

РОССИЙСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ “СОВРЕМЕННЫЕ ВОПРОСЫ РАДИАЦИОННОЙ ГЕНЕТИКИ” (Дубна, 27–28 июня 2019 г.)

DOI: 10.1134/S0869803119060067

27–28 июня 2019 г. в Дубне, на базе ОИЯИ состоялась Российская конференция с международным участием “Современные вопросы радиационной генетики”. Учредителями конференции были Отделение физиологических наук РАН, Российское радиобиологическое общество и Объединенный институт ядерных исследований, организаторами – Научный совет РАН по радиобиологии и Лаборатория радиационной биологии ОИЯИ. Оргкомитет возглавляли чл.-корр. РАН Е.А. Красавин и д-р биол. наук А.В. Рубанович. К началу конференции опубликован Сборник материалов конференции (Дубна: ОИЯИ, 2019. 110 с.).

В работе конференции приняли участие около 60 ученых из России и Армении. Были представлены в очной и заочной форме научно-исследовательские центры и институты, лечебно-диагностические и научно-практические центры РАН и НАН Армении, Минздрава России, ФМБА России, университеты России и Армении. Активное участие принимали молодые ученые. Были заслушаны и обсуждены 22 доклада, рассмотрены пять стендовых сообщений, проведена общая дискуссия.

В программу конференции вошли различные аспекты радиационной генетики. Обсуждались результаты исследований закономерностей возникновения и репарации двойных разрывов (ДР) ДНК при действии ионизирующих излучений с различными характеристиками. Доклад Р.М. Арутюняна и соавт. (Ереванский государственный университет, г. Ереван, Армения) был посвящен результатам изучения активации путей репарации ДНК (BER, HRR и NHEJ) и эпигенетических изменений, индуцированных сверхкороткими импульсами ускоренных электронов в клетках человека. При нелетальном, сублетальном и летальном уровнях повреждений ДНК активизируются все перечисленные пути репарации, в зависимости от уровня повреждений их соотношение изменяется.

В работе Е.Ю. Москалёвой и соавт. (НИЦ “Курчатовский институт”, г. Москва) изучены индивидуальные различия в эффективности репарации ДР ДНК, оцениваемые по уровню остаточных фокусов γ H2AX, в лимфоцитах здоровых добровольцев и пациентов с мягким когнитивным снижением амнестического типа (МКСА) и болезнью Альцгеймера (БА) через 24 ч после γ -облучения клеток *in vitro* в дозе 2 Гр. При МКСА и БА обнаружено более высокое количество остаточных фокусов γ H2AX и количества лимфоцитов с фокусами по сравнению со здоровыми добровольцами и корреляция остаточных фокусов с количеством CD4-лимфоцитов. В докладе Г.А. Постыпановой и соавт. (НИЦ “Курчатовский институт”, г. Москва) сообщаются результаты изучения динамики репарации ДР ДНК в культуре нейральных стволовых и нейральных прогениторных клеток мышей после действия γ -излучения по уровню гистона γ H2AX. При ма-

лых дозах облучения (0.1 Гр) обнаружен более медленный путь репарации, чем при высокой дозе 1 Гр.

В докладе И.Д. Александрова и М.В. Александровой (ОИЯИ, г. Дубна) представлены результаты системных исследований радиационного мутагенеза пяти структурных генов *D. melanogaster* разного размера, экзон-интронного соотношения и положения в геноме после действия γ -излучения и нейтронов с использованием комплекса методов генетического, цитогенетического и молекулярного анализа. Впервые была получена картина радиомутабельности, которая оказалась общей для пяти изучаемых генов и включала широкий спектр генетических изменений. Обнаружены два основных класса: 1) мутации гена, ассоциированные со структурными изменениями генома, сопровождающиеся рецессивной летальностью, и 2) рецессивно наследуемые генные мутации с изменениями внутри гена (классические “точковые” мутации). Методом ПЦР определена доля точковых мутаций среди всех радиационно-индуцированных. Путем секвенирования γ - и нейтрон-индуцированных мутаций показан сложный спектр выявляемых изменений ДНК, качественно сходный для обоих видов радиации, но с разной относительной частотой индукции отдельных типов изменений. Проведены предварительные расчеты частоты индукции изучаемых мутаций. Авторы пришли к выводу, что “уже сейчас можно отметить наблюдаемый тренд исследований в направлении изучения наследуемых изменений ДНК на уровне генома (экзома) в целом... Параллельные исследования на главных генетических тест-объектах дрозофила и мышь и получаемые на них результаты по-прежнему остаются, как в прошлом, наиважнейшими при обосновании генетической опасности (риска) ионизирующей радиации для человека”.

