# СУНГУЛЬСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

## Труды и материалы

Издательство РФЯЦ — ВНИИТФ

Снежинск • 2001

ББК 34.1Г
УДК 614.876 (063)
С89

С89 **Сунгульская конференция.** Труды и материалы. Снежинск: Издательство РФЯЦ — ВНИИТФ, 2001. — 368 с., 50 ил.

Редакционная коллегия: В.Н. Ананийчук, Б.К. Водолага, Т.Н. Горбатова

Сборник подготовлен по материалам Сунгульской конференции, приуроченной к 100–летию со дня рождения выдающегося российского ученого Н.В. Тимофеева–Ресовского. Она проходила с 24 по 26 августа 2000 г. в южно–уральском городе Снежинске (Челябинская область) на территории Лаборатории «Б», располагавшейся на полуострове озера Сунгуль, где с 1947 по 1955 гг. Н.В. Тимофеев–Ресовский возглавлял работы по радиобиологическим исследованиям.

В сборнике представлены как научные доклады видных ученых и специалистов по проблемам радиобиологии, экологии и медицины, так и мемориальные доклады соратников Н.В. Тимофеева–Ресовского о его жизни и деятельности, о работе коллектива Лаборатории «Б». Кроме того, в него вошли выступления на открытии конференции и «круглом столе», списки участников, отзывы и другие материалы.

Доклады публикуются по текстам, представленным докладчиками, выступления воспроизведены по фонограмме.

Издание представляет интерес как для специалистов, так и для широкого круга читателей.

ISBN 5–85165–434–1

© РФЯЦ — ВНИИТФ, 2001
Воспроизведение настоящего издания
любым способом возможно только с разрешения
Издательства РФЯЦ — ВНИИТФ

# РОЛЬ ИССЛЕДОВАНИЙ Н.В. ТИМОФЕЕВА–РЕСОВСКОГО В СОВРЕМЕННЫХ ПРЕДСТАВЛЕНИЯХ О ПРОЦЕССАХ МУТАГЕНЕЗА В ЗОНЕ ВОСТОЧНО–УРАЛЬСКОГО РАДИАЦИОННОГО СЛЕДА СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ

**О.Г. Макеев, А.В. Коротков, И.Х. Измайлов, С.В. Костюкова, М.П. Ананьев, А.А. Агапочкин**

Уральская государственная медицинская академия, г. Екатеринбург

Анализ наследия ученого всегда вызывает определенные сложности в связи с тем, что развитие науки ушло далеко вперед, а ранее полученные факты и высказанные умопостроения с современных позиций, в лучшем случае, выглядят как очевидные. Между тем, жизнеспособность идей подтверждается лишь тогда, когда они имеют продолжение. Такова судьба большинства концепций, высказанных Н.В. Тимофеевым–Ресовским.

В середине 70–х, при восстановлении порченных водой запасников институтской библиотеки, к нам, студентам–младшекурсникам, попал журнал 1947 года с текстом речи Т.Д. Лысенко, перечеркнутой расплывшимися от влажности чернилами.

Между страниц речи мы нашли сложенные листочки, вырванные из немецких журналов, датированных концом 20–х годов. Каждая строка статей содержала подробный надстрочный перевод, в том числе русских фамилий авторов — Е.А. и Н.В. Тимофеевых–Ресовских и Т. Добржанского.

Ярко запомнилось, что в последний раз журналом пользовались в 1952 году и в дальнейшем среди студентов фамилия последнего читателя больше не встречалась.

Доклад, подготовленный тогда по этим статьям, был признан идеологически ошибочным.

Тем не менее переведенные статьи явились для нас откровением, которое заключалось в представлениях о постоянном присутствии в геноме скрытой изменчивости в форме рецессивных мутаций, а заболевание может явиться проявлением мутации в разных генах. Именно тогда пришла мысль о том, что гомозиготные дрозофилы, полученные авторами, могли бы стать прообразом идеальной модели

для изучения процесса накопления мутаций в геноме под влиянием факторов окружающей среды. Но до появления методики полимеразной цепной реакции и работ А. Уилсона осуществить эту модель не представлялось возможным.

