

© И. Н. Медведев, И. В. Амелина, 2012
УДК 576.312.32:572.5

И. Н. Медведев и И. В. Амелина

СВЯЗЬ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ ФЕНОТИПА ЧЕЛОВЕКА С АКТИВНОСТЬЮ ЯДРЫШКООБРАЗУЮЩИХ РАЙОНОВ ХРОМОСОМ КЛЕТОЧНОГО ЯДРА В ПОПУЛЯЦИИ КОРЕННЫХ ЖИТЕЛЕЙ КУРСКОГО РЕГИОНА

Кафедра адаптивной физической культуры и медико-биологических наук (зав. — проф. И. Н. Медведев), Курский институт социального образования (филиал), Российский государственный социальный университет

При обследовании 215 коренных жителей Курской области определяли активность ядрышкообразующих районов хромосом визуальным полуколичественным методом окрашивания солями серебра ядрышкообразующих районов (ЯОР) хромосом лимфоцитов периферической крови [Howell W. M., 1975] и общие антропометрические показатели. Определены значимые различия по антропометрическим показателям между группами с высокой, средней и низкой величиной 10AgЯОР. Установлено, что по мере увеличения величины 10AgЯОР у мужчин повышаются масса и индекс массы тела, обхват талии (ОТ) и бедер (ОБ), отношение ОТ к ОБ и ширина плеч, у женщин возрастают масса, рост, индекс массы тела, ОБ и длина ног.

Ключевые слова: ядрышкообразующие районы хромосом, антропометрические показатели, коренные жители Курской области

Формирование морфологических характеристик, как известно, зависит от наследственности и среды. Среди наследственных факторов большое значение имеет активность белоксинтетического аппарата клеток, в работе которого видную роль играет транскрипционная активность ядрышкообразующих районов (ЯОР) хромосом, являющихся матрицей для синтеза рРНК [3].

Транскрипционная активность этих районов традиционно изучается на цитологическом уровне с помощью метода селективной окраски серебром ЯОР хромосом [5]. Суммарный размер AgЯОР десяти акроцентрических хромосом (10AgЯОР), выраженный в условных единицах (усл. ед.), рассматривается как критерий активности ЯОР [5]. Сумма размеров 10AgЯОР характеризует транскрипционную активность ЯОР в клетке и служит основой для сравнения индивидуальных геномов по этому признаку (Ag – полиморфизм).

Считается, что ЯОР хромосом, регулируя синтез рРНК, участвующей в работе белоксинтезирующего аппарата, способны влиять на процессы роста и развития, участвуя в формировании устойчивости организма к неблагоприятным условиям внешней среды [7, 12, 15].

В литературе имеются лишь отрывочные сведения о проявлении функционального полиморфизма ЯОР при формировании соматотипа человека [9], изменчивости некоторых его мор-

фологических признаков [4, 7]. Высказаны предположения о существовании связи 10AgЯОР с массой тела, ростом и обхватом груди у женщин и отсутствием таковой у мужчин, а также что активность ЯОР у человека оказывает модифицирующее влияние на выраженность отдельных физиологических признаков [1]. Вместе с тем, в литературе отсутствуют данные о связи признаков транскрипционной активности ЯОР у представителей разных полов в длительно существующих популяциях.

Цель настоящего исследования — изучить связь транскрипционной активности ЯОР хромосом с антропометрическими показателями у коренных жителей Курской области.

Материал и методы. Материалом настоящего исследования послужили антропометрические показатели и периферическая кровь 215 добровольцев (средний возраст 43 ± 6 лет) из случайной выборки жителей Курской области (150 женщин и 65 мужчин). Кровь у добровольцев брали в условиях процедурного кабинета поликлиники из локтевой вены в количестве не менее 10,0 мл. На проведение данных исследований получено разрешение этического комитета Курского института социального образования (филиал) Российского государственного социального университета. Заполняли кровью стерильные пенициллиновые флаконы, в которых находился раствор гепарина (0,1 мл на 1 мл крови). Кровь культивировали в них в стерильных условиях с питательной средой при 37°C в течение 72 ч. Клетки фиксировали в фиксаторе Карнуа в течении 3 ч и более. На препараты наносили

