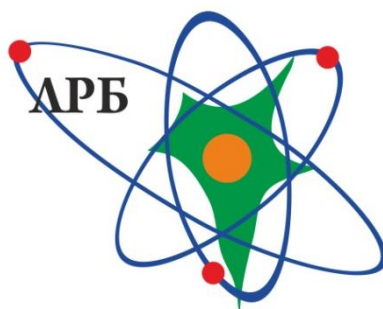


Лаборатория радиационной биологии ОИЯИ
Научный совет по радиобиологии РАН
Научный совет по астробиологии при президиуме РАН



**«АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ РАДИОБИОЛОГИИ И
АСТРОБИОЛОГИИ. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ
ЭФФЕКТЫ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ»**

Дубна, 9-11 ноября 2016 г

Сборник тезисов

Дубна, 2016

ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ

Красавин Е.А., *сопредседатель* - чл.-корр. РАН, директор Лаборатории радиационной биологии ОИЯИ

Розанов А.Ю., *сопредседатель* - акад. РАН, председатель Научного совета РАН по астробиологии

Рубанович А.В., *зам.председателя*, д.б.н, ИОГЕН РАН

Пелевина И.И., д.б.н., ИХФ РАН

Газиев А.И., д.б.н., ИТЭБ РАН

Замулаева И.А., д.б.н., зав.лабораторией МРНЦ Минздрава РФ

Нугис В.Ю., д.б.н., ФМБЦ им.А.И.Бурназяна ФМБА России

Осипов А.Н., д.б.н., ФМБЦ им.А.И.Бурназяна ФМБА России

Астафьева М.М., к.б.н., Палеонтологический институт им. А.А. Борисяка РАН

Гиндилис Л.М., к.ф.-м.н, ГАИШ МГУ

Кошлань И.В., к.б.н., ЛРБ ОИЯИ

Найдич В.И., *отв.секретарь*, к.х.н., ученый секретарь Научного совета РАН по радиобиологии

СОДЕРЖАНИЕ

Радиационная биология

<i>Белишева Н.К., Петрашова Д.А., Балабин Ю.В., Маурчев Е.А.</i> Устройство для изучения биоэффективности фоновых вариаций нейтронной компоненты вторичных космических лучей у поверхности земли.	7
<i>Берестяная А. Н., Гродзинский Д.М.</i> Модификация рентгеновским облучением эпигенетических паттернов старения <i>linum usitatissimum</i> .	8
<i>Бондаренко В.А., Иванов А.А., Новицкая Н.Н., Снигирева Г.П.</i> Роль цитогенетического обследования в совершенствовании системы оценки состояния здоровья космонавтов.	9
<i>Брусков В.И., Гудков С.В., Иванов В.Е., Карп О.Э., Попова Н.Р., Усачева А.М., Шелковская О.В., Черников А.В.</i> Изучение радиомитигаторных свойств ряда природных антиоксидантов.	10
<i>Васильев С.А., Величевская А.И., Вишневская Т.В., Скрябин А.А., Беленко А.А., Агаб А.В., Слепцов А.А., Грибова О.В., Старцева Ж.А., Лебедев И.Н.</i> Влияние спонтанного уровня γ H2AX на радиационно-индуцированную экспрессию генов в соматических клетках человека.	11
<i>Газиев А.И.</i> Фрагменты ДНК из гибнущих клеток можно рассматривать как мобильные генетические элементы, индуцирующие мутагенез.	13
<i>Дмитриев А.П., Гуца Н.И., Дяченко А.И., Гродзинский Д.М.</i> Влияние ионизирующего излучения на болезнеустойчивость растений в 30-км зоне отчуждения чернойбыльской АЭС.	15
<i>Дуброва Ю.Е.</i> Индукция мутаций в половых клетках человека и мышей	18
<i>Евдокимовский Э.В., Абдуллаев С.А., Митрошина И.Ю., Губина Н.Е.</i> Облучение головного мозга влияет на число копий мтДНК и ее транскриптов в необлученных тканях мышей.	19
<i>Жижина Г.П., Заварыкина Т.М., Фаткуллина Л.Д., Голощапов А.Н., Бурлакова Е.Б.</i> Действие малых доз ионизирующей радиации и фенотипа на структуру ДНК и мембран клеток мышей.	20
<i>Замулаева И.А., Смирнова С.Г., Орлова Н.В.</i> Результаты длительного мониторинга частоты генных мутаций по локусу Т-клеточного рецептора в различных возрастных группах жителей радиационно загрязненных территорий Российской Федерации.	23
<i>Засухина Г.Д., Михайлов В.Ф., Васильева И.М., Шуленкина Л.В., Старцев М.И.</i> Модификация природными антимутагенами-антиканцерогенами действия радиации на основе изучения экспрессии микроРНК и генов, контролирующих клеточный гомеостаз.	25

