

*Овчинников Д. В.¹, Карпущенко Е. Г.¹,
Плакса И. Л.², Деев Р. В.¹*

НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ И МОРФОЛОГИЯ: РОЛЬ ВЫПУСКНИКА ИМПЕРАТОРСКОЙ ВОЕННО-МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМИИ Ф. А. ЛЕВИНА В ОТКРЫТИИ БИОХИМИЧЕСКИХ ОСНОВ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ

¹*Кафедра гистологии с курсом эмбриологии (заведующая – проф. И. А. Одинцова)
Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург;*

²*Институт стволовых клеток человека (генеральный директор – А. А. Исаев), Москва*

Введение. Современные эмбриологические, гистологические и патогистологические исследования невозможно представить без комбинирования различных методов визуализации и анализа, которые еще вчера относились к принципиально разным уровням структурной организации материи. Изучение тканей и клеток в их развитии, взаимодействии, реактивности и др. процессах традиционно было прерогативой гистологов и патогистологов. Молекулярные биологи занимались анализом метаболизма биомолекул, генетики – особенностями наследования тех или иных признаков. Однако прогресс знаний в этих областях привел к тому, что границы между указанными дисциплинами начинают стираться. На сегодняшний день невозможно себе представить адекватного текущему времени эмбриологического или классического гистологического исследования, не использующего методы молекулярной визуализации структурных компонентов тканей и клеток, генетические методы маркирования и иного манипулирования материальными факторами наследственности. Данное положение особенно справедливо для фундаментальных медицинских исследований, включая разработку генных и клеточных технологий. Современное положение дел требует от исследователя овладения новыми объемами знаний, глубины понятийного аппарата, освоения новых методик, умения динамичного интерпретирования получаемых данных. Поэтому, несмотря на повышение методической специализации исследователей-морфологов, горизонт понимания явлений живой природы должен быть широк настолько, чтобы не оправдать известный афоризм Козьмы Прутков: «Специалист подобен флюсу: полнота его односторонняя».

Знание морфологами смежных научных областей не приводит к размытию границ изучаемого структурного уровня, но дает представление о взаимосвязи и «многоэтажности» сложных процессов в тканях, происходящих как в норме, так и при патологии. Это приводит к открытию новых углов зрения на известные явления, которые профессионалам в смежных областях давно не кажутся носителями новизны. Важным источником таких неожиданных пластов знаний является история науки. Следует полагать, что специалистам – биохимикам, молекулярным биологам, молекулярным генетикам было бы не бесполезным проникновение в эволюцию гистологических идей. В свою очередь, важным для морфолога является знакомство с историческими вехами, ознаменовавшими путь к современному уровню развития высокотехнологичных областей биологии. Это особенно спра-

ведливо, когда важные открытия на этом пути совершены нашими соотечественниками. Одним из любопытных векторов развития науки является исследование нуклеиновых кислот – материального субстрата наследственности.

На пути к открытию нуклеиновых кислот. Одним из основоположников изучения химического состава клеток был Фридрих Мишер из университета города Базеля, а позднее – Тюбингена. В качестве объекта исследования им были выбраны лейкоциты, которые, по его мнению, являли собой «наиболее простой и независимый тип клеток». Врачи хирургической клиники Тюбингена не жалели бинтов с гнойным отделяемым и охотно доставляли их ученому. В ходе исследований по изучению химического состава лейкоцитов им было получено вещество, обладающее неизвестными ранее свойствами. Фридрих Мишер в своих письмах Вильгельму Гису писал: «Основываясь на известных данных о гистохимии, могу предположить, что данное вещество может относиться к ядру» [2]. Он продолжал: «В ходе моих экспериментов по изучению биохимического состава ядер лейкоцитов мною было получено вещество, которое образует осадок с раствором щёлочи, который не растворяется в воде, в уксусной кислоте и в солевом растворе, а также не относится к известным белкам, так как содержит большое количество фосфора» [1]. Вполне логично, что полученное вещество было названо «нуклеин».