В докладе К.Ю. Иванова и соавт. (Российский федеральный ядерный центр – ВНИИ экспериментальной физики, г. Саров) представлены результаты изучения влияния конформационного состояния хроматина и его реактивности на индивидуальные особенности радиационно-индуцированных изменений структуры хроматина с использованием метода аномальной временной зависимости вязкости (АВЗВ). Для клеток крови белых беспородных крыс и клеток крови человека была получена статистически значимая положительная корреляция между исходной реактивностью хроматина и количеством радиационно-индуцированных повреждений ДНК, что указывает на возможности применения метода АВЗВ для прогнозирования индивидуальной клеточной радиочувствительности.

С.А. Васильев, Р.Р. Савченко и др. (НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра, г. Томск) изучали роль белков межклеточного матрикса в формировании радиационно-ин-

дуцированного ответа соматических клеток человека на повреждение ДНК. Было показано, что нокаут генов *ADAMTS1* и *THBS1* приводит к снижению выживаемости и повышению частоты микроядер, но не влияет на уровень фокусов белков репарации γ H2AX и 53BP1. Возможно, наблюдаемые эффекты обусловлены изменением экспрессии генов, продукты которых косвенно связаны с процессами репарации ДНК.

А.А. Иванов и соавт. (ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА РФ, г. Москва) изучали цитогенетические эффекты радиации (рентгеновское излучение) у мышей в условиях пищевого ограничения. Было обнаружено, что недостаток питания приводит к цитогенетическим изменениям в костном мозге. Умеренное ограничение питания животных приводит к увеличению радиорезистентности иммунокомпетентных органов и снижению цитогенетических нарушений в клетках костного мозга при сублетальном облучении, что открывает принципиально новый путь повышения радиорезистентности млекопитающих.

В.Ю. Нугис и соавт. (ФМБЦ им. А.И. Бурназяна, ФМБА России, г. Москва) определяли частоты радиационно-индуцированных транслокаций в культурах лимфоцитов периферической крови здорового донора после γ -облучения *in vitro* с помощью трехцветного варианта FISH-метода с использованием двух разных наборов ДНК-зондов, получены сходные результаты.

Внимание исследователей в настоящее время привлекает роль эпигенетических процессов, в частности, метилирования ДНК в образовании радиационно-индуцированных повреждений. *Н.С. Кузьмина* и соавт. (ИОГЕН РАН, г. Москва) провели изучение метилирования промоторов восьми генов в лейкоцитах крови работников ПО "Маяк", подвергавшихся пролонгированному внешнему воздействию γ -излучения или сочетанному внешнему (γ -лучи)/внутреннему (α -астицы, инкорпорированный ^{239}Pu) облучению в широком диапазоне доз. Показано дозозависимое гиперметилирование CpG – островков промоторов ряда генов, которое выявляется в лейкоцитах крови спустя годы и десятилетия после перенесенного радиационного воздействия.

