

В целях формирования педагогического сознания разных групп населения нами были выявлены и определены направления педагогической деятельности. А для специалистов, участвующих в социально-педагогической работе и студентов – будущих таких специалистов нами разработана программа специального семинара-практикума.

Исполнителями проекта разработаны направления формирования профессионально-педагогической культуры управленцев всех уровней: от руководителя учреждения до специалиста. Все статьи опубликованы в различных сборниках материалов: научных семинаров, конференций, симпозиумов.

По итогам проведенного исследования авторами изданы 2 монографии, 3 учебных пособия и материалы, имеющие прикладное значение, которые могут быть использованы при реализации идеи по превращении территории России в единое воспитательное пространство.

**Чурносов М.И.**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой Медико-биологических дисциплин БелГУ (Грант РГНФ № 03-06-00409a/ц)

### **Комплексное изучение генофонда современных популяций человека (на примере белгородской популяции).**

В настоящее время возрос интерес к изучению истории формирования как генофонда человечества в целом, так и региональных генофондов. Использование различных типов маркеров, позволяют проследивать историю формирования генофонда (этногенез, этническую историю, пути миграций, периоды изоляции, эффекты основателя и т.д.). Однако, каждая генетическая система по-разному отражает существующую структуру генофонда и только комплекс различных типов маркеров позволит объективно оценить структуру генофонда популяции.

Генетические маркеры - это генетически контролируемые признаки, наличие которых у организма однозначно указывает на наличие у него соответствующего гена (аллеля) и их проявление не зависит от окружающей среды. Выделяют три основных типа генетических маркеров.

Первый тип - квазигенетические маркеры. В качестве квазигенетических маркеров используются фамилии и ряд популяционно-демографических характеристик (витальные статистики, параметры модели изоляции расстойанием Малеко и др.). Ряд преимуществ этого типа маркеров (тотальность сбора данных о частотах распространения фамилий и селективная нейтральность по отношению к природной среде) позволяет корректно оценивать дифференциацию генофонда. Фамилия, наследуемая патроклинно, представляет достаточно хороший аналог генетических маркеров, особенно при

изучении популяций, в которых фамилия употребляется не менее 10 поколений, т.е. использование фамилий является традиционным. Фамилии рассматриваются как аллели одного селективно нейтрального локуса и используются для определения уровня инбридинга и его составляющих в популяции (изонимный метод Кроу и Манжа), оценке генетических расстояний между различными популяциями, расчета показателей разнообразия фамилий и др., описания генетического ландшафта с помощью геногеографических технологий.

Второй тип - классические генетические маркеры (вкусная чувствительность, цветовая слепота и др.), иммунологические и биохимические. Эти маркеры находятся под строгим генетическим контролем и генотипируются с использованием различных иммунологических методов, методов электрофоретического, изоэлектрофоретического разделения и др. Материалы об их распределении среди различных групп населения позволяют дать адекватную характеристику генетических процессов, происходящих на популяционном уровне, необходимую для рассмотрения проблем микроэволюции населения и выявления роли инбридинга, генного дрейфа, миграций, метисации, скорости мутационного процесса и эффектов отбора в эволюционном процессе.

Третий тип - молекулярно-генетические маркеры. В качестве ДНК-маркеров используют диаллельные, мультилокусные маркеры и гипервариабельные локуспецифические последовательности ДНК ядерного и митохондриального генома. Их исследование проводится с использованием методов ПЦР-анализа, секвенирования, ПДРФ, ПДАФ и др. ДНК маркеры охватывают не только кодирующие части генов (описываемые классическими маркерами), а всю последовательность ДНК. Исследование однородительских ДНК-маркеров (маркеры Y-хромосомы и митохондриального генома) эффективно для анализа путей миграций человеческих популяций и датировки этих миграций. Однако они отражают микроэволюцию малой части генома и подвержены мощному воздействию дрейфа генов. Поэтому их применение в анализе генофондов требует использования широкой панели аутосомных ДНК-маркеров, которые позволяют выявить наиболее общие закономерности микроэволюции генофондов. Таким образом, ДНК-маркеры являются высокоинформативными при изучении структуры генофонда, генетических процессов в популяции человека, молекулярно-генетических механизмов развития и поддержания общего генного разнообразия популяций человека.