На протяжении последних тридцати лет патофизиологические исследования, выполняемые в Уральской государственной медицинской академии, посвящены вопросам выявления закономерностей адаптации организма к повреждающим факторам, в том числе факторам окружающей среды. И хотя выявленные закономерности сформулированы исключительно на основании клинико–лабораторных исследований фенотипа, постоянно прослеживалось стремление в той или иной степени отразить изменение генома и его роль в процессах развития компенсаторных реакций. Однако скрытость наследственной изменчивости по причине рецессивности мутаций по отношению к нормальной форме гена (по Н.В. Тимофееву–Ресовскому — к геному «дикого типа») в известной степени не позволяляет в общедоступной форме связать генотип и фенотипические проявления известных компенсаторных реакций, выявленных в процессе исследований.

Скрытость изменчивости, присущая ядерной ДНК человека, включающей более ста тысяч генов, практически отсутствует у самостоятельной кольцевой ДНК митохондрий, включающей 16569 пар оснований и состоящей из 37 генов.

У митохондриальной ДНК (мтДНК) отсутствует диплоидность, рекомбинация и мейоз, но кодируются ключевые энергетические ферменты: субъединицы I, II и III оксидазы цитохрома С, VI–АТФазы и цитохрома В (рис. 1). Сейчас известно более 50 патологических синдромокомплексов человека, прямо связанных с мутациями в мтДНК, а высокие темпы накопления повреждений мтДНК и их неэлиминируемость позволили А. Уилсону сформулировать теорию биочасов, рассчитать время и место происхождения Homo Sapienc и константу скорости накопления мутаций для современных людей [1].

Если следовать логике идей Н.В. Тимофеева–Ресовского, то мутации мтДНК со всей неизбежностью должны находить проявление если не в виде конкретного морфологического признака, то в виде снижения энергообеспечения клетки и в развитии у индивида патологии наиболее энергозависимых систем — систем адаптации организма к действию повреждающих факторов. В свою очередь, мтДНК по своим свойствам в наибольшей степени соответствует параметрам