В работе *Э.В. Евдокимовского* и соавт. (ИТЭБ РАН, г. Пушкино) при облучении крыс протонами в дозах 3 и 5 Гр было обнаружено снижение экспрессии митохондриальных генов в мозжечке, гиппокампе и коре головного мозга, при этом снижения экспрессии ядерных генов, ответственных за функционирование митохондрий, не наблюдалось. Через 4 и 8 нед в коре и гиппокампе головного мозга наблюдалось снижение уровня метилирования мтДНК на 30% по сравнению с контролем. Полученные результаты говорят о большей уязвимости мтДНК по сравнению с яДНК при воздействии ионизирующего излучения, а также о происходящих эпигенетических изменениях в мтДНК в отдаленные сроки после облучения. *С.А. Абдуллаев* и соавт. (ИТЭБ РАН, г. Пушкино) изучали изменения общего количества копий митохондриальной ДНК и уровни гетероплазии (мутантных копий мтДНК) в гиппокампе, коре и мозжечке головного мозга в разное время после облучения протонами головы крыс в дозах 3 и 5 Гр. Показано, что уровень содержания копий мтДНК во всех областях головного мозга крыс повышался после облучения с одновременным увеличением доли ее мутантных копий. В гиппокампе наблюдалось максимальное увеличение уровня мтДНК с мутациями по сравнению с корой и мозжечком.

С.А. Васильев и соавт. (НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра, г. Томск) проанализировали связь между индексом метилирования ретротранспозона LINE-1 как маркера глобального уровня метилирования генома человека и частотой хромосомных нарушений в лимфоцитах периферической крови работников радиохимического производства. Обнаружена отрицательная корреляция индекса метилирования LINE-1 с частотой аббераций хроматидного типа и уровнем сестринских хроматидных обменов. Связи гипометилирования LINE-1 с частотой аббераций хромосомного типа не обнаружено. Таким образом, индекс метилирования LINE-1 после воздействия инкорпорированного плутония связан, главным образом, с репарацией хроматидных повреждений.

В ряде докладов представлены результаты изучения отдаленных генетических последствий действия радиации. *О.В. Высоцкая* и соавт. (НИЦ Курчатовский институт, г. Москва) изучали активность теломеразы в МСК из костного мозга мышей. В длительно культивируемых МСК была обнаружена высокая активность теломеразы (АТ). Через 2 мес. после γ -облучения в дозах 1 и 6 Гр и γ -гамма-нейтронного облучения в дозах 0.05–2 Гр АТ снижалась. Экспрессия гена *mTERT* в МСК после γ -облучения не изменялась, но возрастала после γ -облучения. Из опухолей, развившихся из облученных МСК при трансплантации сингенным мышам, получены линии опухолевых МСК – фибросарком со сниженной или отсутствующей АТ и сниженной по сравнению линией МСК длиной теломер.

Т.С. Буланова и соавт. (ЛРБ ОИЯИ, г. Дубна) изучали нарушения генетических структур в клетках различных тканей при действии излучений с разными физическими характеристиками. Особое внимание было обращено на образование кластерных повреждений ДНК (КП). На культуре фибробластов человека изучены закономерности образования КП различного состава при действии γ -квантов ^{60}Co , протонов и ускоренных ионов ^{15}N . Было обнаружено, что кластерные ДР ДНК формируются при воздействии всех используемых видов излучения. Количество γ H2AX/53BP1 и 53BP1/OGG1 кластеров фокусов снижается со временем после облучения при действии излучений и с высоким, и с низким значениями ЛПЭ, однако скорость элиминации в случае ускоренных ионов замедлена по сравнению с действием γ -квантов. Полученные данные свидетельствуют о затруднении процессов репарации кластерных ДР ДНК, индуцированных ионами ^{15}N .