**Цель исследования** – изучение генофонда населения Белгородской области с использованием широкой панели различных типов маркеров (квазигенетических, классических иммунобиохимических и молекулярно-генетических).

**Материалы и методы.** Популяционно-генетическая структура населения Белгородской области охарактеризована по трем различным генетическим системам:

1. 12 иммунобиохимических маркеров (ABO, RH, HP, GC, TF, PI, C'3, ACP1, GLO1, PGM1, ESD, 6-PGD) (N=582);

2. 8 ауtosомных маркеров (ACE, CCR5, ecNOC, DAT1, hSERT, DIS80, ApoB, VNTR) (N=298) и генов цитокинов (фактор некроза опухоли (TNF $\alpha$  -308G/A), интерлейкинов 1B (IL 1B-511C/T), гена антогониста рецептора интерлейкина 1 (IL-1Ra)) (N=106); а также четырьмя Y-хромосомным генам (DYS19, DYS390, DYS392, DYS393) (N=410);

3. квазигенетических (фамилии, модель изоляции расстоянием Малеко) (N=1649).

В выборки включались только неродственные (до третьей степени родства) индивиды, все предки которых (на глубину трех поколений) происходят из данной популяции. Белгородская популяция представлена коренными русскими Прохоровского, Красненского, Яковлевского районов и коренными украинцами Красногвардейского и Грайворонского районов.

Материалом для лабораторного исследования послужила венозная кровь, разделенная центрифугированием (3 тыс. об/мин) на сывороточную и эритроцитарную фракцию. Далее материал хранили при -20 С°. Идентификация биохимических локусов HP, C'3, GLO1 и 6-PGD осуществлялась стандартным методом вертикального электрофореза в 5- 7,5% полиакриламиде (ПААГ). Локусы TF, GC, ESD, PGM1, PI, ACP1 типировались методом изоэлектрофокусирования (ИЭФ) в ПААГ и агарозе. Группы крови ABO и RH выявляли по результатам индивидуального опроса.

Определение частот аллелей, генотипов, оценку соответствия распределения частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга ( $\chi^2$ ), расчет наблюдаемой ( $H_O$ ) и ожидаемой гетерозиготности ( $H_E$ ), индекса фиксации Райта (D) производили по стандартным формулам. Показатели межпопуляционного ( $G_{ST}$ ) генетического разнообразия рассчитывали согласно Nei. Генетические расстояния между популяциями была рассчитаны по Nei (1973) с помощью программы DJ genetic (версия 0,03 beta), разработанной Ю.А. Серегиним и Е.В. Балановской в ГУ МГНЦ РАМН.

С использованием матриц генетических расстояний проведен кластерный анализ и многомерное шкалирование; по корреляционным матрицам – факторный анализ в программе Статистика (версия 5).

Материалом для анализа ауtosомного и Y-STR полиморфизма послужили образцы ДНК, выделенной методом фенол-хлороформной экстракции. Генотипирование ауtosомных и Y-STR локусов проводили стандартными молекулярно-генетическими методами: ПЦР(амплификаторы фирмы «Терцик»), электрофорез в агарозном и полиакриламидном гелях

(электрофоретические системы фирм «Bio-Rad» и «Хеликон»), с последующим окрашиванием бромистым этидием и визуализацией продуктов разделения в проходящем ультрафиолетовом свете (гель-документирующая система с темным боксом, трансиллюминатором и пакетом программ Lab Works 4.0 (UVP).

Полиморфизм генов TNF $\alpha$  -308G/A и IL 1B-511C/T изучали с использованием эндонуклеаз Bsp 19I и Ava I ("Сибэнзим).

