© **Коллектив авторов**, 2013
УДК 616-092:[612.6.05:577.21

ГЕНОТОКСИЧЕСКИЕ ПОРАЖЕНИЯ И БОЛЕЗНИ

А.Д. Дурнев[1], доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАМН,
А.К. Жанатаев[1], кандидат биологических наук, **О.В. Шредер**[1], кандидат биологических наук,
В.С. Середенина[2]

[1]НИИ фармакологии им. В.В. Закусова РАМН,

[2]Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова

E-mail: addurnev@mail.ru

На основе литературных и собственных данных рассматривается роль генотоксических повреждений в возникновении и развитии наследственной, врожденной и соматической патологии. Особое внимание уделено анализу значимости предмутационных повреждений ДНК, а также мутационных поражений генома соматических и зародышевых клеток, митохондриального генома. Проанализированы современные представления о структуре генетического груза и отдаленных последствиях генотоксических поражений. Сделано заключение, что защита от генотоксических воздействий является критической проблемой охраны здоровья.

Ключевые слова: *ДНК-повреждения, ядерные и митохондриальные мутации, наследственные болезни, врожденные пороки развития, канцерогенез, старение, тератогенез, генетический груз*

GENOTOXIC EVENTS AND DISEASES

A.D. Durnev[1], A.K. Zhanataev[1], O.V. Shreder[1], V.S. Seredenina[2]

[1]Research Institute of Pharmacology named after V.V. Zakusov, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia,
[2]Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Moscow, Russia

Based on literature and own data the role of genotoxic events in nosogenesis of hereditary, congenital and somatic diseases is considered. Special emphasis is paid to the analysis of significance of premutagenic DNA lesions and as well induced gene mutations in somatic and germ cells as in mitochondrial DNA. Recent understanding of the implication of different genotoxic endpoints on the genetic load of human population has been analyzed. Prevention of the genotoxic exposures was concluded to be a critical problem of human health care.

Key words: *DNA-damage, nDNA and mtDNA mutations, hereditary diseases, congenital malformations, carcinogenesis, aging, teratogenesis, genetic load*

Проблема медицинской значимости генотоксических поражений генома неоднократно привлекала внимание исследователей. В XX веке коллективными усилиями были выявлены основные закономерности проявления патологической наследственной изменчивости у человека. В частности:

- показано, что примерно 25% наследственной патологии манифестирует в гамето- и эмбриогенезе и около 65% – в допубертатном и пубертатном возрасте;
- установлено, что около 10% новорожденных имеют генетически обусловленные дефекты, а у 70% людей в течение жизни проявляется хотя бы одна генетически обусловленная особенность, снижающая продолжительность и(или) качество жизни; сформирована концепция генетического груза (табл. 1);
- выявлена ведущая роль генных, хромосомных и геномных мутаций в накоплении генетического груза, которые соответственно формируют группы генных и хромосомных болезней;
- показано, что мутации сохраняются в десятках и сотнях поколений, их воспроизводство и распространение описывается закономерностями популяционной генетики.

Сегодня нет нужды доказывать патогенетическую значимость мутагенеза в целом, но очевидна потребность в новых обобщениях данных в этой области, что явилось задачей настоящей работы.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ ПЕРВИЧНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК

По оценкам одних исследователей, в геноме отдельного человека под действием экзо- и эндогенных генотоксикантов ежедневно возникает от 10^4 до 10^6 повреждений ДНК, другие авторы утверждают, что в каждой клетке организма человека происходит от 5 до 10 тыс. депуринизаций в день, третьи указывают, что только окислительных генотоксических воздействий отмечается не менее 10 тыс. в день на клетку, четвертые увеличивают эту цифру до 12–30 тыс. депуринизаций в день, добавляя к этому количеству 600–700 депиримидинизаций, от 55 до 100 тыс. однонитевых, 9 двунитевых разрывов ДНК и 8 межнитевых сшивок на клетку в день [12, 22, 29, 34–36, 43–45].

Таблица 1

СТРУКТУРА ГЕНЕТИЧЕСКОГО ГРУЗА

Генотоксическое событие	Генные мутации	Хромосомные и геномные мутации	Геномные мутации (в 100% случаев – *de novo*)	Повреждения ДНК, мутационная и комбинационная изменчивость, эпигенетические события
Патология	Генные болезни (>4 тыс.) Распространенность 0,1/100–1/100	Хромосомные болезни (около 100) Распространенность 0,5/100	Снижение фертильности	Мультифакторные заболевания (заболевания с генетической предрасположенностью)
Примеры	Фенилкетонурия Муковисцидоз Ахондроплазия Гемофилия Синдром Марфана и др. Нейрофиброматоз до 50% мутаций *de novo*	Синдром Клайнфелтера Синдром Шерешевского–Тернера Синдром деления 5 р и др. Синдром Дауна 1/400–1/800	Из 1 млн планируемых беременностей 580 тыс. завершаются летальным исходом (в 90% случаев – по причине геномных мутаций)	Атеросклероз Бронхиальная астма Диабет Нейродегенеративные болезни и другие, по существу, все известные нозологии

Независимо от того, насколько эти цифры адекватно отражают реальный уровень первичных повреждений ДНК, вопрос о патогенетическом значении повреждений ДНК и соотношении между уровнями продукции повреждений ДНК и различными категориями мутаций остается открытым. Очевидно только, что бóльшая их часть восстанавливается через механизмы репарации, а меньшая – трансформируется в мутации.

В соответствии с каноническими воззрениями за повреждениями ДНК оставлена исключительно роль подчиненных, предмутационных событий. Идея о том, что повреждения ДНК следует рассматривать как самостоятельный патогенетический фактор, находится в самом начале развития и, с нашей точки зрения, базируется на нескольких аргументах различной степени проработанности.

Во-первых, априори понятно, что даже временные функциональные сбои генетической программы за счет интенсификации процесса первичного повреждения ДНК могут сказываться на функционировании «белковой машины» клетки. Умозрительно можно предложить не один сценарий, приводящий к нарушениям в функционировании клеток и последующему запуску каскада необратимых патологических реакций. Возможна аналогия с феноменом, обозначаемым в экспериментальной эмбриологии термином *perdurance* (персистирование в клетках продуктов удаленного или измененного гена).

Во-вторых, экспериментально обосновано предположение, согласно которому индукция разрывов может быть эпигенетическим инструментом регуляции клеточной дифференцировки [14]. Кроме того, программируемая индукция двунитевых разрывов ДНК лежит в основе V(D)J-рекомбинации – соматической рекомбинации ДНК, происходящей на ранних этапах дифференцировки лимфоцитов и приводящей к формированию многообразия антигенраспознающих участков иммуноглобулинов и Т-клеточного рецептора. Примечательно, что указанный процесс и процессы репарации двунитевых разрывов ДНК имеют общие механизмы. Следовательно, неконтролируемая индукция двунитевых разрывов ДНК в созревающих лимфоцитах может приводить к нарушениям в системе адаптивного иммунитета со всеми вытекающими последствиями [21, 33].

В-третьих, имеется большое количество сведений, указывающих на повышение поврежденности ДНК при различных заболеваниях (табл. 2). Первичны такие повреждения по отношению к заболеваниям или возникают как вторичное звено патогенеза, в каждом случае вопрос дискуссионный, но их наличие бесспорно.

Наибольшее внимание привлекают результаты, полученные при оценке целостности ДНК у пациентов с атеросклерозом. Некоторые авторы настаивают на том, что повреждения ДНК гладкомышечных клеток сосудов и клеток сосудистой интимы являются ведущей причиной возникновения и развития атеросклероза и одним из наиболее убедительных аргументов считают развитие атеросклероза вследствие химио- или радиотерапии. Оба воздействия вызывают повреждение ДНК и некроз в эндотелиальных и гладкомышечных клетках сосудов с последующей эндотелиальной дисфункцией и воспалением, приводящим к старению клетки, апоптозу, формированию тромбоза, митохондриальной дисфункции и фиброзу, влияющим на развитие атеросклероза. В том же русле расцениваются выявление корреляций между поврежденностью ДНК и тяжестью заболевания и увеличение поврежденности ДНК у лиц с факторами повышенного риска атеросклероза (курение и сахарный диабет – СД) [32].

В-четвертых, имеются серьезные основания связать между собой ДНК-повреждения в сперматозоидах и мужское бесплодие. Анализ существующих публикаций показывает, что у бесплодных мужчин

отмечается аномально высокое количество сперматозоидов с нарушением целостности ДНК [6, 18].

В-пятых, выявлены корреляции между химической индукцией повреждений ДНК в эмбриональных клетках и тератогенным поражением плода.

В-шестых, первичные ДНК-повреждения могут активировать проонкогены и(или) ингибировать гены-супрессоры [20]. В этом вопросе достаточно много путаницы, поскольку большинство авторов обобщающих работ не разграничивают собственно повреждения ДНК с генными мутациями, хромосомными перестройками и амплификацией ДНК, с которыми традиционно связывают влияние на эти гены. Тем не менее все сходятся во мнении, что указанные генетические события возникают под влиянием активных форм кислорода [8], которые в первую очередь являются генотоксикантами, т.е. агентами, повреждающими ДНК, и только во вторую – мутагенами.