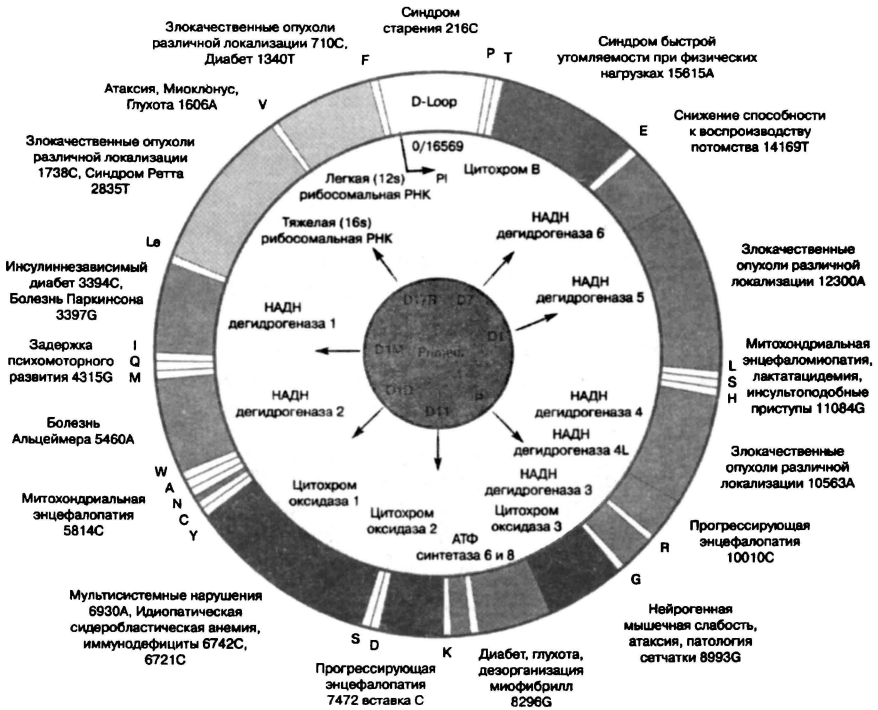


**Рис. 1. Карта генома митохондриальной ДНК человека и некоторые мутации, обуславливающие возникновение заболеваний:**
в центре — перечень праймеров, инициирующих репликацию определенных участков ДНК;
по окружности — некоторые синдромокомплексы, развивающиеся при изменении одного из четырех нуклеотидов (A, T, G, C) в определенном положении

гомозиготных особей, описанных Николаем Владимировичем в ранних работах.

С целью оценки уровня повреждения генетического аппарата в зависимости от степени и продолжительности воздействия составляющих комплексного загрязнения, был выполнен анализ мтДНК из клеток периферической крови [2] пар мать–дитя, с использованием предварительной амплификации мтДНК путем полимеразной цепной реакции [3] у II и III поколения людей,

проживающих на территории Восточно–Уральского радиационного следа Свердловской области.

Население ВУРС Каменского района подвергалось и подвергается воздействию не только ионизирующего излучения, но и химических мутагенных факторов, образующихся в результате деятельности Уральского алюминиевого завода, Синарского трубного завода, Синарской ТЭЦ. Поэтому важно подчеркнуть, что действие факторов среды проявляется не только в виде суммы, но и в виде добавочного мутагенного эффекта за счет взаимного усиления воздействующих элементов окружающей среды, имеющих общий акцептор результата действия.

Степень повреждения мтДНК оценивали путем сопоставления реплицируемых в ходе полимеразной цепной реакции длин локусов ДНК соответствующих пар с инициацией репликации семью праймерами.

У всех пациентов совместно со специалистами Регионального центра радиационной медицины (г. Екатеринбург) проводилось комплексное клинико–лабораторное исследование состояния здоровья обследуемых матерей и их детей с целью выявления у них заболеваний, в основе которых могут лежать как наследуемые мутации, так и патология, в патогенезе которой важное место занимает нарушение пластических и энергетических процессов в организме [4]:

1. Временная или полная стерильность у мужчин и женщин, сопровождающаяся:
   - невынашиванием беременности, ростом перинатальной смертности;
   - нарушением цикла или менопаузой у женщин в возрасте 20—30 лет;
   - рождением умственно неполноценных детей;
   - отставанием детей в росте и развитии;
   - наследственной патологией и врожденными уродствами у детей.
2. Онкопатология.
3. Лабильность вегетососудистой регуляции сосудов, проявляющаяся в виде:
   - изменения реакции сосудов на гистамин и адреналин;
   - НЦД по гипотензивному типу, общей артериальной гипотонией;
   - гипертонии;

- недостаточности регионального кровообращения;
- морфологических изменений в сосудах, капиллярах ногтевой пластинки, глазного дна, слизистой щек;
- ангиоэктазий;
- ангиосклероза;
- нарушений в нейроэндокринной системе, связанных с поражением гипоталамуса;
- нарушений со стороны желез нейроэндокринной системы.

4. Органическое поражение ЦНС.
5. Апластические состояния:
   - подавление гемопоэза;
   - иммунодефициты.
6. Рецидивирующие геморрагические диатезы.
7. Аллергические реакции по типу крапивницы.
8. Изменение пигментации кожи.
9. Региональный остеопороз и остеосклероз.

Оказалось, что у жителей г. Каменск–Уральский — переселенцев из радиационно благополучных районов (1 группа, 36 пар мать–дитя, время проживания матерей в г. Каменск–Уральский — 11,50 ± 3,75 года) заболеваемость составила 36 %, в том числе связанная с повреждением генома — 11 %, а у детей на момент обследования — 50% и 33% соответственно. Было выявлено 4 случая несовпадения локусов мтДНК в парах мать–дитя (11,11 %; рис. 2).