По данным списков избирателей проведен анализ распределения фамилий среди жителей Белгородской области. Динамика популяционно-демографической структуры населения за период с 1950 гг. по 1990 гг. изучалась с использованием модели изоляции расстоянием Малеко. На основе полученных матриц генетических расстояний были построены дендрограммы, проведено многомерное шкалирование, по корреляционным матрицам - факторный анализ в программе Статистика (версия 5). С использованием корреляционного анализа (ранговый коэффициент корреляции Спирмена) проведено сравнительное изучение дифференциации популяций Белгородской области по трем типам маркеров: данным брачно-миграционной структуры, антропоники и классическим генным маркерам

**Результаты исследования.** Распределение частот генов изученных 12 иммунобиохимических систем у русских Белгородской области составило: ABO\*A=0.24, ABO\*B=0.20, ABO\*O=0.56, RH\*D=0.60, HP\*1=0.33, C'3\*S=0.88, GC\*2=0.23, GC\*1S=0.67, GC\*1F=0.10, TF\*C1=0.77, TF\*C2=0.15, TF\*C3=0.07, TF\*B=0.01, PI\*M1=0.84, PI\*M2=0.11, PI\*M3=0.04, PI\*R=0.01, GLO1\*1=0.31, ESD\*1=0.93, 6-PGD\*A=0.96, ACP1\*A=0.31, ACP1\*B=0.59, ACP1\*C=0.10, PGM1\*1S=0.63, PGM1\*1F=0.08, PGM1\*2S=0.22, PGM1\*2F= 0.07. При этом две русские популяции (Прохоровского и Красненского районов) достоверно различаются по частотам 8 аллелей 5 локусов: ABO\*O, ABO\*A, GC\*2, GC\*1S, TF\*C1, PI\*M1, PI\*M3, PGM1\*1F. Средние частоты генов RH\*D, GC\*2, GLO1\*1 у русского населения Белгородской области достоверно ниже ( $p<0.001$ ), чем среднерусские показатели по этим аллелям. Частоты генов GC\*1S, ESD\*1, PGM1\*1S и ACP1\*C лежат на верхней границе изменчивости русского генофонда и достоверно ( $p<0.001-0.05$ ) выше среднерусских частот соответствующих аллелей. Однако, распределение частот всех изученных аллелей укладывается в пределы изменчивости этих систем в русском генофонде.

Украинцы Белгородской области достоверно ( $p<0.01-0.05$ ) отличаются от русского населения области лишь по частотам 3 аллелей 2 локусов (ABO, GC). В целом генетическая структура белгородской популяции соответствует распределению частот аллелей в популяциях Европы.

Проведен анализ генофонда белгородской популяции по 2 диаллельным и 6 мультяллельным локусам (всего 8 локусов) ДНК-маркеров. Диаллельные

маркеры представлены инсерционно-делеционным полиморфизмом генов ACE и CCR5. Мультиаллельные маркеры представлены VNTR-полиморфными участками генов eNOS, DAT1, hSERT, D1S80, PAH и ApoB. С использованием той же панели маркеров проведен сравнительный анализ генетической структуры популяций Белгородской области с другими популяциями Центральной России: Пристенский и Черемисиновский районы Курской области, Барятинский и Боровский районы Калужской области, Петровский район Тамбовской области, Михайловский и Спасский районы Рязанской области, Болховский и Ливенский районы Орловской области, Репьевский район Воронежской области.

Вариабельность аллельных частот гена ACE сопоставима с изменчивостью частот, наблюдаемой в ранее изученных европеоидных и азиатских популяциях. При оценке аллельного полиморфизма выявлено преобладание аллеля I у населения Рязанской области (0.52), Курской области (0.51) и Красненского района Белгородской области (0.54). В Воронежской области и Прохоровском районе Белгородской области аллели I и D имели одинаковую частоту (0.50) В оставшихся 8 популяциях частота аллеля D преобладала.