Всю последующую жизнь Фридрих Мишер изучал «нуклеин». В ходе многочисленных исследований им было показано, что это вещество обладает свойствами кислот, присутствует в большом количестве в пролиферирующих клетках и является обязательным компонентом клеточного ядра. Основываясь на данных о том, что «нуклеин» в значительном количестве содержится в ядре, им было принято решение о необходимости проведения исследований со сперматозоидами, поскольку из-за особенностей их структуры в них «...ничего кроме протаминов и нуклеина не представлено в значимом количестве. Необходимо выполнить количественный анализ, так как, по-видимому, это может играть важную роль в изучении теории оплодотворения» [3]. Однако, несмотря на значительные открытия, выполненные в течение последних двух десятков лет XIX века в области изучения наследственности и цитологии, Фридрих Мишер до конца жизни (возможно, под влиянием своего дяди – В. Гиса), считал, что «нуклеин» скорее является богатым источником фосфора для синтеза молекул меньшей величины, необходимых для развития плода после соприкосновения мужских и женских гамет.

В конце XIX века новые способы селективной окраски оргanelл позволили более детально подойти к изучению ядра. В 1881 году профессор-ботаник Гамбургского университета Эдвард Захарьис в серии экспериментов доказал, что хромосомы и нуклеин обладают одинаковыми химическими свойствами, а в 1882 году в фундаментальном труде Вальтера Флемминга «Цитоплазма, ядро и деление клетки» было предположено, что «нуклеин» и хромосомы идентичны по химическому составу. Возникли первые предположения о биологической роли нуклеиновых кислот.

В 1874 году немецкий патологоанатом Леопольд Аурбах показал, что оплодотворённая яйцеклетка содержит два ядра, направляющихся навстречу друг другу, что, по его мнению, должно предшествовать началу эмбриогенеза. Известным немецким эмбриологом и зоологом Оскаром Гертвигом в работе, посвящённой

изучению морских ежей (1876 г.), был впервые описан процесс слияния ядер половых клеток как событие, предшествующее развитию организма. Кроме того, им было доказано явление редукции количества хромосом в процессе мейоза. К середине 80-х годов XIX века благодаря Оскару Гертвигу и Альберту фон Кёлликеру решающая роль ядра в процессе оплодотворения признана большинством учёных того времени.

После утверждения ведущей роли ядра в процессе оплодотворения интерес к нему значительно вырос, так как стало очевидно, что данная структура также играет неизвестную, но важную роль в процессе передачи наследственной информации. Однако материальный субстрат наследственности оставался неизвестным. В качестве «кандидата» рассматривался выявленный ранее «нуклеин». В 1889 году Рихард Альтман, профессор гистологии Лейпцигского университета, создал эффективные способы очистки нуклеиновой кислоты от белковых примесей, в результате чего им было доказано, что «нуклеин» состоит из двух частей: нуклеиновой кислоты (термин, который впервые был использован в его публикации) и белка.

В 1900 году независимо друг от друга трое профессоров ботаники — Карл Корренс (Германия), Гюго де Фриз (Голландия) и Эрих Чермак (Австрия) обнаружили в своих опытах открытые ранее Грегором Менделем закономерности. Затем, ознакомившись с его работой, они вновь опубликовали ее в 1901 году. Это способствовало проявлению глубокого интереса к количественным закономерностям наследственности. Подобную связь выявил в 1903 году исследователь из США Вальтер Сэттон. При исследовании мейоза у кузнечика *Brachistola magna* Сэттон доказал, что хромосомы в ходе мейоза сохраняют свою морфологическую индивидуальность и родительские хромосомы расходятся независимо друг от друга. Таким образом, поведение хромосом в мейозе совпадает с поведением менделевских наследственных факторов. Вальтер Сэттон выдвинул идею о том, что наследственные факторы (аллеломорфы, по терминологии того времени) представляют собой либо хромосомы, либо части хромосом. Годом ранее немецкий биолог Теодор Бовери представил доказательства в пользу участия хромосом в процессах наследственной передачи: было показано, что нормальное развитие морского ежа возможно лишь при наличии всех хромосом. Установлением того факта, что именно хромосомы несут наследственную информацию, Вальтер Сэттон и Теодор Бовери положили начало новому направлению генетики — хромосомной теории наследственности.

