируются со стадии гаструлы и на всех последующих стадиях эмбрионального развития только в скрещивании самка лещ × самец плотва, что указывает на нереципрочный характер потери фрагмента ITS1 и на влияние ядерно-цитоплазматических взаимодействий. При этом изменения затрагивают рДНК гибрида, переданную как от самца, так и от самки. На стадии сеголетка отмечается снижение числа гомозигот лещ × плотва с доминированием варианта ITS1 самки леща, что может свидетельствовать о низкой жизнеспособности данных особей. В случае фиксации ITS1 плотвы, что установлено у гибридной самки ♀AR (*A. brama* × *R. rutilus*), можно отметить жизнеспособность, фертильность и доминирование ряда морфологических признаков плотвы у особи данного генотипа. Генотип ♀AR подтвержден, по анализу расщепления, в потомстве возвратных скрещиваний с самцами плотвы и леща. Предполагается, что отсутствие амплификации одного из родительских фрагментов ITS1 связано с высоким уровнем полиморфизма ITS1-региона у леща и у гибридов лещ × плотва, что установлено ранее, и с различием регуляторных механизмов родительских геномов. Обсуждаются возможные причины различной изменчивости ITS1 рДНК у гибридов в реципрокных скрещиваниях.

Ключевые слова: Cyprinidae, отдаленная гибридизация, гибриды первого поколения, доминирование рибосомных генов

DOI: 10.31857/S0042132421010233

ВВЕДЕНИЕ

Мультигенное семейство ядерной рДНК наиболее часто используется при изучении последних межвидовой гибридизации (Buckler et al., 1997), которая в свою очередь нередко определяется как наиболее существенный фактор эволюции рДНК (Skalická et al., 2003; Robles et al., 2005), поскольку потенциально может вызывать более значимые перестройки генома и быструю его реорганизацию, чем дубликации генов или всего генома (Song et al., 1995; Mable, 2013). Гены рРНК сгруппированы в длинные тандемные повторы. Общее число повторов и уровень транскрипции рибосомных генов видоспецифичны, что контролируется РНК-полимеразой I (Kobayashi et al., 1998). Каждая транскрипционная единица рДНК состоит из трех генов (18S, 5.8S, 28S), разделенных двумя внутренними транскрибируемыми спейсерами (ITS1 и ITS2). Считается, что гибридизация и полиплоидия способствуют неполной реализации механизмов согласованного развития

тандемных повторов рДНК (Campbell et al., 1997), которые обеспечивают гомогенизацию (идентичность) нуклеотидной последовательности всех транскрипционных единиц рДНК внутри генома, популяции, вида (Hillis, Dixon, 1991). Вследствие этого в первом поколении межвидовых гибридов (F1) животных и растений наблюдаются существенные отклонения в наследовании рДНК, а также такие перестройки генетического материала, когда строение геномов не занимает промежуточного положения и отличается от обоих родительских видов (Владыченская, Кедрова, 1982; Челомина и др., 2008). У гибридов отмечают повышение нуклеотидного полиморфизма как консервативного компонента 18S рРНК (Челомина и др., 2008; Krieger, Fuerst, 2004), так и более варибельного внутреннего транскрибируемого спейсера ITS (Луданный, 2008; Campbell et al., 1997; Pereira et al., 2014) даже при отсутствии изменчивости у родительских видов (Arnheim et al., 1982). На функциональном уровне взаимодей-

стве между родительскими локусами рДНК в гибридах приводит к сайленсингу (дифференциальной транскрипции генов), известному как ядерное доминирование (Navashin, 1934; Volkov et al., 2007).

Из-за тандемного характера строения кластер рибосомных генов в большей степени подвержен рекомбинации (Kobayashi, 2006). Результатом рекомбинации могут быть точечные мутации, вставки/делеции, перестройки и обмен повторами, что изменяет размер генома, длину спейсерных участков и оказывает влияние на длительность клеточного цикла, скорость развития и дифференциальную активность генов (Беннетт, 1986; Navashin, 1934; Cluster et al., 1987). При этом из-за важной роли рДНК в биогенезе рибосом геномная стабильность массива тандемных повторов строго контролируется (Gangloff et al., 1996), если происходят удаления или вставки повторов, в большинстве случаев организм способен восстанавливать их число к уровню дикого типа (Rodland, Russell, 1982; Kobayashi, 2006). В случае фиксации мутации менделевский способ наследования, характерный для мультигенных семейств, способствует ее распространению в пределах генома, популяции и вида (Доувер и др., 1986), что свидетельствует о возможности быстрой геномной эволюции при интрогрессивной гибридизации (Pereira et al., 2014).

Межродовые гибриды плотвы *Rutilus rutilus* L. (Cyprinidae) и леща *Abramis brama* L. (Cyprinidae) жизнеспособны как в первом, так и в последующих поколениях и представляют собой удобную модель для изучения процессов реорганизации генома на уровне рДНК в связи с высоким уровнем дивергенции геномов родительских видов (Bianco et al., 2004; Ocalewicz et al., 2004). Размер генома леща, который у эукариот положительно коррелирует с количеством копий рДНК (Prokhorowich et al., 2003) и генетической изменчивостью (Pierce, Milton, 1980), превышает геном плотвы в 1.3 раза (Гинатулин, 1984; Gregory, 2013). При одинаковом количестве хромосом эта разница указывает на то, что для регуляторной функции у леща доступны большие количества повторяющейся ДНК, чем у плотвы, что может способствовать большему разнообразию повторов как регуляторных элементов (Olmo, 2006).

Действительно, последовательности ITS1 рДНК плотвы и леща демонстрируют генетическую неоднородность индивидуальных копий, при этом изменчивость в большей степени выражена у леща и гибридов лещ × плотва, чем у плотвы и гибридов плотва × лещ (Луданный, 2008; Wyatt et al., 2006). В дополнение к двум (А и В) типам ITS1-последовательности леща из Англии (Wyatt et al., 2006) в геноме волжского леща найдено несколько уникальных, значительно дивер-

гировавших копий ITS1, что позволяет предполагать существование третьей линии (Луданный, 2008). Высокий уровень разнообразия гаплотипов в ITS-участке может быть связан с наличием у диплоидного леща скрытых разрывов в 10% эволюционно-консервативного компонента 28S рРНК. Считается, что разрывы способствуют ранней деградации рРНК, снижая тем самым синтез белка и противодействуя вредным последствиям увеличения количества ядерной ДНК в ходе эволюции. Разрывы в компонентах 28S и 18S рРНК при разрушении вторичной структуры приводят к появлению строго определенных фрагментов РНК. Опыты по конкурентной гибридизации немеченых фрагментов РНК и меченых ¹²⁵I 28S и 18S рРНК с общей ДНК показали, что рРНК и минорные компоненты РНК закодированы в одном и том же участке ДНК (Лейпольдт, Шмидтке, 1986). С учетом того, что вторичная структура образующейся РНК определяет случайный характер мутационного процесса в ITS-участке (Аксенов, Спиридонов, 2013), наличие разрывов может иметь к этому процессу непосредственное отношение.

Для идентификации природных гибридов плотвы и леща с учетом известных гаплотипов ранее разработаны видоспецифические праймеры (Wyatt et al., 2006). При использовании данного набора праймеров в потомстве экспериментальных гибридов лещ × плотва нами установлено отсутствие амплификации одного из родительских ITS1 рДНК в раннем развитии (Слынько, Столбунова, 2010). В настоящей работе проведен сравнительный анализ наследования ITS1 рДНК в потомствах реципрокных экспериментальных скрещиваний (лещ × плотва, плотва × лещ) на стадиях раннего онтогенеза и сеголетка (0+), чтобы оценить вклад цитоплазматической наследственности, а также у гибридов возвратных скрещиваний, которые получены от гибридной соматогонной самки лещ × плотва. На данном этапе нам не известна причина подавления синтеза одного из родительских фрагментов в первом поколении гибридов плотвы и леща, но использование методов гибридологического и морфологического анализов, несомненно, предоставляет больше информации о данном явлении.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Гибриды первого поколения (F1) получены в реципрокных межвидовых скрещиваниях: лещ × плотва (AR – ♀*A. brama* × ♂*R. rutilus*, ♀A1 × ♂R1, ♀A2 × ♂R2, ♀A3 × ♂R3) и плотва × лещ (RA – ♀*R. rutilus* × ♂*A. brama*, ♀R1 × ♂A1, ♀R2 × ♂A2). Для проведения скрещиваний использовали половые продукты самок и самцов *R. rutilus* и *A. brama* (возраст 4+) V стадии зрелости, выловленных в начале мая во время нереста в Рыбинском вдхр.

(Ярославская обл., Россия). Два потомства бэк-кроссов (Fb) получены в скрещиваниях ♀AR с ♂R и ♂A. Гибридная самка получена в эксперименте и выращена до половозрелого состояния. Половые продукты самки были разделены на две части; одну часть смешивали со спермой самца плотвы, другую часть со спермой самца леща. Оплодотворение проведено сухим способом по стандартной рыбоводной методике (Рябов, 1981). После отбора половых продуктов производителей нумеровали и замораживали, а оплодотворенную икру помещали в отдельные кристаллизаторы (диаметр 50 см, высота 15 см) с водой из водохранилища, по 2500–3000 икринок в каждом, где выдерживали до полного рассасывания желточного мешка. Инкубация икры осуществлялась в условиях постоянного водообмена (смена воды 3 раза в сутки), контроля концентрации кислорода, кислотности и температуры. Средняя температура воды во время инкубации эмбрионов была приближена к природным условиям и составляла $17.5 \pm 1.5^\circ\text{C}$ ($M \pm m$). Выживаемость контролировали на стадиях личинки (после выклева и поздней бластулы) и сеголетка 0+, что опубликовано ранее (Слынько, Слынько, 2010). Успех оплодотворения определялся главным образом качеством половых продуктов. Со стадии смешанного типа питания личинок подкармливали диким планктоном, затем помещали в открытые выростные пруды ($n = 600$ на площадь 600 м^2) с предварительной акклимацией. Потомство каждого скрещивания содержалось в отдельном пруду с мая по октябрь. После спуска воды не менее 200 сеголетков (0+) каждого скрещивания получено и заморожено.

ДНК выделяли из скелетных мышц методом фенол-хлороформной экстракции (Mathew, 1984) у производителей плотвы и леща ($n = 14$), у половозрелых гибридных самок и самцов F1 (лещ \times плотва, $n = 8$ и плотва \times лещ, $n = 6$), у сеголетков реципрокных гибридов F1 ($n = 81$) и Fb ($n = 86$), а также из икры ($n = 10$), эмбрионов ($n = 59$) и личинок ($n = 90$). В скрещиваниях ♀A \times ♂R (33 шт.) и ♀R \times ♂A (34 шт.) отбор проб производили по стадиям раннего развития: неоплодотворенной икры (НИ), дробления – 40 мин после оплодотворения (ДР), морулы (М), гастролы (Г), эмбрион перед выклевом (ЭПВ), эмбрион с желточным мешком (ЭСЖМ), эмбрион без желточного мешка (ЭБЖМ). Гибридов на стадии сеголетка предварительно анализировали по трем микросателлитным локусам (СурG53, СурG48, СурG24), чтобы подтвердить родство и исключить занос случайного генетического материала, поскольку гибриды содержались в открытых прудах, что подробно описано в отдельной работе (Столбунова, 2017). В настоящем исследовании генотипирование особей проводили по генам ядерного (ITS1 рДНК) и митохондриального (цитохром *b* мтДНК) гено-

мов. Амплификацию видоспецифических фрагментов ITS1 рДНК леща (147–152 пн), плотвы (385–386 пн) и видоспецифических фрагментов цитохрома *b* (сyt *b*) леща (672 пн) и плотвы (450 пн) проводили методом локус-специфической полимеразной цепной реакции (ПЦР), согласно методике с использованием двух прямых праймеров и одного обратного, универсального для обоих видов (Wyatt et al., 2006). Разная длина фрагментов позволяла визуализировать их в геле. Гены рДНК плотвы и леща расположены в районе ядрышкового организатора на концах одной хромосомной пары (Bianco et al., 2004). В связи с разобщением гаплоидных геномов у межродовых гибридов (Беннетт, 1986) видоспецифический ITS1 рДНК является маркером ядерного генома родительского вида и имеет кодоминантный тип наследования. Соответственно, у гибридов F1 после объединения гаплоидных геномов плотвы и леща регистрируются оба родительских фрагмента ITS1 рДНК, что позволяет использовать разработанные праймеры для идентификации природных гибридов (Wyatt et al., 2006). В потомстве возвратного скрещивания ожидаемое соотношение гомо- и гетерозигот составляет 1 : 1. Статистическая оценка достоверности различий между теоретическим и эмпирическим распределением генотипов в выборках бэккроссов производилась при помощи критерия χ^2 (Животовский, 1991). Для ПЦР использовали смесь в объеме 25 мкл, которая содержала готовый 10X буфер “Fermentas”, Литва; 2.0 mM MgCl₂; 200 мкМ dNTP; по 3.2 пмоль праймеров; 0.9 ед. Taq-полимеразы “Бионем”, Москва; 50 нг ДНК. Денатурацию ДНК выполняли при 94°C в течение 5 мин, с последующими 30 циклами синтеза фрагмента для ITS1 рДНК и 35 циклами для сyt *b* мтДНК: денатурация – 94°C – 45 с, отжиг – 64°C (сyt *b*) и 67°C (ITS1 рДНК) – 80 с, элонгация – 72°C – 60 с, конечная элонгация – 72°C – 5 мин. ПЦР продукты сyt *b* и ITS1 фракционировали с помощью гель-электрофореза в 1.5%-ном агарозном геле, содержащем бромистый этидий (0.25 мкг/мл). Электрофорез проводили в буфере TBE в течение 40 мин при напряжении 100 В.

Морфологический анализ проведен по ключевым диагностическим признакам у родительских особей (♀A3, ♂R3, ♀AR, ♂A, ♂R) и у сеголетков гибридов F1 из потомства A3 \times R3 ($n = 48$). Для сравнения приведены морфологические данные сеголетков, полученных в межвидовом (A \times R, $n = 50$) и внутривидовых (A \times A, $n = 40$, R \times R, $n = 40$) скрещиваниях. Измерялись следующие меристические признаки: число лучей в спинном (*D*b) и анальном (*A*b) плавниках, число глоточных зубов (*d.ph.*), число позвонков в туловищном (*V*a) и хвостовом (*V*c) отделах, общее число позвонков (*V*ert), число чешуй в боковой линии (*l.l.*), число рядов чешуй над (*S*_D) и под (*S*_A) боковой линией

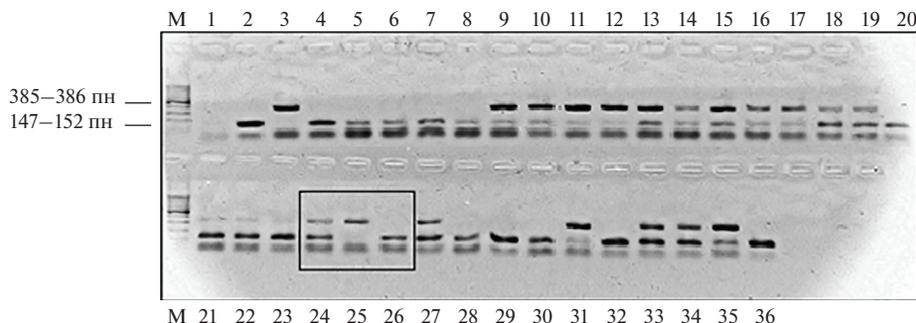


Рис. 1. Электрофоретические паттерны ITS1 рДНК гибридов потомства ♀А × ♂R по стадиям раннего развития. Дорожки: 2 – самка леща, 3 – самец плотвы; 4–8 – неоплодотворенная икра; 9–12 – 40 мин после оплодотворения; 13–17 – морула; 18–22 – гастрюла; 23–26 – эмбрион перед выклевом; 27–31 – эмбрион с желточным мешком; 32–36 – эмбрион без желточного мешка. В рамке показаны все возможные варианты гибридного ITS1, включая редкий – ITS1 плотвы. Здесь и на рис. 2 и 3: М – маркер молекулярных масс (100 пн). Слева указана длина фрагментов ITS1 леща (147–152 пн) и плотвы (385–386 пн).

(Дислер, 1960). Проведен анализ соотношения количества позвонков между туловищным и хвостовым отделами: $V_a \geq V_c$ определен как плотвинный тип; $V_a < V_c$ – как лещовый тип. При описании признаков определяли средние значения (M), стандартную ошибку (m) и размах изменчивости (lim).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Видовой статус всех производителей, использованных в экспериментальных скрещиваниях, установлен путем морфологического анализа и генотипирования по локусам ядерного генома ITS1 рДНК и *cyt b* мтДНК.

Анализ наследования ITS1 рДНК в первом поколении гибридов

Проведенный анализ показал, что в реципрокных скрещиваниях лещ × плотва и плотва × лещ происходит нарушение закона Менделя о единообразии гибридов первого поколения. В потомстве от скрещивания ♀А × ♂R, $n = 28$ начиная со стадии гастрюлы (Г) и на всех последующих стадиях раннего развития, наблюдается расщепление, часть гибридов утрачивает один из родительских фрагментов ITS1 (рис. 1, табл. 1, скрещивание 1). При этом, в подавляющем большинстве случаев у гибридов лещ × плотва отсутствует амплификация отцовского фрагмента ITS1 рДНК плотвы (Г – 20%, ЭПВ – 25%, ЭСЖМ – 60% и ЭБЖМ – 40%), что указывает на изменения в рДНК гибрида, переданной от самца. Фиксация фрагмента ITS1 плотвы установлена только у одной особи на стадии ЭПВ, где присутствуют все три возможных варианта ITS1 (ЭПВ – 25%, рис. 1, трек 25), а также у одной половозрелой гибридной самки лещ × плотва (рис. 3). На стадии Л вы-

явлено два гибрида с фиксацией ITS1 леща (скрещивание ♀A1 × ♂R1, $n = 11$).

Для исключения специфических особенностей раннего развития рыб тестирование гибридов проведено на стадии сеголетка (рис. 2). В скрещиваниях ♀A3 × ♂R3, $n = 48$ и ♀A2 × ♂R2, $n = 12$ выявлено по одной особи с доминированием варианта ITS1 леща, что указывает на значительное сокращение частоты нарушений наследования ядерного маркера с эмбриональных стадий развития до стадии сеголетка и свидетельствует о снижении жизнеспособности гибридов данного генотипа.

В потомстве скрещивания ♀R × ♂A, $n = 34$ на стадии Г у четырех из семи эмбрионов показана слабая амплификация ITS1 плотвы (самки), а у одной особи фрагмент ITS1 плотвы отсутствовал, что составило 14%. На всех остальных стадиях эмбрионального развития гибриды плотва × лещ имели оба родительских варианта ITS1. При этом на стадиях ЭСЖМ и ЭБЖМ различий между интенсивностью родительских полос в спектрах гибридов не наблюдалось. Электрофореграмма по стадиям развития гибридов плотва × лещ дана ранее (Столбунова, 2012). В скрещивании ♀R1 × ♂A1, $n = 22$ у двух особей на стадии Л показана слабая амплификация ITS1 плотвы, а у двух сеголетков в скрещивании ♀R2 × ♂A2, $n = 22$ – ITS1 леща.

Соответственно, кроме отсутствия амплификации одного варианта ITS1, у части гетерозигот в реципрокных скрещиваниях отмечена дифференциальная амплификация фрагментов с доминированием варианта плотвы (на стадии М у гибридов лещ × плотва и стадии ЭПВ у гибридов плотва × лещ) и варианта леща (на стадии Г у гибридов лещ × плотва, плотва × лещ и у части сеголетков лещ × плотва) (рис. 1, 2). При сравнении реципрокных скрещиваний ♀А × ♂R (Г – 20%, ЭПВ – 50%, ЭСЖМ – 60% и ЭБЖМ – 40%) и

Таблица 1. Характеристика экспериментальных скрещиваний и наблюдаемые варианты ITS1 рДНК в потомстве гибридов F1 и бэкроссов

№/год	Скрещивание	Стадия	Наблюдаемые варианты ITS1, шт.		
			AR	RR	AA
1/2007	♀A × ♂R	Эмбрионы	20	1	7
2/2008	♀A1 × ♂R1	Личинки	11	—	2
3/2008	♀A2 × ♂R2	Сеголетки	10	—	1
4/2009	♀A3 × ♂R3	Сеголетки	47	—	1
5/2008	♀R × ♂A	Эмбрионы	33	—	1
6/2008	♀R1 × ♂A1	Личинки	22	—	—
7/2008	♀R2 × ♂A2	Сеголетки	22	—	—
8/2009	♀AR × ♂A*	Личинки	10	—	13
		Сеголетки	23	—	20
9/2009	♀AR × ♂R	Личинки	—	34	—
		Сеголетки	—	43	—

Примечание: * — уровень значимости $p > 0.05$.

♀R × ♂A (Г — 14%) отмечены значительные различия по частоте потери амплификации фрагмента ITS1 на ранних стадиях развития. Поскольку условия ПЦР и концентрации всех образцов ДНК были одинаковыми, мы предполагаем, что нересипрокный эффект может быть связан с особенностями формирования гибридного генома и влиянием ядерно-цитоплазматических взаимодействий.

Проверка генотипа гибридной самки AR с помощью анализирующих скрещиваний

При генотипировании половозрелых гибридов было обнаружено, что у одной из гибридных самок лещ × плотва подавлена (отсутствует) амплификация ITS1 леща. При изменении условий ПЦР, концентраций матрицы и состава амплификационной смеси результат не менялся — в зо-

не ITS1 леща наблюдалось едва заметное свечение (рис. 3). Для установления генотипа гибридной самки F1 были проведены анализирующие скрещивания с гомозиготными самцами родительских видов. Анализ результатов показал, что экспериментально полученное расщепление классов потомков (AA и AR) совпало с теоретически ожидаемым (соотношение гомо- и гетерозигот 1 : 1) только в скрещивании ♀AR × ♂A на стадиях личинки и сеголетка (табл. 1, $p > 0.05$). В скрещивании ♀AR × ♂R все предполагаемые гетерозиготы AR на обеих стадиях исследования имели только ITS1 плотвы (табл. 1, рис. 4). Полученные результаты подтверждают гомозиготность гибридной самки ♀AR и свидетельствуют о том, что потеря амплификации фрагмента у гибрида F1, которая происходит в соматической ткани (со стадии гастролы), характерна и для клеток генеративного пути.

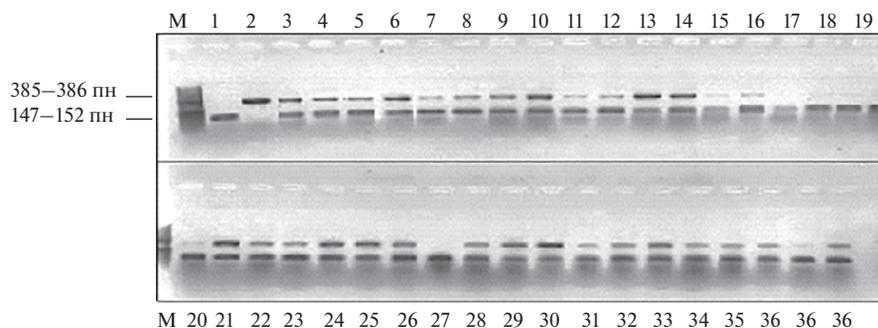


Рис. 2. Электрофоретические паттерны ITS1 рДНК гибридов потомства ♀A3 × ♂R3 на стадии сеголетка. Дорожка 27 соответствует гибриду AR27.

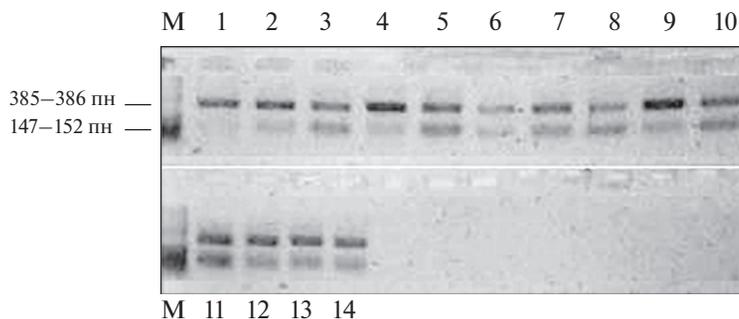


Рис. 3. Электрофоретические паттерны ITS1 рДНК на смеси master mix: 1 – гибридная самка AR, 2–11 – личинки AR, 12–14 – смесь образцов ДНК плотвы и леща в равной пропорции, выделенных из взрослых особей.