Частота мутантного аллеля, содержащего делецию 32 пн Δсст5 варьировала в пределах от 0.04 в популяциях Калужской и Курской областей до 0.13 в популяциях Яковлевского и Прохоровского районов Белгородской области. Гомозиготы по делеции 32 пн с максимальной частотой (2,8%) были обнаружены в Боровском районе Калужской области, кроме того, они были выявлены во всех исследованных районах Белгородской области с частотой 0,7% в Прохоровском и Красненском районах и 1,5% в Яковлевском районе, а также в Ливенском районе Орловской области с частотой 0,8%.

В результате изучения генотипов и частот аллелей ДНК-локуса eNOS в русских популяциях Центральной России выявлено 3 аллеля с числом повторов 4 (аллель А), 5 (аллель В) и 6 (аллель С). Во всех изученных популяциях частота аллеля В значительно превосходила частоту аллеля А. Вариабельность частоты аллеля В составила от 0.78 в Репьевском районе Воронежской области и Красненском районе Белгородской области до 0.83 в Яковлевском и Прохоровском районах Белгородской области и Пристенском районе Курской области.

В целом у русского населения Центральной России обнаружено 7 VNTR-генотипов гена DAT1. Наиболее часто встречаются гомозиготы 10/10 с частотой от 50% в Ливенском районе Орловской области до 65,5% в Яковлевском районе Белгородской области. Наиболее частым аллелем является аллель с 10 единицами повтора во всех исследованных районных популяциях: его изменчивость составила от 0.71 (русские Ливенского района) до 0.79 (русские Яковлевского района). Частота аллеля, содержащего 9 единиц повтора

варьировала от 0.18 в Пристенском районе Курской области до 0.29 в Ливенском районе Орловской области. Частота наиболее редких аллелей с 11 и 8 единицами повтора составила от 0.00 до 0.03.

При изучении аллельного полиморфизма гена hSERT было выявлено три аллеля, содержащих 9, 10 и 12 копий повторов соответственно. Аллель содержащий 12 единиц повтора является самым частым во всех изученных популяциях, его изменчивость составила от 0.54 - 0.68. Вариабельность частоты встречаемости аллеля с 10 единицами повтора составила от 0.32 в Пристенском районе Курской области до 0.42 в Ливенском районе Орловской области и Красненском районе Белгородской области. Редкий аллель с 9 единицами повтора был выявлен в пяти исследуемых популяциях с частотой от 0.003 в Прохоровском районе Белгородской области до 0.03 в Яковлевском районе Белгородской области и Ливенском районе Орловской области.

Было обнаружено семь различных аллелей гена РАН (размером 380, 440, 470, 500, 530, 560 и 650 пн) в исследованных популяциях. Во всех популяциях наиболее часто встречались аллели 380 и 530 (максимальная частота аллеля 308 отмечена у русских Воронежской области – 0.40; а аллеля 530 у русских Яковлевского района Белгородской области - 0.39). Частота редкого аллеля 650 изменялась от 0.01 в Черемисиновском районе Курской области до 0.1 в Пристенском районе Курской области. Редкий аллель 440 был выявлен в популяциях Черемисиновского района Курской области и Красненского района Белгородской области с частотой 0.02 и 0.01 соответственно, а аллель 470 в Ливенском районе Орловской области и Красненском районе Белгородской области с одинаковой частотой (0.01).

Среди русских популяций Центральной России был обнаружен 21 аллель локуса D1S80. Частота самого частого аллеля, содержащего 24 единицы варьировала от 0.34 в Красненском районе Белгородской области до 0.43 в Пристенском районе Курской области. Вторым по частоте встречаемости был аллель с 18 единицами повтора с изменчивостью от 0.18 в Пристенском районе Курской области до 0.31 в Черемисиновском районе Курской области. С частотой более 0.05 во всех исследованных популяциях встречались аллели содержащие 22, 25, 28 и 31 единицу повтора. Аллель с 16 единицами повтора был идентифицирован только в Пристенском районе Курской области с частотой 0.01, а тяжелый аллель с 37 единицами повтора в Яковлевском районе Белгородской области с частотой 0.004.