<i>Иваненко Г.Ф., Бурлакова Е.Б.</i> Ответ тиолдисульфидной системы глутатиона на окислительный стресс при действии радиации низкой интенсивности и курении.	27
<i>Иванов А.А., Дорожкина О.В., Булынина Т.М., Абросимова А.Н., Гаевский В.Н.</i> Цитогенетический статус мышей при γ -облучении в широком диапазоне доз – от сверх малых до больших.	30
<i>Исубакова Д.С., Литвяков Н.В., Халюзова М.В., Альбах Е.Н.,</i> Цитогенетические нарушения в лимфоцитах крови у работников сибирского химического комбината, подвергавшихся профессиональному облучению.	32
<i>Коваленко М.А., Комова О.В., Гаврилова В.С.</i> Исследование уровня активных форм кислорода, индуцированных излучением разного качества, на линии микроглиальных клеток мыши SIM-A9.	34
<i>Корякина Е.В., Потетня В.И., Трошина М.В., Байкузина Р.М.</i> Эффекты гиперчувствительности и индуцированной радиорезистентности в клетках млекопитающих после облучения ускоренными ионами углерода.	36
<i>Котеров А.Н., Ушенкова Л.Н., Бирюков А.П.</i> Отсутствие повышения частоты генных перестроек <i>ret/pts</i> в папиллярных карциномах щитовидной железы после облучения в малых дозах. объединенный анализ (<i>pooled-анализ</i>) молекулярно-эпидемиологических данных.	38
<i>Кравец А.П., Соколова Д.А.</i> Метилирование ДНК как составляющая эпигенетической регуляции адаптации растений к облучению.	40
<i>Крипка А.В., Михеев А.Н.</i> Изучение роли эпигенетической составляющей в процессе адаптации растений <i>hypericum perforatum</i> к условиям хронического облучения ионизирующей радиацией.	41
<i>Кузьмина Н.С., Лаптева Н.Ш., Русинова Г.Г., Азизова Т.В., Вязовская Н.С., Рубанович А.В.</i> Изучение гиперметилирования промоторов генов в лейкоцитах крови облученных лиц.	43
<i>Михеев. А. Н., Жук В.В., Овсянникова Л.Г., Войтенко Л.В., Гродзинский Д.М.</i> Биохимические механизмы радиостимуляции у растений.	45
<i>Нугис В.Ю., Козлова М.Г., Никитина В.А.</i> Частоты aberrаций хромосом в культурах лимфоцитов периферической крови и риски развития заболеваний после радиационного воздействия.	47
<i>Осипов А.Н., Грехова А.К., Пустовалова М.В., Цветкова А.Д., Озеров И.В., Еремин П.С., Воробьева Н.Ю., Клоков Д.Ю.</i> Особенности репарации двунитевых разрывов ДНК при пролонгированном воздействии редкоионизирующего излучения.	49
<i>Пелевина И.И., Алещенко А.В., Антощина М.М., Бирюков В.А., Карякин О.Б., Рева Е.В, Серебряный А.М.</i> Лимфоциты периферической крови человека как показатели реакции на ионизирующее облучение.	50