МУТАЦИИ В СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТКАХ

Человеческий организм состоит примерно из 10^{14} соматических клеток более чем 200 различных типов. Все они происходят из одной клетки (зиготы) в результате примерно 10^{16} клеточных циклов, в ходе которых неизбежно появляются стохастические ошибки репликации и репарации с развитием процесса возникновения и накопления мутаций. Темп индукции мутаций при условии экспозиции организма генотоксикантами может существенно превышать спонтанную частоту генных мутаций ($2 \cdot 10^{-7}$ мутаций/ген/клетку) и хромосомных аберраций (1–3% аберрантных клеток) [3, 17].

Наибольшую патогенетическую значимость, видимо, имеют генные мутации и стабильные хромосомные аберрации, поскольку клетки с нестабильными хромосомными аберрациями достаточно эффективно элиминируются в ходе ближайших клеточных циклов.

Менее ясен вопрос с анеуплоидией, величина которой существенно колеблется в пренататальный и натальный периоды жизни человека и которая может быть основой соматического мозаицизма, в том числе со специфическими клиническими проявлениями. Есть указания, что соматические геномные вариации характерны при аутизме, шизофрении, болезни Альцгеймера, аутоиммунных заболеваниях [17]. В целом решение вопроса затруднено вследствие небольшого пока объема исследований, особенного механизма возникновения анеуплоидий, принципиально отличного от основного генотоксического механизма, реализующегося через повреждение ДНК, крайней запутанности причинно-следственных взаимоотношений. Не исключено, что в ряде случаев соматический мозаицизм в форме геномных вариаций выступает как один из вариантов адаптивной реакции. Например, большинство гепатоцитов в норме являются тетраплоидными, а до 5% – октаплоидными клетками.

Мутации в соматических клетках интересны с точки зрения жизни и здоровья индивидуума, поскольку не представляют угрозы для возможного потомства. Основное внимание в этой области сосредоточено на выявлении роли соматических мутаций в возникновении злокачественных новообразований и в старении.

Мутагенез и канцерогенез

На рубеже столетий произошел качественный сдвиг в понимании этиологической и патогенетической природы онкологических заболеваний. Еще недавно причинно-следственную связь между мутагенезом и канцерогенезом приходилось обосновывать на основе тех или иных экспериментальных и эпидемиологических наблюдений. Но уже в новом столетии злокачественные новообразования общепринято рассматривать как генетические заболевания, возникающие вследствие индукции и накопления соматических мутаций, приводящих к бесконтрольному росту, делению и дифференцировке клеток [5, 19].

Существенный вклад в формирование этой точки зрения внесли генотоксикологические исследования, продемонстрировавшие очевидную сопряженность между генотоксическими и кан-

Таблица 2

ЗАБОЛЕВАНИЯ И СОСТОЯНИЯ, ПРИ КОТОРЫХ УВЕЛИЧИВАЕТСЯ ПОВРЕЖДЕННОСТЬ ДНК ИЛИ ПОВЫШАЕТСЯ УРОВЕНЬ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЙ

Заболевания	Состояния
• Анемия Фанкони • Синдром Блюма • Атаксия-телеангиэктазия • Диабет • Бронхиальная астма • Гепатит • Шизофрения • Болезнь Альцгеймера • Болезнь Паркинсона • Аутоимунные заболевания • Гельминтозы • Вирусные инфекции • Бактериальные инфекции • Злокачественные новообразования • Атеросклероз • Тяжелая сочетанная травма • Детский церебральный паралич	• Курение • Эмоциональный стресс • Интоксикации различного генеза, включая продукты сгорания торфа и древесины • Авитаминозы и состояния витаминной недостаточности • Старение • Употребление наркотиков • Хронический алкоголизм • Употребление бетеля • Вегетарианство • Физическое перенапряжение • Вакцинация БЦЖ, полиомиелитной, коревой, паротитной и оспенной вакцинами

церогенными (табл. 3) и, соответственно, антимутагенными и антиканцерогенными эффектами химических соединений. Велика значимость и клинико-эпидемиологических исследований, выявивших взаимосвязи между использованием мутагенных средств противоопухолевой терапии и возникновением вторичных опухолей у пролеченных пациентов [4], а также сопряженностью дефектов репарации ДНК со злокачественными новообразованиями (табл. 4).

Стало очевидно, что для малигнизации клетки (а тем более для прогрессии опухолей) недостаточно единичной мутации. Чтобы клетка стала злокачественной, т.е. приобрела способность к быстрому неограниченному делению, инвазивности, метастазируемости и нестабильности генома, требуется не одна, а множество мутаций.

Существующая концепция утверждает, что процесс инициации опухолевого роста обусловлен возникновением ведущих («драйверных») мутаций,

Таблица 3

СОПРЯЖЕННОСТЬ ГЕНОТОКСИЧЕСКИХ И КАНЦЕРОГЕННЫХ СВОЙСТВ ХИМИЧЕСКИХ КСЕНОБИОТИКОВ

Канцерогены 1-й группы по классификации IARC (vol. 1-70)	Локализация опухолей	Генотоксические эффекты				
		ГМ	ГМ-Д	ГМ-Э	ХрА *in vitro*	ХрА *in vivo*
Азатиоприн	Кожа, лимфатическая система	+	0	0	+	+
Аминобифенол	Мочевой пузырь	+	0	+	0	0
Асбест (волокна)	Легкие, плевра	0	0	+	+	+*
Афлатоксины	Печень, легкие	+	+	+	+	+
Бензидин	Мочевой пузырь	+	-	+	+	+
Бензол	Кроветворная система	-	+	+	+	+
Бис(хлорметил)эфир	Легкие	+	0	0	0	+
Винилхлорид	Печень, лимфатическая система	+	+	+	0	+
Диэтилстильбэстрол	Матка, молочная железа	-	-	+	+	+
Мелфалан	Кроветворная система	+	+	+	+	+
Милеран	Кроветворная система	+	+	+	+	+
Метоксален в сочетании с УФ-облучением	Кожа	+	-	+	+	+
Сернистый иприт	Дыхательные пути, легкие	0	+	+	+	+*
Соединения бериллия	Легкие	-	0	+	+	-
Соединения кадмия	Легкие, простата	-	-	+	+	+
Соединения мышьяка	Легкие, кожа	-	-	-	+	+
Соединения никеля	Дыхательные пути, легкие	-	-	+	+	+
Тамоксифен	Матка	0	0	+	+	+
Тиофосфамид	Кроветворная система	+	+	+	+	+
Хлорамбуцил	Кроветворная система	+	+	+	+	-
Хлорнафазин	Мочевой пузырь	+	+	+	+	0
Циклофосфамид	Мочевой пузырь, кроветворная система	+	+	+	+	+
Циклоспорин	Лимфатическая система	-	0	-	0	+
Этиленоксид	Кроветворная и лимфатическая системы	+	+	+	+	+
4-аминобифенил	Мочевой пузырь	+	0	+	0	0
2-нафтиламин	Мочевой пузырь, легкие	+	+	+	+	-
2,3,7,8-тетрахлор-дибензодиоксин	Легкие	-	-	+	+	-

Примечание. ГМ –генные мутации, микроорганизмы; ГМ-Д – генные мутации, дрозофила; ГМ-Э – генные мутации, эукариотические клетки *in vitro*; ХрА *in vitro* – хромосомные аберрации *in vitro*; ХрА *in vivo* – хромосомные аберрации *in vivo*; (+) – позитивный генотоксический эффект, (-) – нет эффекта; 0 – нет данных; звездочка – собственные данные.

Таблица 4

ДЕФЕКТЫ РЕПАРАЦИИ ДНК ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ (цит. [19], с уточнениями и дополнениями)

Синдром	Поврежденный ген	Функции белка	Задействованные клеточные механизмы и функции	Сопряженные злокачественные новообразования или другие симптомы
Атаксия-телеангиэктазия (MIM: 208900)	*ATM* (мутация атаксии-телеангиэктазии)	Активность серин/треонин-протеинкиназы	Репарация двунитевых разрывов; чекпойнт при апоптозе и генотоксическом стрессе	Различные солидные эпителиальные опухоли, лимфомы, Т-клеточные лейкемии
Нарушение, схожее с атаксией-телеангиэктазией (MIM:604391)	*MRE 11*	Активность однонитевой эндонуклеазы и двунитевой 3'-5'-специфичной экзонуклеазы. Компоненты комплекса MRN	Репарация двунитевых разрывов, рекомбинация ДНК; поддержание целостности теломер и мейоза	Лимфомы, лейкемии, рак груди
Синдром разрыва Неймеген (MIM:251260)	*NBS1* (Nibrin)	Компоненты комплекса MRN; вовлечение MRN, ATM, ATR и, возможно, DNA-PKcs к местам повреждения ДНК	Репарация разрывов, поддержание длины теломер за счет образования 3'-«липкого» конца ДНК; участие в чекпойнте интра-S; G1- и G2-фаз клеточного цикла	Лимфомы, рак груди, апластическая анемия, острая лимфобластная анемия у детей
Синдром Блума (MIM:210900)	*BLM* (RECQL3)	Mg- и АТФ-зависимая активность ДНК-хеликазы, обеспечивающей раскрутку одно- и двунитевых ДНК в 3'-5'-направлении	Репарация разрывов и репликация ДНК	Остеосаркомы, рано проявляющиеся злокачественные новообразования различных видов
Синдром Вернера (MIM:277700)	*RECQL2*	Mg- и АТФ-зависимая активность ДНК-хеликаз	Репарация нитевых разрывов; формирование центров репликативной вилки ДНК	Меланомы, саркомы мягких тканей, рак щитовидной железы, менингиомы, остеосаркомы
Синдром Ротмунда–Томсона (MIM:268400)	*RECQL4*	АТФ-зависимая активность ДНК-хеликаз	Репарация нитевых разрывов; сегрегация хромосом	Немеланоцитный рак кожи; остеосаркомы
Анемия Фанкони (MIM:227650)	FANC-A, B, C, D1, D2, E, F, G, I, J, L и M	FANC-A,B,C,E,F,G,L,M комплекс необходим для FANCD2-моноубиквинтирования; FANCD1 является BRCA2	Репарация нитевых разрывов; гомологичная рекомбинация чекпойнт S- и G2-фаз	Плоскоклеточные карциномы, острый миелобластный лейкоз
Наследственный неполипозный рак толстой кишки (HHPTK) или синдром Линча (MIM:120435)	*MSH2, MLH1, PMS2, MLH1, MLH3, PMS1, PMS2*	Распознавание неправильно спаренных оснований. Компоненты сопряженного с BRCA1 комплекса (BASC), состоящего из BRCA1, MSH2, MSH6, MLH1, ATM, BLM, PMS2	Репарация ошибочно спаренных оснований	Рак кишечника, опухоли внутренних органов, в частности эндометриальные, овариальные, желудочные, почечные и ЖКТ. Дефект PMS2 – причина нейроэктодермальных опухолей с пятнами по типу «кофе с молоком» (SNTCL)
Синдром Мура–Торр (MIM:158320)	*MLH1, MSH2*	Распознавание неправильно спаренных оснований. Компоненты BACS комплекса	Репарация ошибочно спаренных оснований	Карциномы жировой ткани, рак кишечника, прочие опухоли внутренних органов, например, эндометриальные, овариальные, желудочные, почечные и ЖКТ; лобулярная карцинома *in situ* (LCIS), неинвазивное неопластическое заболевание молочных желез