При исследовании полиморфизма VNTR-аллелей гена ApoB в семи популяциях Центральной России установлено, что с максимальной частотой встречается аллель, содержащий 36 единиц повтора (от 0.36 в Ливенском районе Орловской области до 0.50 в Прохоровском районе Белгородской области). Вторым по частоте встречаемости был аллель с 34 единицами повтора (его изменчивость составила от 0.17 в Прохоровском до 0.30 в Яковлевском районах

Белгородской области). Следует отметить, что в Черемисиновском районе Курской области частота аллеля с 30 единицами повтора была практически в два раза выше, чем в других районах (0.06-0.09) и составила 0.14.

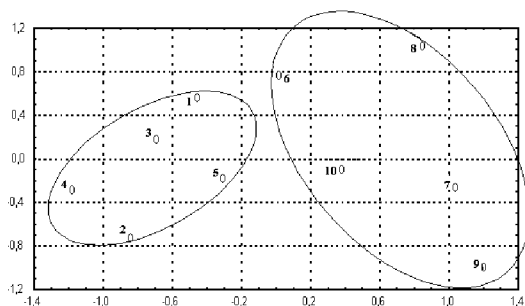
Результаты исследования локусов Y-хромосомы в популяциях русских и украинцев Белгородской области свидетельствуют о том, что самым частым в популяциях русских и украинцев оказался аллель DYS393\*13 (пределы его изменчивости составили 83-84,4%). По аллелю DYS390\*25 наблюдаются этнические различия: русские Белгородской области характеризуются максимальной его частотой (50%), а украинцы – минимальной 36%. У украинцев самым частым оказался аллель DYS390\*24 (44,8%), а частота DYS390\*25 составила 36,2%. Частота аллеля DYS392\*11 оказалась высокой во всех исследуемых популяциях и составила 77,7-87%. В Прохоровском районе был обнаружен редкий аллель DYS393\*11 (0,9%), а в Красненском DYS393\*15 (1,2%).

На основании частот микросателлитных локусов Y-хромосомы выявлено, что генетически близкими являются популяции русских Яковлевского и Красненского районов, от которых несколько отдалены русские Прохоровского района, а также две украинские популяции Белгородской области (Грайворонского и Красногвардейского районов).

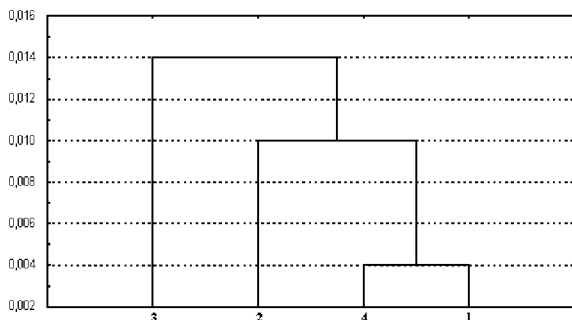
В результате исследования полиморфизма генов фактора некроза опухоли (TNF $\alpha$  -308G/A), интерлейкина 1B (IL 1B-511C/T) и гена антогониста рецептора интерлейкина 1 (IL-1Ra) установлено, что распределение частот изучаемых фенотипов и аллелей TNF $\alpha$  для Прохоровского и Красненского районов соответствовали ожидаемым частотам при равновесии Харди-Вайнберга ( $\chi^2=0,03$ ;  $p>0,05$ ). Наиболее частыми аллелями для данных популяций оказались TNF\*1 (89%), IL 1B-511\*C (59%), IL 1Ra\* 1 (71%).

С использованием данных по иммунобиохимической генетической системе проведено исследование генетических соотношений 10 изученных сельских популяций Белгородской области методами многомерной статистики (кластерный анализ, многомерное шкалирование, факторный анализ). Установлено, что сельсоветы Прохоровского и Красненского районов Белгородской области образуют две четко дифференцирующиеся друг от друга группы, каждая из которых представлена только сельсоветами своего района (рис.1).