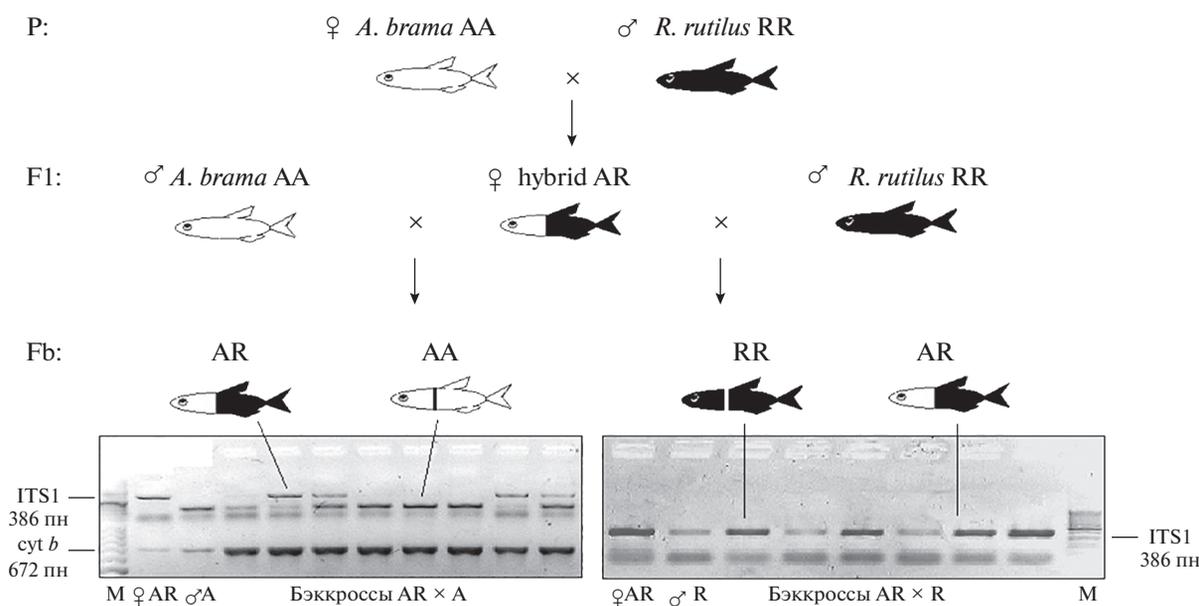


Рис. 4. Наследование ITS1 рДНК в потомстве возвратных скрещиваний ♀AR × ♂R и ♀AR × ♂A. Показаны гомозиготы RR, AA и гетерозиготы AR. Слева длина фрагментов ITS1 плотвы (385–386 пн) и cut b леща (672 пн) не соответствует шкале маркера (100 пн) в связи с последовательным нанесением продуктов ПЦП на один гель.

Морфометрический анализ гибридов с нарушением наследования маркера ITS1

Исторически исследователи фокусировались на фенотипических эффектах, связанных с делециями или инактивацией порогового числа копий генов рДНК. Поскольку причина потери фрагмента ITS1 неизвестна, у гибридов проведен контроль количественных признаков. Гибриды F1 плотвы и леща имеют промежуточные между родительскими видами характеристики с доминированием лещового типа осевого скелета ($Va < Vc$) (Кодухова, Слынько, 2007). Средние значения основных диагностических признаков в потомстве скрещивания ♀A3 × ♂R3 не имеют отличий с выборками экспериментальных гибридов F1 и находятся в пределах изменчивости родительских

видов (табл. 2). Анализ отдельных особей показал, что в случае фиксации фрагмента ITS1 леща у гибрида AR27, отклонения от промежуточного наследования признаков не происходит. В то время как у двух особей AR28 и AR46, которые имеют оба родительских фрагмента ITS1, установлены характеристики плотвы по основным диагностическим признакам ($Ab, l.l., S_D, S_A$) и осевой скелет лещового типа ($Va < Vc$). У гибридной самки AR с фиксацией ITS1 плотвы регистрируются не только диагностические признаки плотвы – $Ab, l.l., S_D, S_A, d.ph.$, но и осевой скелет плотвиного типа ($Va \geq Vc$), что идентифицирует данную особь как гибрид Fb. Таким образом, признаки плотвы проявляются у гибридов F1 как с кодоминантным наследованием рибосомных генов (гибридный

Таблица 2. Сравнение диагностических характеристик у гибридов гомо- и гетерозиготных по ITS1-маркеру

	<i>l.l.</i>	<i>S_D</i>	<i>S_A</i>	<i>Ab</i>	<i>Db</i>	<i>d.ph.</i> [†]	<i>Va</i>	<i>Vc</i>	<i>Vert</i>
Родительские особи									
♀AR	45	8	4	13	9	6–5	16	15	42
♂A	56	12	6	26	9	5–5	14	18	44
♂R	42	8	4	10	9	6–5	16	14	40
♀A3	54	13	6	25	9	5–5	15	18	44
♂R3	43	8	4	11	10	6–5	16	14	40
Гибриды потомства A3×R3									
AR27	47	10	6	16	10	5–5	15	16	42
AR28	44	9	4	10	9	5–5	15	16	42
AR46	43	8	4	11	9	5–5	15	16	41
Гибриды F1, <i>A. brama</i> и <i>R. rutilus</i> (<i>M</i> ± <i>m</i> , <i>lim</i>)									
A3 × R3	48.21 ± 0.29, 43–52	9.73 ± 0.09, 8–11	4.93 ± 0.05, 4–5	15.42 ± 0.12, 10–18	9.81 ± 0.07, 9–10	6–5 (83%) 5–5 (17%)	14.08 ± 0.07, 13–16	16.24 ± 0.09, 15–17	42.00 ± 0.11, 40–43
A × R	46.51 ± 0.23, 44–52	9.93 ± 0.04, 9–10	4.93 ± 0.04, 4–5	14.82 ± 0.12, 13–17	9.01 ± 0.02, 9–10	6–5 (94%) 5–5 (6%)	14.71 ± 0.07, 14–16	16.34 ± 0.09, 15–18	41.33 ± 0.11, 40–43
A × A	55.60 ± 0.21, 50–56	11.74 ± 0.08, 10–13	6.12 ± 0.06, 5–7	25.83 ± 0.14, 21–28	9.00 ± 0, 8–10	5–5 (100%)	14.44 ± 0.07, 14–15	18.81 ± 0.09, 18–20	43.51 ± 0.08, 43–45
R × R	42.92 ± 0.11, 39–44	8.12 ± 0.04, 7–9	4.14 ± 0.04, 3–5	10.32 ± 0.08, 9–11	10.11 ± 0.05, 9–11	6–5 (90.9%) 5–5 (9.1%)	16.52 ± 0.11, 15–18	14.64 ± 0.12, 14–16	41.31 ± 0.13, 39–42

Примечание: [†] – процентное соотношение фенотипов глоточных зубов в потомстве; *M* – среднее значение признака, *m* – ошибка среднего, *lim* – размах изменчивости.

ITS1), так и с фиксацией ITS1 плотвы и обнаружены у 4% гибридов в потомстве.

ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ литературы позволил интерпретировать наблюдаемую в потомстве гибридов F1 плотвы и леща потерю амплификации одного из родительских фрагментов ITS1 рДНК как доминирование рибосомных генов одного из участвующих в скрещивании родителей, впервые описанное (Navashin, 1934) у растения рода *Crepis*. Позднее аналогичное явление обнаружено в гибридах лягушек *Xenopus*, дрозофилл *Drosophila* и у природных аллотетраплоидных видов растений (Reeder, 1985; Volkov et al., 1999; Pikaard, 2000; Skalická et al., 2003). Предполагается, что доминирование одной из родительских рДНК у гибридов устанавливается в ходе согласованной эволюции повторов за счет внутри- и межлокусной конверсии генов как следствие конкуренции между рибосомными генами родительских видов, которые обладают неравным количеством регуляторных элементов (Reeder, 1985).

Показано, что гомогенизация последовательностей рДНК плотвы и леща может иметь место в гибридных геномах, но для полного удаления одной родительской рДНК необходимо более двух поколений, что делает ITS1-маркер надежным инструментом для идентификации гибридов F1 (Wyatt et al., 2006). Однако некоторые авторы допускают или возможность частичной гомогенизации

последовательности рДНК уже в первом поколении гибридов, когда новые варианты вносятся быстрее, чем они могут быть гомогенизированы внутри генома, или формирование промежуточной последовательности, инициируемой межродовой гибридизацией (Челомина и др., 2008). В данном случае эти варианты могут быть более вероятны в связи с тем, что ITS-регион рассматривается как дестабилизирующий элемент в хромосомах (Bouffler, 1998). Слабая амплификация или полное отсутствие амплификации фрагмента ITS1 у гибридов F1 плотвы и леща, что показано в настоящей работе, может быть, согласно объяснению авторов (Wyatt et al., 2006), следствием различного соотношения родительской рДНК в ПЦР-продукте. Если это так, то необходимо отметить, что состояние гибридной рДНК в случае потери амплификации одного фрагмента ITS1 не является случайным, поскольку наследуется бэккроссами AR × R от гибридной самки ♀AR (табл. 1, рис. 4), следовательно, характерно не только для соматической ткани, но и для клеток генеративного пути. В исследовании выявлены некоторые закономерности, которые указывают на нереципрочный характер потери амплификации ITS1 у гибридов F1. В частности, гомозиготы массово регистрируются только в раннем эмбриогенезе со стадии гаструлы в потомстве самка лещ × самец плотва, и в подавляющем большинстве случаев отсутствует амплификация ITS1 плотвы, то есть изменения затрагивают рДНК гибрида, переданную от самца.

Мы предполагаем, что отсутствие амплификации фрагмента ITS1 у гибридов лещ × плотва в раннем эмбриогенезе может быть связано с высоким уровнем полиморфизма последовательности рДНК, что показано ранее для леща и гибридов лещ × плотва (Луданный, 2008; Wyatt et al., 2006). Накопление мутаций в кластере рДНК могло препятствовать отжигу праймеров, делая невозможным дальнейшую амплификацию. Различия, наблюдаемые между реципрокными скрещиваниями, как правило, являются следствием матроклинии, наиболее ярко проявляются в раннем онтогенезе и часто имеют адаптивное значение (Камышев и др., 2007). При этом выбор направления скрещивания – важный фактор регуляции изменчивости потомства, поскольку от взаимодействия ядра и цитоплазмы зависят рекомбинационные показатели (Жученко, Король, 1985). При разработке видоспецифических праймеров были установлены (Wyatt et al., 2006) признаки внутри- и межвидовой рекомбинации, когда у небольшого числа особей плотвы и леща одновременно присутствовали копии двух типов (А и В). При сравнении пяти копий ITS1 волжского леща оказалось, что ни одна из них не имеет полной идентичности с известными гаплотипами А и В из Англии, а копии ITS1 волжской плотвы идентичны гаплотипу А или отличаются одной нуклеотидной заменой (Луданный, 2008). Результаты данного исследования свидетельствуют о большем разнообразии некодирующего спейсера ITS1 рДНК леща и гибридной рДНК в тех скрещиваниях, где самкой является лещ, что может быть связано с особенностями регулирования генома.

У леща как вида с большим размером генома, чем у плотвы (Гинатулин, 1984; Gregory, 2013), для регуляторной функции доступны большие количества повторяющейся ДНК, что минимизирует рекомбинацию в кодирующих участках генома, допускает большее количество макромутаций и способствует разнообразию повторов как регуляторных элементов (Pierce, Milton, 1980; Flavell, 1982). Скрытые разрывы в 10% 28S рРНК у леща, которые в 90% 28S рРНК встречаются у тетраплоидных карповых и способствуют ранней деградации рРНК, влияя тем самым на синтез белка (Лейпольдт, Шмидтке, 1986), возможно, имеют отношение к неслучайному характеру мутационного процесса в ITS-участке. У плотвы, в отличие от леща, отбор благоприятствует вариантам в структурных локусах, что подтверждается при анализе полиморфизма белков и митохондриальных генов (*cyt b*, COXI, COXII, COXIII, D-loop) (Луданный, 2008; Столбунова, 2012; Semenova et al., 2005; Hayden et al., 2011). Соответственно, у данных видов наблюдается корреляция между количеством ДНК и генетической изменчивостью, что свидетельствует о разных эволюционных тактиках геномов плотвы и леща. Большой запас и

нуклеотидное разнообразие неинформативной ДНК у леща сочетается с низкой скоростью накопления замен в мтДНК и ядерных генах, а высокий полиморфизм структурных генов у плотвы сочетается с низким разнообразием повторов. Эти данные свидетельствуют о неравенстве регуляторных элементов и различиях механизмов регулирования геномов, что может быть важнейшим барьером, препятствующим развитию гибридов (Wilson et al., 1974). В подобных обстоятельствах изменение состояния системы повторов способствует появлению альтернативных форм генной активности (Корочкин, 2002), что, как полагают, ведет к сглаживанию регуляторной несовместимости между родительскими геномами при гибридизации (Adams, Wendel, 2004). Существенным аргументом в пользу того, что отсутствие амплификации ITS1 у гибридов плотвы и леща имеет отношение к регуляторной функции и коадаптации родительских геномов, является тот факт, что потеря фрагмента регистрируется только со стадии гастротрофы и на всех последующих стадиях раннего развития (рис. 1), то есть после активации ядерного генома гибридного зародыша и запуска морфогенеза, что происходит у рыб в поздней бластуле (Корочкин, 2002).

Генетическая регуляция развития гибридов лещ × плотва и плотва × лещ осуществляется в соответствии с программой индивидуального развития материнского вида, что показано по экспрессии ферментов, скоростям и срокам прохождения стадий морфогенеза (Крыжановский, 1968; Лапушкина, 2000). Эти данные указывают на существование различий между реципрокными гибридами F1 и на сохранение количества ДНК материнского типа в гибридном геноме, поскольку масса ДНК пропорционально связана с продолжительностью митоза и временем генерации (Беннетт, 1986). Как показывают исследования растений, обеспечение механизмов генетического контроля в гибридном зародыше происходит благодаря подгонке длительности митотических циклов путем добавления или делеции повторов (Рис и др., 1986). Так, селекция на снижение содержания ДНК в клетках ржи у *Triticale* при различии между диплоидными геномами ржи и пшеницы на 33% приводит к значительному повышению как стабильности ядра в развивающемся эндосперме гибридов, так и количества, и качества зрелых семян (Беннетт, 1986).

При образовании гибридного генома лещ × плотва донорный геном самца меньше по количеству ДНК, поэтому можно предположить, что при выравнивании числа повторов между родительскими рДНК для поддержания оптимальной длительности митоза в соответствии с программой материнского вида им необходимо увеличить, а гибридам плотва × лещ – сократить количество

ДНК в донорном гаплоидном геноме. В противном случае программы индивидуального развития реципрокных гибридов будут отличаться по времени от материнского вида. Вполне возможно, что эти манипуляции с избыточной частью генома могли вызывать изменения в соотношении родительской рДНК у гибридов F1, а различия регуляторных механизмов у самок плотвы и леща могли стать причиной нереципрочного эффекта потери амплификации фрагмента ITS1. Сходство реципрокных гибридов AR и RA с материнским видом обеспечивается благодаря тому, что репликация и репарация избыточной ДНК в клетке скоординирована с функцией митохондрий, чтобы обеспечивать средства в ответ на изменение энергетических потребностей во время митоза (Coelho et al., 2002). Соответственно, различия между реципрокными гибридами AR и RA по скорости морфогенеза и уровню полиморфизма ITS1-региона являются следствием ядерно-цитоплазматического конфликта, связанного с разным объемом избыточной ДНК у родительских видов. Поэтому дивергенция по размеру геномов при отдаленной гибридизации, по-видимому, может рассматриваться как эндогенный фактор для развития ядерно-цитоплазматической несовместимости. Подобно тому, как различия по скорости эволюции мтДНК плотвы и леща способствуют асимметричной жизнеспособности аллоплазматических бэкриссов и развитию репродуктивного барьера (Столбунова, 2017).

Преодоление негомологичности ядерных геномов родительских видов может решаться за счет эктопической рекомбинации в повторяющихся последовательностях ДНК соматических клеток, которая осуществляется путем генной конверсии (или неравного обмена) при репарации несовершенных гетеродуплексов, приводящей к образованию гомодуплексов (Доувер и др., 1986; Gangloff et al., 1996). Как известно, большая часть рекомбинационного ремонта (репарации) не приводит к перестройке повторяющихся структур (Zou, Rothstein, 1997), в этом случае, по-видимому, гибриды F1 плотвы и леща имеют оба родительских фрагмента ITS1. Направление репарации может сдвигаться в сторону последовательности одной из цепей, что наблюдается во многих исследованиях, включая настоящее, когда в большинстве случаев изменения затрагивают рДНК гибрида, переданную от самца (Song et al., 1995; Gangloff et al., 1996; Fujiwara et al., 1997; Skalická et al., 2003).

Отбор и фиксация вариантов в геноме и популяции путем направленной генной конверсии может сопровождаться уменьшением общего количества потомков (Dover, 1982). При сравнении стадий раннего развития и сеголетка показано, что гибриды лещ × плотва с фиксацией ITS1 самки имеют низкую жизнеспособность (рис. 1, 2), в

то время как вариант ITS1 самца плотвы имеет жизнеспособную и фертильную особь женского пола (рис. 4). Поскольку доминирование рДНК у гибридов может зависеть от специфических особенностей генотипа и комбинации аллелей (Matyóšek et al., 2007), мы не исключаем, что фиксация материнского или отцовского фрагмента ITS1, а также жизнеспособность этих гибридов, могут быть связаны с полом особей. Так, у *Drosophila* рДНК расположена на половых хромосомах, а внутрилуксная делеция *bobbed* сопровождается снижением жизнеспособности особей (Корочкин, 2002).

Интересной особенностью является тот факт, что гибридная самка AR наследует от самца плотвы не только ITS1, но и ряд диагностических морфологических признаков (*l.l.*, *S_D*, *S_A*, *Ab*, *d.ph.*, *Va ≥ Vc*), включая тип осевого скелета, что не характерно для гибридов F1 (табл. 2). При этом фиксация ITS1 самки леща не влияет на морфотип гибрида AR27 (рис. 2). В связи с тем, что гетерозис у межродовых гибридов F1 отсутствует, доминирование признаков плотвы может рассматриваться как результат инактивации одного из пары генов (аллельное исключение), как следствие гемизиготности, делеций или гетерохроматизации участка хромосомы (Корочкин, 2002).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при анализе экспериментальных гибридов плотвы и леща с помощью видоспецифических праймеров, предложенных как быстрая тест-система для идентификации гибридов F1 плотвы и леща из естественной среды (Wyatt et al., 2006), нарушения наследования сыв *b*-маркера мтДНК не наблюдалось. В отношении ядерного маркера ITS1 рДНК обнаружено нарушение кодоминантного наследования с фиксацией одного родительского варианта, что указывает на возможность ошибочных выводов при тестировании природных популяций. Данные показывают, что отсутствие амплификации фрагмента ITS1 рДНК является характерной особенностью раннего развития гибридов направления самка лещ × самец плотва, поскольку на стадии сеголетка процент нарушений амплификации значительно снижен. Поэтому для использования данного набора праймеров при идентификации гибридов нет никаких препятствий. Предположительно, отсутствие амплификации фрагмента ITS1 рДНК у гибридов F1 со стадии гастролы происходит вследствие неспецифической посадки праймеров как результат изменения родительской последовательности кластера рибосомных генов на этапе создания нового варианта интегрированности генома. Больше разнообразие гаплотипов ITS1-региона у гибридов лещ × плотва по сравнению с гибридами плотва × лещ (Лудан-

ный, 2008) подтверждает предположение о формировании промежуточной последовательности. В качестве основного эндогенного фактора различной изменчивости ITS1 рДНК у реципрокных гибридов, регуляция развития которых происходит в соответствии с программой материнского вида, в работе рассматривается разница размеров геномов плотвы и леща. Большая доля избыточной ДНК, высокий уровень полиморфизма повторов и консервативность структурных ядерных генов и мтДНК у леща, по сравнению с плотвой, указывают на неравное количество регуляторных элементов и различия механизмов регулирования геномов родительских видов. Поэтому доминирование ITS1 рДНК у гибридов F1 леща и плотвы в раннем развитии, как в случае с другими организмами (Reeder, 1985), может быть результатом конкуренции между рибосомными генами родительских видов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы высоко ценят вклад Ю.В. Слынько, который организовал работу по разведению и изучению гибридов. Авторы выражают благодарность С.К. Семеновой, Р.И. Луданному, Г.Н. Хрисанфовой за обучение, сотрудничество и консультации по вопросам изучения гибридов, а также Н.В. Овчинниковой, Е.Н. Пакуновой и Е.И. Лавровой за помощь на исследовательской станции рыбного хозяйства ИБВВ, п. Борок.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Данная рукопись является частью диссертационной работы “Особенности наследования локусов ядерного генома и мтДНК при отдаленной гибридизации плотвы (*Rutilus rutilus* L.) и леща (*Abramis brama* L.)” (Столбунова, 2012). Выполнена при финансовой поддержке Программы Президиума РАН “Биоразнообразие”, подпрограммы “Генофонды и генетическое разнообразие”.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В ходе эксперимента соблюдались все стандарты работы и гуманное отношение к животным. Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Аксенов А.П., Спиридонов С.Э. Разнообразие гаплотипов ITS рДНК у нематод *Haemonchus contortus* (Tricho-

strongyloidea, Rhabditida) от одного хозяина // Изв. РАН. Серия биол. 2013. № 1. С. 43–52.

Беннетт М.Д. Нуклеотипическая основа пространственной упорядоченности хромосом эукариот и ее значение для эволюции генома и фенотипической изменчивости // Эволюция генома. М.: Мир, 1986. С. 234–255.

Владыченская Н.С., Кедрова О.С. Строение геномов гибридных форм рыб, полученных при межвидовом скрещивании // Генетика. 1982. Т. 18. № 10. С. 1721–1727.

Гинатулин А.А. Структура, организация и эволюция генома позвоночных. М.: Наука, 1984. 293 с.

Дислер Н.Н. Органы чувств системы боковой линии и их значение в поведении рыб. М.: АН СССР, 1960. 310 с.

Доувер Г., Браун С., Коэн Э. и др. Динамика эволюции генома и дифференцировки видов // Эволюция генома. М.: Мир, 1986. С. 329–353.

Животовский Л.А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 271 с.

Жученко А.А., Король А.Б. Рекомбинация в эволюции и селекции. М.: Наука, 1985. 400 с.

Камышев Н.Г., Брагина Ю.В., Беседина Н.Г. и др. Материнское наследование поведенческих признаков: возможные механизмы // Экол. генет. 2007. Т. 5. № 4. С. 44–54.

Кодухова Ю.В., Слынько Ю.В. Закономерности наследования морфологических признаков у гибридов первого поколения леща *Abramis brama* L. и плотвы *Rutilus rutilus* L. (Cyprinidae) // Биол. внутр. вод. 2007. № 4. С. 70–75.

Корочкин Л.И. Биология индивидуального развития (генетический аспект). М.: МГУ, 2002. 264 с.

Крыжановский С.Г. Закономерности развития гибридов рыб различных систематических категорий. М.: Наука, 1968. 220 с.

Лапушкина Е.Е. Эколого-генетический анализ раннего развития отдаленных гибридов F1 леща (*Abramis brama* L.), плотвы (*Rutilus rutilus* L.) и синца (*Abramis ballerus* L.): Дис. ... канд. биол. наук. Борок: ИБВВ РАН, 2002. 144 с.

Лейпольдт М., Шмидтке И. Экспрессия генов у филогенетически полиплоидных организмов // Эволюция генома. М.: Мир, 1986. С. 217–232.