Сведения об авторах:

Медведев Илья Николаевич, Амелина Ирина Валерьевна (e-mail: zsyu@046.ru), кафедра адаптивной физической культуры и медико-биологических наук, Курский институт социального образования (филиал), Российский государственный социальный университет, 305035 Курск, ул. Пирогова, 126

по 50 мкл бидистиллированной воды, 150 мкл 50% раствора нитрата серебра и 100 мкл 2% раствора желатина. Тщательно перемешивали и помещали в термостат на 8–10 мин при температуре 56,7 °С. После завершения окраски смывали избытки раствора серебра под проточной водой и высушивали на воздухе. Оценку транскрипционно активных ЯОР хромосом проводили по методу, предложенному W. M. Howell [9], под световым микроскопом «Биолам» (Россия) (ув. 900).

Число окрашенных ЯОР подсчитывали в каждой анализируемой метафазной пластинке. Если данная акроцентрическая хромосома содержала в коротком плече зерна серебра, то такой ЯОР оценивали как транскрипционно активный, если он был не окрашен — как неактивный. Суммарную транскрипционную активность 10 ЯОР определяли по интенсивности окраски серебром ЯОР индивидуальных акроцентрических хромосом. Визуальную оценку этого показателя производили по 5-балльной системе: 0 баллов — окраска отсутствует; 1 балл — слабая окраска (выпавшие зерна серебра, на спутничных нитях, уже ширины хроматиды); 2 балла — умеренная окраска (зерна серебра соответствуют ширине хроматиды); 3 балла — интенсивная окраска (зерна серебра превышают по размерам ширину хроматиды); 4 балла — высокоинтенсивная окраска (зерна серебра, выпавшие на каждой хроматиде, значительно шире ее и образуют конгломерат) [1].

Для сравнения окрашенных серебром хромосом использовали такой обобщенный показатель, как суммарная интенсивность окраски серебром всех ЯОР хромосом метафазной пластинки. Для этого сумму баллов интенсивности окраски во всех (обычно 20) метафазных пластинках делили на число исследованных метафазных пластинок, выражая полученное значение в усл. ед. Полученный результат 10AgЯОР характеризовал транскрипционную активность 10 ЯОР данного индивида.

Антропометрические измерения производили в положении стоя в первой половине дня. Измерение длины тела осуществляли стандартным ростомером с обязательным касанием обследуемого вертикальной планки прибора пятками, ягодицами и спиной, при соприкосновении планки с кожей головы в верхушечной точке. Длину нижней конечности измеряли по внутренней ее поверхности по линии, соединяющей про-

межность с основанием пятки, ширину плеч — с помощью большого толстотного циркуля между акромиальными точками, ширину таза — с помощью тазомера между наиболее отдаленными точками гребней подвздошных костей. Обхват плеча определяли при помощи измерительной ленты на уровне наибольшего развития двуглавой мышцы плеча при сокращении и расслаблении последней. Величину обхвата бедер (ОБ) определяли измерительной лентой в их верхней трети. Обхват талии (ОТ) измеряли в наиболее узкой части туловища. Массу тела определяли при взвешивании на медицинских весах рычажной системы. Рассчитывали индекс массы тела как частное от деления массы тела (кг) на квадрат длины тела (м).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием параметрических критериев Стьюдента и Фишера (уровень значимости принимали равным 0,05) [2].

Результаты исследования. Функциональная активность ЯОР хромосом лимфоцитов крови среди коренных жителей Курской области, в общем составляет $19,46 \pm 0,13$ усл. ед. В общей структуре выборки группа индивидуумов с низким количеством 10AgЯОР (15–17,99 усл. ед.) составила 29%; со средним (18–20,49 усл. ед.) — 41%; с высоким (>20,5 усл. ед.) — 30% от общего числа обследованных. Соматометрические показатели обследованных женщин и мужчин представлены в табл. 1.