На ускорителе Нуклотрон ЛФВЭ ОИЯИ с использованием впервые полученного пучка релятивистских ядер K^{36} (2.58 ГэВ/нуклон) проведен эксперимент по облучению структур мозга млекопитающих *in vivo*. На парафинных срезах головного мозга крыс методом иммуногистохимического окрашивания изучены индукция и репарация ДР ДНК в гиппокампальной формации. Выявлено формирование сложных кластерных ДР ДНК в различных структурах этой формации в различные сроки после воздействия тяжелых ядер. Установлено, что большая часть γ H2AX/53BP1 фокусов находится в составе сложноорганизованных кластеров (~80%) и локализуется в сайтах визуализированных репарационных белков (~75%) по ходу треков тяжелых заряженных частиц.

В работе *Л.В. Шуленовой* и соавт. (ФМБЦ им. А.И. Бурназяна, г. Москва) проведен анализ экспрессии некоторых видов РНК методом ПЦР в реальном времени в двух типах культивируемых клеток крови человека – лимфо-

циты здоровых доноров и клетки линии Jurkat, после рентгеновского облучения разными дозами. Полученные результаты свидетельствуют о том, что экспрессия miR и lncRNA представляет собой динамический и переменный процесс, зависящий от типа клеток и дозы радиационного воздействия. miR и lncRNA могут быть перспективны для использования в качестве биомаркеров некоторых заболеваний и медиаторов ответа клеток на действие радиации.

В стендовом сообщении *Н.А. Кошлань* и соавт. (ЛРБ ОИЯИ, г. Дубна) представлены результаты анализа частоты мутагенеза и выхода хромосомных aberrаций в разные сроки после облучения ускоренными ионами бора и γ -облучения культуры клеток китайского хомячка. HPRT-мутантные фракции были выявлены в потомках облученных клеток вплоть до приблизительно 40 дней (70–80 клеточных поколений) после облучения. Максимальный выход HPRT-мутантов отмечается в разные сроки после облучения в зависимости от характеристик ионизирующего излучения.

В сообщении *И.В. Мильто* и соавт. (Северский биофизический научный центр, г. Северск) приведены результаты исследования изменения частоты и длительности сохранения нестабильных хромосомных aberrаций, CNA и LOH лейкоцитов крови работников Сибирского химического комбината, подвергавшихся хроническому радиационному облучению, у которых в 2014 г. обнаружены мозаичные делеции и амплификации. В 2017 г. установлено, что при не изменившейся дозе внешнего облучения частота aberrантных клеток увеличилась в 1.7 раза по сравнению с 2014 г., частота aberrаций хромосомного типа удвоилась, частота парных фрагментов увеличилась в 4 раза, частота дицентрических хромосом возросла в 2 раза. У ряда обследованных обнаружены сохранившиеся мозаичные делеции и мозаичные амплификации. Результаты свидетельствуют о формировании у лиц, подвергшихся радиационному облучению, костномозговых самоподдерживаемых клонов, потомки которых дают популяцию aberrантных клеток в крови.

В.В. Петушкова (ИХФ РАН, г. Москва) представила результаты исследований, проведенных под руководством И.И. Пелевиной. Изучена частота aberrаций хромосом в облученных в дозах 0.05–3.0 Гр *in vitro* лимфоцитах периферической крови (ЛПК) здоровых доноров, облученных больных РПЖ и больных, проходивших брахитерапию. Проведены эксперименты *in vitro* по оценке влияния плазмы крови больных РПЖ мужчин на ЛПК доноров-женщин при совместном культивировании. Обнаружено, что ЛПК больных оказывают генотоксическое действие на нормальные ЛПК, по-видимому, по механизму типа “эффекта свидетеля”. Возрастание числа aberrаций хромосомного типа у облученных больных свидетельствует о наличии радиационно-индуцированных изменений в организме человека, формируемых, возможно, по принципу “эффекта свидетеля”.