При рассмотрении генетического сходства четырех районных популяций Белгородской области (рис.2) установлено, что наиболее близкими являются Прохоровский (коренное русское население) и Красногвардейский (коренное украинское население) районы. Красненский (коренное русское население) и Грайворонский (коренное украинское население) районы генетически удалены как друг от друга, так и от двух выше рассмотренных районных популяций.



**Рис.1.** График двухмерного шкалирования 10 сельсоветов Прохоровского и Красненского районов Белгородской области. **Прохоровский р-н:** 1-Холоднянский с/с; 2-Коломыщевский с/с; 3-Подолешенский с/с; 4-Плотовский с/с; 5-Прелестненский с/с. **Красненский р-н:** 6-Горкинский с/с; 7-Расховецкий с/с; 8-Готовский с/с; 9-Камызинский с/с; 10-Красненский с/с.



**Рис.2.** Дендрограмма генетических соотношений четырех районов Белгородской области (построена методом Уорда). 1 –русские Прохоровского района, 2 - русские Красненского района, 3 - украинцы Грайворонского района, 4 - украинцы Красногвардейского района.

Следует отметить, что такие же закономерности пространственной variability генофонда белгородской популяции были получены с использованием квазигенетических маркеров. На основе параметров модели Малек были рассчитаны матрицы расстояний между популяциями 10 сельских советов Красненского и Прохоровского районов Белгородской области. Установлено, сельсоветы изученных районов образуют две группы. Первую группу образуют только сельские советы Красненского района, а вторая группа кластеров представлена только сельсоветами Прохоровского района. Следует



отметить, что расстояния между сельсоветами в пределах района ( $<0,005$ ) в два раза меньше расстояний между районами (0,010).

Одним из факторов установленной нами дифференциации рассматриваемых популяций являются географические расстояния между ними: коэффициент корреляции между матрицей генетических и географических расстояний по изученным сельсоветам составил  $R=0.44$ ,  $p<0.05$ , а по районам  $R=0.77$ ,  $p=0.07$ .

Расчет рангового коэффициента корреляции Спирмена между данными брачно-миграционной структуры (матрицы расстояний, рассчитанных по параметрам Малекко), данными антропоники (матрицы генетических расстояний), данными по классическим маркерам (матрица генетических расстояний) и данными о реальных географических расстояниях, между рассматриваемыми популяциями Белгородской области показал наличие значимых корреляционных взаимосвязей (табл.1) между четырьмя матрицами расстояний. При этом следует подчеркнуть, что все анализируемые матрицы статистически значимо (или на верхнем пределе уровня значимости –  $p=0,08$ ) коррелировали между собой: положительные коэффициенты корреляции варьировали от 0,27 до 0,84.

**Табл. 12**

**Ранговые коэффициенты корреляции Спирмена между матрицами расстояний, построенных по данным брачно-миграционной структуры, антропоники, генетики и географии**

Маркеры, использованные при построении матриц	1.	2.	3.	4.
1. Данные брачно-миграционной структуры (параметры Малекко)	0	$p<0,001$	$p<0,001$	$p<0,001$
2. Данные антропоники (квазигенетические маркеры)	0,56	0	$p=0,08$	$p<0,001$
3. Данные генетики (иммунобиохимические генные маркеры)	0,51	0,27	0	$p<0,05$
4. Данные географии (географические расстояния)	0,84	0,54	0,39	0

Результаты проведенного исследования позволяют заключить, что

- Во-первых, использование разных генетических систем (квазигенетических, иммунобиохимических и молекулярно-генетических) позволяет дать объективную оценку закономерностям существования генофонда и выявить наиболее устойчивые особенности пространственной структуры генофонда.

- Во-вторых, одним из основных факторов генетической дифференциации исследованных популяций являются географические расстояния между ними.