Продолжение табл. 4

Синдром	Поврежденный ген	Функции белка	Задействованные клеточные механизмы и функции	Сопряженные злокачественные новообразования или другие симптомы
Синдром Туркота (MIM:276300)	*MLH1, PMS2*	Распознавание неправильно спаренных оснований. Компоненты BACS комплекса	Репарация ошибочно спаренных оснований	Гранулобластомы, глиомы, лимфомы, рак кишечника, прочие опухоли внутренних органов, например, эндометриальные, овариальные, желудочные, почечные и ЖКТ
Пигментная ксеродерма XP-A (MIM:278700) XP-B (MIM:133510) XP-C (MIM:278720) XP-D (MIM:278730) XP-E (MIM:278740) XP-F (MIM:278760) XP-G (MIM:278870) XP-V (MIM:278750)	*XPA* *XPB* *XPC* *XPD* *XPE* *XPF* *XPG* *XPV*	XPA: включение эксцизионной репарации нуклеотидов XPB и XPD: АТФ-зависимые 3'- и 5'-ДНК-хеликазы Компоненты TFIIH-фактора транскрипции XPC и XPE: распознавание повреждений ДНК XPF и XPG: структуроспецифические ДНК-эндонуклезы, ответственные за 3'- и 5'-разрез при эксцизионной репарации нуклеотидов XPV: ДНК полимераза η	Эксцизионная репарация нуклеотидов XPB и XPD, вовлеченные в транскрипцию РНК с участием РНК-полимеразы II XPE необходим для убиквинтирования гистона H3 и гистона H4 в ответ на УФ-излучение XPF также вовлечен в процесс удаления поперечных межнитевых сшивок при гомологичной рекомбинации	Базально-клеточные карциномы, плоскоклеточные карциномы, меланомы Нарушения по XPD являются причиной цереброокулофациоскелетного синдрома 2-го типа (COFS 2), MIM:610756

Примечание. MIM-Catalogue [Mendelian Inheritance in Man] – Каталог фенетических маркеров у человека (т.е. фенотипов с классическим Менделевским наследованием), применяется 6-значная номенклатура: с 100000 до 199999 – аутосомно-доминантные и кодоминантные, 200000–299999 – аутосомно-рецессивные, 300000–315000 – сцепленные с Х-хромосомой маркеры; ЖКТ – желудочно-кишечный тракт.

которые повышают общую мутабильность клетки и нарушают процессы контроля пролиферации, дифференцировки, клеточной смерти и других механизмов поддержания тканевого гомеостаза. В свою очередь, прогрессия и фенотип опухоли связаны с прогрессирующим накоплением в геноме сопутствующих («пассажирских») мутаций. Суммарные количества генетических поражений опухолевой клетки – десятки тысяч мутаций, преимущественно представлены моно- и динуклеотидными заменами, инсерциями и делециями. Возникновение все новых мутаций в ходе прогрессии опухоли, возможно, повышает метастатический потенциал опухолевых клеток. По крайней мере в доброкачественных опухолях частота мутаций существенно ниже, чем в клетках злокачественных новообразований [13].

Более сложные категории мутаций встречаются в опухолевом геноме значительно реже, но именно хромосомные перестройки, как показывают классические работы по цитогенетике опухолевых клеток, типичны для ряда злокачественных новообразований. Наиболее яркие примеры – характерные хромосомные перестройки, наблюдаемые при лейкозах.

Сегодня известно около 150 генов (т.е. 1% от общего их количества), ассоциированных с канцерогенезом. Это проонкогены и гены-супрессоры (антионкогены); активация первых и инактивация вторых – следствие мутационного процесса.

Изменение первичной последовательности, амплификации и хромосомные перестройки, затрагивающие структуру гена, – основные механизмы активации протоонкогенов. Определены первичные цитогенетические повреждения, особенно часто представленные транслокациями между гомологичными и(или) негомологичными хромосомами. Классические примеры: t(9;22)(q34;q11) – филадельфийская хромосома (хронический миелолейкоз), t(8;14)(q24;q32) – лимфома Беркитта, t(11;22)(q24;q12) – саркома Юинга. Принято выделять 9 групп протоонкогенов. Это – гены, ответственные за экспрессию факторов роста, тирозинкиназ, некиназные рецепторы, ассоциированные с мембраной G-белки, белки Rho/Rac-комплекса, сериновые киназы, цитоплазматические регуляторы, факторы транскрипции, негативные регуляторы апоптоза.

Гены-супрессоры в основном ответственны за экспрессию белков, обеспечивающих репарацию, адгезию клеток, осуществляющих негативный контроль клеточного цикла. Выявлена генотоксическая природа инактивации супрессоров путем потери ге-

терозиготности. Например, потеря обоих локусов гена-супрессора *Rb* (13q14) приводит к развитию ретинобластомы. Ответственными за это могут быть делеции, сдвиг рамки считывания, преждевременная терминация считывания, т.е. типичные генотоксические события. Инактивация функции белка P53, продукта одноименного гена, происходит в результате других категорий генотоксических событий, миссенс-мутаций – нуклеотидных трансверсий или транзиций.

Молекулярно-генетические направления исследований в онкологии бурно развиваются, их подробный анализ не входит в нашу задачу. Полная информация по протоонкогенам и генам-супрессорам (антионкогенам) широко представлена в литературе, включая постоянно обновляемые интернет-ресурсы: *http://www.tumor-gene.org/tgdf.html и http://bioinfo.mc.vanderbilt.edu/TSGene/*.

Помимо канцерогенов, потенциал которых обусловлен генотоксическими эффектами, выделяют группу так называемых «негенотоксических канцерогенов». Их существование входит в противоречие с концепцией, связывающей мутагенез и канцерогенез в неразрывное единство. Следует не упускать из виду, что негенотоксические канцерогены – это вещества, способствующие промоции и прогрессии опухолей, т.е. способные реализовывать свой потенциал по механизмам, непосредственно не связанным с генотоксичностью. В то же время в рамках рассмотрения инициации опухолевого процесса «негенотоксические канцерогены» – это канцерогены с пока еще неустановленной генотоксической активностью. Например, в материалах Международного агентства по исследованию рака от 1982 г. (IARC, 1986) такие агенты, как асбест, бензол, диэтилстильбэстрол, эстрогены, соединения мышьяка, представлены в качестве очевидных канцерогенов, не продемонстрировавших мутагенности в краткосрочных тестах, тогда как сегодня генотоксичность указанных веществ не вызывает сомнений. Вполне допустимо, что в ряде случаев эффекты негенотоксических канцерогенов могут реализовываться за счет комутагенной активности. Это предположение требует экспериментального подтверждения. Остается вероятность существования неизвестных пока или крайне мало распространенных механизмов, не связанных с генотоксическими поражениями, но в преобладающем большинстве случаев связь между мутагенезом и канцерогенезом, генотоксической и канцерогенной активностью самых разнообразных агентов прослеживается однозначно (см. табл. 3). Это позволяет утверждать, что генотоксикант – неизбежно потенциальный канцероген.

Большинство опухолей возникают вследствие индукции и накопления соматических мутаций, но индукция мутаций в зародышевых клетках также может быть причиной возникновения злокачественных новообразований (например, билатеральной ретинобластомы или полипоза прямой кишки).

Таким образом, значимость генотоксических поражений в возникновении и развитии вновь возникающих и наследуемых злокачественных новообразований очевидна, а мутагенез следует рассматривать как первичный механизм инициации канцерогенеза.