Луданный Р.И. Генетическая идентификация и дифференциация представителей семейства Карповых (Cyprinidae): Дис. ... канд. биол. наук. М.: Ин-т. биол. гена РАН, 2008. 140 с.

Рис Г., Дженкинс Д., Сил А.Д. и др. О фенотипических эффектах изменений количества ДНК // Эволюция генома. М.: Мир, 1986. С. 281–290.

Рябов И.Н. Методы гибридизации рыб на примере семейства карповых // Исследование размножения и развития рыб / Ред. Б.В. Кошелев, М.В. Гулидов. М.: Наука, 1981. С. 195–215.

Слынько Ю.В., Столбунова В.В. Элиминация родительского ITS1 фрагмента рДНК в первом поколении межвидовых гибридов леща *Abramis brama* (L.) и плотвы *Rutilus rutilus* (L.) // Докл. РАН. 2010. Т. 430. № 1. С. 139–141.

- Слынько Е.Е., Слынько Ю.В. Жизнеспособность гибридов первого поколения плотвы (*Rutilus rutilus* L.), леща (*Abramis brama* L.) и синца (*Abramis ballerus* L.) на ранних стадиях развития // Биол. внутр. вод. 2010. № 2. С. 57–61.
- Столбунова В.В. Особенности наследования локусов ядерного генома и мтДНК при отдаленной гибридизации плотвы (*Rutilus rutilus* L.) и леща (*Abramis brama* L.): Дис. ... канд. биол. наук. М.: ИОГен РАН, 2012. 136 с.
- Столбунова В.В. Межгеномный конфликт при отдаленной гибридизации леща (*Abramis brama* L.) и плотвы (*Rutilus rutilus* L.) // Успехи соврем. биол. 2017. Т. 137. № 4. С. 361–372.
- Челомина Г.Н., Рожкован К.В., Рачек Е.И., Журавлев Ю.Н. Повышенное генетическое разнообразие 18S рДНК в геномах F1 гибридов (*Acipenser shrenckii* × *A. vaeri* и *A. schrenckii* × *Huso dauricus*) осетровых рыб // ДАН. 2008. Т. 421. № 6. С. 845–849.
- Adams K.L., Wendel J.F. Exploring the genomic mysteries of polyploidy in cotton // Biol. J. Linn. Soc. 2004. V. 82. P. 573–581.
- Arnheim N., Treco D., Taylor B., Eicher E.M. Distribution of ribosomal gene length variants among mouse chromosomes // PNAS USA. 1982. V. 79 (15). P. 4677–4680.
- Bianco P.G., Aprea G., Balleto E. et al. The karyology of the cyprinid genera *Scardinius* and *Rutilus* in southern Europe // Ichthyol. Res. 2004. V. 51. P. 274–278.
- Bouffler S.D. Involvement of telomeric sequences in chromosomal aberrations // Mutat. Res. 1998. V. 404. P. 199–204.
- Buckler E.S., Ippolito A., Holtsford T.P. The evolution of ribosomal DNA: divergent paralogues and phylogenetic implications // Genetics. 1997. V. 145. P. 821–832.
- Campbell C.S., Wojciechowski M.F., Baldwin B.G. et al. Persistent nuclear ribosomal DNA sequence polymorphism in the *Amelanchier agamic* complex (Rosaceae) // Mol. Biol. Evol. 1997. V. 14. P. 81–90.
- Cluster P.D., Marinković D., Allard R.W., Ayala F.J. Correlations between development rates, enzyme activities, ribosomal DNA spacer-length phenotypes and adaptation in *Drosophila melanogaster* // PNAS USA. 1987. V. 84. P. 610–614.
- Coelho P.S.R., Bryan A.C., Kumar A. et al. A novel mitochondrial protein, Tar1p, is encoded on the antisense strand of the nuclear 25S rDNA // Gen. Dev. 2002. V. 16. P. 2755–2760.
- Dover G. Molecular drive: a cohesive mode of species evolution // Nature. 1982. V. 299. P. 111–117.
- Flavell R.B. Sequence amplification, deletion and rearrangement: major sources of variation during species divergence // Genome Evolution / Eds G.A. Dover, R.B. Flavell. L.: Academic Press, 1982. P. 301–324.
- Fujiwara A., Abe S., Yamaha E. et al. Uniparental chromosome elimination in the early embryogenesis of the inviable salmonid hybrids between masu salmon female and rainbow trout male // Chromosoma. 1997. V. 106. P. 44–52.
- Gangloff S., Zou H., Rothstein R. Gene conversion plays the major role in controlling the stability of large tandem repeats in yeast // EMBO J. 1996. V. 15. P. 1715–1725.
- Gregory T.R. Animal genome size database. 2013. <http://www.genomesize.com>.
- Hayden B., Coscia I., Mariani S. Low cytochrome *b* variation in bream *Abramis brama* // J. Fish Biol. 2011. V. 78. P. 1579–1587.
- Hillis D.M., Dixon M.T. Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference // Quart. Rev. Biol. 1991. V. 66. P. 411–453.
- Kobayashi T., Heck D.J., Nomura M., Horiuchi T. Expansion and contraction of ribosomal DNA repeats in *Saccharomyces cerevisiae*: requirement of replication fork blocking (Fob1) protein and the role of RNA polymerase I // Genes Dev. 1998. V. 12. P. 3821–3830.
- Kobayashi T. Strategies to maintain the stability of the ribosomal RNA gene repeats – collaboration of recombination, cohesion, and condensation // Gen. Genet. Syst. 2006. V. 81. P. 155–161.
- Krieger J., Fuerst P.A. Characterization of nuclear 18S rRNA gene sequence diversity and expression in an individual lake sturgeon (*Acipenser fulvescens*) // J. App. Ichthyol. 2004. V. 20. P. 433–439.
- Mable B.K. Polyploids and hybrids in changing environments: winners or losers in the struggle for adaptation? // Heredity. 2013. V. 110. P. 95–96.
- Mathew C.G.P. The isolation of high molecular weight eukaryotic DNA // Meth. Mol. Biol. 1984. V. 2. P. 31–34.
- Matyášek R., Tate J.A., Lim Y.K. et al. Concerted evolution of rDNA in recently formed *Tragopogon* allotetraploids is typically associated with an inverse correlation between gene copy number and expression // Genetics. 2007. V. 176. P. 2509–2519.
- Navashin M. Chromosome alterations caused by hybridization and their bearing upon certain general genetic problems // Cytologia. 1934. V. 5. P. 169–203.
- Ocalewicz K., Jankun M., Boroń A. Karyotypic characterization of bream, *Abramis brama* (Pisces, Cyprinidae) // Folia Zool. 2004. V. 53. P. 329–334.
- Olmo E. Genome size and evolutionary diversification in vertebrates // It. J. Zool. 2006. V. 73 (2). P. 167–171.
- Pereira C.S., Aboim M.A., Ráb P., Collares-Pereira M.J. Introgressive hybridization as a promoter of genome reshuffling in natural homoploid fish hybrids (Cyprinidae, Leuciscinae) // Heredity. 2014. V. 112 (3). P. 343–350.
- Reeder R.H. Mechanisms of nucleolar dominance in animals and plants // J. Cell Biol. 1985. V. 101. P. 2013–2016.
- Pierce B.A., Mitton J.B. The relationship between genome size and genetic variation // Am. Nat. 1980. V. 116. P. 850–861.
- Pikaard C.S. Nucleolar dominance: uniparental gene silencing on a multi-megabase scale in genitic hybrids // Plant Mol. Biol. 2000. V. 43. P. 163–177.
- Prokopowich C.D., Gregory T.R., Crease T.J. The correlation between rDNA copy number and genome size in eukaryotes // Genome. 2003. V. 46. P. 48–50.
- Robles F., La Herran R., Ludwig A. et al. Genomic organization and evolution of the 5S ribosomal DNA in the ancient fish sturgeon // Genome. 2005. V. 48. P. 18–28.
- Rodland K.D., Russell P.J. Regulation of ribosomal RNA cistron number in a strain of *Neurospora crassa* with a

- duplication of the nucleolus organizer region // Biochim. Biophys. Acta. 1982. V. 697. P. 162–169.
- Semenova S.K., Ludanny R.I., Chisanfova G.G. et al. Genome variability of common bream (*Abramis brama*), roach (*Rutilus rutilus*) and their F1 hybrids // Book of abstract symposium “Hybridization in animals – extent, processes and evolutionary impact” (Frankfurt-an-Main, October 12–15, 2005). Frankfurt-an-Main: 2005. P. 38.
- Skalická K., Lim K.Y., Matyásek R. et al. Rapid evolution of parental rDNA in a synthetic tobacco allotetraploid line // Am. J. Bot. 2003. V. 90 (7). P. 988–996.
- Song K.M., Lu P., Tang K.L., Osborn T.C. Rapid genome change in synthetic polyploids of *Brassica* and its implications for polyploid evolution // PNAS USA. 1995. V. 92. P. 7719–7723.
- Volkov R.A., Borisjuk N.V., Panchuk I.I. et al. Elimination and rearrangement of parental rDNA in the allotetraploid *Nicotiana tabacum* // Mol. Biol. Evol. 1999. V. 16. P. 311–320.
- Volkov R.A., Komarova N.Y., Hemleben V. Ribosomal DNA in plant hybrids: inheritance, rearrangement, expression // Mol. Ecol. 2007. V. 5 (6). P. 261–276.
- Wilson A.C., Maxson L.R., Sarich V.M. Two types of molecular evolution. Evidence from studies of interspecific hybridization // PNAS USA. 1974. V. 71 (7). P. 2843–2847.
- Wyatt P.M.W., Pitts C.S., Butlin R.K. A molecular approach to detect hybridization between bream *Abramis brama*, roach *Rutilus rutilus* and rudd *Scardinius erythrophthalmus* // J. Fish Biol. 2006. V. 69. P. 52–71.
- Zou H., Rothstein R. Holliday junctions accumulate in replication mutants via a RecA homolog-independent mechanism // Cell. 1997. V. 90 (1). P. 87–96.

Inheritance of ITS DNA in Reciprocal Hybrids *Rutilus rutilus* (L.) and *Abramis brama* (L.) in Early Ontogenesis

V. V. Stolbunova^{a, *} and Y. V. Koduhova^a

^a*Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences, Borok, Yaroslavl oblast, Russia*

*e-mail: vvsto@mail.ru

In the first generation of intergeneric hybrids of roach (*Rutilus rutilus* L.) and bream (*Abramis brama* L.), a violation of the codominant inheritance of the nuclear marker ITS1 ribosomal DNA (rDNA) with fixation of one parental variant was previously found. Comparing reciprocal crosses, it was shown that homozygotes are recorded from the gastrula stage and at all subsequent stages of embryonic development, only in crosses female bream male roach, which indicates the influence of nuclear-cytoplasmic interactions. In this case, the changes affect the rDNA of the hybrid transmitted both from the male and from the female. At the stage of underyearlings, the number of bream × roach homozygotes with the dominance of the ITS1 variant of the female bream decreases, which may indicate a low viability of these individuals. In the case of ITS1 fixation of roach, which was found in the hybrid female ♀AR (*A. brama* × *R. rutilus*), one can note the viability, fertility and dominance of a number of morphological traits of roach in an individual of a given genotype. Analysis of ITS1 rDNA segregation in the offspring of hybrid female mating with roach and bream males confirmed the hybrid female genotype. It is assumed that the absence of ITS1 amplification in bream × roach hybrids can be associated with a high level of ITS1 region polymorphism of the bream and bream × roach hybrids, which was established earlier, and the difference in the regulatory mechanisms of parental genomes. Possible causes of differences in the variability of ITS1 rDNA in hybrids in reciprocal crosses are discussed.

Keywords: Cyprinidae, remote hybridization, first-generation hybrids, ribosomal gene dominance

УДК 575:577.121.7:577.151.0:577.23:591.128.1:591.128.2:597:598:599:612.5

*“Занимайтесь наукой как вечной молодостью!
И пусть никто не сможет вам помешать написать то,
что вы должны написать”
Алексей Федорович Лосев*

ГИПОТЕЗА О МЕХАНИЗМАХ ЭВОЛЮЦИОННОГО ПРОЦЕССА И ЕГО КАНАЛИЗАЦИИ НА ПРИМЕРЕ ПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ. ЧАСТЬ 1. ЭВОЛЮЦИЯ, СВЯЗАННАЯ С ВЫСОКОЙ ТЕМПЕРАТУРОЙ ТЕЛА

© 2021 г. В. А. Черлин*

Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

**e-mail: cherlin51@mail.ru*

Поступила в редакцию 27.06.2020 г.

После доработки 14.07.2020 г.

Принята к публикации 14.09.2020 г.

В статье приводятся материалы, иллюстрирующие принцип стабилизации высокой температуры тела в эволюции позвоночных животных. В эволюции у разных групп позвоночных, начиная с рыб, появлялись случаи эндотермного повышения температуры тела. Но анализ показал, что в разных группах позвоночных, от хрящевых и костных рыб до плацентарных млекопитающих и птиц, проявления эндотермии имеют разные происхождение и механизмы. И даже среди млекопитающих эндотермные проявления по своей природе неодинаковы. В различных филетических ветвях древних рептилий появлялись группы с повышенным уровнем базального метаболизма, биохимическими характеристиками и морфофизиологическими особенностями, сопровождавшимися повышением температуры тела. Косвенное доказательство этого – появление на спине у ряда групп древних рептилий из разных эволюционных ветвей дополнительных, больших по площади образований – плоских костных выростов, или кожных парусов, натянутых на сильно удлинённые остистые отростки спинных позвонков. Единственное адекватное объяснение их функции – эффективная отдача большого количества избыточного тепла, образовавшегося в результате эндогенного термogenesis. В статье проводится анализ эволюционного происхождения эндотермии, на большом материале доказываются объективность принципа стабилизации высокой температуры тела в эволюции позвоночных животных и то, что он является одной из первопричин и мощной направляющей силой их эволюции. Разбираются вопросы, зачем позвоночным животным нужна высокая температура тела и почему она нужна в первую очередь именно позвоночным.

Ключевые слова: позвоночные животные, стабилизация высокой температуры тела в эволюции позвоночных, эволюция эндотермии, эндотермия древних рептилий

DOI: 10.31857/S004213242101018X

ВВЕДЕНИЕ

Жизнь – невообразимо сложное, комплексное явление. И она находится в постоянной динамике, изменении, развитии, эволюции. Это, безусловно, единая сложная функциональная система, внутри которой протекает немыслимое количество сложнейших процессов на всех уровнях ее организации, начиная с самого элементарного (Черлин, 2012). Все эти процессы находятся в постоянном многоплановом взаимодействии друг с другом и с окружающей средой. Вероятно, жизнь – самое сложное явление во Вселенной!

Причины, факторы, движущие силы и реализующие механизмы процесса эволюции Жизни – предмет постоянных обсуждений и споров. Наши представления об этом процессе в большей или меньшей степени обоснованы, они базируются, с одной стороны, на описанных в литературе научных фактах, с другой – на анализе идей некоторых авторов, а с третьей – на материалах наших собственных научных исследований, на логических построениях и умозаключениях, сформировавшихся на их основе. Обвинить нашу концепцию в недостаточной обоснованности

и экспериментальной неподтвержденности, безусловно, можно. Поэтому в данной статье мы решили изложить в целостности, объяснить и подтвердить доступными фактами свою точку зрения на этот глобальный процесс.

ИСХОДНЫЙ МАТЕРИАЛ ДЛЯ РАЗМЫШЛЕНИЙ

В течение более чем сорока лет занимаясь вопросами термобиологии рептилий и эволюции терморегуляции у позвоночных животных, мы получили материалы, которые позволили прийти к ряду общих выводов о некоторых механизмах эволюционного процесса. В основе наших заключений лежит целый пласт явлений, связанных с направленностью эволюции позвоночных животных и механизмами этой направленности. Этот пласт явлений имеет в своей основе принцип стабилизации высокой температуры тела в эволюции позвоночных. Вполне возможно, что это не единственный, но, тем не менее, очень важный пласт биологических явлений, на примере которого можно проиллюстрировать специфический механизм, специфический путь течения эволюционного процесса. Но поскольку мы занимались именно термобиологией, то основной упор в нашем рассмотрении мы сделаем именно на проблемы, связанные с температурой.

Принцип стабилизации высокой температуры тела в эволюции позвоночных

Еще в 1940 г. в журнале “Успехи современной биологии” замечательный, но “неформатный” и отчасти поэтому забытый советский биолог Александр Владимирович Рюмин (Черлин и др., 2016) опубликовал статью о том, что в эволюции позвоночных животных наблюдается тенденция ко все большей стабилизации высокого уровня температуры тела (Рюмин, 1940). Выводы его статьи были хорошо обоснованы многочисленными опытами и анализом материала, а также литературными данными. Однако научной общественностью эта статья, практически, не была замечена. Мы, занимаясь проблемами термобиологии рептилий и эволюции терморегуляции у позвоночных, на основе своих собственных исследований вышли на такие же теоретические выводы. Но поскольку к тому времени мы еще не были знакомы с публикациями А.В. Рюмина (его работы, практически, никто не цитировал, о нем вообще почти никто не вспоминал), то подготовили и опубликовали (по случайности в том же самом журнале, что и Рюмин, — “Успехи современной биологии”) собственную статью на эту же тему (Черлин, 1990). Причем оказалось, что наши выводы почти полностью совпали с выводами А.В. Рюмина, к которым он пришел на 50 лет раньше нас!

Итак, принцип стабилизации высокой температуры тела в эволюции позвоночных животных: у позвоночных животных в процессе эволюции наблюдается направленность на все большую стабилизацию высокой температуры тела (Рюмин, 1940; Черлин, 1990, 2012).

Проявления принципа стабилизации

Рыбы как класс в целом живут при температурах воды (и тела) в диапазоне примерно от -2°C (Bargelloni et al., 1998) до в среднем $25-30^{\circ}\text{C}$ (Голованов, 2013) и максимально до 52°C ¹ (Анисимова, Лавровский, 1983). У большинства рыб предпочитаемые температуры тела лежат в диапазоне от $20-25^{\circ}$ до 30° (Голованов, 2013), хотя у большого числа холодолюбивых видов предпочитаемые температуры тела существенно ниже.

У амфибий ситуация с температурами жизнедеятельности очень сходна: многие виды активны при температурах тела $25-30^{\circ}$ (Navas et al., 2013), некоторые — при $0-17^{\circ}$, например сибирский углозуб *Salamandrella keyserlingii* (Ярцев, Куранова, 2013), огненная саламандра *Salamandra salamandra* (Гуржий, 2006), японская гигантская саламандра (Okada et al., 2008), а у отдельных видов температура тела иногда доходит до 39° (Rausch et al., 2008). Термальные предпочтения, как и у рыб, выражены слабо.

Рептилиям для их успешной жизнедеятельности необходимо, чтобы в течение всего периода активности или его части, в ежедневной фазе покоя или в других состояниях, то есть хотя бы в течение части суток (и части года) животные имели возможность удерживать температуру тела в достаточно узком и высоком диапазоне — у многих групп примерно $28-37^{\circ}$, у других — $35-40^{\circ}$, у некоторых — $38-45^{\circ}$ (Черлин, 2014).

У эндотермов (птиц и млекопитающих) за счет биохимических механизмов термогенеза температура тела более или менее стабильно высокая. У млекопитающих температура тела в среднем от 37 до 39.5° , у птиц она в среднем выше 37° и доходит у ряда видов до $42-45.5^{\circ}$ (Шмидт-Ниельсен, 1982; Колтун, Русин, 2016). Причем эта стабилизация высокой температуры тела происходит уже, практически, в течение всех суток (лишь в ряде случаев несколько снижается во сне) и на протяжении большей части года (кроме зимнеящих животных в гибернации). Другими словами, стабилизация высокой температуры тела становится у них постоянной и окончательной даже в очень широком спектре температурных условий внешней среды.

¹ Все температуры в нашей статье указываются в градусах Цельсия ($^{\circ}\text{C}$).

Одна из основных причин проявления принципа стабилизации – энергетическая оптимизация работы ферментов

По мнению А.В. Рюмина (Рюмин, 1940) и по нашему мнению тоже (Черлин, 1990, 2012), основной биологический смысл стабилизации высокой температуры тела в эволюции позвоночных животных заключается в энергетической оптимизации работы ферментов в организме животных.

Ферменты – важнейшие функциональные элементы всех живых систем, без которых жизнь как явление существовать не может. Температура очень сильно влияет на скорость и эффективность работы ферментов. В оптимальной температурной зоне ферменты работают максимально эффективно, то есть химические реакции с их участием происходят быстрее всего и с наименьшими затратами энергии, поскольку энергия реагирующих молекул может повышаться за счет высокой температуры, а не за счет специальных энергетически затратных биохимических механизмов (Биохимия, 2004). Таким образом, минимизация энергетических затрат при работе ферментов – одна из важнейших задач любой живой системы, которую организм старается решить, в частности, повышением температуры тела.

Логично было бы предположить: если живая система успешно функционирует, значит, ферменты должны были бы работать в ней в оптимальном или близком к нему режиме.

Однако, как ни странно, на деле ситуация обстоит далеко не так однозначно. Показано, что много пищеварительных, дыхательных и других важных ферментов у 13 видов рыб умеренной зоны имеют температурный оптимум² работы в диапазоне от 30–40° до 50–60° (Коштоянц, Коржув, 1934; Кузьмина, 1986), то есть при температурах однозначно более высоких, чем температуры тела рыб, с которыми они в природе реально живут и зачастую при которых они вообще могут выжить (Коштоянц, 1950; Ананичев, 1959; Кузьмина, 1986).

Температурный оптимум работы многих ферментов у рептилий, наоборот, чаще всего находится близко к диапазону температур тела, при котором эти животные нормально активны (Licht, 1964; Licht, Basu, 1967; Dawson, 1975).

Для большинства ферментов у теплокровных животных температурный оптимум их работы приходится на диапазон примерно 37–40° (Сравнительная физиология..., 1977; Биохимия, 2004),

² Температурный оптимум – температура, при которой каталитическая активность фермента максимальна. “Температура, при которой скорость реакции максимальна, называется температурным оптимумом” (Чиркин, Данченко, 2010, с. 78).

то есть почти полностью совпадает с зоной температур тела, с которой постоянно живут эти животные.

Таким образом, температура тела у рыб ниже оптимальной температурной зоны работы большинства важнейших ферментов на 30–50°. Для амфибий характерна примерно такая же разница, хотя отмечается некоторая тенденция к ее уменьшению, поскольку некоторые амфибии иногда греются. Температура тела рептилий в периоды активности и в другое время (обращаем внимание – периодически) подходит очень близко к оптимальному уровню работы ферментов. У птиц и млекопитающих с высокой температурой тела эти различия снижаются почти до 0° уже постоянно (Черлин, 2017; Cherlin, 2015).

Следовательно, температура тела у позвоночных животных в эволюции фактически все более приближается и стабилизируется на компромиссном достаточно высоком уровне, который “поджимается” снизу высокой оптимальной температурой работы многих ферментов, а сверху – деструкцией важных для жизнедеятельности организма белков и других соединений (особенно в нервной системе).

Другие возможные причины стабилизации высокой температуры тела

В литературе можно найти и другие обоснования возможных причин проявления принципа стабилизации высокой температуры тела.

Так, важным биологическим смыслом и причиной стабилизации высокой температуры тела в эволюции позвоночных можно считать установление оптимального равновесия между анаболическими и катаболическими процессами (Рюмин, 1940; Черлин, 1990). А.В. Рюмин предполагал, что такое равновесие фиксируется примерно при температуре около 37°. Это подтверждается и современными исследованиями (Эстерле, 2000).

Кроме того, А.В. Рюмин писал: “...основная закономерность в развитии холоднокровных позвоночных – это повышение оптимальной температуры тела до температуры, при которой возможно дальнейшее прогрессивное развитие” (Рюмин, 1939, с. 77). Он представил вполне определенные обоснования этого положения, но здесь его доводы мы пересказывать не будем.