Последующие работы Альбрехта Косселя, доказавшие, что в состав нуклеиновой кислоты входят пять оснований, несколько снизили количество учёных, рассматривавших её в качестве субстрата передачи наследственной информации, так как столь простое (на первый взгляд) строение не соответствовало столь сложной функции, возлагавшейся на неё. Необходимо отметить довольно грубые способы очистки и выделения нуклеиновой кислоты, использовавшиеся до начала 30-х годов XX века, которые сформировали у научной общественности ложное впечатление о малом размере молекулы нуклеиновой кислоты, что было следствием её разрушения в процессе выделения. Это обстоятельство вселяло уверенность и в сторонников белковой теории передачи генетической информации.

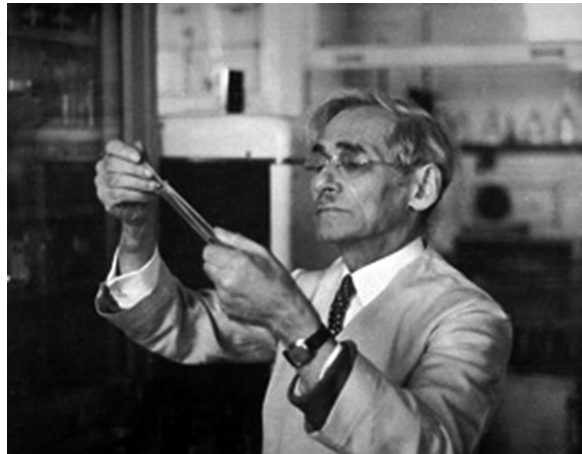
Важно, что российские (по происхождению) исследователи участвовали в общемировом прогрессе науки. Так, выпускник Императорской Военно-медицинской академии Фёдор Аронович Левин внёс существенный вклад в исследование структуры азотистых оснований, входящих в состав нуклеиновых кислот.

Вклад Ф. А. Левина в изучение нуклеиновых кислот. Файвус (Фёдор) Аронович Левин родился 25 февраля 1869 года в городе Сагор Ковенской губернии Российской империи (в настоящее время — Литовская Республика), воспитывался в многодетной семье, где был вторым из восьми детей. Надо отметить, что в «Общем списке обучающихся в Императорской Военно-медицинской академии» год рождения Левина значится как 1868-й, а во всех англоязычных источниках — 1869-й. Уточнение в архиве Рокфеллеровского центра, где Ф. А. Левин проработал большую часть жизни, к успеху не привело, т. к. официального документа о дате его рождения не сохранилось.

В четырехлетнем возрасте его родители со всеми детьми переехали в Санкт-Петербург, где молодой Фёдор получил классическое образование, окончив в 1886 году 10-ю гимназию, располагавшуюся по улице 1-я рота Измайловского полка, д. 7 (ныне — 1-я Красноармейская улица).

Как выпускник гимназии, Ф. А. Левин имел право поступать в высшие учебные заведения и выбрал Императорскую Медико-хирургическую академию. Вопреки данным, приводимым в англоязычных биографических статьях, национальность не очень мешала ему поступить в Академию. «По особому распоряжению в весьма ограниченном количестве принимались в академию лица католического вероисповедания... не принимались на ветеринарное и фармацевтическое отделения „молодые люди еврейской веры“»; правило не распространялось на медицинское отделение, и процент евреев на этом отделении достигал крупной цифры. Для набора 1886 года он составлял 9 студентов из 185.

Это был один из тех замечательных периодов, когда в Военно-медицинской академии трудилось много выдающихся учёных и педагогов. Влияние двух молодых преподавателей академии, в лабораториях которых посчастливилось работать студенту Левину, оказалось судьбоносным. Ими были адъюнкт-лаборант А. П. Дианин (впоследствии — академик Императорской Военно-медицинской академии) и приват-доцент И. П. Павлов (впоследствии — ординарный академик Императорской академии наук и лауреат Нобелевской премии по физиологии и медицине). Именно в лаборатории Александра Павловича Дианина юный Файвус



Ф. А. Левин за работой (фото из архива Рокфеллеровского университета)

Левин выполнил свои первые научные исследования по конденсации фенолов с выделением альдегидов и кетонов. Это была лаборатория классиков органической химии Зинин–Бородин–Дианин, первый из которых создал современную анилиновую промышленность, а последний научился удлинять углеродные цепи органических соединений. Этот фундамент позволит Ф. А. Левину делать свои дальнейшие открытия.