Мутации и старение

Хорошо известная теория «накопления соматических мутаций» подразумевает обусловленность процессов старения накоплением указанных мутаций, возникающих под действием экзо- и эндогенных генотоксикантов. В ее пользу трактуется увеличение с возрастом уровня цитогенетических повреждений в соматических клетках и повышение их чувствительности к мутагенным воздействиям. Эта теория хорошо согласуется с другими распространенными теориями старения. Например, со свободнорадикальной теорией, связывающей старение с повреждающим воздействием активных форм кислорода на макромолекулы и мембранные структуры клетки, с апоптотической теорией, поскольку повреждение ДНК является одним из ведущих сигналов к самоликвидации клетки, а также отчасти с адаптационно-регуляторной теорией старения.

Однако причинно-следственные отношения между мутациями в соматических клетках и процессами, сопровождающими старение, остаются неясными. Вполне логично полагать, что первичен окислительный стресс, при котором активные формы кислорода повреждают все макромолекулы, вызывая снижение адаптационных, регулирующих, репарационных и иных возможностей клетки, что, в частности, сопровождается увеличением мутирования и чувствительности к мутагенам. На вторичность генотоксического процесса при старении указывает то обстоятельство, что изменения перечисленных показателей никогда «не зашкаливают», хотя и являются значимыми. Кроме того, известны наследственные синдромы прогерии (синдром Гетчинсона–Гилфорда, мутация *LMNA*-гена; синдром Вернера, мутация *WRN*-гена). При этих заболеваниях процесс старения происходит в сроки, никак не согласующиеся с теорией накопления соматических мутаций.

Наиболее креативны воззрения на повреждения ДНК как на всеобщий медиатор клеточного старения. Они удачно соединяют упомянутые выше теории старения с широко исследуемым сегодня феноменом укорочения теломер, определяющим предел Хейфлика в количестве делений соматических клеток. При достижении некоторой критической длины, составляющей для клеток человека 12,8 теломерных повторов, незащищенные концы хромосом воспринимаются как двунитевые разрывы ДНК и начинают произвольно соединяться друг с другом, что становится источником хромосомных аномалий.

Рис. 1. *Роль генотоксических поражений в процессах старения клетки и организма (на основе [25])*

Общие представления о медиаторной роли генотоксических повреждений представлены на рис. 1.

В качестве экспериментальных свидетельств, подкрепляющих представления о взаимосвязи между мутагенезом и старением, следует выделить данные, указывающие на повышение с возрастом спонтанных уровней клеток с хромосомными аберрациями в клетках костного мозга мышей [1]. Известные клинические наблюдения, осуществленные в лимфоцитах периферической крови человека, не столь однозначны, что может быть связано с погрешностями рандомизации. В пользу последнего свидетельствуют наши собственные экспериментальные наблюдения, опубликованные ранее [5]. Было показано, что чувствительность к действию отдельных (но не всех) химических мутагенов у мышей пропорциональна возрасту только у животных одного пола отдельно взятой линии. В некоторых случаях наблюдаются парадоксальные эффекты. Например, 1–2-месячные самки C57BL/6 более чувствительны к цитогенетическому действию циклофосфамида, чем животные 5–6-месячного возраста.

Степень проявления мутагенного эффекта всегда специфична в зависимости от генотипа используемой тест-системы, пола, этапа онтогенеза, функционального состояния его защитных систем (в частности, антиоксидантной защиты и репарации), типа действия и дозы использованного индуктора мутагенеза и, конечно, возраста. Возраст, несомненно, входит в число основных факторов, коррелирующих с уровнями спонтанного мутагенеза и чувствительностью к мутагенам. Но эта корреляция, к сожалению, не раскрывает существа взаимосвязи между мутагенезом и старением.

Таким образом, первичность мутационного повреждения по отношению к старению более чем очевидна для наследственных синдромов прогерии, тогда как причинно-следственные взаимоотношения между мутагенезом в соматических клетках и старением остаются неясными. Отсюда привлекательна взвешенность мнения о том, что на современном этапе рассматривать генотоксические поражения соматических клеток справедливо не как причину, а как неотъемлемое звено процесса старения клетки и организма.

МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ МУТАЦИИ

В каждой эукариотической клетке содержится от нескольких десятков до 2 тыс. митохондрий. В каждой митохондрии присутствует от 2 до 10 копий кольцевых ДНК. Размер одной кольцевой хромосомы, нуклеотидная последовательность которой полностью расшифрована в начале 80-х годов, составляет 16 569 нуклеотидных пар. Они кодируют 2 рРНК, 22 тРНК и 13 субъединиц дыхательной цепи; 7 субъединиц АТФ-синтетазы, 3 субъединицы цитохромоксидазы и 1 субъединицу убихинол-цитохром-*c*-редуктазы.

Таблица 5

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ МУТАЦИЙ (цит. [7], с дополнениями и исправлениями)

Мутационное событие	Пораженный ген	Патогенетические проявления
Делеция позиций митохондриального генома с 5788 по 15448	–	Синдром Кернса и гипопаратиреоз
Делеция позиций митохондриального генома с 4308 по 14874	–	Митохондриальный СД, сопровождающийся глухотой
Дупликация нуклеотидов (CCCCCTCCCC- тандемные повторы в позициях 305-314 и 956-965, позволяющие удвоить участок в 652 осн.)	–	Непереносимость нагрузок, хронический прогрессивный паралич наружных мышц глазного яблока, миопатия
Делеция позиций митохондриального генома с 8469 по 13447	–	Фибрилляция предсердий Семейный нефротический синдром с фокально-сегментарным гломерусклерозом Одностороннее поражение периферических артерий
T716G	12S rRNA	Рак желудка
T1095C		Аминогликозидиндуцированная потеря слуха
C1494T		Наследуемые по материнской линии аминогликозидиндуцированная и бессимптомная потеря слуха
G1541A		Кардиоэнцефаломиопатия
A1555G		Расстройства слуха
C1634T		Кардиоэнцефаломиопатия
G3242A	tRNA – Leu (кодон узнавания UUR)	Миелодиспластический синдром
A3243G		СД типа 2 Нефротический синдром в период беременности Фокальный сегментарный гломерулосклероз
		Митохондриальная миопатия, энцефалопатия, молочнокислый ацидоз
A3252C		СД типа 2
C3256T		Инсультоподобные эпизоды, дефект мышечного метаболизма
T3264C		СД типа 2
G3316A		СД типа 2
T3336C	ND1, комплекс 1	СД типа 2
T3394C		СД типа 2
G3460A		Врожденная нейропатия глазного нерва
A4317G	tRNA-Ile	Фатальная детская кардиомиопатия
A5178C	ND2, комплекс 1	Предрасположенность к острому инфаркту миокарда
A5874G	tRNA-Tyr	Непереносимость физических нагрузок
C6489A	CO1, комплекс 4	Парциальные эпилептические припадки
T7587C	CO2, комплекс 4	Пониженный уровень выработки белка и митохондриальная энцефаломиопатия
T7671A		Нарушения обмена веществ, миопатия
G7706A		Дети с синдромом Альпера (прогрессивная дегенерация нейронов, прогрессивная полидистрофия)
A8326G	tRNA-Lys	Муковисцидоз
A8344G		Миоклоническая эпилепсия
A8348G		Кардиомиопатия
T8993G/C		Нейропатия, атаксия, пигментная дистрофия сетчатки

Продолжение табл. 5

Мутационное событие	Пораженный ген	Патогенетические проявления
G9379A	CO3, комплекс 4	Миопатия, молочнокислый ацидоз, замедленный рост
G9804A		Врожденная нейропатия глазного нерва
A10044G	tRNA-Gly	Синдром внезапной смерти младенцев
T11253C	ND4, комплекс 1	Врожденная нейропатия глазного нерва
G11778A		Врожденная нейропатия глазного нерва
G12315A	tRNA-Leu (кодон узнавания CUN)	Паралич мышцы глаза, блефароптоз, слабость конечностей, нейросенсорная потеря слуха и пигментая ретинопатия
		Энцефалопатия
G13513A	ND5, комплекс 1	Атипичный синдром Ли
		Синдром Ли
G14459A	ND6, комплекс 1	Врожденная нейропатия глазного нерва, дисфункция базальных ганглиев, энцефалопатия
A14484G		Врожденная нейропатия глазного нерва, митохондриальные миопатии
T14487C		Двусторонний некроз полосатого тела головного мозга
G15059A	Цитохром B, комплекс 3	Митохондриальные миопатии
G15257A		Врожденная нейропатия глазного нерва
G15995A	tRNA-Pro	Муковисцидоз
652insG	12S rRNA	Рак желудка
961insC	12S rRNA	Аминогликозидиндуцированная потеря слуха

Примечание. СД – сахарный диабет.

Митохондриальные мутации, унаследованные по материнской линии (генные мутации) или приобретенные *de novo* (генные мутации, делеции и дупликации), рассматриваются [26] в качестве важного самостоятельного источника разнообразных патологий (табл. 5).

В идеале все копии ДНК в митохондрии должны быть идентичны, это состояние определяется как гомоплазмия. На практике за счет мутаций возникает гетероплазмия – существование в одной митохондрии различных мутантных вариантов ДНК. Функция митохондрий нарушается при достижении определенной критической величины накопления мутаций, а клетки – при достижении определенной критической величины пораженных митохондрий. В связи со случайным распределением митохондрий между делящимися клетками в границах одной ткани может существовать высокая мозаичность. Одни клетки будут нести патологические признаки, определяемые митохондриальной дисфункцией, тогда как в других геном и функция митохондрий окажутся практически незатронутыми. Отсюда характерная для митохондриальных мутаций пороговость экспрессии мутантных генотипов, разнообразие клинических проявлений и их выраженности.