Эволюционные последствия действия принципа стабилизации для позвоночных животных и механизмы его реализации. Эволюция эндотермии

Для того чтобы принцип стабилизации высокой температуры тела в эволюции позвоночных животных реализовался, возможны два пути: за

счет преимущественно внешних (эктотермия) или преимущественно внутренних (эндотермия) источников тепла. При этом, в любом случае, нужно иметь возможность удовлетворить два условия: иметь способ подогрева тела (эктотермный или эндотермный) и способ регулирования его температуры.

Для эктотермов есть три условия, способствующие решению этих задач:

1) нужно оказаться во внешней среде с таким сочетанием разных термальных факторов (теплого излучения солнца и/или окружающих предметов, температуры воздуха и почвы), при котором имелся бы по крайней мере один превалирующий, доставляющий к телу животного мощный тепловой поток;

2) внешняя среда должна иметь существенную мозаичность, контрастность термальных условий от участков с высокой до участков с низкой тепловой нагрузкой, и все эти участки для животного должны быть одинаково доступны (необходимость высокой подвижности, активности животных);

3) в нервной системе должен быть прежде всего развит механизм поведенческой терморегуляции, позволяющий изменять относительный тепловой поток от разных тепловых факторов, менять тепловой баланс тела при сохранении заданного уровня его температуры.

Первый пункт явно требует выбора внешней среды с подходящими параметрами. Водная среда, в которой обитали амфибии, этим требованиям явно не удовлетворяет. Мощный тепловой поток (инсоляция и температура почвы) и контрастная термальная мозаичность среды доступны только на суше.

Второй пункт также может быть реализован только на суше, и к тому же он требует развития в определенных направлениях многих морфофизиологических систем организма: опорно-двигательной, дыхательной, покровной, сердечно-сосудистой, нервной, энергообеспечения и др.

Эндотермы решили эти проблемы в большей степени за счет внутренних механизмов (эндогенный термогенез и регуляция температуры за счет изменений интенсивности термогенеза и теплоотдачи), осуществив соответствующие эволюционные перестройки морфофизиологических систем организма.

Однако исследования в основном последних десятилетий показывают, что понятие эндотермии само по себе невероятно сложное, разноплановое и еще далеко не познанное. А то, что о нем к настоящему времени известно, поставило много новых вопросов по сути проблемы.

Дело в том, что у разных групп позвоночных животных известно множество стратегий прояв-

ления эндотермных свойств. Чаще всего, когда речь заходит об эндотермии у позвоночных животных, о термогенезе, то вспоминают и обсуждают классические модельные группы — млекопитающих и птиц. Но эндотермия в той или иной форме и степени известна у всех групп позвоночных. Поэтому, начнем с рыб.

ЭНДОТЕРМИЯ У РЫБ

Хрящевые и костные рыбы независимо друг от друга развили специфические формы мышечной эндотермии, позволяющие им поднять температуру своего тела относительно окружающей воды. Этих специфических стратегий в основном две.

1) Тепло становится побочным продуктом действий медленно сокращающихся аэробных красных мышц во время постоянного плавания (эндотермия красных мышц). Мало того, области вокруг красных мышц анатомически организуются в своеобразный термостат, прежде всего, за счет развития сети противоточных кровеносных сосудов (чудесная сеть), призванной сохранять тепло внутри тела (Graham et al., 1983; Graham, Dickson, 2000, 2001; Katz, 2002; Dickson, Graham, 2004).

2) Глазодвигательные мышцы превращаются в специализированный нагревательный орган, в котором мышечные волокна теряют сократительную активность и выполняют холостые циклы кальция между цитоплазмой и саркоплазматическим ретикулумом, происходящие с выделением тепла (Carey, 1982; Block, 1986, 1994; Morrissette et al., 2003).

Таким образом, нагревательные органы производят недрожательный термогенез, который можно назвать черепной эндотермией. В дополнение к этому механизм теплопродукции в черепе может быть еще связан с сокращениями красных глазодвигательных мышц (Sepulveda et al., 2008) или с передачей тепла от осевых красных мышц через специальные отверстия в задней части черепа (Dickson, Graham, 2004). Только один вид тунца, *Allothunnus fallai* (южный тунец), имеет настоящий обогреватель мозга, для чего используются все четыре прямых мышцы (Sepulveda et al., 2008). Наконец, у опаха *Lampris* sp., Lampridiformes, недавно была описана уникальная стратегия теплопродукции, включающая как черепную эндотермию (Runcie et al., 2009), так и специфическую эндотермию всего тела (рис. 1), в основе которой, скорее всего, лежит недрожательный термогенез (Wegner et al., 2015; Franck et al., 2019). Кроме черепного термогенеза и термогенеза красных мышц вокруг осевого скелета, иногда для повышения температуры используются активно работающие грудные плавники. Так, черепная и грудно-плавниковая чудесные сети были также обна-

ружены у нескольких видов скатов, но стратегия их теплопродукции пока неизвестна (Alexander, 1996).

В целом повышенную температуру в туловище и в черепахе демонстрируют много разных групп рыб – тунцы, акулы, макрели, марлины, рыбы-мечи, сарганы, опахи и др. (Carey et al., 1971; Linthicum, Carey, 1972; Carey, 1982; Block, Carey, 1985; Block, 1986, 1991, 1994; Wolf et al., 1988; Block, 1991, 1994; Block et al., 1993; Block, Finnerty, 1994; Graham, Dickson, 2000, 2001; Dickson, Graham, 2004; Bernal, Sepulveda, 2005; Miya et al., 2013; Watanabe et al., 2015; Franck et al., 2019; Pimiento et al., 2019; Legendre, Davesne, 2020).

Расширение диапазона температур окружающей воды и областей географического распространения предполагается многими авторами как основное адаптивное преимущество эндотермии, а особенно эндотермии красных мышц в этих таксонах (Dickson, Graham, 2004; Watanabe et al., 2015). Это может быть основной движущей силой конвергентного происхождения эндотермии, по крайней мере в шести разных ветвях пластинчатожабрных и костистых рыб, а также у гигантских вымерших морских рептилий, таких как ихтиозавры, плезиозавры и мозазавры (Bernard et al., 2010; Legendre, Davesne, 2020).

ЭНДОТЕРМИЯ У РЕПТИЛИЙ

Среди рептилий также известна способность повышать температуру своего тела по отношению к температурам внешней среды за счет эндогенных механизмов. Описано несколько вариантов стратегий их эндотермии.

Наиболее известный случай – дрожательный (сократительный) термогенез – среди чешуйчатых рептилий, который связан, в частности, с родительским поведением у разных видов змей. Так, самки питонов плотно обвивают кладку кольцами своего тела. Температуры их тела и кладки при этом повышаются и стабилизируются на уровне примерно 30–32°. Происходит это двумя основными путями.

Один из них – терморегуляционное поведение. Если температура окружающей среды и тела самки питона опускалась ниже 31°, змея подставляла часть своего тела в нагретую зону под лампу, грела ее, а затем втягивала эту нагретую часть внутрь колец туловища, поближе к кладке. В результате температура всего тела и кладки питона повышалась (Орлов, 1986; Valensiennes, 1841; Lamarque-Picquot, 1842; Sclater, 1862; Pope, 1961; Hutchison et al., 1966; Crawshaw et al., 1981; Harlow, Grigg, 1984; Slip, Shine, 1988). Такое поведение наблюдалось, например, у королевского питона *Python regius*, тиморского водяного питона *Liasis mackloti* и

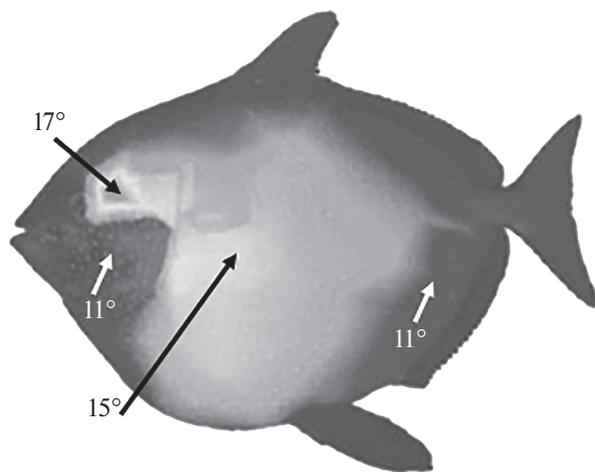


Рис. 1. Температура тела опаха *Lampris guttatus*. Распределение внутренних температур тела (измерения сделаны примерно на глубине 4–5 см под кожей у рыбы длиной 98.0 см и весом 40.0 кг при температуре окружающей воды 10.5° (по: Wegner et al., 2015).

зеленого питона *Chondropython viridis* (Орлов, 1986).

Но есть и второй путь. При температуре субстрата и воздуха ниже 25.5–31° у самок питонов наблюдались пульсирующие сокращения мышц тела с частотой от 10 до 42 в минуту. При этом температура тела змей повышалась до 32–33° и поддерживалась на этом уровне (Орлов, 1986). Это типичный пример дрожательного или сократительного термогенеза. При этом показано, что частота мышечных контрактур прямо пропорциональна эндогенному повышению температуры тела (van Mierop, Barnard, 1976a,b). В результате дрожательный термогенез поднимает температуру тела относительно температуры воздуха на 7–18° (Орлов, 1986; Sup, Shine, 1988; Snow et al., 2010). Такое явление было отмечено у бирманского питона *Python bivittatus* (Valensiennes, 1841; Lamarque-Picquot, 1842; Hutchison et al., 1966), у коврового питона *Morelia spilota* (Sup, Shine, 1988; Stahlschmidt, DeNardo, 2009), а также у королевского питона, тиморского водяного питона и зеленого питона (Орлов, 1986).

Были специально поставлены эксперименты, при которых в террариумах с насиживающими самками питонов отсутствовали источники направленного тепла, а температура субстрата и воздуха была 27–30°. Несмотря на это, температура тела насиживающих самок тиморского водяного питона составляла 31–33°, а королевского питона – 31–32.5° (Орлов, 1986).

При этом проявление способности к эндогенному повышению температуры тела отмечали у беременных самок питонов примерно за 2 недели до яйцекладки. Весь период инкубации яиц длил-

ся 68–70 дней. Почти все это время температура тела змей была повышенная, но за 5–10 дней до конца инкубации температура их тела постепенно понижалась и сравнивалась с температурами субстрата и воздуха (Орлов, 1986).

Способность повышать температуру тела вне связи с родительским поведением описана и для других рептилий, особенно средних и крупных размеров – игуан, варанов, а при строительстве гнезда – у черепах и крокодилов (Benedict, 1932; Hutchison et al., 1966; Brattstrom, Collins, 1972; Cloudsley-Thompson, 1974; Johnson, 1974; Dutton, Fitzpatrick, 1975; Smith, 1975; Sapsford, Hughes, 1978; Bartholomew, 1982). Если у мелких рептилий с большой относительной поверхностью тела это эндогенное тепло очень быстро рассеивается, то у более крупных животных оно может иметь определенное значение (Benedict, 1932). Это было показано на крупных черепахах, варанах и др. (Galvaio et al., 1965; Fair et al., 1972; Seebacher et al., 1999; Burness et al., 2001), на кожистых морских черепахах *Dermochelys coriacea* (Fair et al., 1972), на зеленых черепахах *Chelonia mydas* (Standora et al., 1982).

У кожистой морской черепахи *Dermochelys coriacea*, самой большой из современных видов черепах – до 700 кг (Paladino et al., 1990), была описана гомеотермия благодаря ее способности поддерживать температуру тела на относительно постоянном уровне – как минимум на 18° выше, чем температура окружающей холодной воды (Greer et al., 1973). Эта терморегуляция обеспечивается очень толстым изолирующим слоем субэпидермально васкуляризированной жировой ткани, аналогичной жировой ткани китообразных и ластоногих (Davenport et al., 2009). Жировой слой также присутствует вокруг глаз возле сетчатки и внутри полости черепа, защищая нейрокраanium и солевые железы и ограничивая потери тепла вовне (Davenport et al., 2009). Кроме того, противоточные теплообменники, аналогичные таковым у тунца и акулы-ламнида, можно найти в его переднем и заднем плавниках (Greer et al., 1973), и было показано, что возможность обеспечить активную терморегуляцию через контролируемое рассеивание тепла, напрямую зависит от температуры окружающей воды (Bostrom et al., 2010). Эти теплообменники также функционируют как локальный способ возвращать тепло, выделяемое при мышечном термогенезе внутри конечности и предотвращать гипертермию в остальной части тела (Davenport et al., 2015). Эти две адаптации позволяют черепахе поддерживать температуру тела около 25° даже во время активного плавания в холодной воде во время глубоких погружений или в приполярных водах при температуре воды меньше 5° (Bostrom et al., 2010; Köhler et al., 2012).

Наличие эндогенной теплопродукции у кожистой морской черепахи по физиологическим характеристикам теплового обмена не отличается от таковых у других рептилий. По этой причине большой размер туловища и высокая инсуляция были предложены в качестве основных причин гомеотермии кожистых черепах, которые делают возможным сохранение тепла в организме, не требуя высокой скорости метаболизма (Paladino et al., 1990). Эта стратегия, получившая название гигантотермии, впоследствии была предложена как терморегуляторный процесс у крупных динозавров не птичьей линии (Paladino et al., 1990; Chinsamy-Turan, 2005; Sander et al., 2011; Seymour, 2013). Действительно, большой размер тела был описан как потенциальная причина гомеотермии динозавров с конца 1970-х гг. (Benton, 1979), и гипотеза гигантотермии с тех пор обсуждалась во многих палеонтологических исследованиях и обзорах с противоречивыми интерпретациями о возможном влиянии филогении и онтогенеза на этот физиологический процесс (Sup, Shine, 1988; Snow et al., 2010; Burton et al., 2011; Brashears, DeNardo, 2013). Узкоспециализированные адаптации кожистой черепахи, однако, тесно связаны с постоянным плаванием, связанным с океаническим, пелагическим образом жизни. Другие возможные причины для противоточной системы обмена в конечностях четвероногих могут быть также связаны с водным образом жизни, как это показано у утконоса *Ornithorhynchus anatinus* (Grant, Dawson, 1978), и с чрезвычайно холодными температурами окружающей среды, как наблюдается у пингвинов Spheniscidae (McCafferty et al., 2013) или у песца *Vulpes lagopus* (Prestrud, 1991). Обобщение этой стратегии для других клад позвоночных только на основании их большого размера вводит в заблуждение, особенно без учета разницы в размерах между кожистой черепахой и большими не птичьими динозаврами (например, зауроподы).

Это свойство может быть функционально связано с приобретением эндотермии, так как использование дрожательного термогенеза во время пробуждения у мелких зимнеящих млекопитающих очень похоже на гомеотермию населяющих питонов (Grigg et al., 2004). Способность к эндогенной теплопродукции привела некоторых авторов к предположению, что дрожательный термогенез может быть не единственным механизмом, вовлеченным в производство тепла у этих видов питонов, и что у них также возможен и недрожательный термогенез (Brashears, DeNardo, 2013). И действительно, у населяющих самок питонов заметно повышался уровень метаболизма (Benedict, 1932; Stemmler-Morath, 1956; Hutchison et al., 1966; Vinegar et al., 1970; Johnson et al., 1975; van Mierop, Barnard, 1976a,b; Wagner, 1976; Ross, 1978, 1981).

Но в разных отрядах рептилий была задокументирована также способность временно поддерживать более высокую температуру тела также и путем недрожательного (несократительного) термогенеза.

Так, у гремучих змей во время пищеварения наблюдалось небольшое повышение температуры тела (приблизительно на 1° после обильной еды), длящееся до 6 дней и напрямую коррелирующее с размером съеденной пищи (Tattersall et al., 2004; Tattersall, 2016), или у некоторых варанид (приблизительно на 0.5°) (Bennett et al., 2000). В обоих примерах, несмотря на сильное увеличение скорости метаболизма в три–четыре раза у варанид (Bennett et al., 2000) и в 20 раз у некоторых змей (Secor, Diamond, 2000), повышенное потребление кислорода связано с физиологическими функциями, а не с теплопродукцией. Таким образом, рост температуры тела всегда остается очень маленьким, что также вероятно связано с повышенной теплопроводностью (Tattersall et al., 2004).

Отмечено некоторое повышение температуры тела заборной игуаны *Sceloporus* без всякой мышечной работы — только когда одному самцу предъявляли другого. Температура тела при этом повышалась у него на $0.25\text{--}3.0^\circ$ (в среднем на 1.3°) только от эмоциональной агрессивной реакции без всяких внешних проявлений и движений (Engbretson, Livezey, 1972).

Описано чисто метаболическое повышение температуры тела ящериц тегу *Tupinambis meriana* весом около 2 кг в репродуктивный период. В течение ночи они находились в искусственной норе. Но прежде чем выйти из нее при первом освещении утром (6:00 утра), тегу уже имели температуру тела существенно выше, чем в окружающей среде иногда на $6\text{--}10^\circ$ (Tattersall, 2016; Tattersall et al., 2016) (рис. 2).

Также отмечено повышение температуры тела ящериц при патологических реакциях, при введении ряда бактериальных препаратов или при болезнях (Vaughn et al., 1974; Bernheim, Kluger, 1976; Firth et al., 1980; Cooper, Jackson, 1981; Balsai, 1986; Muchlinski et al., 1989; Warwick, 1991).

У некоторых групп древних рептилий, принадлежащих к разным отрядам и даже классам, на спине имелись большие по площади выросты разной структуры, на которые имеет смысл обратить особое внимание. Так, у спинозавров (динозавры, зауропсиды) остистые отростки спинных позвонков были сильно удлинены (иногда до 1 м и даже более) и обтянуты кожей в виде паруса (рис. 3, 4).

У диметродонов (рис. 5, 6) и эдафозавров (рис. 7, 8) (пеликозавры, синапсиды) длиной от 1 до 6.5 м и весом до 2 т тоже имелись подобные паруса. Так-

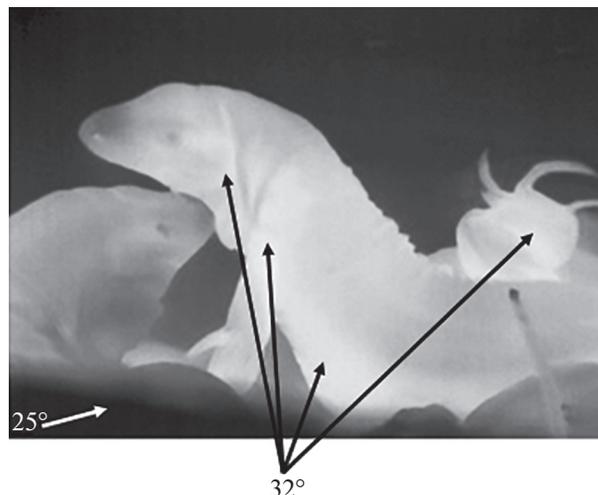


Рис. 2. Инфракрасное тепловое изображение ящериц тегу *Tupinambis meriana*, имеющих существенно более высокую температуру тела, чем в норе, в которой они в течение долгого времени находились (по: Tattersall et al., 2016).

же паруса на спине имели и некрупные до 1.5–2 м триасовые архозавры ктенозаурисциды (рис. 9).

У стегозавров (также динозавры, зауропсиды) в среднем около 9 м в длину и около 4 м в высоту на спине имелись два ряда крупных костных пластин (рис. 10, 11). Кость в этих пластинах была рыхлая, пронизанная многочисленными канальцами, вероятно, кровеносными сосудами. Защитные функции, как это изначально предполагали некоторые ученые, такая рыхлая наполненная кровью кость вряд ли могла исполнять. У нее явно были другие функции.

И паруса, и костные пластины наиболее эффективно могли быть использованы для терморегуляции. Но в каком качестве? Чтобы разобраться в этом, узнаём, какую температуру тела имели и поддерживали у себя крупные динозавры.

Об уровне температуры тела у динозавров можно судить по данным специальных исследований и расчетам, приведенным разными авторами в последнее время (Eagle et al., 2011; Grady et al., 2014; Canavan et al., 2016). Все эти авторы, исследуя данную проблему с разных сторон, сходятся на том, что у динозавров температура тела должна была сохраняться примерно на уровне от $27\text{--}28^\circ$ до $32\text{--}38^\circ$. За счет чего у них могла удерживаться такая высокая температура тела?

Использование паруса на спине в качестве дополнительной площади нагрева с помощью инсоляции (как об этом иногда писали и пишут в литературе) на деле малоэффективно. По расчетам ряда ученых (Gould, 1998), у динозавров весом около 10 т для повышения температуры тела всего на 1° при нагревании преимущественно за счет



Рис. 3. Скелет спинозавра (<https://indianapublicmedia.org/wpimages/amomentofscience/2015/02/spinosaurus.jpg>).

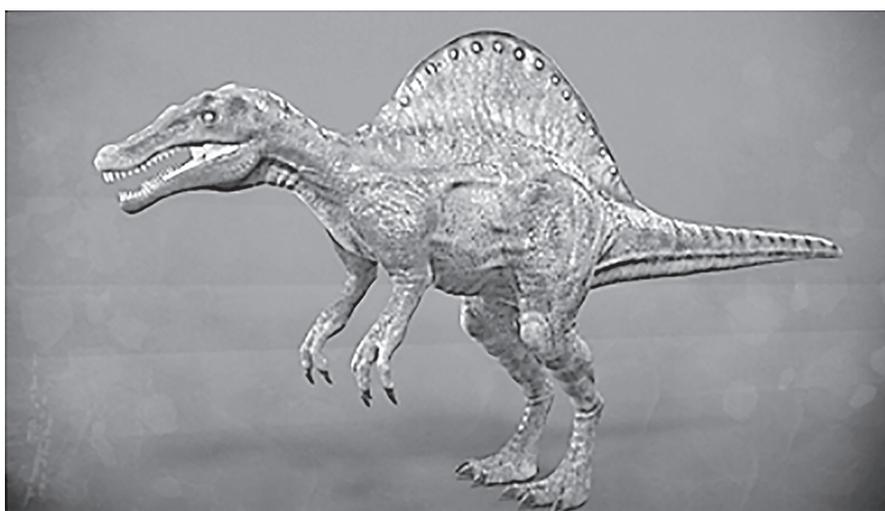


Рис. 4. Реконструкция внешнего вида спинозавра (https://avatars.mds.yandex.net/getzen_doc/1710047/pub_5d068bef729-e3a0d58fcd9c_5d06908b7fbd010e5953f330/scale_1200).

инсоляции с помощью парусных образований потребовалось бы 86 часов непрерывного пребывания на солнцепеке. А некоторые спинозавры, например, достигали 17 м в длину и вес у них был около 13.5 т. Поэтому нагреться с помощью паруса до температуры, на 10–15° превышающей температуру воздуха, такому крупному животному в реальной климатической обстановке было бы практически невозможно. У современных рептилий описаны развитые вазомоторные механизмы перераспределения тепла в теле, помогающие в его нагревании (Черлин, 2014), но они задействуют только небольшие участки тела и объемы крови, поэтому могут помочь ускорению нагревания

в основном у животных некрупных — примерно до размеров серого варана. Для рассматриваемых нами средних и крупных вымерших динозавров это вряд ли актуально. При этом предположительное уменьшение продолжительности нагревания туловища, благодаря парусным образованиям и вазомоторным реакциям, со 100 часов (а по приведенным выше расчетам, скорее всего — существенно больше) даже до 20 (что в реальности уже невероятно) при 24-часовой продолжительности суток — совершенно неприципиально и практически бессмысленно.

Хотим обратить внимание на то, что температура тела самых крупных из современных ящериц — ко-

модских варанов *Varanus komodensis*, сходных, вероятно, по размерам с эдафозаврами и диметродонами, и других более мелких варанид вполне успешно удерживается при активности на уровне 32–36° или немного выше (Целлариус и др., 1991; Harlow et al., 2010), то есть на 5–10° выше температуры окружающей среды. При этом климатические условия позволяют им быть успешными и конкурентоспособными без всяких дополнительных морфологических способов ускорения нагревания (без специальных теплообменных радиаторов в виде парусов и т.п.).

Так для чего же были нужны древним рептилиям радиаторы в виде парусов или групп отдельных пластин?