Для изучения фенотипического проявления активности ЯОР на организменном уровне рассматриваемую выборку разделили на группы мужчин и женщин с низкой, средней и высокой величиной 10AgЯОР. Между группами был проведен сравнительный статистический анализ.

Полученные результаты сравнения среди женщин указывают на то, что соматометрические показатели в большинстве случаев значимо возрастали по мере увеличения величины 10AgЯОР (табл. 2).

При сравнении групп обследуемых женщин с низкой и средней величиной 10AgЯОР наибольшие различия по соматометрическим показателям наблюдались по длине тела ($t=11,69$), индексу массы тела ($t=8,15$), ОТ к ОБ ($t=13,33$), ширине таза ($t=19,33$) и плеч ($t=20,62$). Между группами женщин со средней и высокой величиной 10AgЯОР выраженность различий по морфометрическим показателям была несколько ниже, но оставалась статистически значимой. Наибольшие различия по морфометрическим показателям наблюдались по длине тела ($t=6,56$), ОБ ($t=5,10$), отношению ОТ к ОБ ($t=10,00$), обхвату плеч ($t=10,15$) и ширине плеч ($t=15,57$). Вместе с тем, наиболее значимые различия по антропометрическим показателям наблюдались при сравнении групп женщин с низким и высоким уровнем 10AgЯОР по длине тела ($t=16,14$), массе тела ($t=10,03$), ОТ

Таблица 1

**Антропометрические показатели у коренных жителей
Курской области ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)**

Параметры	Женщины (n=150)	Мужчины (n=65)
Длина тела, см	160,1 $\pm$ 0,6	172,00 $\pm$ 0,12
Масса тела, кг	68,5 $\pm$ 1,2	72,63 $\pm$ 0,22
Индекс массы тела	26,8 $\pm$ 0,5	24,35 $\pm$ 0,07
Обхват талии, см	86,0 $\pm$ 1,2	87,49 $\pm$ 0,17
Обхват бедер, см	104,7 $\pm$ 0,9	117,29 $\pm$ 0,17
Обхват плеча, см	29,2 $\pm$ 0,3	28,4 $\pm$ 0,4
Длина ноги, см	87,0 $\pm$ 0,6	90,49 $\pm$ 0,07
Обхват талии/ обхват бедер	0,810 $\pm$ 0,010	0,9100 $\pm$ 0,0010
Ширина плеч, см	40,94 $\pm$ 0,28	42,96 $\pm$ 0,06
Ширина таза, см	34,2 $\pm$ 0,3	33,5 $\pm$ 0,4

Таблица 2

**Сравнительный анализ антропометрических показателей между группами женщин
с различной транскрипционной активностью ядрышкообразующих районов хромосом ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)**

Показатели соматометрии	Группы (количество обследованных)			Группы сравнения					
	1-я (n=41)	2-я (n=64)	3-я (n=45)	1-2-я t	2-3-я t	1-3-я t	1-2-я F	2-3-я F	1-3-я F
Длина тела, см	158,71±0,15	160,23±0,11	161,05±0,14	11,69	6,56	16,14	1,22	1,14	1,06
Масса тела, кг	66,7±0,3	68,81±0,22	69,8±0,3	8,15	3,58	10,03	1,11	1,01	1,09
Индекс массы тела	26,51±0,12	26,84±0,08	26,88±0,11	3,30	—	3,22	1,12	1,03	1,08
Обхват талии, см	86,7±0,3	85,54±0,21	86,16±0,29	4,53	2,48	1,93	1,02	1,02	1,00
Обхват бедер, см	103,68±0,22	104,63±0,18	105,65±0,22	4,75	5,10	8,95	1,22	1,11	1,10
Обхват плеча, см	29,27±0,07	29,43±0,06	28,77±0,07	2,46	10,15	7,69	1,24	1,12	1,11
Длина ноги, см	86,67±0,15	86,92±0,09	87,37±0,15	2,08	3,75	5,83	1,04	1,10	1,13
Обхват талии/ обхват бедер	0,8400±0,0020	0,8200±0,0010	0,8100±0,0010	13,33	10,00	20,00	1,04	1,37	1,42
Ширина плеч, см	40,13±0,08	41,29±0,04	41,04±0,07	19,33	4,54	12,14	1,05	1,18	1,12
Ширина таза, см	33,57±0,07	34,91±0,06	33,82±0,08	20,62	15,57	3,33	1,31	1,02	1,29

Примечание. Достоверные значения: $t > 1,98$; $F > 1,25$.