Главная закономерность – в первую очередь поражаются наиболее энергозависимые процессы и ткани, отсюда характерные патологии; мио-, энцефало- и нейропатии, сахарный диабет. Прослеживается отчетливая связь между уровнями накопления отдельных митохондриальных мутаций и патологическим проявлением. Например, частота мутации A8344 G коррелирует с выраженностью мозжечковой атаксии и миоклонии у больных с митохондриальным MERRF-синдромом. Другие авторы указывают, что точковые мутации в положении 3243 (ген митохондриальной транспортной РНК) – наиболее важная причина возникновения митохондриального диабета. Ряд исследователей отмечают, что накопление митохондриальных мутаций вовлечено в процессы старения [1, 10, 26, 28, 45].

О генотоксикологии митохондрий на сегодняшнем этапе практически ничего неизвестно, за исключением достаточно поверхностно обоснованного, но устоявшегося мнения о том, что темп спонтанного мутирования в этих органоидах в 10–20 раз выше, чем в ядре, что наиболее уязвим для окислительного повреждения участок ДНК, ответственный за инициацию репликации (D-петля), что частота митохондриальных мутаций выше в низкопрофилирующих и ниже – в активно профилирующих

тканях и что митохондрии, несущие крупные делеции, возникают спорадически и редко передаются между матерью и потомством [15]. Высокий темп мутирования объясняется непосредственной близостью мтДНК к дыхательной цепи – главному источнику эндогенных генотоксикантов – активных форм кислорода и слабой защищенностью мтДНК по сравнению с ядерной ДНК, протектируемой белками, входящими в состав хроматина, и охраняемой сложной системой репарации. Отсутствуют значимые сведения о том, как митохондриальная ДНК отвечает на экзогенные воздействия разных типов генотоксикантов, какова динамика гетероплазмии при разных состояниях организма, в условиях отсутствия или при наличии нагрузки генотоксикантами, каковы критические величины экспрессии мутантных фенотипов и их клинической манифестации и т.д.

Слабость фактологической базы объясняется отсутствием должных методов оценки индукции митохондриальных мутаций, сложностью оценки и трактовки результатов в условиях гетероплазмии. Можно рассчитывать, что на фоне рутинизации молекулярно-генетических методов эти проблемы будут решены. На современном этапе можно заключить, что митохондриальные мутации имеют самостоятельное патогенетическое значение.

МУТАЦИИ В ЭМБРИОНАЛЬНЫХ И ЗАРОДЫШЕВЫХ КЛЕТКАХ

Бессчетное количество наблюдений проведено в сфере исследований влияния генотоксических факторов на протекание беременности и здоровье новорожденных. Разделить эффекты, возникающие в результате мутаций в родительских зародышевых клетках и в соматических эмбриональных клетках, достаточно сложно и не всегда возможно. Мутация, возникающая на стадии бластоцисты, содержащей только несколько клеток, из которых развивается эмбрион, затронет весь организм или не затронет его вовсе. Мутации, возникшие на более поздних стадиях эмбрионального развития, приведут к появлению организма, характеризующегося соматическим мозаицизмом. Полногеномный скрининг хромосомных аномалий, проведенный методом сравнительной геномной гибридизации в отдельных бластомерах, показал, что частота хромосомного мозаицизма варьирует от 30 до 60% [11, 40].

С мозаичной соматической анеуплоидией ассоциируют нейродегенеративные и аутоиммунные заболевания, аутизм и шизофрению [17]. Мозаичная природа выявлена для нейрофиброматоза 1 типа – одному из наиболее часто встречающихся наследственных заболеваний с доминантным типом наследования. Оказалось, что в ряде случаев он возникает вследствие соматической мутации *NF1* на стадии раннего эмбриогенеза. Такой «сегментарный» нейрофиброматоз встречается по отношению к генерализованному нейрофиброматозу с частотой от 1:10 до 1:30. Нейрофиброматоз 2 типа также может возникать в результате соматических мутаций, мозаицизм по гену *NF2* был обнаружен в 5 из 125 обследованных семей. Заболеваниями, связанными с мозаичной эспрессией соматических мутаций, возникающих на ранних стадиях эмбриогенеза, являются также синдром Маккьюна–Олбрайта, параксизмальная ночная гемоглобинурия, синдром «недержания пигмента» у мужчин [3].

С хромосомными и геномными поражениями зародышевых и(или) эмбриональных клеток связано не менее 50–60% случаев невынашивания беременности. Общая частота этой патологии составляет 10–25%. До 60% зигот элиминируется на пре- и самых ранних постимплантационных стадиях развития, до 20% инструментально подтвержденных беременностей прерывается в течение 1-го триместра из-за мутационных поражений [40]. До 60% спонтанных абортов обусловлены хромосомными аномалиями, ведущими среди которых являются трисомии, возникающие в зародышевых клетках родителей [27]. Преобладающее большинство мутаций, приводящих к репродуктивным катастрофам, возникают *de novo*. Выявлена отчетливая зависимость: чем раньше прервалась беременность, тем выше вероятность наличия мутационных изменений в клетках плода. Почти у 50% спонтанных ранних абортусов выявляются полные трисомии аутосом 13, 18 и 21, почти у 24% – Х-моносомии и у 17% – триплоидии. В большинстве случаев трисомий дополнительная хромосома имеет материнское происхождение, с возрастом овоциты все более склонны к нерасхождению хромосом. Для хромосом 13, 18, 21 анеуплоидия, составляющая в возрастной группе 35–39 лет 1,3%, увеличивается у женщин 40–45 лет до 4,3% [3].

Риск невынашивания беременности существенно выше в парах, несущих сбалансированные хромосомные перестройки или имеющих полиморфизм гетерохроматиновых районов. Выявлены ассоциации невынашивания беременности с несколькими десятками полиморфных вариантов генов, ответственных за детоксикацию, метаболизм фолиевой кислоты, иммунный ответ, метаболизм гормонов, факторов роста и пр. [2].

Наконец, не менее 20% врожденных пороков развития, регистрируемых медико-генетическими службами, обусловлено хромосомными и генными мутациями [41].

Обобщение многочисленных цитогенетических исследований живо- и мертворожденных, материала спонтанных абортов, полярных телец, бластоцист, спермиев, проведенное нами ранее совместно с Н.П. Бочковым [3], позволяют сделать следующие обобщения:

- частота анеуплоидии в спермиях составляет примерно 8–10%. Возможно, часть анеуплоидных сперматоцитов погибает при созревании, т.е. не исключается более высокая частота возникновения анеуплоидии в сперматогониях;
- частота анеуплоидных яйцеклеток колеблется от 10 до 20% и выше. Большая часть таких яйцеклеток погибает до оплодотворения:
- частота анеуплоидных бластоцист и ранних зародышей близка к 8–10%;
- среди абортусов (ткани эмбрионов, плодов и оболочек) около 50% – с хромосомными аномалиями;
- среди мертворожденных детей 6% – с хромосомными аномалиями;
- частота анеуплоидий среди живорожденных – 0,3–0,5%;
- летальные эффекты хромосомных аномалий разные в зависимости от вовлеченных в аномалии хромосом. Например, моносомные зиготы по длинным хромосомам не развиваются; моносомные зиготы по Х-хромосоме в 90–99% случаев погибают на стадии бластоцисты либо вскоре после имплантации; 2/3 зародышей с трисомией 21 элиминируются путем спонтанных абортов;
- суммарно 90% зародышей с хромосомными аномалиями отсеиваются отбором;
- частота анеуплоидий по многим хромосомам повышается с возрастом женщин, особенно после 35 лет; возраст мужчин имеет определенное значение, но после 45 лет;
- примерно 20% всех форм хромосомных аномалий относятся к мозаичным;
- частота хромосомных мутаций в гаметах составляет примерно 1/1000;
- нерасхождение хромосом у женщин происходит чаще, чем у мужчин, причем чаще в 1-м мейотическом делении, чем во 2-м.

Совокупность этих сведений и данных экспериментальных исследований не оставляет сомнений в реальности медицинской значимости мутагенеза в эмбриональных и зародышевых клетках (см. также «Мутации и старение»).

Таким образом, очевидно, что генотоксические поражения – один из ведущих этиологических факторов, приводящих к репродуктивным катастрофам. Этот вывод полностью справедлив в отношении геномных и хромосомных мутаций. О вкладе генных мутаций в возникновение наследуемых дефектов судить затруднительно, поскольку сегодня о систематических исследованиях в этом направлении не известно.

Мутации в зародышевых клетках

Мутагенез в зародышевых клетках имеет ряд принципиальных особенностей, вытекающих из природы организации гаметогенеза. Во-первых, существуют гематотестикулярный и гематофолликулярные барьеры, потенциально способные влиять на соотношение «доза/концентрация» в области мишени, т.е. предохранять зародышевые клетки от действия мутагенов. Во-вторых, априорно очевидна и частично подтверждена экспериментально различная чувствительность зародышевых клеток на разных стадиях созревания и этапах гаметогенеза. Например, клетки на постмейотических стадиях сперматогенеза в целом более чувствительны к мутагенным воздействиям, что, вероятно, связано с отсутствием элиминации части дефектных клеток на «мейозном фильтре». В-третьих, имеются принципиальные различия в репарационной способности; сперматозоиды не способны к осуществлению этой функции с момента упаковки хроматина, тогда как в яйцеклетке существует система репарации, задействованная не только для исправления повреждений собственной ДНК, но также используемая на стадии зиготы для репарации ДНК сперматозоида. В-четвертых, сперматозоиды постоянно обновляются и, вероятно, более эффективно выбраковываются в мейозе [39], тогда как яйцеклетки закладываются одномоментно и, возможно, способны аккумулировать генотоксические воздействия в течение всего периода существования. В-пятых, уровни спонтанного мутирования выше в сперматозоидах, что связано не только с отсутствием репарации, но также с большей вероятностью ошибок репликации, поскольку сперматозоид – это продукт примерно 300 делений, а ооцит – примерно 24 делений [12]. Три последних обстоятельства подчеркивают, что динамика индуцированных мутационных событий в клетках, вовлеченных в сперматогенез и овогенез, будет заведомо различной, что осложняет разработку подходов к оценке риска мутагенных воздействий на зародышевые клетки у мужчин и женщин.