Совершенно очевидно, что при обычной жизнедеятельности активно охотящихся эктотермных животных (некоторых динозавров) в их организме прежде всего при движении выделялось достаточно большое количество тепла, а небольшая относительная поверхность тела, большая термоинерционная масса и толстые слабо теплопроводные покровы препятствовали выводу тепла из организма. В этой ситуации температура тела, в первую очередь, крупных хищных подвижных динозавров, скорее всего, повышалась до 32–38°, но при необходимости продолжительной интенсивной физической активности (охота, погони, драки и т.п.) могла возрастать и до опасного уровня (около 40° и более). Логично предположить, что в таких условиях наличие теплоотдающих радиаторов было бы чрезвычайно полезно и даже необходимо. Однако радиаторы были далеко не у всех таких динозавров. Их не было у подавляющего большинства крупных и активных хищников, для которых дополнительное теплоотведение по этой логике должно было стать наиболее актуальным. Развились они лишь у некоторых групп крупных хищных динозавров и, вероятно, неслучайно именно у них. Были паруса и у эдафозавров, диметродонов и ктенозаурисцид, сходных по размерам с различными современными варанидами, которые, как и рецентные вараны, вполне могли бы обходиться без дополнительных средств внешнего нагревания в виде парусных теплообменников.

Важно отметить, что в процессе эволюции варианты теплообменников, предназначенных именно для отдачи избытков тепла, неоднократно использовались. Прежде всего мы знаем это по эндотермным животным. Отчасти иллюстрацией этого является известное правило Аллена, использование высунутого языка у псовых и т.п. Кроме того, у туканов их огромный клюв приобрел такую внутреннюю структуру, которая придает ему важнейшую функцию — избавляться от переизбытка тепла (Tattersall et al., 2009; van de Ven et al., 2016) (рис. 12). На рисунке видно, что чем выше

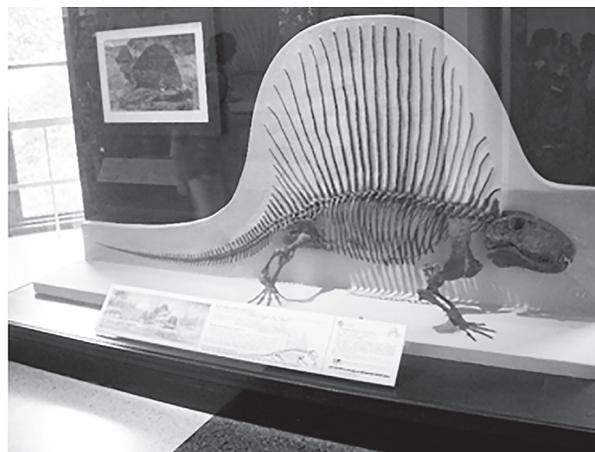


Рис. 5. Скелет диметродона (https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/b/bf/Dimetrodon_limbatus_AMNH_4636.JPG).



Рис. 6. Реконструкция внешнего вида диметродонов (<https://animalreader.ru/wp-content/uploads/2014/09/papocarnegieDimetrodon05.jpg>).

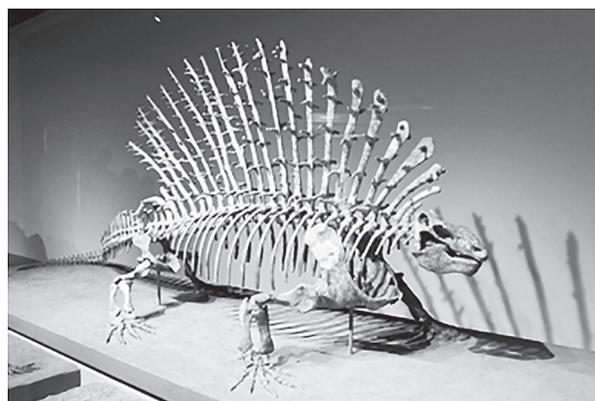


Рис. 7. Скелет эдафозавра (https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/ad/Edaphosaurus-Field_Museum.jpg).

температура окружающего воздуха, тем горячее у туканов клюв. При температурах 30–32° он имеет наибольшую температуру (рис. 12а; б2, б3), что способствует интенсивной теплоотдаче. При бо-



Рис. 8. Реконструкция внешнего вида эдафозавра (<https://s1.lzoom.ru/big3/102/406293-alexfas01.jpg>).

лее высокой температуре воздуха (43°) тукан приоткрывает клюв и у него начинается пантинг³, в результате чего температура клюва и передней части головы птицы понижается (рис. 12 б4).

Гребень на голове казуара используется в таком же качестве. Шея у казуара при любой внешней температуре достаточно горячая, но температура гребня явно различная. При низкой температуре (5°) гребень птицы прохладный. Но чем выше температура окружающего воздуха, тем температура гребня и, следовательно, его теплоотдача — выше (Eastick et al., 2019) (рис. 13).

И в том, и в другом случае очевидно, что выдающиеся части тела используются дополнительным, специальным, особым образом. А гребень казуара вообще, по сути, можно считать некоторым аналогом парусных образований на спинах древних рептилий, их моделью.

Все это дает весомый повод предположить, что у ряда групп динозавров и других древних рептилий разных систематических групп и размеров независимо и параллельно могла возникнуть и, видимо, реально возникла повышенная, эндогенная теплопродукция, дополнительная к теплопродукции при мышечной работе. Такой дополнительный несократительный термогенез давал существенные конкурентные и селективные преимущества в усилении интенсивности и в улучшении качества активности. Тогда при их общих морфофизиологических особенностях (существенной массе, плохой теплопроводности покровов, неразвитой системе теплоотдачи и т.п.) необходимость дополнительного теплоотведения становилась безальтернативной. Таким образом,

³ Пантинг — частое, поверхностное дыхание, направленное на теплоотдачу.

только появление специфического, несократительного, эндогенного термогенеза объясняет и оправдывает абсолютную жизненную необходимость наличия именно у таких групп животных специальных радиаторов для предотвращения смертельного перегрева. Если же предположить, что эти структуры не связаны с необходимостью интенсивной теплоотдачи, то у данных групп они теряют свою функциональность или даже становятся вредными для животных. Следовательно, само наличие таких радиаторов разной конструкции, появившихся у различных групп древних рептилий, косвенно свидетельствует о том, что у представителей этих групп животных, вполне вероятно, уже была повышенная, эндогенная, дополнительная теплопродукция, то есть первоначальная эндотермия.

Таким образом, известные нам материалы позволяют заключить, что:

1) у рыб и рептилий в процессе эволюции неоднократно и в разных ветвях эволюционного развития возникали различные варианты эндотермии;

2) у современных рыб и рептилий имеется широкий спектр вариантов эндотермии от своеобразного применения дрожательного, сократительного термогенеза, характерного и для рыб, до элементов несократительного термогенеза, свойственного птицам и, прежде всего, млекопитающим; проявляется также эффект гигантотермии.

ЭНДОТЕРМИЯ МЛЕКОПИТАЮЩИХ И ПТИЦ

Дрожательный термогенез — очень распространенный процесс у всех млекопитающих и птиц, происходящий в ходе длительных периодов низкой температуры воздуха или во время фазы пробуждения от оцепенения для производства тепла дополнительного к тому, которое получено с помощью недрожательного термогенеза (Hohtola, 2004). Он включает производство тепла через асинхронное возбуждение мышечных волокон, так что часто мышцы-антагонисты оказываются активны одновременно. Это происходит без внешних проявлений мышечной работы и позволяет всю АТФ, накопленную в мышцах для сокращения, использовать для выделения тепла. Дрожательный термогенез развивался независимо у птиц и млекопитающих (табл. 1) и считается механизмом корректировки температуры тела, который, вероятно, был эволюционным преимуществом при приобретении эндотермии для обеих групп (Hohtola, 2004).

Эндотермия у млекопитающих

Теплопродукция у млекопитающих с начала XX в. изучалась довольно основательно (Калабу-

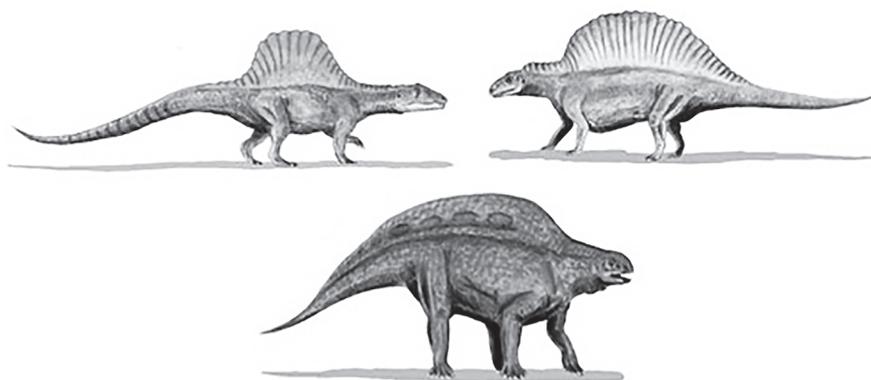


Рис. 9. Реконструкция внешнего вида ктенозаурицид (<https://vadim-proskurin.livejournal.com/366371.html>).



Рис. 10. Скелет стегозабра (<http://www.travelthruhistory.tv/ThruHistory/wp-content/uploads/2013/11/UtahFieldHouseDinosaurByPhilKonstantin.jpg>).

хов, 1929, 1946а,б; Стрельников, 1933, 1940; Слоним, Щербакова, 1935а,б,в; Израэль, 1936а,б; Слоним, 1952, 1964, 1971, 1979, 1984, 1986; Физиология терморегуляции, 1984; Martin, 1903; Cannon, Nedergaard, 2004; Jastrosh et al., 2008; Brice, 2009; Hughes et al., 2009; Rowland et al., 2015; Gaudry et al., 2017; Periasamy et al., 2017). Теперь известно, что у плацентарных млекопитающих метаболическое тепло вырабатывается в бурой жировой ткани и что эта структура найдена только у плацентарных (Cannon, Nedergaard, 2004; Oelkrug et al., 2015) (табл. 1). Процесс этот происходит благодаря активности специфического разобщающего белка UCP₁ (Legendre, Davesne, 2020). Этот процесс обычно называют недрожательным термогенезом млекопитающих (Hughes et al., 2009; Jastroch, Seebacher, 2020), который проявляется за пределами термонейтральной зоны без сокращения скелетных мышц (Cannon,

Nedergaard, 2004). Недрожательный термогенез позволяет большинству плацентарных поддерживать температуру своего тела на постоянном уровне (гомеотермия), обычно в пределах диапазона 35–40° (Clarke, Rothery, 2008), и интенсивность его увеличивается у акклиматизированных к холоду животных – адаптивный термогенез (Cannon, Nedergaard, 2004). Этот адаптивный недрожательный термогенез обычно описывается в качестве типичной эндотермии млекопитающих, но среди плацентарных и неплацентарных существуют другие стратегии термогенеза.

Однопроходные (утконос, четыре вида ехидн *Tachyglossus*), которые не обладают бурой жировой тканью, показывают более низкие значения базального обмена и температуры тела, чем другие млекопитающие (Grant, Dawson, 1978). У утконоса самая высокая скорость метаболизма среди всех однопроходных, что соответствует при-



Рис. 11. Реконструкция внешнего вида стегозавра (https://avatars.mds.yandex.net/get-zen_doc/225901/pub_5d13ad5-f6d9c0000b0418503_5d13b86d6c33d200aea9d319/scale_1200).

мерно 70–80% соответствующих значений у плацентарных, в то время как ехидны показывают лишь 25–40% от соответствующих значений базального обмена. Но все однопроходные показывают при этом сходные значения температуры тела — около 30–34° в зависимости от температуры окружающей среды (Miklouho-Maclay, 1884; Schmidt-Nielsen et al., 1966; Nicol, 2017). Поскольку ехидны обладают зависящим от температуры внешней среды широким спектром температуры тела, очень низкими значениями базального метаболизма и способностью входить в суточный торпор или спячку при низкой температуре окружающей среды с падением температуры тела на 10° по сравнению с нормальным диапазоном, этих животных часто считают протозндотермами, то есть отражающими предковое состояние терморегуляции, анализ которого может помочь в понимании эволюции эндотермии у плацентарных млекопитающих (Schmidt-Nielsen et al., 1966; Grigg et al., 2004; Nicol, 2017).

Эти низкие значения базального метаболизма и температуры тела, однако, могут быть связаны с разными причинами — как с их филогенетическим положением как однопроходных, так и с их роющим образом жизни (McNab, 1979) и их диетой, состоящей почти исключительно из маленьких членистоногих (Nicol, 2017). Ехидны, в частности, считаются очень хорошим примером низкой метаболической активности, обнаруженной у всех млекопитающих-мирмекофагов по сравнению с их близкими родственниками с другой диетой (McNab, 1984). Тем не менее, ехидны, вероятно, имеют некоторые общие характеристики ранних адаптаций, связанных с эндотермией, которые

могли присутствовать у синапсид (не млекопитающих): умеренно высокие и очень лабильные уровни базального метаболизма с факультативной гомеотермической эндотермией (например, в репродуктивные периоды) или с сильной инсуляцией для предотвращения потери тепла. Утконос, наоборот, не впадает в спячку, не входит в оцепенение (Grant, Dawson, 1978) и способен поддерживать температуру своего тела на постоянном уровне, даже когда температура воздуха или воды опускается ниже 10° (Brice, 2009). Это может быть объяснено наличием локальных противоточных обменных систем (чудесной сети) в его конечностях, аналогичных таковым у тунца, ламноидных акул и кожистых черепах и обеспечивающих при низкой температуре тела высокую внутреннюю инсуляцию в дополнение к покровной, обеспеченной мехом и подкожным жиром (Grant, Dawson, 1978; Nicol, 2017). Поэтому, хотя возможно, что все однопроходные имеют сходные механизмы теплопродукции, утконос и ехидны имеют очень разные стратегии терморегуляции, эволюция которых еще требует своего изучения.

Хотя скорости метаболизма у сумчатых также ниже, чем у плацентарных, но многие из них способны поддерживать высокую температуру тела, несмотря на отсутствие у них бурой жировой ткани (Jastroch et al., 2008; Polymeropoulos et al., 2012). У нескольких видов сумчатых имеется достаточно высокий уровень адаптивного недрожательного термогенеза, но механизм этого процесса явно отличается от плацентарных (Jastroch et al., 2008). Большое количество митохондрий и большая площадь митохондриальных мембран издавна считались важными факторами, способствующими

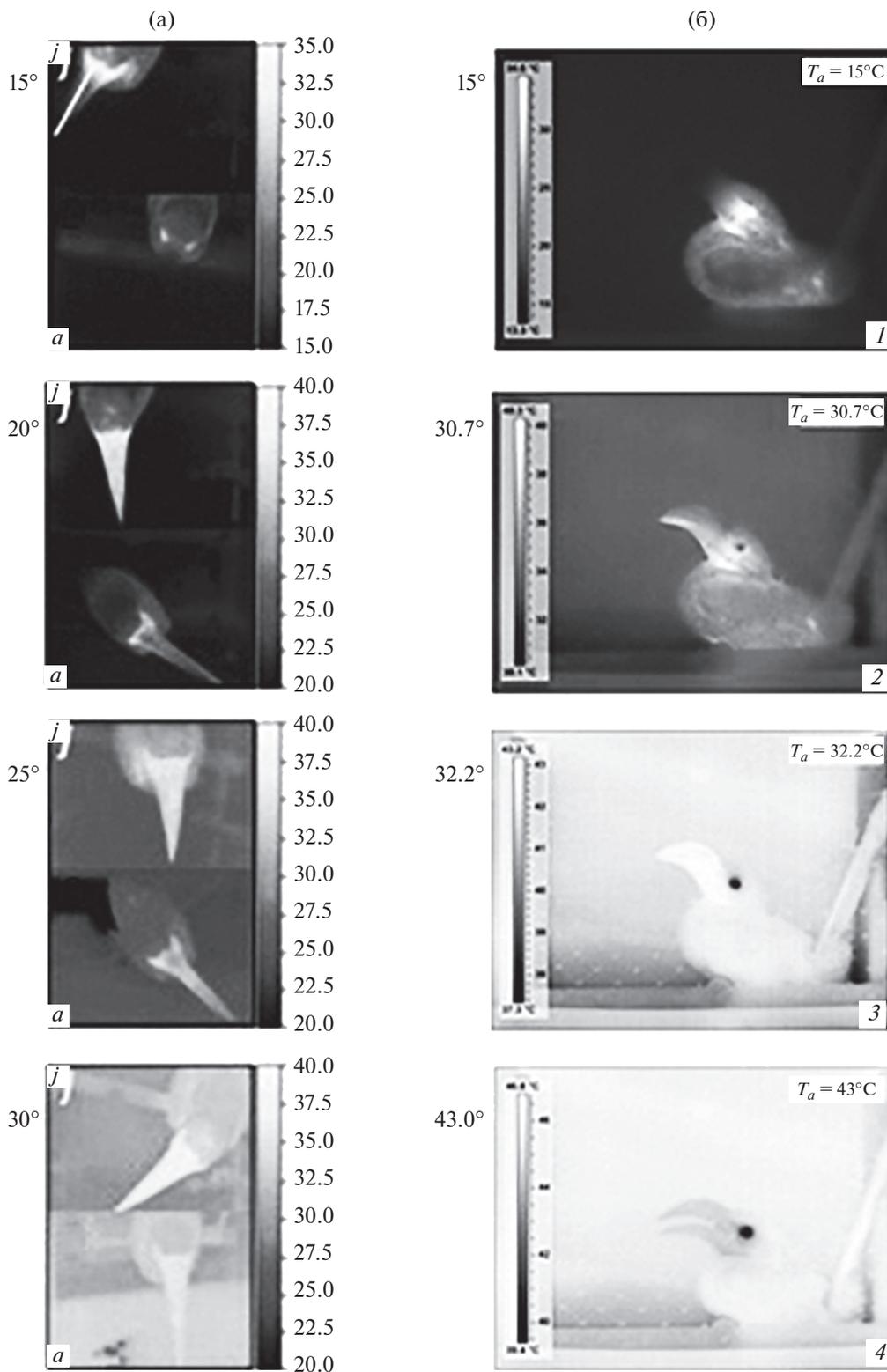


Рис. 12. Клюв тукана *Tockus leucomelas* как терморегулятор. (а) – тепловое изображение поверхности клюва тукана (T_s) при различных температурах воздуха (T_a). На фото представлены термографические изображения взрослых (*a*, *adultus*) и ювенильных (*j*, *juvenis*) туканов при соответствующих температурах воздуха (по: Tattersall et al., 2009). (б) – тепловое изображение самки тукана при разных температурах воздуха. Температура поверхности отображается в виде шкалы слева от каждого изображения. 1 – $T_a = 15^\circ$: T_s соответствует фону; 2 – $T_a = 30.7^\circ$: T_s меняется, особенно на нижней челюсти; 3 – $T_a = 32.2^\circ$: T_s намного выше, чем у остальной части тела и окружающей среды, что указывает на тепло, излучаемое клювом; 4 – $T_a = 43^\circ$: $T_a > T_s$, клюв холоднее, чем окружающая среда, и птица использует транспирационную потерю воды, чтобы сохранять прохладу, на что указывает пантинг при открытом клюве (по: van de Ven et al., 2016).

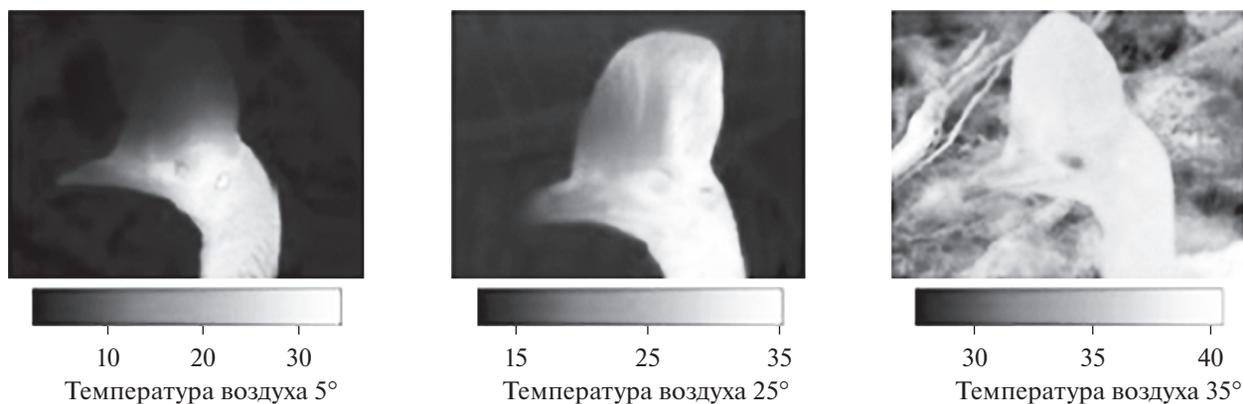


Рис. 13. Тепловые изображения головы казуара при различных температурах среды (по: Eastick et al., 2019).

щими адаптивному недрожательному термогенезу у плацентарных (Else, Hulbert, 1985). Тем не менее, экспериментально было показано, что у сумчатых более высокий митохондриальный поток протонов, чем у плацентарных того же размера, что положительно коррелирует с массоспецифичным уровнем базального метаболизма как у плацентарных, так и у сумчатых (Polymeropoulos et al., 2012). Имеется некоторое количество различных исследований и версий, но точный механизм, лежащий в основе эндотермии неплацентарных млекопитающих, в настоящее время неизвестен. История эволюционного развития и функции разобщающего белка UCP_1 до сих пор не понятны, несмотря на некоторое количество специальных исследований. Известно, что последовательность, кодирующую UCP_1 , можно найти во многих других кладах позвоночных, включая кистеперых рыб и амфибий, что указывает на то, что ген, вероятно, появился очень рано в эволюции позвоночных, по крайней мере, у последнего общего предка костных рыб (Klingenspor et al., 2008; Hughes et al., 2009). Широко распространено мнение, что UCP_1 приобрел термогенные способности только в последнем общем предке плацентарных, через его проявление в бурой жировой ткани. Несколько недавних исследований по эволюции гена белка UCP_1 у плацентарных, однако, показали, что во многих крупных кладах млекопитающих появились инактивирующие мутации, в результате чего UCP_1 не может проявить свое действие в их митохондриях для достижения недрожательного термогенеза (Legendre, Davesne, 2020). Так что решение вопроса о происхождении механизмов недрожательного термогенеза еще впереди.

Помимо обычных гомеотермических способностей, большое количество млекопитающих и птиц развили способности к снижению уровня метаболизма в ответ на конкретные экологические условия, то есть это проявления гетеротер-

мии (Clarke, Pörtner, 2010). Так, подвергаясь воздействию холодной погоды ночью, некоторые виды млекопитающих и птиц пассивно входят в состояние ежедневного оцепенения, то есть снижения температуры тела для сохранения энергии и уменьшения потери тепла, как правило, связанных с понижением скорости метаболизма (Cannon, Nedergaard, 2004). Некоторые виды также могут впадать в спячку, то есть длительные, активно контролируемые периоды оцепенения в течение нескольких дней или недель с последующей фазой пробуждения.

Примеров подобных ситуаций очень много. Во сне температура тела некоторых млекопитающих заметно снижается. Так, в период зимней спячки у сусликов *Spermophilus* она опускается порой до $3-5^\circ$ (Калабухов, 1946б).

При изучении устойчивости к холоду аборигенов центральной части Австралии оказалось, что они совершенно спокойно при температуре воздуха $5-10^\circ$ спали обнаженными на голой земле без малейших признаков дрожи и повышения газообмена. Температура внутренней части тела у них при этом оставалась нормальной (выше 36°), а вот температура кожи снижалась на туловище до 15° , а на конечностях — до 10° (Goldby et al., 1938; Hammel et al., 1959). У обычных людей в этой ситуации возникли бы ощущения почти непереносимой боли, а австралийцы спокойно спали и не чувствовали ни боли, ни холода.

Почти не поддерживают температуру тела на одном высоком уровне некоторые однопроходные млекопитающие, например ехидна, у которой температура тела может колебаться от 22 до 37° (Miklouho-Maclay, 1884; Martin, 1903; Schmidt-Nielsen et al., 1966). Температуры тела даже у взрослых обыкновенных полевков *Microtus arvalis* в течение суточной активности могут колебаться от 23 до 42.4° (Стрельников, 1940). Почти не поддерживает температуру тела голый землекоп *Heterocephalus glaber* (Yahav Buffenstein, 1992).