В стендовом докладе *М. Батмунха* и соавт. (ЛРБ ОИЯИ, г. Дубна) представлена информация о разработанном подходе к компьютерному моделированию процессов образования тяжелых повреждений молекулярной структуры ДНК, которые влекут за собой нарушения генетических структур. С использованием программной среды Geant4-DNA рассчитано распределение первичных событий энерговыделения и продуктов радиолитиза в треках ускоренных заряженных частиц. В трехмерной модели гиппокампа крысы, включавшей пирамидные клетки, зрелые и незрелые гранулярные клетки, клетки

мшистых волокон и нервные стволовые клетки, смоделировано начальное распределение повреждений ДНК. Рассчитана временная динамика формирования и репарации ключевых типов повреждений ДНК. На основе полученных данных предложена модель оценки выживаемости нервных клеток после действия ускоренных ионов в широком диапазоне значений ЛПЭ. Результаты дают основание полагать, что ускоренные тяжелые ионы могут вызвать необратимое подавление нейрогенеза.

Представляет интерес вычислительный подход к установлению связи между мутациями и функционированием нейронных сетей. *С.В. Аксёнова* и соавт. (ЛРБ ОИЯИ, г. Дубна) с помощью методов молекулярно-динамического моделирования исследовали связь между функциональными свойствами синаптических рецепторов глутамата NMDA (N-метил-D-аспартат) и мутациями в генах, кодирующих белки данных структур, играющих ключевую роль в регуляции синаптической пластичности, обучении и формировании памяти. Полученные данные были использованы в модели нейронной сети областей CA1-CA3 гиппокампа в пакете NEURON. В результате удалось исследовать влияние мутаций, кодирующих белковые субъединицы NMDA-рецепторов, на генерацию тэта- и гамма-ритмов нейронной сетью. Наиболее серьезные изменения спектров электроэнцефалограмм были выявлены в случае двойных точковых мутаций и делеций. Полученные результаты могут быть применены при выявлении причин нейродегенеративных заболеваний, а также оценке возможных когнитивных нарушений, возникающих в результате воздействия радиации и других негативных факторов внешней среды.

И.К. Хвостунов и соавт. (ФМБЦ им. А.Ф. Цыба, г. Москва) путем цитогенетического обследования больных дифференцированным раком щитовидной железы оценили безопасность и эффективность радиойодтерапии группы детей и подростков в сравнении с группой взрослых пациентов. Показано, что природно индуцированных хромосомных aberrаций (радиационных маркеров) в обеих группах статистически не различается. Полученные результаты позволяют сделать осторожный вывод, что существующие оценки побочных эффектов радиойодтерапии, которые применяются для взрослых пациентов, не препятствуют проведению лечения детей и подростков при должном выборе терапевтического режима и дозировки радиофармпрепарата.

В стендовом сообщении *Е.А. Нейфаха* и *В.В. Петушковой* (ИХФ РАН, г. Москва) “Радиогенный гипермутационный и тератогенез детей Чернобыля: биохимикофизические механизмы” приведены результаты исследования у детей из загрязненных радионуклидами регионов, их матерей и работников ЧАЭС с установленными дозами облучения уровней метаболитов липоперекисного каскада (ЛП), биоантиоксидантов – витаминов Е и А (БАО) плазмы крови, индексов мутагенеза лимфоцитов и индексов тератогенеза новорожденных по их малым аномалиям развития. Выявлено экспоненциальное накопление токсичных ЛП и одновременное развитие дефицитов незаменимых БАО, значимо коррелирующее с динамикой гипермутационного и тератогенеза детей. Компоненты этого Чернобыльского синдрома являются усилителями патогенезов, вызванных самим низкодозовым облучением. Рассматриваются рациональные способы диагностики, предотвращения и терапии выявленных радиогенных патологий исходя из исследованных механизмов их развития, а также результаты их внедрения.