С мутационными поражениями зародышевых и(или) эмбриональных клеток связывают невынашивание беременности и врожденные пороки развития [40]. Обращает на себя внимание, что в экспериментальных исследованиях связь между повреждающим фактором и мутагенезом в зародышевых клетках прослеживается однозначно. Тогда как ни в одном клиническом наблюдении не удалось убедительно и бесспорно связать мутагенез в зародышевых клетках человека с действием конкретного повреждающего фактора.

При всех затруднениях оценок не вызывает сомнения, что мутагенез в зародышевых клетках протекает достаточно интенсивно, по некоторым оценкам, не менее 20% мутаций, вызывающих наследуемые дефекты, возникают *de novo* [30].

Проблема мутагенеза в зародышевых клетках тесно связана с сохранением репродуктивного здоровья. Фертильность человека очень невысока. У женщин 20–30 лет шансы забеременеть в течение

1 менструального цикла и родить здорового ребенка не превышают 30%, при этом существенная (если не основная) часть рисков связана с возникновением генетической нестабильности зародышевых клеток [11, 24]. Среди последних свидетельств есть указания на то, что до 60% спонтанных абортов обусловлены хромосомными аномалиями (ведущими среди них являются трисомии, возникающие в зародышевых клетках родителей [27]), а также, что мутационные поражения зародышевых клеток обусловливают бесплодие супружеских пар. В частности, анализ клеток крови 5 774 пациентов с нарушениями репродуктивной функции выявил цитогенетические нарушения у 550 из них, в спектре повреждений преобладали трисомии (46,4%), реципроктные транслокации (16,5%), хромосомные инверсии (15,5%) и делеции (14,7%) [42]. Подобные примеры легко обнаружить с помощью современных поисковых систем научной информации.

Кроме того, отчетливо прослеживаются факты, указывающие на существенную значимость для репродуктивного здоровья не только мутационных, но также предмутационных событий. Например, анализ существующих публикаций, в частности [37, 38], показывает, что, во-первых, у бесплодных мужчин доля сперматозоидов с нарушением целостности ДНК составляет не менее 25–30%, во-вторых, спонтанное прерывание беременности коррелирует с показателями поврежденности ДНК сперматозоидов, в-третьих, сперма с высоким уровнем нарушений целостности ДНК сперматозоидов характеризуется пониженной результативностью при экстракорпоральном оплодотворении (ЭКО): при ее использовании частота формирования бластоцист не превышает 30%, а также возрастает вероятность спонтанных абортов.

В качестве самостоятельной темы важно рассмотреть роль генотоксичности в тератогенных эффектах ксенобиотиков.

Генотоксические эффекты и тератогенность

Исследования, проведенные в области медицинской генетики, указывают на индуцированные мутации как одну из главных причин невынашивания беременности, наследственных заболеваний и, как само собой разумеющееся, врожденных пороков развития (ВПР). ВПР рассматриваются как «сторожевые

Таблица 6

ЧАСТОТА (НА 10 ТЫС. РОЖДЕНИЙ) И ДИАПАЗОН КОЛЕБАНИЯ ОТДЕЛЬНЫХ ФОРМ ВПР (цит. [9])

Форма ВПР	Данные регистра РФ		EUROCAT 2002	
	частота	пределы колебаний	частота	пределы колебаний
Анэнцефалия	2,83	0,22–8,51	0,77	0,18–4,83
Спинномозговая грыжа	6,09	2,57–12,61	2,16	0,70–14,31
Энцефалоцеле	0,91	0,00–2,81	0,39	0,00–2,40
Гидроцефалия	4,52	0,51–9,13	2,71	0,00–17,42
Микротия/анотия	0,50	0,00–2,29	0,70	0,00–2,58
Микрофтальм/анофтальм	0,20	0,00–1,38	0,90	0,00–3,73
Транспозиция крупных сосудов	1,03	0,00–5,93	2,77	0,65–6,24
Гипоплазия левого сердца	0,45	0,00–1,99	1,45	0,00–3,73
Расщелина нёба	4,09	2,56–7,16	5,19	2,73–12,48
Расщелина губы /нёба	7,28	3,73–13,73	7,86	4,89–15,38
Атрезия пищевода	1,98	0,00–3,33	2,41	1,33–4,39
Атрезия ануса	1,69	0,32–3,13	2,38	0,00–6,22
Агенезия почек	0,27	0,00–1,10	0,66	0,00–4,36
Гипоспадия	12,28	5,62–28,80	9,47	1,31–24,11
Эписпадия	0,17	0,00–0,92		
Экстрофия мочевого пузыря	0,22	0,00–1,66		
Редукционные пороки конечностей	2,81	1,63–5,94	4,30	1,64–11,82
Диафрагмальная грыжа	1,77	0,00–4,92	2,31	0,00–5,76
Омфалоцеле	1,64	0,00–4,01	1,42	0,00–5,60
Гастрошизис	2,18	0,00–5,75	1,69	0,00–4,36
Синдром Дауна	9,44	4,12–15,39	9,56	5,11–29,62

фенотипы», выявление которых расценивается как тревожный сигнал экологического или иного неблагополучия. В России функционирует система эпидемиологического мониторинга (приказ МЗ РФ № 268, 1998), предусматривающая систематический учет 21 формы ВПР; сходные системы существуют и за рубежом (EUROCART). Сведения о частоте ВПР представлены в табл. 6.

Наиболее распространенными ВПР являются аномалии костно-мышечной системы (23%), сердечно-сосудистой системы (23%), мочеполовой системы (15%) и органов дыхания (11%). Суммарно носителями ВПР являются 3–4% населения без учета лиц с отставаниями в развитии из-за слабовыраженных нервных отклонений [9, 16].

В свою очередь, специалисты-тератологи указывают на недостаточную доказательную базу, подтверждающую связь между мутагенезом и тератогенезом, отмечают вероятностный характер мутагенных воздействий. Опираясь на известные негенетические механизмы тератогенеза и(или) рассматривая в качестве главного патогенетического источника нарушения в системе «мать–плацента–плод», они не придают большого значения мутагенам как тератогенным факторам [23, 31].

Вслед за рядом зарубежных авторов проведено (табл. 7) сопоставление мутагенной и тератогенной активности ряда ксенобиотиков. Из приведенных данных однозначно следует, что для отдельных веществ совпадение тератогенной и генотоксической активности абсолютно, для других оно полностью отсутствует (например, для такого известного тератогена, как талидомид). Известны обратные примеры, когда заведомые мутагены не проявляли эмбриотоксической и тератогенной активности в стандартных, хорошо верифицированных тест-системах.

Таблица 7

СОПРЯЖЕННОСТЬ ГЕНОТОКСИЧЕСКОЙ И ТЕРАТОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ (цит. [23])

Ксенобиотики, являющиеся тератогенными для человека	Результаты оценки генотоксической активности		
	Микроорганизмы, дрозофила	Эукариотические клетки *in vitro*, в том числе с метаболической активацией	Наблюдения *in vivo*
Бусульфан+	ТЭ (+), РСПЛМ (+)	ХрА(+), ГМ(+), СХО(+)	ДЛМ(+), ХрА(+), МЯ(+)
Даунорубецин+	ТЭ (+)	ХрА(+), ГМ(+), СХО(+)	ДЛМ(+), ХрА(+), МЯ(+)
Диэтилстильбэстрол+++	ТЭ(+)	ХрА(?), ГМ(+), СХО(+)	СХО(+), ХрА(+), МЯ(+)
Вальпроевая кислота++	ТЭ(-)	СХО(±)	ХрА(+), СХО(±)
Индометацин+	ТЭ(+)	НД	ХрА(+),СХО(+), МЯ(+)
Карбамазепин+	ТЭ(-)	ХрА(+), СХО(+)	ХрА(-), СХО(-)
Кокаин+++	НД	ХрА(+), СХО(+)	НД
Кумарин+	ТЭ(?), РСПЛМ (-)	ХрА(-), СХО(+)	ХрА(-), МЯ(-)
Метотрексат (антагонист фолиевой кислоты)+++	ТЭ (-)	ХрА (+), МЯ (+), ГМ (-)	ХрА (+),МЯ (+), СХО (+)
Пеницилламин++	ТЭ(+)	ХрА(+), ГМ(-),СХО(+)	МЯ(-)
Примидон+	ТЭ (±), РСПЛМ (-)	ХрА(-), СХО(-)	ХрА(-), МЯ(±)
Ретиноиды+++	-	-	антимутагены
Тетрациклины+		СХО (+)	МЯ (+), ДНК-пов (+)
Талидомид+++	-	-	-
Толуол+++	-	-	-
Циклофосфамид+++	ТЭ (+), РСРЛМ (+)	ХрА(+), ГМ(+), СХО(+)	ДЛМ(+), ХрА(+), МЯ(+), ДНК-пов (+), СХО (+)
Цитарабин+	НД	ГМ(+), ХрА(+)	ХрА(+), МЯ(+)
Этанол++	ТЭ(-)	ХрА (±), СХО (±)	СХО(+), МЯ(±), ДЛМ (±), ХрА(-)
6-меркаптопурин+	ТЭ (+), РСРЛМ (+)	ХрА(+), ГМ(+), СХО(+)	ДЛМ(+), ХрА(+), МЯ(+)

Примечание. Доказательства тератогенности для человека (в индексе): + – скудные; ++ – убедительные; +++ – высокодостоверные; (+) – позитивный эффект; (-) – негативный эффект, (±) – данные противоречивы, (?) – данные не могут быть трактованы однозначно, ГМ – генные мутации, ДНК-пов – повреждения ДНК, МЯ – микроядра РСПЛМ – тест на рецессивные, сцепленные с полом, летальные мутации у дрозофилы, НД – нет данных в доступной литературе, СХО – сестринские хроматидные обмены, ТЭ – тест Эймса, ХрА – хромосомные аберрации.