У коренных жителей г. Каменск–Уральский (2 группа, 103 пары, время проживания матерей на загрязненной территории 29,35 ± 5,20 года) заболеваемость II поколения составила 99,03 %, в том числе связанная с повреждением генома – 38 %, а III поколения — 141 % и 68 % соответственно. Выявлено 27 несовпадений локусов мтДНК (26,21 %).

У коренных жителей сельских населенных пунктов Каменского района, располагающихся в некотором отдалении от оси ВУРС (3 группа, 108 пар мать–дитя), общая заболеваемость матерей составила 35 %, а связанная с повреждением ДНК — 10 % (II поколение), у детей — соответственно 25 и 12 %. Число выявленных несовпадений локусов — 2 (1,85 %).

Показатели потомков переселенцев, отселенных из деревень, наиболее пострадавших в результате аварии 1957 года, и проживающих в тех же населенных пунктах, что и предыдущая группа (4 группа, обследовано 44 пары мать–дитя, время проживания I поколения

Рис. 2. Результаты обследования четырех групп жителей Каменского района:
показатель 1 — константа скорости накопления мутаций;
показатель 2 — доля несовпадений длин локусов митохондриальной ДНК в парах мать–дитя (в %);
показатель 3 — доля жителей III поколения, у которых выявлены заболевания, связанные с повреждением генома (в %)

в эпицентре аварии — 0,5—3 года), составили: заболеваемость матерей — 80%, в том числе связанная с повреждением генома — 43% (II поколение), у их детей (III поколение) – 61% и 50% соответственно. Количество выявленных несовпадений локусов мтДНК в парах мать–дитя — 13 (29,55 %).

Следует отметить, что константы скорости накопления мутаций (показатель 1, см. рис. 2) у обследованных жителей Каменского

района составляли от 4,06 до 7,43 · $10^{-6}$ на локус на поколение, что выше аналогичного показателя, рассчитанного как А. Уилсоном (3,14 · $10^{-6}$ на локус на поколение), так и Н.В. Тимофеевым–Ресовским для облученных крыс (2,5 · $10^{-6}$ на локус на поколение) [5].

Важно отметить, что у 291 обследованной пары мать–дитя большинство из 46 выявленных несовпадений пришлись на участки генов, ответственных за синтез комплекса цитохромоксидазы – 19 несовпадений (праймер D1D); НАДН–дегидрогеназы 6 – 10 (D7); тяжелой рибосомальной РНК — 10 (D17R); АТФ–синтетазы–5 (D11); дегидрогеназы–5 и 4 (D и DX соответственно; см. рис. 1).

При этом только в одном случае у семьи К. из г. Каменск–Уральский фенотипические проявления у старшей дочери прямо соответствовали генотипу. На рис. 3 представлены электрофореграммы мтДНК: А — матери, с рождения проживающей в пос. Ленинский г. Каменск–Уральский; В — дочери от первого брака. Страдает функциональной кардиомиопатией, хроническим тонзиллитом. Выявлена идиопатическая апластическая анемия. На электрофореграмме — выпадение участка по праймеру D1D (цитохром оксидаза 1, 6742С; см. рис. 1). С — дочери от второго брака. Практически здорова.

Во всех остальных случаях несовпадений связать развитие конкретной патологии и мутацию мтДНК в определенном месте не представилось возможным ввиду того, что одно и то же проявление признака (заболевание) может явиться следствием мутации в разных генах, на что указывал в свое время Т. Добржанский.