Отдельное заседание было посвящено *радиационной генетике растений*. С.А. Гераськин (ВНИИРАЭ, г. Обнинск) в докладе “Генетические эффекты хронического облучения в популяциях растений: закономерности и механизмы” представил результаты многолетних (2003–2016 гг.) наблюдений за популяциями сосны обыкновенной с контрастных по уровню и спектру радиоактивного загрязнения участков. Результаты исследования свидетельствуют о высокой чувствительности популяций сосны к внешним воздействиям. Значимые эффекты на генетическом уровне наблюдались на протяжении всего периода наблюдений и, по-видимому, будут наблюдаться еще длительное время. Развивающиеся в условиях хронического облучения популяции характеризуются повышенными уровнями мутагенеза и полногеномного метилирования, изменениями экспрессии генов, генетической структуры популяции и временной динамики цитогенетических нарушений. Однако изменения на генетическом уровне не отразились на частоте морфологических аномалий и репродуктивной способности сосны. Поскольку изменения эпигенетического статуса и генетической структуры популяций видов-эдикторов, к которым относится сосна обыкновенная, играют важную роль в формировании ответной реакции экосистемы в целом на радиационное воздействие, эти процессы необходимо учитывать при разработке программ, направленных на сохранение биоразнообразия в условиях хронического радиационного воздействия.

Д.В. Васильев и соавт. (ВНИИРАЭ, г. Обнинск) провели сравнительный анализ результатов исследований популяций сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) из районов Ленинградской АЭС и радиоактивного загрязнения в Брянской области. У изучаемых популяций сосны выявлены повышенные уровни цитогенетических нарушений в корневой меристеме проростков семян по сравнению с контролем. По спектру цитогенетических нарушений сделаны выводы о природе факторов, действующих на исследуемые популяции: если в Брянской области причиной высокой частоты aberrаций являются высокие уровни радиоактивного загрязнения, то в Ленинградской области повышенная частота цитогенетических нарушений, вероятно, вызвана загрязнением тяжелыми металлами. Е.А. Казакова и соавт. (ВНИИРАЭ, г. Обнинск) изучали генетическую структуру хронически облучаемых популяций сосны обыкновенной на нескольких участках Брянской области при помощи изоферментных генетических маркеров. Был оценен полиморфизм 6 ферментов

в эндоспермах семян: супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы (ферменты-антиоксиданты) и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, малатдегидрогеназы, лейцинаминопептидазы (ферменты, участвующие во множестве процессов клеточного метаболизма). Было установлено, что хроническое радиационное воздействие (от 11.4 до 38.7 мГр/год) увеличивает частоту мутаций в локусах изучаемых ферментов, изменяет некоторые показатели генетического разнообразия, а также вносит вклад в генетическую дифференциацию популяций. В докладе С.В. Битаршвили и соавт. (ВНИИРАЭ, г. Обнинск) приведены результаты анализа экспрессии генов метаболизма фитогормонов в зародышах семян ячменя после γ -облучения в дозах 4–50 Гр. Показано, что изменение диапазона стимулирующих доз могут привести к увеличению содержания гиббереллинов и снижению содержания (абсцизовой кислоты), тем самым обуславив потенциал для ускоренного прорастания семян.

Участники конференции, обсудив представленные сообщения, отметили, что радиационная генетика является наиболее актуальным направлением радиобиологии. Помимо большого значения для развития фундаментальной науки, это направление безусловно имеет практическую ценность. Именно знание механизмов действия ионизирующих излучений на генетический аппарат клетки может лежать в основе создания методов предотвращения или минимизации радиационно-индуцированных генетических повреждений. Это особенно важно для решения проблем лучевой терапии злокачественных опухолей, а также для обеспечения радиационной безопасности дальних космических полетов и в других областях.

Было отмечено, что в России, в основном благодаря существующей технической базе ОИЯИ мирового уровня, успешно развиваются исследования механизмов и закономерностей действия на генетический аппарат ускоренных тяжелых частиц с разной ЛЭП и протонов. На конференции был представлен ряд работ, выполненных на высоком современном уровне. Однако в целом, к сожалению, наблюдается сокращение исследований в области радиационной генетики. Необходимы активизация и дальнейшее развитие работ в этой важной научной области.

Ученый секретарь
Научного совета по радиобиологии РАН

В. И. Найдич