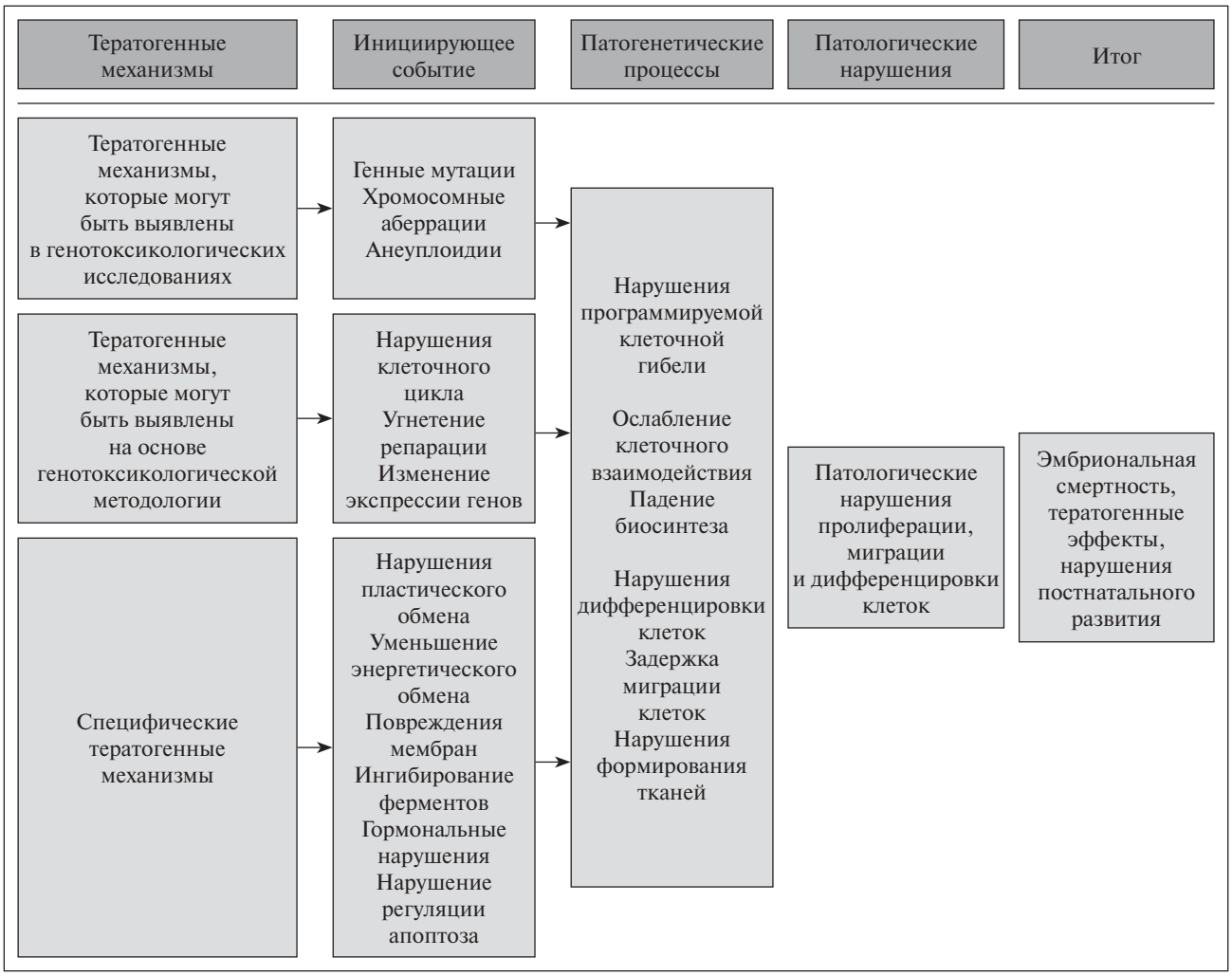

Рис. 2. *Генотоксические и негенотоксические механизмы тератогенеза (цит. [31], с исправлениями и добавлениями)*

Важно отметить, что при подобном сопоставлении данных за рамками анализа остается много значимых факторов; специфичность фармакокинетики, дозовых зависимостей действия, чувствительности разных фаз клеточного цикла и периодов органогенеза, адекватность тест-систем с точки зрения видовой специфичности эффектов, существование неопределенных и просто ошибочных данных и пр. Из рассмотрения нельзя также упускать тот факт, что некоторые механизмы тератогенеза заведомо не являются генотоксическими. Например, тератогенный эффект талидомида (фокомелия конечностей) может быть связан как с его антиангиогенезными свойствами, так и со способностью одного из его энантиомеров интеркалировать в G-C-участки ДНК и нарушать процессы репликации ДНК. В свою очередь, антагонисты фолиевой кислоты могут осуществлять тератогенный эффект как за счет влияния на обмен этого важнейшего метаболита, так и за счет генотоксических воздействий (как метотрексат) или только по первому механизму (как аминоптерин, мутагенные свойства которого в литературе не описаны).

Тератогенный потенциал генотоксикантов при условии достижения ими соответствующих биологических мишеней, с нашей точки зрения, сомнений не вызывает; вещества, являющиеся генотоксикантами для зародышевых клеток и тестированные на репродуктивную токсичность, оказались тератогенами [6].

Сложившиеся у генетических токсикологов представления о мутагенных и немутагенных механизмах тератогенеза представлены на рис. 2.

В области изучения связи генотоксикологических и тератогенных событий не решен ряд принципиальных вопросов. Во-первых, совершенно неясна значимость предмутационных генотоксических событий в тератогенезе; во-вторых, необходимо выявление количественных закономерностей между генотоксическими воздействиями и тератогенными последствиями; в-третьих, необходимо выявление генотоксического компонента в механизме повреждающего действия заведомых тератогенов. Все эти задачи имеют очевидное практическое значение как с точки зрения ускоренной

оценки потенциальных тератогенных свойств, так и с точки зрения мер профилактики тератогенеза. Эта последняя задача, как следует из работ, проведенных в нашей лаборатории А.С. Соломиной и О.В. Шредер, может быть решена путем применения антимутагенов в качестве модификаторов эффектов тератогенов. Снижение негативных репродуктивных эффектов под действием антимутагена доказывает генотоксический механизм их реализации. В наших работах модификация тератогенных и иных нарушений неонатального и постнатального развития животных под действием антимутагенов продемонстрирована в отношении циклофосфамида, табакокурения и у животных, получавших алкоголь во время беременности.

Таким образом, генотоксический механизм – не единственный и, возможно, далеко не ведущий в тератогенезе, однако роль индуцированных мутаций, в первую очередь анеуплоидий, в тератогенных эффектах несомненна. Можно утверждать, что каждый генотоксикант, способный повреждать зародышевые или эмбриональные клетки, является тератогеном, но далеко не каждый тератоген обладает генотоксичностью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Генетические дефекты выявляются примерно у 10% наших современников, каждый индивидуум наследует 2–3 новые, спонтанно возникшие патогенные мутации. Мутагенез рассматривается как ведущий механизм инициации канцерогенеза и первооснова возникновения наследственных болезней; все увереннее звучит тема самостоятельной медицинской значимости повреждений ДНК и митохондриальных мутаций. В ближайшей перспективе следует ожидать пополнения этого ряда представлениями о самостоятельной патогенетической роли нарушений эпигенетической регуляции генома под действием генотоксикантов.

Генотоксические поражения представляют очевидную опасность для здоровья и жизни настоящего и будущих поколений, имеются отчетливые представления о генетическом грузе популяции, патогенетической значимости различных категорий генотоксических повреждений в соматических и зародышевых клетках, выявлены основные закономерности манифестирования генотоксикологической патологии.

Принципиально, что возникновение даже незначительных генетически обусловленных отклонений от усредненных стандартов воспринимается как психотравмирующая ситуация, в более серьезных случаях она представляет собой существенную медицинскую проблему, часто приводит к снижению качества жизни и к инвалидизации. Отдаленные эффекты генотоксических событий специфичны в зависимости от клеточной мишени (табл. 8).

Особо следует упомянуть, что мутагенез является причиной возникновения многочисленных полиморфных вариантов генов, многие из которых имеют высокую медицинскую значимость и рассматриваются в рамках фармакологической генетики. Кроме того, генотоксические события часто рассматривают в качестве прогностических биомаркеров патогенетических процессов различного генеза. Например, в настоящее время при нейродегенеративных, а в перспективе – при аутоиммунных заболеваниях, диабете, сочетанной травме, а также в экспериментальной и доклинической токсикологии лекарственных средств.