Таблица 1. Краткое изложение физиологических стратегий, описанных в литературе как эндотермические, для каждого таксона позвоночных, обсуждаемого в тексте, с акцентом на филогению, клеточные/молекулярные механизмы (если они известны) и палеофизиологические проявления в ископаемых стволовых группах (по: Legendre, Davesne, 2020)

Таксономические группы	Эндотермическая линия	Тип эндотермии	Анатомические особенности	Термогенный механизм	Возможные палеофизиологические проявления
Elaeombranchii, Lamniformes	Lamnidae (Block, Carey, 1985)	Эндотермия красных мышц, черепная эндотермия (Block, Carey, 1985)	Встроенные осевые красные мышцы вдоль позвоночника с чудесной сетью, соустьное соединение с черепной коробкой (Wolf et al., 1988)	Побочный продукт сокращений красных мышц (Block, Carey, 1985; Wolf et al., 1988)	Неизвестно. Возможно, размеры тела или палеобиогеография (Ferguson, 2017)
Elaeombranchii, Lamniformes	<i>Alopias vulpinus</i> (Bernal, Sepulveda, 2005)	Эндотермия красных мышц (Bernal, Sepulveda, 2005)	Встроенные осевые красные мышцы вдоль позвоночника с чудесной сетью (Bernal et al., 2001; Bernal, Sepulveda, 2005)	Побочный продукт сокращений красных мышц (Bernal et al., 2001; Bernal, Sepulveda, 2005)	Неизвестно
Elaeombranchii, Myliobatiformes	Mobulidae (Alexander, 1996)	Черепная эндотермия (Alexander, 1996)	Черепная чудесная сеть (Alexander, 1996)	Неизвестно	Неизвестно
Teleostei, Lampridiformes	<i>Lampris</i> sp. (Wegner et al., 2015)	Эндотермия всего тела (Wegner et al., 2015), черепная эндотермия (Runcie et al., 2009)	Специализированные грудные красные мышцы, инсулярная жировая ткань, чудесная сеть в жаберных дугах (Wegner et al., 2015)	Побочный продукт сокращений красных мышц (Wegner et al., 2015), предполагается несократительный термогенез в саркоплазматическом ретикулуме (сарколиптин) (Franck et al., 2019)	Остеолитические кости (Davesne et al., 2018)
Teleostei, Istiophoriformes	Istiophariidae, Xiphiidae (Carey, 1982)	Черепная эндотермия (Carey, 1982)	Нагревательный орган (модифицированные глазодвигательные мышцы), черепная чудесная сеть (Block, 1986; Block et al., 1993; Morrissette et al., 2003)	Несократительный термогенез в саркоплазматическом ретикулуме (рианодинновый рецептор) (Morrissette et al., 2003)	Значительные изменения в костях роострума (Atkins et al., 2014)
Teleostei, Scombriformes, Scombridae	<i>Gastero chisma melampus</i> (Block, 1994)	Черепная эндотермия (Block, 1994)	Нагревательный орган (модифицированные глазодвигательные мышцы), черепная чудесная сеть (Block, 1994)	Несократительный термогенез в саркоплазматическом ретикулуме (Morrissette et al., 2003)	Неизвестно
Teleostei, Scombriformes, Scombridae	Thunnini (Graham, Dickson, 2000)	Эндотермия красных мышц, черепная эндотермия (Linthicum, Carey, 1972; Graham, Dickson, 2000, 2001)	Встроенные осевые красные мышцы вдоль позвоночника, осевая и черепная чудесные сети (Graham, Dickson, 2000, 2001; Dickson, Graham, 2004), нагревательный орган только у <i>Allothunnus fallai</i> (Sepulveda et al., 2008)	Побочный продукт сокращений красных мышц (Dickson, Graham, 2004), несократительный термогенез в саркоплазматическом ретикулуме <i>Allothunnus fallai</i> (Sepulveda et al., 2008)	Остеолитические кости (Davesne et al., 2019)

Таблица 1. Продолжение

Таксономические группы	Эндотермическая линия	Тип эндотермии	Анатомические особенности	Термогенный механизм	Возможные палеобиологические проявления
Amniota, Squamata, Pythonidae	<i>Python bivittatus</i> , <i>Morelia spilota</i> (Brashears, DeNardo, 2013), <i>Python regius</i> , <i>Liasis maculoti</i> , <i>Chondropython viridis</i> (Орлов, 1986)	Мышечный термогенез (Орлов, 1986; Brashears, DeNardo, 2013)	Специализированные мышцы (Sup, Shine, 1988)	Побочный продукт мышечных сокращений, возможен несократительный термогенез (Brashears, DeNardo, 2013)	Неизвестно
Amniota, Squamata, Teiidae	<i>Salvator merianae</i> (Tattersall et al., 2016)	Сезонная эндотермия, связанная с размножением (Tattersall et al., 2016)	Неизвестно	Неизвестно, предположительно, несократительный термогенез (Tattersall et al., 2016)	Неизвестно
Amniota, Chelonia	<i>Dermochelys coriacea</i> (Paladino et al., 1990)	Гигантотермия (Paladino et al., 1990)	Изолирующая жировая ткань (Paladino et al., 1990)	Возможно, побочный продукт мышечной и метаболической активности	Неизвестно (следы жира у исчезнувших морских амниот)
Amniota, Archosauria	Aves (Walter, Seebacher, 2009)	Эндотермия всего тела, сократительный термогенез (Pörtner, 2004; Walter, Seebacher, 2009)	Инсулирующий перьевой покров, дыхательные носовые раковины, односторонний поток воздуха в легких, мышечная гиперплазия, четырехкамерное сердце, маленький размер генома (обсуждается) (Mezentseva et al., 2008; Clarke, Pörtner, 2010; Newmann, 2011; Kapusta et al., 2017)	Дрожательный и недрожательный термогенез в скелетных мышцах (адениннуклеотид-трансфераза, сакролиптин) (Toyomizu et al., 2002; Hohtola, 2004; Newmann, 2011)	Инсулирующий перьевой покров, дыхательные носовые раковины, специфическое гистологическое устройство костей, пустотелость костей (дыхательные воздушные мешки) (De Ricqlès et al., 1991; Seymour et al., 2004; Norell, Xu, 2005; Bourke et al., 2014; Kapusta et al., 2017; Brocklehurst et al., 2018)
Amniota, Mammalia	Monotremata (Brice, 2009)	Факультативная эндотермия, дрожательный термогенез (Grigg et al., 2004; Brice, 2009)	Инсуляция из меха и жира, четырехкамерное сердце, чудесная сеть в конечностях (утконос) (Grant, Dawson, 1978; Brice, 2009)	Дрожательный термогенез (Hohtola, 2004)	Мех, дыхательные носовые раковины (Hillenius, 1992), специфическое гистологическое строение кости (Chinsamy, Nurgun, 2006)
Amniota, Mammalia	Metatheria (Hayward, Lisson, 1992)	Эндотермия всего тела, дрожательный термогенез (Hayward, Lisson, 1992; Jastroch et al., 2008)	Инсулирующий меховой покров, дыхательные носовые раковины, четырехкамерное сердце (Clarke, Pörtner, 2010; Oelkrug et al., 2015)	Дрожательный термогенез, недрожательный термогенез (механизм неизвестен) (Kabat et al., 2003; Polymeropoulos et al., 2012)	Мех, дыхательные носовые раковины (Hillenius, 1992), специфическое гистологическое строение кости (Kolb et al., 2015)
Amniota, Mammalia	Eutheria (Clarke, Pörtner, 2010)	Эндотермия всего тела, дрожательный термогенез (Clarke, Pörtner, 2010)	Бурая жировая ткань, инсулирующие мех и жир, дыхательные носовые раковины, четырехкамерное сердце (Clarke, Pörtner, 2010; Oelkrug et al., 2015)	Дрожательный термогенез, недрожательный термогенез в бурой жировой ткани (разоблащающий белок 1) (Cannon, Nedergaard, 2004; Hohtola, 2004)	Мех, дыхательные носовые раковины (Hillenius, 1992), специфическое гистологическое строение кости (Kolb et al., 2015)

Таким образом, как пассивный, так и активный контроль свойств, связанных с тепловым метаболизмом, является предковым по отношению к кладам млекопитающих и птиц, и было высказано предположение, что они сильно повлияли на рост эндотермии у немлекопитающих синапсид и динозавров не птичьей линии (Geiser et al., 2017; Lovegrove, 2017). Действительно, такая высокая пластичность в термогенном метаболизме обеспечивает способность удерживать энергию через снижение базального метаболизма и температуры тела (например, во время развития, или когда температура окружающей среды достаточно высока, чтобы гарантировать, что температура тела может поддерживаться на относительно стабильном уровне за счет баскинга), но также для достижения высоких метаболических показателей, чтобы регулировать температуру инкубации, или чтобы кормиться ночью, когда температура среды низкая, чтобы избежать конкуренции и/или хищничества от эктотермических позвоночных — гипотеза ночного бутылочного горлышка (Crompton et al., 1978; Gerkema et al., 2013). Выход из гомеотермной эндотермии у млекопитающих и птиц соответствует, таким образом, приобретению полноценной эндотермии и проявлению разнообразия и эволюции многих физиологических процессов, воспринимаемых в совокупности как эндотермия млекопитающих.

Эндотермия у птиц

Птицы в целом имеют более высокую скорость метаболизма, чем любые другие клады позвоночных, значения базального метаболизма типичной птицы превышают таковые у типичного эктотермного животного примерно в 15 раз, и примерно в 12 раз — типичного млекопитающего (Clarke, Pörtner, 2010). По этой причине их способность достигать недрожательного термогенеза широко описана в литературе (Ruben, 1995; Walter, Seebacher, 2009; Clarke, Pörtner, 2010). Механизм выделения метаболического тепла, описанный у птиц, однако, физиологически отличен от млекопитающих: так как бурая жировая ткань отсутствует у птиц, и ген, кодирующий UCP₁, был потерян целой кладой рептилий, так что птицы не использовали UCP₁ млекопитающих для обеспечения недрожательного термогенеза (Mezentseva et al., 2008; Newman, 2011). Еще один митохондриальный разобщающий белок, птичий UCP (avUCP), был описан у птиц и проявляется преимущественно в их скелетных мышцах (Emre et al., 2007). avUCP играет несколько ролей в митохондриях птиц — он производит свободные радикалы или регулирует использование липидов (Emre et al., 2007), и первоначально предполагалось, что он влияет на производство тепла у птиц, аналогично UCP₁ у млекопитающих (Toyomizu

et al., 2002). Тем не менее, было экспериментально показано, что он не имеет никакого значения ни в митохондриальной разобщающей активности, ни в производстве тепла в мышцах и печени у птиц (Walter, Seebacher, 2009). Вместо этого птичий гомолог адениннуклеотидтранслоказы (ANT) — другого белка, ответственного за транспорт адениннуклеотидов АДФ/АТФ через внутреннюю митохондриальную мембрану, — был найден у всех эукариот (Santamaria et al., 2004) и идентифицирован как основной белок, ответственный за митохондриальное разобщение в птичьих скелетных мышцах. Предполагается, что он непосредственно участвует в выработке тепла при термогенезе в скелетных мышцах (Toyomizu et al., 2002; Walter, Seebacher, 2009).

Однако, даже если митохондриальная адениннуклеотидтранслоказа играет важную роль в птичьем недрожательном термогенезе, производство тепла у птиц может, скорее всего, осуществляться благодаря другому специализированному процессу, который первоначально произошел от мышечного термогенеза, уже присутствующего у всех позвоночных, — благодаря производству тепла через разобщение ионов кальция в саркоплазматической сети мышечных клеток, активированных сарколипидом (Bal, Periasamy, 2020). У птиц этот процесс, скорее всего, стал основным способом достижения недрожательного термогенеза через мышечную гиперплазию, особенно в грудной мышце (Newman, 2011; Lovegrove, 2017; Periasamy et al., 2017). В общем, масса скелетных мышц значительно более развита у птиц, чем у амниот такого же размера, и скелетные мышцы птиц, участвующие в полете, имеют высокое содержание митохондрий и миоглобина, что способствует высокой аэробной дыхательной способности (Rowland et al., 2015). Гиперплазия мышц птиц, вероятно, обусловленная приобретением двуногости у теропод и последующей диверсификацией образа жизни птиц, таким образом, считается основным фактором появления как взлетающего полета, так и эндотермии птиц (Gould, 1997; Clarke, Pörtner, 2010; Newman et al., 2013; Rowland et al., 2015; Lovegrove, 2017). Эволюция насиживания и родительской заботы также была описана как потенциальный фактор мышечной гиперплазии и появления эндотермии у нескольких видов птиц (Angilletta et al., 2010). Интересно, что потеря способности к полету у птиц также, по-видимому, коррелирует с низкими значениями базального метаболизма и температурами тела. Самые низкие известные независимые от массы значения базального метаболизма для птиц можно найти у новозеландских киви *Apteryx* (Calder, King, 1974; Calder, Dawson, 1978). И другие нелетающие бескилевые (например, эму *Dromaius novaehollandiae* и страусы *Struthionidae*) также показывают низкие значения базального метабо-

лизма по сравнению с другими птицами (Maloney, Dawson, 1993). И самые низкие показатели температуры тела у птиц были зарегистрированы у нелетающих бескилевых и пингвинов (Clarke, Rothery, 2008).

Поскольку птичья эндотермия связывается многими авторами с мышечной гиперплазией, с приобретением бипедального передвижения у теропод, в течение последних пяти десятилетий было выдвинуто множество эволюционных гипотез в отношении эндотермии у динозавров не птичьей линии, тем более что другие характеристики, которые ранее связывали с птичьей физиологией, были идентифицированы как присутствующие во всей клade Dinosauria (Norell, Xu, 2005; O'Connor, Claessens, 2005; Claessens et al., 2009; Xu et al., 2010; Farmer, 2015). Многие исследователи изначально считали, что скорость метаболизма у динозавров должна быть низкой, если предположить, что их большие размеры и предполагаемая высокая инсуляция были достаточны для обеспечения стабильной температуры тела без метаболической теплопродукции (Benton, 1979; Paladino et al., 1990; Seebacher, 2003). Позднее высокие значения базального метаболизма были предсказаны несколькими исследованиями для нептичьих динозавров, особенно крупных теропод (Pontzer et al., 2009; Grady et al., 2014; Werner, Griebeler, 2014; Legendre et al., 2016). Однако это не обязательно означает, что нептичьи динозавры достигают такого высокого уровня базального метаболизма при использовании физиологической стратегии такой же, как у современных птиц, так как аналогичные значения базального метаболизма могут быть достигнуты многими различными способами. По этой причине обычно предполагаемая эндотермия не птичьих динозавров в настоящее время не может быть связана с какой-либо конкретной физиологической стратегией.

Совсем недавно вышла статья, в которой высказывалось предположение о том, что появление птиц (теплокровных летающих динозавров) было связано с эволюционным уменьшением их размеров (Rezende et al., 2020). В этой статье представлен анализ большого количества данных о современных и вымерших эктотермах и эндотермах. По мнению автора, уменьшение размеров динозавров (опуская детали) способствовало усилению их метаболизма и могло привести к переходу к эндотермии (или облегчить его). Однако имеет смысл обратить внимание на одно интересное обстоятельство, которое не было акцентировано в статье как важное: как показывает предыдущий обзор, дело далеко не только в чисто аллометрических закономерностях, но и в многочисленных качественных показателях организации биохимических процессов, обмена, анатомии, то есть в разнообразии механизмов обеспечения эндотермии. Поэтому у эктотермных рептилий меньших

размеров, которые имеют более интенсивный метаболизм, чем большие рептилии, но в функциональной структуре своего метаболизма не имеют составляющей, отчетливо обеспечивающей термогенез, механическое, аллометрическое усиление метаболизма не вызовет заметного увеличения термогенеза. У эндотермов же, у которых в функциональной структуре метаболизма имеется существенный элемент термогенеза, мелкие животные (в данном случае – птицы) обладают более интенсивным метаболизмом, чем крупные, а значит, могут обладать и более интенсивным термогенезом на единицу массы. Следовательно, если уменьшение размеров у предков птиц действительно связывается с повышением метаболизма и температуры тела, то их предки, скорее всего, уже обладали повышенной теплопродукцией и были эндотермными.

В целом взаимоотношения между разными вариантами эндотермических стратегий (при современном понимании проблемы) в различных группах позвоночных животных представлены на рисунке 14. А систематизация данных о распределении эндотермических стратегий приведена в таблице 1.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исходя из всего изложенного выше, можно сделать ряд важных заключений.

1. Практически во всех больших кладах позвоночных животных, начиная с разных хрящевых и костных рыб, неоднократно появлялись группы с повышенной температурой тела. Причем механизмы эндогенного повышения температуры тела во многих случаях различные, то есть единых механизмов у эндотермии нет. Общее в них – сама суть – стремление повысить температуру тела. Мало того, это стремление проявляется не только с применением эндогенного тепла (эндотермия), но и в ряде направлений развития – с применением внешнего, экзогенного тепла (эктотермия). Этот факт является в определенном смысле подтверждением того, что стратегическое направление, проявляющееся во всех группах позвоночных, – это стремление к повышению температуры тела, к сохранению повышенной температуры тела в течение более или менее продолжительного времени в сутках и в году. Причем любыми доступными средствами! У эктотермов для этого используется богатый арсенал поведенческих регуляторных реакций, а у эндотермов – разные варианты биохимических и физиологических преадаптаций, на базе которых развиваются разнообразные эктотермические проявления (термогенез) и варианты их контроля и регуляции, сохранения произведенного тепла или отдачи избытков тепла в зависимости от ситуации.

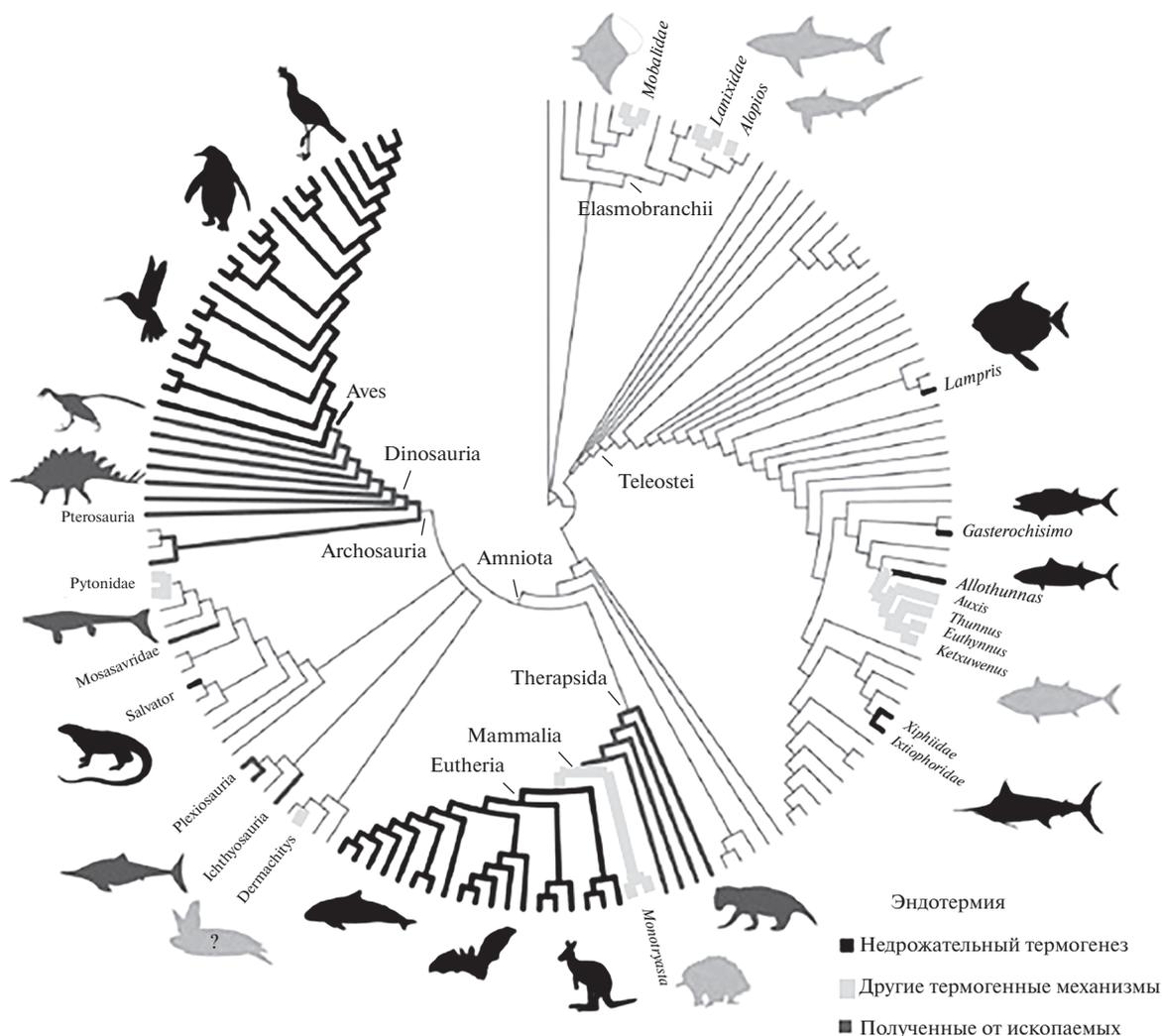


Рис. 14. Филогения позвоночных животных, показывающая независимое появление стратегий теплопродукции, описанных в литературе как эндотермия, с таксонами, в которых эндотермия появилась хотя бы один раз и которые на рисунке выделены жирными линиями. Различают недрожательный термогенез, то есть стратегию, наиболее часто называемую эндотермией, и другие стратегии; некоторые таксоны (млекопитающие и птицы) способны достигать недрожательного термогенеза, но могут также иногда полагаться на другие механизмы выработки тепла. Ископаемые таксоны, которые были определены как потенциальные эндотермы, также помечены. Кожистая морская черепаха *Dermochelys coriacea* помечена знаком вопроса, так как недрожательный термогенез не был убедительно продемонстрирован у этого вида (по: Legendre, Davesne, 2020).

2. Эндотермия, теплокровность, как единое биологическое проявление существует только как стратегическое функциональное направление, проявление того самого эволюционного принципа стабилизации высокой температуры тела у позвоночных, но не как единое филогенетическое эволюционное направление развития, прежде всего, потому что в разных кладах оно реализуется различными способами.

3. Постепенная стабилизация в эволюции позвоночных животных высокой температуры тела в течение хотя бы части суток в основном за счет внешних источников тепла (в наиболее ярком и развитом выражении — как у современных репти-

лий) или постоянно в основном за счет эндогенной теплопродукции (в наиболее ярком и развитом выражении — как у современных плацентарных млекопитающих и птиц) является для позвоночных не побочным продуктом эволюционного развития, не постепенно развившейся в результате адаптивного отбора потребностью, а одной из изначальных первопричин и мощной направляющей, канализирующей силой, стратегией их эволюции. При этом принцип стабилизации высокой температуры тела в эволюции позвоночных животных наиболее ярко проявляется при сравнении не видов и родов, а в ряду основных морфофизиологических типов: рыбы → ам-

фибии → рептилии → эндотермы (птицы и млекопитающие), когда при переходе от одного морфофизиологического типа организации к другому в эволюции происходят серьезные ароморфные перестройки (Черлин, 2017). Причем эти ароморфные морфофизиологические перестройки происходят не хаотически, а достаточно канализировано, направленно: в эволюции у позвоночных животных проявляются, развиваются и закрепляются именно те комплексы морфофизиологических признаков, которые призваны оптимизировать деятельность различных важных для функционирования организма биохимических соединений, а также призваны реализовывать потребные для этой оптимизации закономерности, что нами было уже неоднократно показано (Черлин, 2012, 2017; Cherlin, 2015).

После этих выводов, попробуем по возможности кратко и максимально четко ответить на два логичных, своевременных, заключительных и очень важных вопроса:

– Зачем позвоночным животным так нужна повышенная температура тела?