Вместе с тем, какую бы из приведенных мутаций мы не рассматривали, все они приводят косвенно (синтез митохондриальных белков) или прямо (нарушение функций ферментов митохондрии) к снижению энергетического обеспечения организма на 20—60 % в зависимости от уровня нарушения. При этом будут страдать пластические процессы энергозависимых систем, таких как:

- системы поддержания постоянства ядерной ДНК (системы репаративного синтеза) в результате чего мутация может быть не исправлена (онкопатология);
- систем, контролирующих рост клеток и постоянство антигенного состава организма (иммунная, нейроэндокринная и система неэффективного поэза);
- систем, ответственных за элиминацию канцерогенов и препятствующих их проникновению в организм (детоксикация).

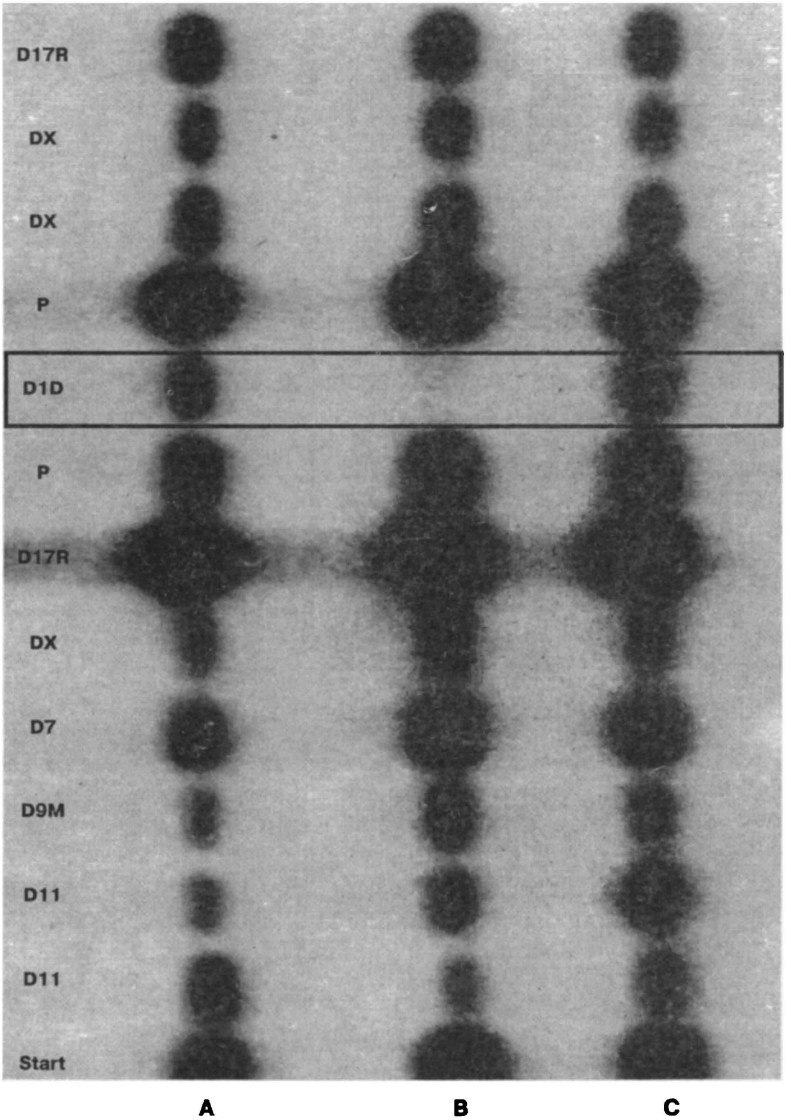


Рис. 3. Электрофореграммы митохондриальной ДНК семьи К. с указанием обозначений праймеров

Скорость накопления мутаций в обследованных группах свидетельствует о развитии синдрома «нестабильности» генома, одним из проявлений которого является рост заболеваемости населения. На рис. 4 представлены сравнительные данные первичной заболеваемости взрослых, подростков и детей — жителей Каменского района — по сравнению со среднеобластными показателями за 1997—1999 годы [6]. Следует отметить, что максимальный рост первичной заболеваемости приходится на 1999 год. Если превышение заболеваемости взрослых жителей Каменского района над среднеобластными данными составило лишь 7,25 %, то у подростков и детей — 35,43 % и 33,07 % соответственно. Сходная ситуация наблюдается и по показателю общей заболеваемости. Более высокая заболеваемость младших возрастных групп может свидетельствовать о накоплении определенного уровня повреждений ДНК, достаточного для проявления в форме диагностируемого заболевания. Последнее может быть следствием процесса естественного отбора, действующего в популяции.