1-я группа — с низким количеством 10AgЯОР — 17,40±0,12; 2-я группа — со средним количеством 10AgЯОР — 19,38±0,08; 3-я группа — с высоким количеством 10AgЯОР — 21,76±0,14.

($t=8,95$), отношению ОТ к ОБ ($t=20,00$) и ширине таза ($t=12,14$).

При сравнении групп обследуемых мужчин с низким и средним уровнем 10AgЯОР наибольшие различия по морфометрическим показателям наблюдались по длине тела ($t=7,97$), индексу массы тела ($t=8,38$), ОТ ($t=7,81$), длине ноги ($t=12,90$), отношению ОТ к ОБ ($t=12,00$) и шири-

не таза ($t=9,79$) (табл. 3). Вместе с тем, между группами мужчин со средним и высоким уровнем 10AgЯОР различия по морфометрическим показателям были несколько ниже, чем у женщин, но также достигали уровня статистической значимости. При этом максимальные различия по антропометрическим показателям наблюдались по массе тела ($t=5,23$), длине ноги ($t=12,60$), отно-

Таблица 3

**Сравнительный анализ морфометрических показателей между группами мужчин
с различной транскрипционной активностью ядрышкообразующих районов хромосом ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)**

Показатели соматометрии	Группы (количество обследованных)			Группы сравнения					
	1-я (n=41)	2-я (n=64)	3-я (n=45)	1-2-я t	2-3-я t	1-3-я t	1-2-я F	2-3-я F	1-3-я F
Длина тела, см	173,4±0,4	170,7±0,3	172,3±0,4	7,97	4,50	2,97	1,04	1,23	1,17
Масса тела, кг	69,2±0,8	72,27±0,7	75,5±0,6	4,12	5,23	8,94	1,10	1,20	1,34
Индекс массы тела	22,89±0,24	24,65±0,18	25,11±0,23	8,38	2,19	9,45	1,15	1,25	1,08
Обхват талии, см	84,2±0,6	88,4±0,4	89,0±0,5	7,81	—	8,46	1,35	1,12	1,20
Обхват бедер, см	94,4±0,5	97,2±0,3	98,1±0,7	6,87	2,04	6,47	1,40	2,11	1,51
Обхват плеча, см	28,91±0,15	28,00±0,15	28,53±0,14	6,07	3,65	2,62	1,13	1,13	1,01
Длина ноги, см	91,64±0,26	88,93±0,16	91,2±0,20	12,90	12,60	1,91	1,41	1,20	1,18
Обхват талии/ обхват бедер	0,880±0,003	0,9100±0,0020	0,920±0,003	12,00	4,00	13,33	1,08	1,19	1,06
Ширина плеч, см	42,09±0,17	44,00±0,22	42,66±0,18	9,79	6,70	3,26	1,49	1,32	1,14
Ширина таза, см	32,91±0,20	32,93±0,11	34,19±0,15	—	9,69	7,53	1,58	1,25	1,26

Примечание. Достоверные значения: $t > 1,99$; $F > 1,25$.

1-я группа — с низким количеством 10AgЯОР — 17,10±0,19; 2-я группа — со средним количеством 10AgЯОР — 19,37±0,12; 3-я группа — с высоким количеством 10AgЯОР — 21,73±0,23.

шению ОТ к ОБ ($t=10,00$), ширине таза ($t=6,70$) и плеч ($t=9,69$). Между группами мужчин с низким и высоким уровнем 10AgЯОР наиболее значимые различия по антропометрическим показателям наблюдались по массе тела ($t=8,94$), индексу массы тела ($t=9,45$), ОТ ($t=8,46$), отношению ОТ к ОБ ($t=13,33$) и ширине плеч ($t=7,53$).