В 1891 году семья Левиных эмигрирует в США, тогда Фёдору не хватило всего нескольких месяцев для получения диплома Академии. Позже он возвращается в Россию, сдаёт выпускные экзамены и получает диплом лекаря с отличием.

В 1905 году он переезжает в Нью-Йорк и становится заведующим биохимической лабораторией Рокфеллеровского института. В состав биохимической лаборатории тогда входила первая в США аналитическая лаборатория, что позволяло заниматься качественным и количественным анализом нуклеиновых кислот.

Когда Ф. А. Левин приступил к работе с нуклеиновой кислотой (тогда ещё не было разделения на ДНК и РНК), было известно, что в её состав входят азотистые основания и она является структурным компонентом хромосом, каким-то образом участвует в оплодотворении и, возможно, в передаче наследственной информации. В течение первых нескольких лет работы ему удалось впервые выделить посредством щелочного гидролиза из состава нуклеиновой кислоты, полученной из дрожжей, четыре вида нуклеозидов: гуанозин, цитидин, уридин и аденозин. В 1909 году Фёдор Аронович впервые получил D-рибозу – соединение, о существовании которого не было известно на тот момент, и доказал, что так называемая растительная нуклеиновая кислота, как на тот момент называлась РНК, обладает полимерной структурой. В качестве мономера нуклеиновой кислоты был впервые описан нуклеотид, термин, предложенный Ф. А. Левиным и означающий соединение, в состав которого входят в определённой последовательности три компонента: основание, фосфорная кислота и D-рибоза. Позже, в 1912 году, им было показано, что нуклеиновая кислота, входящая в состав клеток тимуса, называвшаяся тогда «нуклеиновая кислота тимуса», отличается по нуклеозидному составу от растительной, описанной им ранее, наличием тимидинмонофосфата (ТМФ). При этом структура углеводного компонента, входящего в состав тимусной нуклеиновой кислоты, оставалась неизвестной ещё на протяжении долгого времени. Это обусловлено тем, что ДНК, в отличие от РНК, не подвергается щелочному гидролизу, с помощью которого были определены компоненты РНК. В связи с этим Ф. А. Левин посвятил значительную часть своей дальнейшей научной деятельности изучению углеводов, что позволило ему получить необходимые навыки и разработать новые методы выделения и анализа кольцевой структуры сахаров. Всё это дало впоследствии инструменты для исследования структуры углеводного компонента ДНК. В 1929 году им были опубликованы результаты, в которых был определен неизвестный фрагмент нуклеотида – D-2-дезоксирибоза. Таким образом, Фёдором Ароновичем было сделано фундаментальное открытие, заложившее основы представлений о биохимии нуклеиновых кислот, позволившее через три десятилетия Уотсону

и Крику утвердить двухцепочечную спиральную модель ДНК. Разумеется, между этими двумя фундаментальными открытиями было многое сделано другими исследователями, в частности, была определена истинная молекулярная масса нуклеиновых кислот, так как способы выделения, применяемые на этапе работ Ф. А. Левина, не позволяли сделать этого, вызывая фрагментацию полимера. Однако результаты, полученные в процессе его многолетней работы в Институте Рокфеллера, заложили основу для последующего изучения пространственной структуры молекул ДНК и РНК.

Несмотря на то что имя Фёдора Ароновича Левина принято связывать с открытием структуры нуклеиновых кислот, его научные интересы этим не ограничивались. Его многочисленные исследования на этапе зарождения биохимии заложили основы для дальнейшего развития новых направлений этой науки. Широкое признание получили исследования, посвящённые изучению методов изолирования белков и гликопротеинов, собранные в его монографии «Гексозамины и мукопротеины». Также Ф. А. Левин активно изучал структуру липидов, показав различный состав лецитинов разных тканей организма. Продолжая работу в этой области, он впервые выделил сфингомиелин и предложил его химическую формулу. Левин одним из первых занялся изучением цереброзидов, в результате чего показал, что кислота, входящая в состав керазида, одного из представителей цереброзидов, идентична лигноцериновой кислоте. Таким образом, Ф. А. Левин оказал значительное влияние на развитие биохимии в целом, положив начало развитию нескольких её научных направлений.

В июле 1939 года доктор Ф. А. Левин ушёл в отставку, стал почётным членом Рокфеллеровского института, но продолжил заниматься исследовательской работой. Спустя год он скоропостижно умер в своём доме в Нью-Йорке 6 июня 1940 года.