Согласно постулату Халдейна [7], генетическое равновесие между естественным отбором и мутационным процессом достигается поддержанием соответствия между вновь возникающими мутациями и числом вредных мутаций, теряющихся из популяции вследствие летальности. Тем самым, зарегистрированный в обследованной популяции более высокий уровень мутаций со всей неизбежностью должен сопровождаться ростом числа смертей на начальном этапе жизни людей. Для человека этот показатель соответствует младенческой смертности.

На рис. 5 представлены сравнительные данные младенческой смертности в Каменском районе и в Свердловской области. Оказалось, что превышение этого показателя в Каменском районе с 1994 по 1998 годы составляет 38,1; 37,7; 12,0; 145,1; 64,6 % на фоне сохранения относительно постоянного уровня рождаемости.

Таким образом, полученные результаты и представления, базирующиеся на наследии Н.В. Тимофеева–Ресовского, позволяют предположить, что поражение митохондриальной ДНК у жителей зоны ВУРС Свердловской области и развивающийся вследствие этого энергодефицит адаптационных процессов может составлять основу процесса естественного отбора в современных условиях. При этом рост заболеваемости населения, отмечаемый в зоне ВУРС

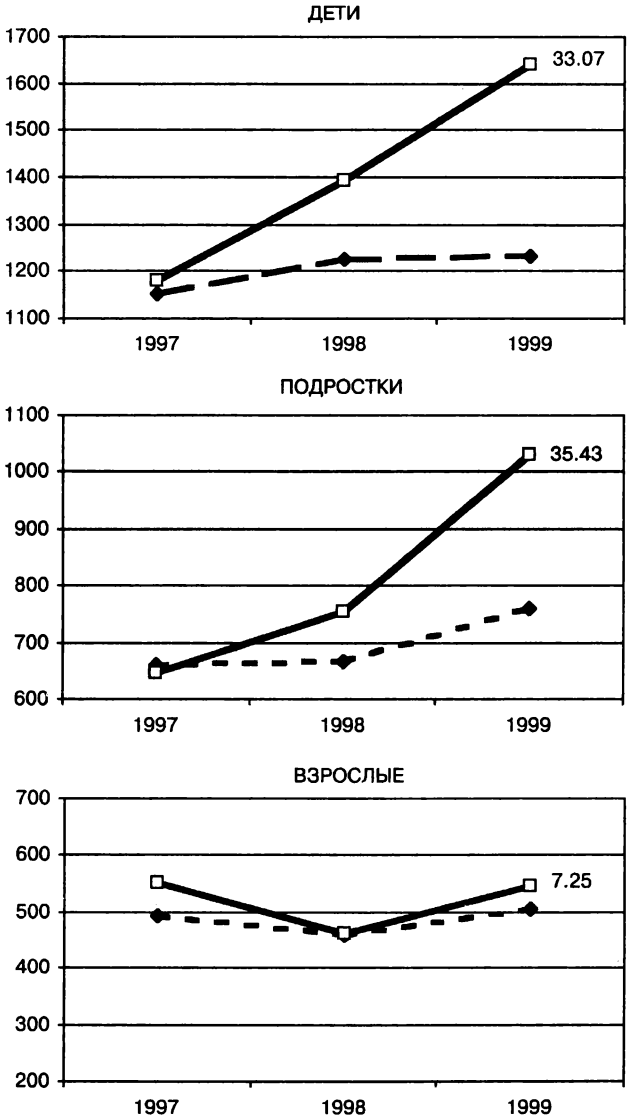


**Рис. 4. Динамика первичной заболеваемости взрослых, подростков и детей Каменского района (непрерывная линия) и Свердловской области (прерывистая линия) на 1000 жителей соответствующего возраста**