Обсуждение полученных данных. Выборка была разделена по половому признаку в связи с имеющимися половыми различиями соматотипа. Однако признаков полового диморфизма по величине 10Ag ЯОР в ходе анализа полученных результатов обнаружено не было. Стабильность в течение онтогенеза величины 10AgЯОР [5, 6] позволила включить в исследование людей зрелого возраста, давая возможность точно отследить у них отсутствие склонности к формированию серьезных хронических заболеваний, предрасположенность к которым могла бы повлиять на величину 10AgЯОР [14, 15], не позволив выявить закономерности их взаимосвязи с имеющимися антропометрическими признаками.

У коренных жителей Курской области установлены значимые антропометрические различия, связанные с активностью в их клетках ЯОР. Выяснено, что с ростом величины 10AgЯОР отмечается увеличение выраженности соматометрических показателей, что можно объяснить нарастанием интенсивности синтеза белка и пролиферативной активности клеток при интенсификации работы рибосомных генов, расположенных в ЯОР [4, 9, 11]. При оценке антропометрических характеристик и уровня функционирования ЯОР установлено, что их взаимосвязь у женщин по всем учитываемым показателям проявляется сильнее, чем у мужчин. При этом, наиболее выраженные различия по росту-весовым показателям наблюдаются между группами женщин с высоким и низким количеством 10AgЯОР.

Проведенное исследование дает основание считать, что индивидуумы со средней транскрипционной активностью ЯОР (18,5–20,49 усл. ед.) обладают более гармоничным развитием. Так, у женщин этой группы — наиболее тонкая талия, средние значения отношения ее величины к ОБ и максимальные величины обхвата плеча, ширины таза и плеч, что выгодно отличает их от представительниц групп с низкой и высокой транскрипционной активностью ЯОР. Вероятно, минимальная величина ОТ оказывает позитивное влияние на работу почек — небольшое количество жировой ткани в абдоминальной области создает наиболее «выгодные» условия почечного кровотока, понижая, тем самым, риск развития у этих женщин сердечно-сосудистых заболеваний. Наибольшая

ширина таза у представителей этой группы также является важным адаптивным конституциональным признаком женского организма, во многом определяющим благополучие родов. Большая ширина плеч также может считаться значимым признаком высокой адаптации женского организма, поскольку определяет объем грудной клетки и, тем самым, жизненную емкость легких.

Можно предположить, что средняя величина 10AgЯОР у женщин более адаптивна, так как сопровождается формированием признаков, во многом закладывающих основу выживания индивида, успешности деторождения и заботы о потомстве.

Между тремя различающимися по 10AgЯОР группами мужчин также выявлены различия по всем учитываемым антропометрическим показателям. Максимальная связь у них наблюдалась между количеством 10AgЯОР и величинами массы тела, индекса массы тела, ОТ и ОБ и их отношением. При этом у мужчин со средним количеством 10AgЯОР отмечены наиболее адаптивные антропометрические признаки, определяющие оптимальные возможности выживания организма: средние величины массы тела, индекса массы тела, обхвата талии, обхвата бедер, ОТ/ОБ при максимальной ширине плеч.