Работы учёного были оценены по достоинству. Ф. А. Левин был членом-основателем сообщества Американского общества биохимиков с момента открытия 26 декабря 1906 года, членом Американской ассоциации развития науки, Американского химического общества, Американского философского общества, Американского физиологического общества, Американского общества естествоиспытателей, Баварской академии наук, Германской академии естествоиспытателей (Галле), Немецкого химического общества, Общества Гарвея, Национальной академии наук США, Королевского общества естествознания (Швеция), Французского химического общества, Брюссельского королевского общества медицинских наук и естествознания, Швейцарского химического общества, Общества экспериментальной биологии и медицины. Американское химическое общество наградило Левина медалями Уилларда Гиббса (1931) и Уильяма Николса (1938).

Фёдор Аронович Левин, выпускник Императорской Военно-медицинской академии, по воле судьбы оказавшийся за границей, благодаря неумолимому желанию постичь тайны жизни внес огромный вклад в развитие современной науки.

ЛИТЕРАТУРА

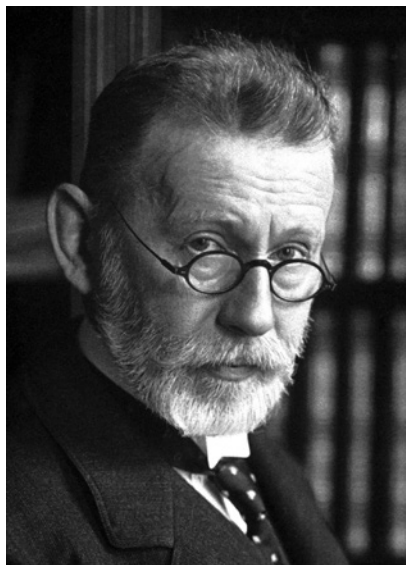
1. *Arnold J.* Ueber Structur und Architectur der Zellen: I. Mitteilung // Arch. Mikrosk. Anat. Entwickl. Gesch. 1898. Bd. 52. № 1. S. 134–151.
2. *Miescher F.* Ueber die chemische Zusammensetzung der Eiterzellen // Med.-Chem. Unters. 1871. H. 4. S. 441–460.
3. *Miescher F.* Die histochemischen und physiologischen Arbeiten von Friedrich Miescher // Wissenschaftlichen Briefwechsel von F. Miescher. Bd. 1. 1872. S. 64–68.

Рочев Е. С., Деев Р. В.

СТАНОВЛЕНИЕ УНИТАРНОЙ МОДЕЛИ ГЕМОЦИТОПОЭЗА

*Кафедра гистологии с курсом эмбриологии (заведующая – проф. И. А. Одинцова)
Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург,
e-mail: romdey@gmail.com*

История научного познания крови и кроветворения является ровесницей увеличительной техники. Однако системное изучение происхождения клеток крови началось лишь во второй половине XIX века. Примечательно, что российским ученым в познании гемоцитопоэза принадлежат несколько общепризнанных приоритетов всемирного масштаба. Среди них – принятое исследовательским сообществом усовершенствование полихроматического гематологического красителя Д. Л. Романовского (1891), экспериментально-гистологическое доказательство унитарной (монофилетической) модели кроветворения А. А. Максимова (1909), введение метода стерильной пункции костного мозга в качестве диагностического стандарта в гематологической клинике – М. И. Аринкина (1927), формирование учения о кроветворном микроокружении – А. Я. Фриденштейна (60–70-е гг. XX века).



П. Эрлих (1854-1915)

Фактология о кроветворении накапливалась начиная с 1839 года, когда Теодор Шванн впервые классифицировал ткани, отнеся кровь в группу тканей, состоящих из изолированных и самостоятельных клеток в жидкостях. К сожалению, современная интерпретация публикаций тех лет несколько затруднена большим числом терминологических неологизмов, злоупотреблением экстраполирования на млекопитающих данных, полученных на низших позвоночных (Келликер, Биццоцери). Следует упомянуть, что Г. Гайем (1879, 1883) вводит термин «гематобласт» для обозначения ядродержащих клеток костного мозга у лягушек, наделяя их способностью дифферен-