Повышенная температура тела нужна животным, прежде всего, потому что температуры около 40° намного ближе к оптимальному диапазону работы важнейших биохимических соединений в организме (в частности ферментов), чем те условия внешней среды, в которой животные живут. Без этих соединений жизнедеятельность вообще невозможна, а оптимальный температурный диапазон для ферментов – это тот, в котором реакции с ферментами происходят с наибольшей скоростью и с наименьшими энергетическими затратами. Кроме того, в диапазоне температур 37–40° в организме уравниваются анаболические и катаболические процессы, ускоряется и оптимизируется деятельность нервной системы, позволяя ей усложнять работу, направленную в первую очередь на оперативную адаптацию к внешней среде, усиливается энергетическая обеспеченность активности и повышается уровень базального метаболизма, кардинально улучшая всем этим качество активности, создавая таким животным безусловные экологические преимущества (Черлин, 2017). Есть и другие преимущества высокой температуры тела, но перечисленных – уже достаточно. Именно поэтому стремление повысить температуру тела является важным для жизнедеятельности животных, причем на всех уровнях – от биохимических соединений до организма в целом.

– Почему стабильно высокая температура тела так нужна именно позвоночным животным?

Уже много лет назад было показано, что у многочисленных групп животных: и беспозвоночных, и позвоночных – при активности регистрируется примерно один и тот же уровень температуры тела –

36–40° (Стрельников, 1948). Совершенно очевидно, что высокие температуры тела важны для многих животных. Но, тем не менее, мы говорим о том, что высокая температура тела эволюционно важна в первую очередь именно позвоночным животным, потому что именно для них мы можем констатировать, что стремление повысить и стабилизировать температуру тела на высоком уровне становится важнейшей канализирующей силой их эволюции (Черлин, 2012, 2017; Cherlin, 2015). Так почему же именно у позвоночных животных эта направленность стала такой важной, лежащей в основе их эволюционных преобразований?

У позвоночных животных, в отличие от беспозвоночных, существует эволюционная направленность на развитие, раскрытие и использование потенциальных возможностей индивидуального животного в полезном, экономящем энергию активности и конкурентоспособном ключе. Поэтому, наряду с другими физиологическими системами организма, возможно, опережающее значение имело эволюционное развитие нервной системы, особенно – переднего мозга, что способствовало существенному усложнению индивидуального поведения. Но, скорее всего, такое грандиозное усложнение нервной системы и поведения возможно только в случае, когда скорость прохождения сигналов (нервных импульсов) и скорость совершения отдельных операций становятся достаточно высокими, чтобы обеспечить оперативное функционирование чрезвычайно сложной функциональной системы, а это, в свою очередь, возможно в природе лишь при высокой температуре. Именно поэтому А.В. Рюмин считал, что прогрессивное развитие животных возможно только при достаточно высокой температуре тела (Рюмин, 1939), с чем мы совершенно согласны.

Следовательно, один из важнейших факторов, определяющих значение высокой температуры тела именно для позвоночных животных, при постепенном, эволюционном усложнении уровня их организации – это необходимость мощного развития нервной системы и индивидуального поведения.

Кроме того, у позвоночных животных имелся ряд биохимических преадаптаций, которые раскрывают новые возможности для активности, для освоения новых сред и т.п., а также позволяют активно и направленно использовать высокие температуры тела для направленного же прогрессивного морфофизиологического эволюционного развития (Черлин, 2017).

У беспозвоночных животных в процессе эволюции можно наблюдать появление групп животных, которые тем или иным способом могли достигать определенных успехов в решении отдельных задач. Примером может служить высо-

кий уровень своеобразного развития нервной системы и поведения у головоногих моллюсков (Finn et al., 2009; Albertin et al., 2015), но они не были способны на сложное, комплексное, многовекторное эволюционное развитие, в отличие от позвоночных, обладавших к тому же удачным универсальным планом строения, допускающим такое перспективное развитие. Также в качестве примера можно привести общественных насекомых, в частности муравьев. Некоторые исследователи считают, что у них более или менее полноценные функции организма выполняет муравейник как единое целое. А отдельные муравьи — лишь элементы, его составляющие. Тогда получается, что сложность и многообразие связей и структуры целой сложной функциональной системы организма раскладываются на отдельных муравьев, и внутри крохотных, дискретных задач, решаемых каждой отдельной особью, скорости прохождения сигналов и совершения отдельных операций в этих масштабах вполне достаточны даже при низких температурах (Hemmings, Andrew, 2016).

Думаем, что наш ответ на оба вопроса не исчерпывает всех возможных вариантов, но уже этого достаточно, чтоб понять главное: у позвоночных животных были веские функциональные и прочие причины, направляющие их эволюционное развитие на повышение и стабилизацию температуры тела в диапазоне 37–40° любыми доступными и допустимыми способами.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ананичев А.В.* Пищеварительные ферменты рыб и сезонная изменчивость их активности // Биохимия. 1959. Т. 24. № 6. С. 1033–1040.
- Анисимова И.М., Лавровский В.В.* Ихтиология. М.: Высшая школа, 1983. 255 с.
- Биохимия / Ред. Е.С. Северин. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2004. 784 с.
- Голованов В.К.* Температурные критерии жизнедеятельности пресноводных рыб. М.: Полиграф-Плюс, 2013. 300 с.
- Гуржий А.Н.* Ваш террариум. М.: Аквариум-Принт, 2006. 144 с.
- Израэль А.И.* Значение факторов высокогорья в физиологии человека и животных // Тр. САГУ. Сер. зоол. Ташкент: САГУ, 1936а. Вып. 24. 27 с.
- Израэль А.И.* Физиология лошади на горных перевалах Тянь-Шаня // Тр. САГУ. Сер. зоол. Ташкент: САГУ, 1936б. Вып. 28. 22 с.
- Калабухов Н.И.* Летняя спячка сусликов (*Citellus fulvus* Licht. и *C. pygmaeus* Pall.) // Тр. лаб. эксперим. биол. Моск. зоопарка. 1929. Т. 5. С. 163–176.
- Калабухов Н.И.* Сохранение энергетического баланса организма как основа процесса адаптации // Журн. общ. биол. 1946а. Т. 7. № 6. С. 419–434.
- Калабухов Н.И.* Спячка животных. М.: Советская наука, 1946б. 184 с.
- Колтун Е.М., Русин В.И.* Некоторые аспекты терморегуляции у птиц за влияния повышенной и пониженной температуры окружающей среды // Научный вестник ЛНУВМБТ им. С.З. Гжицкого. 2016. Ч. 1. Т. 18. № 1 (65). С. 61–68.
- Коштоянц Х.С.* Основы сравнительной физиологии. Т. 1. М., Л.: АН СССР, 1950. 523 с.
- Коштоянц Х.С., Коржуев П.А.* Материалы к сравнительной физиологии пищеварительных ферментов. I. Трипсин холоднокровных и теплокровных животных, температурный оптимум и теплоустойчивость их // Зоол. журн. 1934. Т. 13. № 1. С. 71–82.
- Кузьмина В.В.* Общие закономерности мембранного пищеварения у рыб и его адаптивная перестройка: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М.: Инст. эволюц. морфол. и экол. живот. АН СССР, 1986. 39 с.
- Орлов Н.Л.* Факультативная эндогенная терморегуляция питонов (Vuidae, Pythoninae) и корреляция между эндотермными реакциями и поведенческой терморегуляцией // Зоол. журн. 1986. Т. 65. № 4. С. 551–559.
- Рюмин А.В.* Температурная чувствительность позвоночных животных и биологический путь происхождения теплокровных форм // Сб. студ. научных работ МГУ. 1939. Вып. 6. С. 55–84.
- Рюмин А.В.* Значение температуры в онтогенезе и филогенезе животных // Успехи соврем. биол. 1940. Т. 12. № 3. С. 504–515.
- Слоним А.Д.* Животная теплота и ее регуляция в организме млекопитающих. Л.: Наука, 1952. 327 с.
- Слоним А.Д.* Химическая терморегуляция и структура эффекторной части терморегуляционного рефлекса // Физиол. журн. СССР им. И.М.Сеченова. 1964. Т. 50. № 8. С. 117–125.
- Слоним А.Д.* Экологическая физиология животных. М.: Высшая школа, 1971. 448 с.
- Слоним А.Д.* Учение о физиологических адаптациях // Экологическая физиология животных / Ред. А.Д. Слоним. Л.: Наука, 1979. С. 79–182.
- Слоним А.Д.* Температура среды обитания и эволюция температурного гомеостаза // Физиология терморегуляции / Ред. К.П. Иванов. Л.: Наука, 1984. С. 378–440.
- Слоним А.Д.* Эволюция терморегуляции. Л.: Наука, 1986. 76 с.
- Слоним А.Д., Щербакова О.П.* Материалы к сравнительной физиологии терморегуляции. Химическая терморегуляция у взрослых гамадрилов // Бюл. ВИЭМ. 1935а. № 11–12. С. 16–17.

- Слоним А.Д., Щербакова О.П. Материалы к сравнительной физиологии терморегуляции. Химическая терморегуляция у обезьян макак // Бюл. ВИЭМ. 1935б. № 11–12. С. 17–18.
- Слоним А.Д., Щербакова О.П. Материалы к сравнительной физиологии терморегуляции. К механизму терморегуляции у хищников // Бюл. ВИЭМ. 1935в. № 11–12. С. 18–19.
- Сравнительная физиология животных. Т. 2 / Ред. Л. Проссер. М.: Мир, 1977. 576 с.
- Стрельников И.Д. Физиологические основы экологии грызунов // Сб. ВИЗР. 1933. № 7. С. 72–76.
- Стрельников И.Д. Значение теплового обмена в экологии роющих грызунов (к вопросу о факторах массового размножения и массовой гибели мышевидных грызунов) // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1940. № 2. С. 276–298.
- Стрельников И.Д. Значение солнечной радиации и взаимодействия физико-географических факторов в экологии животных различных ландшафтов (к вопросу о значении физической географии в экологии животных) // Пробл. физ. географ. 1948. № 13. С. 145–155.
- Физиология терморегуляции / Ред. К.П. Иванов. Л.: Наука, 1984. 470 с.
- Целлариус А.Ю., Черлин В.А., Меньшиков Ю.Г. Предварительное сообщение о работах по изучению биологии *Varanus griseus* (Reptilia, Varanidae) в Средней Азии // Герпетологические исследования. Л.: ЛИСС, 1991. С. 61–103.
- Черлин В.А. Стабилизация высокой температуры тела в эволюции позвоночных животных // Успехи соврем. биол. 1990. Т. 109. № 3. С. 440–452.
- Черлин В.А. Организация процесса жизни как системы. СПб.: Русско-Балтийский информационный центр “БЛИЦ”, 2012. 124 с.
- Черлин В.А. Рептилии: температура и экология. Saarbrücken: LAP, 2014. 442 с.
- Черлин В.А. Современный взгляд на термобиологию с позиции изучения рептилий // Биосфера. 2016. Т. 8. № 1. С. 47–67.
- Черлин В.А. Значение изменений интенсивности сопряженного и несопряженного дыхания митохондрий в эволюции позвоночных животных // Успехи соврем. биол. 2017. Т. 137. № 5. С. 479–497.
- Черлин В.А., Леонтьева О.А., Червяцова О.Я. Александр Владимирович Рюмин – забытый биолог // Принципы экологии. 2016. Т. 5. № 4 (20). С. 57–89.
- Чиркин А.А., Данченко Е.О. Биохимия. М.: Медицинская литература, 2010. 624 с.
- Шмидт-Ниельсен К. Физиология животных. Приспособление и среда. Кн. 1. М.: Мир, 1982. 416 с.
- Эстерле О. Почему жизнь концентрируется при 37°C? 2000. <http://scisne.net/a-451>.
- Ярцев В.В., Куранова В.Н. О возможности гибридизации приморского, *Salamandrella tridactyla*, и сибирского, *S. keyserlingii*, углозубов (*Amphibia: Caudata, Hynobiidae*) // Вестн. Томск. гос. ун-в. Биология. 2013. № 3 (23). С. 83–90.
- Albertin C.B., Simakov O., Mitros T. et al. The octopus genome and the evolution of cephalopod neural and morphological novelties // Nature. 2015. V. 524. P. 220–224.
- Alexander R.L. Evidence of brain-warming in the mobulid rays, *Mobula tarapacana* and *Manta birostris* (Chondrichthyes: Elasmobranchii: Batoidea: Myliobatiformes) // Zool. J. Linn. Soc. 1996. V. 118. P. 151–164.
- Angilletta M.J., Cooper B.S., Schuler M.S., Boyles J.G. The evolution of thermal physiology in endotherms // Front. Biosci. 2010. V. 2. P. 861–881.
- Atkins A., Dean M.N., Habegger M.L. et al. Remodeling in bone without osteocytes: billfish challenge bone structure–function paradigms // PNAS USA. 2014. V. 111. P. 16047–16052.
- Bal N.C., Periasamy M. Uncoupling of sarcoendoplasmic reticulum calcium ATPase pump activity by sarcolipin as the basis for muscle non-shivering thermogenesis // Phil. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. 2020. V. 375. P. 20190135.
- Balsai M. Making it hot for the microbes: why reptiles may “desire” to be warmer when ill // Bull. Chicago Herpetol. Soc. 1986. V. 22. № 3–4. P. 79–83.
- Bargelloni L., Marcato S., Patarnello T. Antarctic fish hemoglobins: evidence for adaptive evolution at subzero temperature // PNAS USA. 1998. V. 95. P. 8670–8675.
- Bartholomew G.A. Physiological control of body temperature // Biology of the Reptilia. V. 12. Physiology C. Physiological ecology / Eds C. Gans, F.H. Pough. N.Y.: Academic Press, 1982. P. 167–211.
- Benedict F.G. The physiology of large reptiles with special reference to the heat production of snakes, tortoises, lizards and alligators. V. 425. Washington: Carnegie Institution, 1932. P. 539.
- Bennett A.F., Hicks J.W., Cullum A.J. An experimental test of the thermoregulatory hypothesis for the evolution of endothermy // Evolution. 2000. V. 54. № 5. P. 1768–1773.
- Benton M.J. Ectothermy and the success of dinosaurs // Evolution. 1979. V. 33. P. 983–997.
- Bernal D., Sepulveda C.A. Evidence for temperature elevation in the aerobic swimming musculature of the common thresher shark, *Alopias vulpinus* // Copeia. 2005. № 1. P. 146–151.
- Bernal D., Dickson K.A., Shadwick R.E., Graham J.B. Review: analysis of the evolutionary convergence for high performance swimming in lamnid sharks and tunas // Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol. 2001. V. 129. P. 695–726.
- Bernard A., Lécuyer C., Vincent P. et al. Regulation of body temperature by some Mesozoic marine reptiles // Science. 2010. V. 328. № 5984. P. 1379–1382.
- Bernheim H.A., Kluger M.J. Fever and antipyresis in lizard *Dipsosaurus dorsalis* // Am. J. Physiol. 1976. V. 231. № 1. P. 198–203.
- Block B.A. Structure of the brain and eye heater tissue in marlins, sailfish, and spearfishes // J. Morphol. 1986. V. 190. P. 169–189.
- Block B.A. Endothermy in fish: thermogenesis, ecology and evolution // Biochemistry and molecular biology of fishes / Eds P.M. Hochachka, T. Mommsen. Amsterdam: Elsevier, 1991. P. 269–311.

- Block B.A.* Thermogenesis in muscle // *Annu. Rev. Physiol.* 1994. V. 56. P. 535–577.
- Block B.A., Carey F.G.* Warm brain and eye temperatures in sharks // *J. Comp. Physiol. B.* 1985. V. 156. P. 229–236.
- Block B.A., Finnerty J.R.* Endothermy in fishes: a phylogenetic analysis of constraints, predispositions, and selection pressures // *Environ. Biol. Fishes.* 1994. V. 40. P. 283–302.
- Block B.A., Finnerty J.R., Stewart A.F., Kidd J.* Evolution of endothermy in fish: mapping physiological traits on a molecular phylogeny // *Science.* 1993. V. 260. P. 210–214.
- Bourke J.M., Ruger P.W., Ridgely R.C. et al.* Breathing life into dinosaurs: tackling challenges of soft-tissue restoration and nasal airflow in extinct species // *Anat. Rec.* 2014. V. 297. P. 2148–2186.
- Bostrom B.L., Jones T.T., Hastings M., Jones D.R.* Behaviour and physiology: the thermal strategy of leatherback turtles // *PLoS One.* 2010. V. 5. P. e13925.
- Brashears J.A., DeNardo D.F.* Revisiting python thermogenesis: brooding Burmese pythons (*Python bivittatus*) cue on body, not clutch, temperature // *J. Herpetol.* 2013. V. 47. P. 440–444.
- Brattstrom B.H., Collins R.* Thermoregulation // *Int. Turtle-Tortoise Soc. J.* 1972. V. 16. № 5. P. 15–19.
- Brice P.H.* Thermoregulation in monotremes: riddles in a mosaic // *Aust. J. Zool.* 2009. V. 57. P. 255–263.
- Brocklehurst R.J., Schachner E.R., Sellers W.I.* Vertebral morphometrics and lung structure in non-avian dinosaurs // *R. Soc. Open. Sci.* 2018. V. 5. P. 180983.
- Burness G., Diamond J., Flannery T.* Dinosaurs, dragons, and dwarfs: the evolution of maximal body size // *PNAS USA.* 2001. V. 98. № 25. P. 14518–14523.
- Burton T., Killen S.S., Armstrong J.D., Metcalfe N.B.* What causes intraspecific variation in resting metabolic rate and what are its ecological consequences? // *Proc. Biol. Sci.* 2011. V. 278. P. 3465–3473.
- Calder W.A., King J.R.* Thermal and caloric relations of birds // *Avian biology* / Eds D.S. Farner, J.R. King. N.Y.: Academic Press, 1974. P. 259–413.
- Calder W.A., Dawson T.J.* Resting metabolic rates of ratite birds: the kiwis and the emu // *Comp. Biochem. Physiol.* 1978. V. 60A. P. 479–481.
- Canavan R.R., Field D.J., Zelenitsky D.K. et al.* Eggshell clumped isotope temperatures: implications for dinosaur thermoregulation // 5th Int. Clumped Isotope Workshop, Abstr. (St. Petersburg, Florida, January 6–9, 2016). 2016. P. 6.
- Cannon B., Nedergaard J.* Brown adipose tissue: function and physiological significance // *Physiol. Rev.* 2004. V. 84. P. 277–359.
- Carey F.G.* A brain heater in the swordfish // *Science.* 1982. V. 216. P. 1327–1329.
- Carey F.G., Teal J.M., Kanwisher J.W. et al.* Warm-bodied fish // *Am. Zoologist.* 1971. V. 11. P. 137–143.
- Cherlin V.A.* The biochemical basis of staging in evolution of vertebrates // Some important aspects of thermal biology of reptiles. Saarbrücken: LAP, 2015. P. 140–192.
- Chinsamy A., Hurum J.H.* Bone microstructure and growth patterns of early mammals // *Acta Palaeontol. Pol.* 2006. V. 51. P. 325–338.
- Chinsamy-Turan A.* The microstructure of dinosaur bone: deciphering biology with fine-scale techniques. Baltimore, MD: Johns Hopkins Univ. Press, 2005. 195 p.
- Claessens L.P.A.M., O'Connor P.M., Unwin D.M.* Respiratory evolution facilitated the origin of pterosaur flight and aerial gigantism // *PLoS One.* 2009. V. 4. P. e4497.
- Clarke A., Rothery P.* Scaling of body temperature in mammals and birds // *Funct. Ecol.* 2008. V. 22. P. 58–67.
- Clarke A., Pörtner H.-O.* Temperature, metabolic power and the evolution of endothermy // *Biol. Rev.* 2010. V. 85. P. 703–727.
- Cloudsley-Thompson J.L.* Physiological thermoregulation in the spurred tortoise (*Testudo graeca*) // *J. Natur. Hist.* 1974. V. 8. № 5. P. 577–587.
- Cooper J.E., Jackson O.F.* Miscellaneous diseases // *Diseases of the Reptilia* / Eds J.E. Cooper, O.F. Jackson. London: Academic Press, 1981. P. 488–504.
- Crawshaw L.I., Moffitt B.P., Lemons D.E., Downey J.A.* The evolutionary development of vertebrate thermoregulation // *Am. Scientist.* 1981. V. 69. № 5. P. 543–550.
- Crompton A.W., Taylor C.R., Jagger J.A.* Evolution of homeothermy in mammals // *Nature.* 1978. V. 272. P. 333–336.
- Davenport J., Fraher J., Fitzgerald E. et al.* Fat head: an analysis of head and neck insulation in the leatherback turtle (*Dermochelys coriacea*) // *J. Exp. Biol.* 2009. V. 212. P. 2753–2759.
- Davenport J., Jones T.T., Work T.M., Balazs G.H.* Topsy-turvy: turning the counter-current heat exchange of leatherback turtles upside down // *Biol. Lett.* 2015. V. 11. P. e20150592.
- Davesne D., Meunier F.J., Friedman M. et al.* Histology of the endothermic opah (*Lampris sp.*) suggests a new structure–function relationship in teleost fish bone // *Biol. Lett.* 2018. V. 14. P. 20180270.
- Davesne D., Meunier F.J., Schmitt A.D. et al.* The phylogenetic origin and evolution of acellular bone in teleost fishes: insights into osteocyte function in bone metabolism // *Biol. Rev.* 2019. V. 94. P. 1338–1363.
- Dawson W.R.* On the physiological significance of the preferred body temperatures of reptiles // *Perspectives of biophysical ecology. Ecological studies* / Eds D.M. Gates, R.B. Schmerl. N.Y.: Springer-Verlag, 1975. V. 12. P. 443–473.
- De Ricqlès A., Meunier F.J., Castanet J., Francillon-Vieillot H.* Comparative microstructure of bone // *Bone matrix and bone specific products.* V. 3. Bone / Ed. B.K. Hall. Boca Raton, FL: CRC Press, 1991. P. 1–78.
- Dickson K.A., Graham J.B.* Evolution and consequences of endothermy in fishes // *Physiol. Biochem. Zool.* 2004. V. 77. P. 998–1018.
- Dutton R.H., Fitzpatrick L.C.* Metabolic compensation to metabolic temperatures in the rusty lizard, *Sceloporus olivaceus* // *Compar. Biochem. Physiol.* 1975. V. A51. № 2. P. 309–318.
- Eagle R.A., Tütken T., Martin T.S. et al.* Dinosaur body temperatures determined from isotopic (¹³C–¹⁸O) ordering