ЛИТЕРАТУРА

1. Залетаева Т. А., Кулешов Н. П., Залетаев Д. В. и Барцева О. Б. Современные методы хромосомного анализа в клинико-цитогенетических исследованиях. М., Медицина, 1994.
2. Каралова Е. М., Аброян Л. О. и Акопян Л. О. Поведение ядер и ядрышкообразующих районов хромосом лимфоцитов на разных стадиях развития периодической болезни. Цитология, 2004, т. 46, № 4, с. 376–380.
3. Лакин Г. Ф. Биометрия. М., Высш. школа, 1990.
4. Ляпунова Н. А. Полиморфизм ядрышкообразующих районов хромосом человека: структурные и функциональные аспекты. В кн.: II Всес. съезд медицинских генетиков: тез. докл. М., 1990, с. 537–538.
5. Ляпунова Н. А., Еголина Н. А. и Мхитарова Е. В. Межиндивидуальные и межклеточные различия суммарной активности рибосомных генов, выявляемые Ag-окраской ядрышкообразующих районов акроцентрических хромосом человека. Генетика, 1988, № 7, с. 1282–1287.
6. Ляпунова Н. А., Еголина Н. А. и Цветкова Т. Г. Рибосомные гены в геноме человека: вклад в генетическую индивидуальность и фенотипическое проявление дозы гена. Вестн. Рос. акад. мед. наук, 2000, № 5, с. 19–23.
7. Ляпунова Н. А., Кравец-Мандрон И. А. и Цветкова Т. Г. Цитогенетика ядрышкообразующих районов (ЯОР) хромосом человека: выделение четырех морфофункциональных вариантов ЯОР, их межиндивидуальное и межхромосомное распределение. Генетика, 1998, № 9, с. 1298–1306.
8. Макарова Ю. А. и Крамеров Д. А. Гены малых ядрышковых РНК. Генетика, 2007, т. 43, № 2, с. 149–158.

9. Назаренко С. А., Карташева О. Г. и Соловьева С. Ю. Фенотипический эффект функционирования ядрышкообразующих районов хромосом человека. Генетика, 1990, № 5, с. 2058–2063.
10. Campos Fontes P., Marques Correa G. H., Scholz Issa J. and Almeida J. D. Quantitative analysis of AgNOR protein in exfoliative cytology specimens of oral mucosa from smokers and non-smokers. Anal. Quant. Cytol. Histol., 2008, v. 30, № 1, p. 16–24.
11. Esquerre J., Warriger J. and Blomberg A. Functional importance of individual rRNA-O-ribose methylations revealed by high-resolution phenotyping. RNA, 2008, v. 14, p. 649–656.
12. Gaudin-Audran C., Gallois Y., Pascaretti-Grizon F. et al. Osteopontin is histochemically detected by the Ag NOR acid-silver staining. Histol. Histopathol., 2008, v. 23, № 1, p. 469–478.
13. Howell W. M., Denton T. E. and Piamons I. R. Differential staining of the satellite of human acrocentric chromosomes. Experientia, 1975, v. 31, p. 260–265.
14. Mirsa J. S., Singh M., Srivastava A. N. and Das V. Assessment of potential of AgNOR counts as tumor marker in cervical carcinogenesis. Diagn. Cytopathol., 2008, v. 36, № 3, p. 194–195.
15. Mukhopadhyay S. Quantitative estimation of AgNORs in inflammatory gingival overgrowth in pediatric patients and its correlation with the dental plaque status. J. Indian Soc. Pedod. Prev. Dent., 2009, v. 27, № 4, p. 235–241.

Поступила в редакцию 14.04.2011

AN ASSOCIATION BETWEEN HUMAN MORPHOLOGICAL PHENOTYPICAL CHARACTERISTICS AND THE ACTIVITY OF CHROMOSOMAL NUCLEOLAR ORGANIZER REGIONS IN THE INTER-PHASE CELL NUCLEUS IN THE POPULATION OF INDIGENOUS PEOPLE OF KURSK REGION

I. N. Medvedev and I. V. Amelina

During the survey of 215 indigenous inhabitants of Kursk region, the activity of chromosomal nucleolar organizing regions (NOR) was examined in peripheral blood lymphocytes by a visual semiquantitative method based on silver salt impregnation (Howell W. M., 1975), and the general anthropometric indexes were determined. Significant differences in anthropometric indexes were identified among the groups with high, medium and low values of 10Ag NOR. It was established that with the increase of 10Ag NOR value in men, body mass and body mass index, waist girth and hip girth, waist-to-hip ratio and width of shoulders increased, while in women there was an increase in body mass, height, body mass index, hip girth and length of the legs.

Key words: *chromosomal nucleolar organizing regions (NOR), anthropometrics indexes, indigenous inhabitants of Kursk region*

Department of Adaptive Physical Culture and Medico-Biological Sciences, Kursk Institute of Social Education (branch), Russian State Social University