Таблица 8

ВОЗМОЖНЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МЕДИЦИНСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ ГЕНОТОКСИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЙ

Причина	Последствия
Индукция повреждений ДНК	Мутагенез Тератогенез Канцерогенез Снижение фертильности Цитотоксичность (нейродегенерация и эндотелиальные поражения, старение)
Индукция мутаций *В зародышевых клетках*	Наследственные болезни, бесплодие, злокачественные новообразования, преждевременное старение, нарушения иммунитета, врожденные пороки развития, спонтанные аборты
В соматических клетках	Злокачественные новообразования, старение
В эмбриональных клетках	Врожденные пороки развития, спонтанные аборты, заболевания, обусловленные соматическим мозаицизмом
В митохондриях	Митохондриальные мио-, энцефало- и нейропатии, старение, сахарный диабет

Таким образом, этиологическая и патогенетическая роль индуцированных генотоксических событий, в первую очередь генных, хромосомных и геномных мутаций, не вызывает сомнения. Их медицинская роль и значение вытекают из базовых представлений о ДНК как биологическом носителе всей совокупности наследственной информации. Возникнув в результате сбоя генетической программы, патогенез будет протекать на основе саморазвития, самодвижения и саморегуляции в соответствии с классическими представлениями, заложенными И.В. Давыдовским. В конечном итоге генотоксическая первопричина, определившая начало процесса, может быть совершенно потеряна под на-

слоениями все новых событий и процессов, вовлекаемых в патогенез. Не исключено, что со временем окажется, что генотоксическое событие — это некое «amor fati*» , предопределяющее возникновение любого заболевания. Но уже на современном этапе развития понятно, что защита от генотоксических воздействий является критической проблемой охраны здоровья!

ЛИТЕРАТУРА

1. Анисимов В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения. – С-Пб., Наука, 2008. – Т. 1. – 481 с.
2. Беспалова О.Н. Генетика невынашивания беременности // Журн. акушерства и женских болезней. – 2007; 1: 81–95.
3. Бочков Н.П., Дурнев А.Д. Мутационный процесс у человека: Наследственные болезни. – М, ГЭОТАР-Медиа, 2012. – С. 176–98.
4. Домрачева Е.В., Асеева Е.А., Удовиченко А.И. Цитогенетика индуцированных лейкозов: клональные нарушения, эффекты хромосомной нестабильности, генетическая предрасположенность // Мед. генетика. – 2012; 7: 4–12.
5. Дурнев А.Д., Середенин С.Б. Мутагены: скрининг и фармакологическая профилактика воздействий. – М., Медицина 1998. – 328 с.
6. Дурнев А.Д. Анализ и значение мутаций в зародышевых клетках // Мед. генетика. – 2011; 2: 3–11.
7. Иванова М.М., Сазонова М.А., Желакин А.В. и др. Мутации митохондриального генома в патологии человека: Фундаментальные науки и практика. Материалы 3-й телеконференции «Проблемы и перспективы современной медицины, биологии и экологии». – Томск, 2010; 1 (4).
8. Копнин Б.П. Нестабильность генома и онкогенез // Мол. биология. – 2007; 2: 369–380.
9. Кулешов Н.П., Майская С.А. Наследственные и врожденные болезни. Вклад в детскую заболеваемость и инвалидность. Подходы к профилактике: I МГМУ им. И.М. Сеченова, РОО «Центр социальной адаптации и реабилитации детей «Фохат». – М., 2010. – 64 с.
10. Кураева Т.Л., Зильберман Л.И., Титович Е.В. и др. Генетика моногенных форм сахарного диабета // Сахарный диабет. – 2011; 1: 20–7.
11. Лебедев И.Н., Никитина Т.В., Токарева А.Г. и др. Патогенетические эффекты нестабильности эмбрионального генома в развитии человека // Информ. вестн. ВОГИС. – 2006; 10 (3): 520–9.
12. Макконки Э. Геном человека. – М., Техносфера, 2008. – 288 с.
13. Стрельников В.В. Основные направления молекулярно-генетических исследований в онкологию // Мед. генетика. – 2012; 10: 3–16.
14. Сьяксте Н.И., Сьяксте Т.Г. Разрывы ДНК в ходе клеточной дифференцировки // Генетика. – 2007; 5: 581–99.
15. Тодоров И.Н. Митохондрии: окислительный стресс и мутации митохондриальной ДНК в развитии патологий, процессе старения и апоптозе // Росс. хим. журн. – 2007; 1: 93–106.
16. Филюшкин И.В., Игнатов А.Н. О системной природе нервных отклонений // Вест. РАМН. – 1998; 5: 411–6.
17. Юров И.Ю., Ворсанеова С.Г., Сильванович А.П. и др. Вариации генома соматической клетки в норме и при наследственной патологии в ходе онтогенеза // Мед. генетика. – 2012; 6: 11–9.
18. Agarwal1 A., Said T. Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility // Hum. Reprod. Update. – 2003; 9 (4): 331–45.
19. Altieri F., Grillo C., Maceroni M. et al. DNA damage and repair: from molecular mechanisms to health implications // Antioxid Redox Signal. – 2008; 10 (5): 891–937.
20. Bartek J., Bartkova J., Lukas J. DNA damage signalling guards against activated oncogenes and tumour progression // Oncogene. – 2007; 10; 26 (56): 7773–9.
21. Bassing C. and Alt F. The cellular response to general and programmed DNA double-strand breaks 1 // DNA Repair. – 2004; 3: 781–96.
22. Bernstein C., Bernstein H. Aging, Sex and DNA Repair. – Sab Diego, Acad. Press, Inc. – 1991. – 382.
23. Bishop J., Witt K., Sloane R. Genetic toxicities of human teratogens // Mutation research. – 1997; 396 (1–2): 9–43.
24. Bonde J., Ernst E., Jensen T. et al. Relation between semen quality and fertility: a population-based study of 430 first-pregnancy planners // Lancet. – 1998; 352 (9135):1172–7.
25. Chen J., Hales C., Ozanne S. DNA damage, cellular senescence and organismal ageing: causal or correlative? // Nucleic Acids Research. – 2007; 35 (22): 7417–28.
26. Cline S. Mitochondrial DNA damage and its consequences for mitochondrial gene expression // Biochim. et Biophys. Acta. – 2012; 1819 (9–10): 979–91.
27. Collins J., Diedrich K., Franks S. et al. Genetic aspects of female reproduction. ESHRE Capri Workshop Group // Hum. Reprod. Updat. – 2008; 14: 293–307.
28. Davis R., Williams M. Mitochondrial function and dysfunction: an update // J. of Pharm. and Experim. Therap. – 2012; 342 (3): 598–607.
29. De Bont R., van Larebeke N. Endogeneous DNA damage in humans: a review of quantitative data // Mutagenesis. – 2004; 19 (3): 169–85.
30. Elespuru R., Sankaranarayanan K. New approaches to assessing the effects of mutagenic agents on the integrity of the human genome // Mutation Research. – 2007; 616: 83–9.
31. Ferguson L., Ford J. Overlap between mutagens and teratogens // Mutation Research. – 1997; 396 (1–2): 1–8.
32. Gray K., Bennett M. Role of DNA damage in atherosclerosis-bystander or participant? // Biochem. Pharmacol. – 2011; 82 (7): 693–700.
33. Jackson S., Bartek J. The DNA-damage response in human biology and disease // Nature. – 2009; 461: 1071–8.
34. Kirkwood T. Molecular gerontology // J. of Inherited Metabol. Disease. – 2002; 25 (3): 189–96.
35. Lindahl T., Nyberg B. Rate of depurination of native deoxyribonucleic acid // Biochemistry. – 1972; 11: 3610–8.
36. Lindahl T., Barnes D. Repair of endogenous DNA damage // Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology. – 2000; 65: 127–134.
37. Luke S., Brunborg G., Stevenson M. et al Clinical significance of sperm DNA damage in assisted reproduction outcome // Hum. Reprod. – 2010; 25: 1594–608.
38. Luke S., Lutton D., McManus J. et al. Sperm DNA damage measured by the alkaline Comet assay as an independent predictor of male infertility and in vitro fertilization success // Fertility and Sterility. – 2011; 95: 653–6.
39. Lynn A., Schrumps S., Cherry J. et al. Sex, not genotype, determines recombination levels in mice // Am. J. of Hum. Genetics. – 2005; 77: 670–5.
40. Macklon N., Geraedts J., Fauser B. Conception to ongoing pregnancy: the `black box' of early pregnancy loss // Hum. Reproduc. Update. – 2002; 8 (4): 333–43.
41. Peltonen L., McKusick V. Dissecting Human Disease in the Post-Genomic Era. – 2001; Science. 29: 1224–1229.
42. Qin J., Zheng C., DU J. et al. Analysis of the chromosomal abnormality in 5774 patients with clinical reproductive abnormality and 32 new karyotypes // Yi Chuan. – 2009; 31: 142–6.
43. Saul R., Ames B. Background levels of DNA damage in the population // Basic Life Sci. – 1986; 38: 529–35.
44. Schapira A. Mitochondrial diseases // Lancet. – 2012; 379 (9828): 1825–34.
45. Skoner J., Sigmon J., Larcom L. Suppressed DNA repair capacity of peripheral lymphocytesinpregnantwomen//Molecul.and Cellular Endocrinol. – 1995; 108: 179–83.

*«Любовь к судьбе» — лат. (фатальная предопределенность сущего).