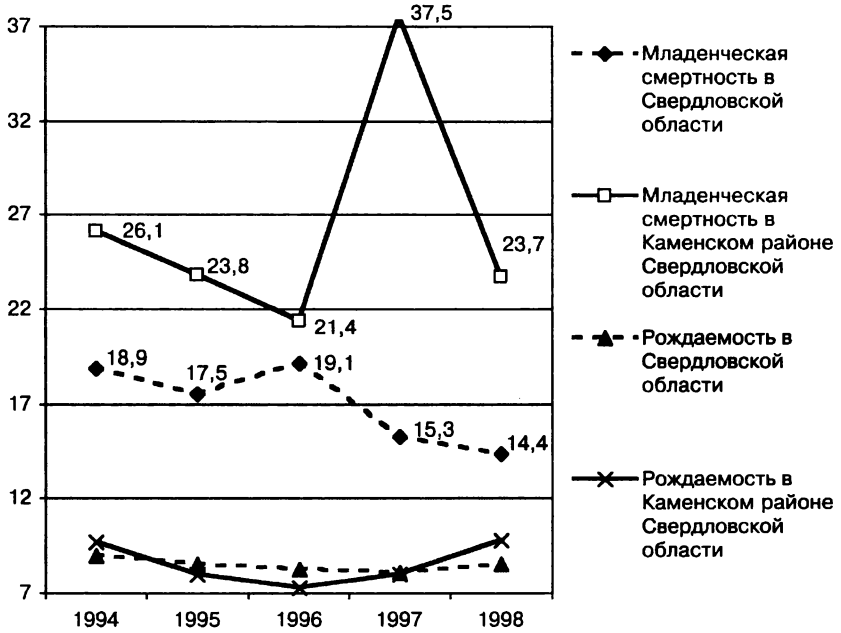


Рис. 5. Динамика рождаемости и младенческой смертности (смертности детей до 1 года) на 1000 родившихся живыми

Свердловской области в последнее время, обусловлен накоплением повреждений в геноме под воздействием комплекса радиационного фактора и химических мутагенов. В этих условиях страдает митохондриальная ДНК и как следствие — энергообеспечение адаптационных процессов в организме к повреждающему действию факторов окружающей среды. Мутации митохондриальной ДНК накапливаются и передаются из поколения в поколение в виде «генетического груза», идея присутствия которого в популяции во–многом принадлежит Н.В. Тимофееву–Ресовскому. По мере накопления количества такого груза начинает проявляться его скрытый эффект.

## Ссылки

1. Kocher T.D., Wilson A.C. Sequence Evolution of Mitochondrial DNA in Humans and Chimpanzees. Evolution of Life. Springer–Verlag, Tokyo, 1991.
2. Southern E.M. Application of DNA Analysis to Mapping Human Genom. Cytogent. Cell Genet., 1982, 32, 52—57.
3. Armor J. et al. PSTS for Minisattellite 33.1 (D9S49): Direct Typing by PCR, Nuc. Acids Res. — 1988. — Vol. 19, № 17.
4. Международная программа по химической безопасности. — 1989. —Публикация № 37. — ВОЗ, Женева.
5. Тимофеев–Ресовский Н.В., Савич А.В., Шальнов М.И. Введение в молекулярную радиобиологию. — М.: Медицина, 1981. — 320 с.
6. Состояние здоровья и оказание медицинской помощи населению Свердловской области. Министерство здравоохранеия Правительства Свердловской области // Информационный бюллетень № 7. — Екатеринбург, 2000.
7. Haldane J.B.S. The Rate of Spontaneous Mutation of a Human Gene // J. Genet. — 1935. — 31, 317—326.