- in fossil biominerals // *Science*. 2011. V. 333. № 6041. P. 443–445.
- Eastick D.L., Tattersall G.J., Watson S.J. et al. Cassowary casques act as thermal windows // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. P. e1966.
- Eise P.L., Hulbert A.J. An allometric comparison of the mitochondria of mammalian and reptilian tissues: the implications for the evolution of endothermy // *J. Comp. Physiol. B.* 1985. V. 156. P. 3–11.
- Emre Y., Hurtaud C., Ricquier D. et al. Avian UCP: the killjoy in the evolution of the mitochondrial uncoupling proteins // *J. Mol. Evol.* 2007. V. 65. P. 392–402.
- Engbretson G.A., Livezey R.L. The effects of aggressive display on body temperature in the fence lizard *Sceloporus occidentalis occidentalis* Baird and Girard // *Physiol. Zool.* 1972. V. 45. P. 247–254.
- Fair W., Ackman R.G., Mrosovsky N. Body temperature of *Dermochelys coriacea*: warm turtle from cold water // *Science*. 1972. V. 177. P. 791–793.
- Farmer C.G. The evolution of unidirectional pulmonary airflow // *Physiology*. 2015. V. 30. P. 260–272.
- Ferrón H.G. Regional endothermy as a trigger for gigantism in some extinct macropredatory sharks // *PLoS One*. 2017. V. 12. P. e0185185.
- Finn J.K., Tregenza T., Norman M.D. Defensive tool use in a coconut-carrying octopus // *Curr. Biol.* 2009. V. 19. P. R1069–R1070.
- Firth B.T., Ralph C.L., Boardman T.J. Independent effects of the pineal and a bacterial pyrogen in behavioural thermoregulation in lizards // *Nature*. 1980. V. 285. № 5764. P. 399–400.
- Franck J.P.C., Slight-Simcoe E., Wegner N.C. Endothermy in the smalleye opah (*Lampris incognitus*): a potential role for the uncoupling protein sarcolipin // *Comp. Biochem. Physiol. Mol. Integr. Physiol.* 2019. V. 233. P. 48–52.
- Galvao P.E., Tarasantchi J., Guertzenstein P. Heat production of tropical snakes // *Amer. J. Physiol.* 1965. V. 209. № 3. P. 501–506.
- Gaudry M.J., Jastroch M., Treberg J.R. et al. Inactivation of thermogenic UCP1 as a historical contingency in multiple placental mammal clades // *Sci. Adv.* 2017. V. 3. P. e1602878.
- Geiser F., Stawski C., Wacker C.B., Nowack J. Phoenix from the ashes: fire, torpor, and the evolution of mammalian endothermy // *Front. Physiol.* 2017. V. 8. P. 842.
- Gerkema M.P., Davies W.I.L., Foster R.G. et al. The nocturnal bottleneck and the evolution of activity patterns in mammals // *Proc. Biol. Sci.* 2013. V. 280. P. 20130508.
- Goldby F., Hicks C.S., O'Connor W.J., Sinclair D.A. A comparison of the skin temperature and skin circulation of naked whites and Australian aborigines exposed to similar environmental changes // *Austral. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 1938. V. 16. P. 29–37.
- Gould S.J. The exaptive excellence of spandrels as a term and prototype // *PNAS USA*. 1997. V. 94. № 10. P. 750–755.
- Gould S.J. Sex, drugs, disasters, and the extinction of dinosaurs // *75 Readings Plus* / S. Buscemi, C. Smith. N.Y.: McGraw-Hill, 1998. P. 448–454.
- Grady J.M., Enquist B.J., Dettweiler-Robinson E. et al. Dinosaur physiology. Evidence for mesothermy in dinosaurs // *Science*. 2014. V. 344. P. 1268–1272.
- Graham J.B., Dickson K.A. The evolution of thunniform locomotion and heat conservation in scombrid fishes: new insights based on the morphology of *Allothunnus fallai* // *Zool. J. Linn. Soc.* 2000. V. 129. P. 419–466.
- Graham J.B., Dickson K.A. Anatomical and physiological specialization for endothermy // *Fish physiology. Tuna: physiology, ecology, and evolution*. V. 19 / Eds B.A. Block, E.D. Stevens. San Diego, CA: Academic Press, 2001. P. 121–165.
- Graham J.B., Koehn F.J., Dickson K.A. Distribution and relative proportions of red muscle in scombrid fishes: consequences of body size and relationships to locomotion and endothermy // *Can. J. Zool.* 1983. V. 61. P. 2087–2096.
- Grant T.R., Dawson T.J. Temperature regulation in the platypus, *Ornithorhynchus anatinus*: production and loss of metabolic heat in air and water // *Physiol. Zool.* 1978. V. 51. P. 315–332.
- Greer A.E., Lazell J.D., Wright R.M. Anatomical evidence for a counter-current heat exchanger in the leatherback turtle (*Dermochelys coriacea*) // *Nature*. 1973. V. 244. P. 181.
- Grigg G.C., Beard L.A., Augee M.L. The evolution of endothermy and its diversity in mammals and birds // *Physiol. Biochem. Zool.* 2004. V. 77. P. 982–997.
- Hammel H.T., Eisner R.W., LeMessurier D.H. et al. Thermal and metabolic responses of the Australian Aborigine exposed to moderate cold in summer // *J. Appl. Physiol.* 1959. V. 14. P. 605–615.
- Harlow P., Grigg G. Shivering thermogenesis the production of heat, especially within the animal body thermogenesis in brooding diamond python, *Python spilotes spilotes* // *Copeia*. 1984. V. 4. P. 959–965.
- Harlow H.J., Purwandana D., Jessop T.S., Phillips J.A. Body temperature and thermoregulation of Komodo dragons in the field // *J. Therm. Biol.* 2010. V. 35. P. 338–347.
- Hayward J.S., Lisson P.A. Evolution of brown fat: its absence in marsupials and monotremes // *Can. J. Zool.* 1992. V. 70. P. 171–179.
- Hemmings Z., Andrew N. Effects of microclimate and species identity on body temperature and thermal tolerance of ants (Hymenoptera: Formicidae): body temperature and thermal tolerance of ants // *Austral Entomol.* 2016. V. 56. P. 104–114.
- Hillenius W.J. The evolution of nasal turbinates and mammalian endothermy // *Paleobiology*. 1992. V. 18. P. 17–29.
- Hohtola E. Shivering thermogenesis in birds and mammals // *Life in the cold: evolution, mechanisms, adaptation, and application*. Proc. 12th Int. Hibernat. Symp. (Vancouver, 25 July–1 August, 2004) / Eds B.M. Barnes, H.V. Carey. Fairbanks, AK: Institute of Arctic Biology, University of Alaska, 2004. P. 241–252.
- Hughes D.A., Jastroch M., Stoneking M., Klingenspor M. Molecular evolution of UCP1 and the evolutionary history of mammalian non-shivering thermogenesis // *BMC Evol. Biol.* 2009. V. 9. Art. 4.
- Hutchison V.H., Dowling H.D., Vinegar A. Thermoregulation in a brooding female Indian python, *Python molurus* // *Science*. 1966. V. 151. P. 694–696.

- Jastroch M., Seebacher F.* Importance of adipocyte browning in the evolution of endothermy // *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 2020. V. 375. P. 20190134.
- Jastroch M., Withers K.W., Taudien S. et al.* Marsupial uncoupling protein 1 sheds light on the evolution of mammalian nonshivering thermogenesis // *Physiol. Genomics.* 2008. V. 32. P. 161–169.
- Johnson C.R.* Thermoregulation in crocodylians. I. Head-body temperature control in the papuan – New Guinean Crocodiles, *Crocodylus novoaguineae* and *Crocodylus porosus* // *Comp. Biochem. Physiol. A Comp. Physiol.* 1974. V. 49. № 1A. P. 3–28.
- Johnson C.R., Webb G.J.W., Johnson C.* Thermoregulation in pythons III. Thermal ecology and behavior of the blackheaded rock python, *Aspidites melanocephalus* // *Herpetologica.* 1975. V. 81. № 3. P. 326–332.
- Kabat A.P., Rose R.W., Harris J., West A.K.* Molecular identification of uncoupling proteins (UCP2 and UCP3) and absence of UCP1 in the marsupial Tasmanian bettong, *Bettongia gaimardi* // *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 2003. V. 134. P. 71–77.
- Kapusta A., Suh A., Feschotte C.* Dynamics of genome size evolution in birds and mammals // *PNAS USA.* 2017. V. 114. P. E1460–E1469.
- Katz S.L.* Design of heterothermic muscle in fish // *J. Exp. Biol.* 2002. V. 205. P. 2251–2266.
- Klingenspor M., Fromme T., Hughes D.A. et al.* An ancient look at UCP1 // *Biochim. Biophys. Acta.* 2008. V. 777. P. 637–641.
- Kolb C., Scheyer T.M., Veitschegger K. et al.* Mammalian bone palaeohistology: a survey and new data with emphasis on island forms // *Peer J.* 2015. V. 3. P. e1358.
- Köhler M., Marín-Moratalla N., Jordana X., Aanes R.* Seasonal bone growth and physiology in endotherms shed light on dinosaur physiology // *Nature.* 2012. V. 487. P. 358–361.
- Lamarre-Picquot P.* Troisième memoirs sur l'incubation et quatre phenomenes observes ches les ophidiens // *Comp. Rend., Acad. Sci., Paris.* 1842. V. 14. P. 164.
- Legendre L.J., Davesne D.* The evolution of mechanisms involved in vertebrate endothermy // *Phil. Trans. R. Soc. B.* 2020. V. 375 (1793). P. e20190136.
- Legendre L.J., Guénard G., Botha-Brink J., Cubo J.* Palaeohistological evidence for ancestral high metabolic rate in archosaurs // *Syst. Biol.* 2016. V. 65. P. 989–996.
- Licht P.* The effect of temperature on heart rates of lizards during rest and activity // *Physiol. Zool.* 1964. V. 38. P. 129–137.
- Licht P., Basu S.L.* Influence of temperature on lizard testes // *Nature.* 1967. V. 213. P. 672–674.
- Linthicum D.S., Carey F.G.* Regulation of brain and eye temperatures by the bluefin tuna // *Comp. Biochem. Physiol. A Comp. Physiol.* 1972. V. 43. P. 425–433.
- Lovegrove B.G.* A phenology of the evolution of endothermy in birds and mammals // *Biol. Rev.* 2017. V. 92. P. 1213–1240.
- Maloney S.K., Dawson T.J.* Sexual dimorphism in basal metabolism and body temperature of a large bird, the emu // *Condor.* 1993. V. 95. P. 1034–1037.
- Martin C.J.* Thermal adjustment and respiratory exchange in monotremes and marsupials. A study in the development of homeothermism. L.: R. Soc. Lond., 1903. P. 1–37.
- McCafferty D.J., Gilbert C., Thierry A.-M. et al.* Emperor penguin body surfaces cool below air temperature // *Biol. Lett.* 2013. V. 9. P. e20121192.
- McNab B.K.* The influence of body size on the energetics and distribution of fossorial and burrowing mammals // *Ecology.* 1979. V. 60. P. 1010–1021.
- McNab B.K.* Physiological convergence amongst ant-eating and termite-eating mammals // *J. Zool.* 1984. V. 203. P. 485–510.
- Mezentseva N.V., Kumaratilake J.S., Newman S.A.* The brown adipocyte differentiation pathway in birds: an evolutionary road not taken // *BMC Biol.* 2008. V. 6. Art. 17.
- Miklouho-Maclay N.D.* Temperature of the body of *Echidna hystrix* Cuv. // *Proc. Linn. Soc. New South Wales.* 1884. V. 8. P. 425–426.
- Miya M., Friedman M., Satoh T.P. et al.* Evolutionary origin of the Scombridae (tunas and mackerels): members of a Paleogene adaptive radiation with 14 other pelagic fish families // *PLoS One.* 2013. V. 8. P. e73535.
- Morrisette J.M., Franck J.P.G., Block B.A.* Characterization of ryanodine receptor and Ca²⁺-ATPase isoforms in the thermogenic heater organ of blue marlin (*Makaira nigricans*) // *J. Exp. Biol.* 2003. V. 206. P. 805–812.
- Muchlinski A.E., Stoutenburgh R.I., Hogan J.M.* Fever response in laboratory-maintained and free-ranging chuckwallas (*Sauromalus obesus*) // *Amer. J. Physiol.* 1989. V. 257. № 1. P. R150–R155.
- Navas C.A., Carvajalino-Fernández J.M., Saboyá-Acosta L.P. et al.* The body temperature of active amphibians along a tropical elevation gradient: patterns of mean and variance and inference from environmental data // *Funct. Ecol.* 2013. V. 27. № 5. P. 1145–1154.
- Newman S.A.* Thermogenesis, muscle hyperplasia, and the origin of birds // *BioEssays.* 2011. V. 33. P. 653–656.
- Newman S.A., Mezentseva N.V., Badyaev A.V.* Gene loss, thermogenesis, and the origin of birds // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2013. V. 1289. P. 36–47.
- Nicol S.C.* Energy homeostasis in monotremes // *Front. Neurosci.* 2017. V. 11. P. 195.
- Norell M.A., Xu X.* Feathered dinosaurs // *Ann. Rev. Earth Planet. Sci.* 2005. V. 33. P. 277–299.
- O'Connor P.M., Claessens L.P.A.M.* Basic avian pulmonary design and flow-through ventilation in non-avian theropod dinosaurs // *Nature.* 2005. V. 436. P. 253–256.
- Oelkrug R., Polymeropoulos E.T., Jastroch M.* Brown adipose tissue: physiological function and evolutionary significance // *J. Comp. Physiol. B.* 2015. V. 185. P. 587–606.
- Okada S., Utsunomiya T., Okada T. et al.* Characteristics of Japanese giant salamander (*Andrias japonicus*) populations in two small tributary streams in Hiroshima prefecture, Western Honshu, Japan // *Herpetol. Conserv. Biol.* 2008. V. 3. № 2. P. 192–202.
- Paladino F.V., O'Connor M.P., Spotila J.R.* Metabolism of leatherback turtles, gigantothermy and thermoregulation of dinosaurs // *Nature.* 1990. V. 344. P. 858–860.

- Periasamy M., Herrera J.L., Reis F.C.G.* Skeletal muscle thermogenesis and its role in whole body energy metabolism // *Diab. Metab. J.* 2017. V. 41. P. 327–336.
- Pimiento C., Cantalapiedra J.L., Shimada K. et al.* Evolutionary pathways toward gigantism in sharks and rays // *Evolution.* 2019. V. 73. P. 588–599.
- Polymeropoulos E.T., Heldmaier G., Frappell P.B. et al.* Phylogenetic differences of mammalian basal metabolic rate are not explained by mitochondrial basal proton leak // *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 2012. V. 279. P. 185–193.
- Pontzer H., Allen V., Hutchinson J.R.* Biomechanics of running indicates endothermy in bipedal dinosaurs // *PLoS One.* 2009. V. 4. P. e7783
- Pope C.H.* The giant snakes // N.Y.: Alfred A. Knopf, 1961. P. 289.
- Pörtner H.O.* Climate variability and the energetic pathways of evolution: the origin of endothermy in mammals and birds // *Physiol. Biochem. Zool.* 2004. V. 77. P. 959–981.
- Prestrud P.* Adaptation by the Arctic fox (*Alopex lagopus*) to the polar winter // *Arctic.* 1991. V. 44. P. 132–138.
- Rausch C.M., Starkweather P.L., van Breukelen F.* One year in the life of *Bufo punctatus*: annual patterns of body temperature in a free-ranging desert anuran // *Naturwissenschaften.* 2008. B. 95. Iss. 6. S. 531–535.
- Rezende E.L., Bacigalupe L.D., Nespolo R.F., Bozinovic F.* Shrinking dinosaurs and the evolution of endothermy in birds // *Sci. Adv.* 2020. V. 6. P. 4486.
- Ross R.* The python breeding manual. Stanford: Inst. Herpetol. Res., 1978. P. 1–51.
- Ross R.* Breeding pythons in captivity // *Proc. Melbourne Herpetol. Symposium* (May 19–21, 1980). Melbourne: The Royal Melbourne Zoological Gardens, 1981. P. 139–142.
- Rowland L.A., Bal N.C., Periasamy M.* The role of skeletal-muscle-based thermogenic mechanisms in vertebrate endothermy // *Biol. Rev.* 2015. V. 90. P. 1279–1297.
- Ruben J.A.* The evolution of endothermy in mammals and birds: from physiology to fossils // *Ann. Rev. Physiol.* 1995. V. 57. P. 69–95.
- Runcie R.M., Dewar H., Hawn D.R. et al.* Evidence for cranial endothermy in the opah (*Lampris guttatus*) // *J. Exp. Biol.* 2009. V. 212. P. 461–470.
- Sander P.M., Christian A., Clauss M. et al.* Biology of the sauropod dinosaurs: the evolution of gigantism // *Biol. Rev.* 2011. V. 86. P. 117–155.
- Santamaria M., Lanave C., Saccone C.* The evolution of the adenine nucleotide translocase family // *Gene.* 2004. V. 333. P. 51–59.
- Sapsford C.W., Hughes G.R.* Body temperature of the loggerhead sea turtle *Caretta caretta* and the leatherback sea turtle *Dermochelys coriacea* during nesting // *Zool. Afr.* 1978. V. 18. № 1. P. 63–69.
- Schmidt-Nielsen K., Dawson T.J., Crawford E.C.* Temperature regulation in the echidna (*Tachyglossus aculeatus*) // *J. Cell. Physiol.* 1966. V. 67. P. 63–71.
- Sclater P.L.* Notes on the incubation of *Python sebae*, as observed in the Society's Gardens // *Proc. Zool. Soc. London.* 1862. P. 365–368.
- Secor S.M., Diamond J.M.* Evolution of regulatory responses to feeding in snakes // *Physiol. Biochem. Zool.* 2000. V. 73. P. 123–141.
- Seebacher F.* Dinosaur body temperatures: the occurrence of endothermy and ectothermy // *Paleobiology.* 2003. V. 29. P. 105–122.
- Seebacher F., Grigg G.C., Beard L.A.* Crocodiles as dinosaurs: behavioural thermoregulation in very large ectotherms leads to high and stable body temperatures // *J. Exp. Biol.* 1999. V. 202. № 1. P. 77–86.
- Sepulveda C.A., Dickson K.A., Bernal D., Graham J.B.* Elevated red myotomal muscle temperatures in the most basal tuna species, *Allothenus fallai* // *J. Fish Biol.* 2008. V. 73. P. 241–249.
- Seymour R.S.* Maximal aerobic and anaerobic power generation in large crocodiles versus mammals: implications for dinosaur gigantothermy // *PLoS One.* 2013. V. 8. P. e69361.
- Seymour R.S., Bennett-Stamper C.L., Johnston S.D. et al.* Evidence for endothermic ancestors of crocodiles at the stem of archosaur evolution // *Physiol. Biochem. Zool.* 2004. V. 77. P. 1051–1067.
- Slip D.J., Shine R.* Reptilian endothermy: a field study of thermoregulation by brooding diamond pythons // *J. Zool.* 1988. V. 216. № 2. P. 367–378.
- Smith E.N.* Thermoregulation of the American alligator, *Alligator mississippiensis* // *Physiol. Zool.* 1975. V. 48. № 2. P. 177–194.
- Snow R.W., Wolf A.J., Greeves B.W. et al.* Thermoregulation by a brooding Burmese python (*Python molurus bivittatus*) in Florida // *Southeast. Nat.* 2010. V. 9. P. 403–405.
- Stahlschmidt Z.R., DeNardo D.F.* Effect of nest temperature on egg-brooding dynamics in Children's pythons // *Physiol. Behav.* 2009. V. 98. P. 302–306.
- Standora E.A., Spotila J.R., Foley R.E.* Regional endothermy in the sea turtle, *Chelonia mydas* // *J. Therm. Biol.* 1982. V. 7. № 3. P. 159–165.
- Stemmler-Morath C.* Beitrag zur Gefangenschafts- und Fortpflanzungsbiologie von *Python molurus* L. // *Zool. Garden.* 1956. B. 21. № 5–6. S. 347–364.
- Sup D.J., Shine R.* Reptilian endothermy: a field study of thermoregulation by brooding diamond pythons // *J. Zool.* 1988. V. 216. P. 367–378.
- Tattersall G.J.* Reptile thermogenesis and the origins of endothermy // *Zoology.* 2016. V. 119. P. 403–405.
- Tattersall G.J., Milsom W.K., Abe A.S. et al.* The thermogenesis of digestion in rattlesnakes // *J. Exp. Biol.* 2004. V. 207. P. 579–585.
- Tattersall G.J., Andrade D.V., Abe A.S.* Heat exchange from the toucan bill reveals a controllable vascular thermal radiator // *Science.* 2009. V. 325. Iss. 5939. P. 468–470.
- Tattersall G., Leite C., Sanders C. et al.* Seasonal reproductive endothermy in tegu lizards // *Sci. Adv.* 2016. V. 2. P. e1500951.
- Toyomizu M., Ueda M., Sato S. et al.* Cold-induced mitochondrial uncoupling and expression of chicken UCP and ANT mRNA in chicken skeletal muscle // *FEBS Lett.* 2002. V. 529. P. 313–318.

- Xu X., Zheng X., You H. Exceptional dinosaur fossils show ontogenetic development of early feathers // *Nature*. 2010. V. 464. P. 1338–1341.
- Yahav S., Buffenstein R. Caecal function provides the energy of fermentation without liberating heat in the poikilothermic mammal, *Heterocephalus glaber* // *J. Comp. Physiol. B*. 1992. V. 162. P. 216–218.
- Valensiennes A. Observations faites pendant l'incubation d'une femelle du python a deux raies (*Pythin bivittatus*, Kuhl.) pendant les mois de mai et de juin 1841 // *Comp. Rend., Acad. Sci., Paris*. 1841. V. 13. P. 126–133.
- van Mierop L.H.S., Barnard S.M. Observations on the reproduction of *Python molurus bivittatus* (Reptilia, Serpentes, Boidae) // *J. Herpetol.* 1976a. V. 10. № 4. P. 333–340.
- van Mierop L.H.S., Barnard S.M. Thermoregulation in a brooding female *Python molurus bivittatus* (Reptilia, Serpentes, Boidae) // *Copeia*. 1976b. № 2. P. 398–401.
- van de Ven T.M.F.N., Martin R.O., Vink T.J.F. et al. Regulation of heat exchange across the Hornbill Beak: functional similarities with Toucans? // *PLoS One*. 2016. V. 11. № 5. P. 1–14.
- Vaughn L.K., Bernheim H.A., Kluger M.J. Fever in the lizard *Dipsosaurus dorsalis* // *Nature*. 1974. V. 252. P. 473–474.
- Vinegar A., Hutchison V.H., Dowlong H.G. Metabolism, energetics and thermoregulation during brooding of snakes of genus *Python* (Reptilia, Boidae) // *Zoologica*. 1970. V. 55. № 2. P. 19–48.
- Wagner E. Breeding the Buresse python *Python molurus bivittatus* at Seattle Zoo // *Int. Zool. Jearb*. 1976. V. 16. P. 83–85.
- Warwick C. Commentary: observation on disease-associated preferred body temperatures in reptiles // *App. Anim. Behav. Sci.* 1991. № 28. P. 375–380.
- Walter I., Seebacher F. Endothermy in birds: underlying molecular mechanisms // *J. Exp. Biol.* 2009. V. 212. P. 2328–2336.
- Watanabe Y.Y., Goldman K.J., Caselle J.E. et al. Comparative analyses of animal-tracking data reveal ecological significance of endothermy in fishes // *PNAS USA*. 2015. V. 112. P. 6104–6109.
- Wegner N.C., Snodgrass O.E., Dewar H., Hyde J.R. Whole-body endothermy in a mesopelagic fish, the opah, *Lampris guttatus* // *Science*. 2015. V. 348. Iss. 6236. P. 786–789.
- Werner J., Griebeler E.M. Allometries of maximum growth rate versus body mass at maximum growth indicate that non-avian dinosaurs had growth rates typical of fast growing ectothermic sauropsids // *PLoS One*. 2014. V. 9. P. e88834.
- Wolf N.G., Swift P.R., Carey F.G. Swimming muscle helps warm the brain of lamnid sharks // *J. Comp. Physiol. B*. 1988. V. 157. P. 709–715.

The Hypothesis on Mechanisms of the Evolutionary Process and Its Canalization on the Example of Vertebrate Animals. Part 1. Evolution Related to High Body Temperature

V. A. Cherlin*

Dagestan State University, Makhachkala, Russia

*e-mail: cherlin51@mail.ru

This is the first article of two, devoted to the mechanisms of morphology-physiological evolution. It presents materials illustrating the principle of stabilization of high body temperature in the evolution of vertebrates. The analysis shows that in different groups of vertebrates, from cartilaginous and bony fish to placental mammals and birds, there were cases of endothermic increase in body temperature, but the manifestations of endothermia have different origins and mechanisms. And even between mammals and birds, and among recent mammal branches, endothermic manifestations have not the same nature. Some data prove that in various phyletic branches of ancient reptiles, there appeared some groups with an increased level of basal metabolism and body temperature, caused by special biochemical characteristics and accompanied with corresponding morphology-physiological features. The analyzes of the evolutionary origin of endothermia in a large amount of material proves the objectivity of the principle of high body temperature stabilization in the evolution of vertebrates, and that it is one of the causal causes and a powerful “guiding force” of their progressive evolution. Two questions are discussed: why vertebrates need high body temperature and why high body temperature is necessary just for vertebrates.

Keywords: vertebrates, stabilization of high body temperature in the evolution of vertebrates, evolution of endothermia, endothermy of ancient reptiles