<i>Платова Н.Г., Толочек Р.В.</i> Цитогенетические эффекты в корневой меристеме растений салата после облучения семян протонами в малых дозах.	51
<i>Ракитин С.Б., Григоркина Е.Б.</i> Малые дозы радиации: изучение уровня полиморфизма ДНК у красной полевки (<i>myodes rutilus</i>) из природных популяций.	52
<i>Северюхин Ю.С., Иванов А.А., Молоканов А.Г., Гаевский В.Н., Ляхова К.Н., Колесникова И.А., Красавин Е.А.</i> Изменение ориентировочно-исследовательского поведения и показателя спонтанного чередования в Т-лабиринте у крыс под действием протонов различных энергий.	55
<i>Серебряный А.М.</i> О роли немишенных эффектов в изменении свойств организмов после слабых радиационных и химических воздействий.	56
<i>Сорокина С.С., Заичкина С.И., Розанова О.М., Смирнова Е.Н., Романченко С.П., Дюкина А.Р., Сирота Н.П., Кузнецова Е.А., Вахрушева О.А., Шемяков А.Е., Пикалов В.А.</i> Исследование биологического действия ускоренных ионов углерода с энергией 450 мэВ/н на мышах <i>in vivo</i> .	59
<i>Тельнов В.И.</i> Генетические и эпигенетические аспекты радиационных эффектов у облученных людей и их потомков.	61
<i>Ульяненко С.Е., Потетня В.И., Корякин С.Н., Лычагин А.А., Корякина Е.В., Соловьев А.Н., Бекетов Е.Е., Исаева Е.В.</i> Расчетно-экспериментальное моделирование радиобиологических эффектов на молекулярно -генетическом уровне при воздействии излучений разного качества.	65
<i>Халюзова М.В., Исубакова Д.С., Литвяков Н.В., Брониковская Е.В., Альбах Е.Н., Коростелев С.А., Карпов А.Б., Тахауов Р.М.</i> Исследование индукции аббераций числа копий ДНК у лиц, подвергавшихся хроническому радиационному воздействию.	68
<i>Хвостунов И.К., Крылов В.В., Родичев А.А., Шепель Н.Н., Коровчук О.Н.</i> Цитогенетическая оценка медицинских последствий терапии радиоактивным йодом больных дифференцированным раком щитовидной железы.	70
<i>Шарапов М.Г., Новоселов В.И., Брусков В.И., Гудков С.В.</i> Исследование защитных свойств пероксиредоксинов при воздействии ионизирующего излучения.	71
<i>Шишкина Л.Н., Климович М.А., Козлов М.В., Смотряева М.А.</i> Внеклеточная ДНК и перекисное окисление липидов при облучении мышей в малых дозах.	74
<i>Шуленина Л.В., Михайлов В.Ф., Раева Н.Ф., Засухина Г.Д., Незнанова М.В., Салеева Д.В.</i> Содержание микроРНК и мРНК генов в периферической крови больных раком предстательной железы при формировании осложнений органов малого таза после лучевой терапии.	76
<i>Яргин С.В.</i> Зависимость генных перестроек RET/PTC в папиллярных карциномах щитовидной железы от длительности заболевания и опухолевой прогрессии.	78

<i>Яргин С.В.</i> О биологический эффективности острого и хронического облучения.	80
<i>Abdullaev S.A., Kamenskikh K.A., Minkabirova G.M., Gaziev A.I.</i> The level of cell-free dna in the urine of aged rats rises sharply after x-ray irradiation and metformin administration.	82
<i>Belyaev I., Markova E., Skorvaga M., Vasilyev S., Sorokina S., Kosik P., Durdik M., Jakl L., Vokalova L., Kruzliakova J.</i> DNA damage response and preleukemic fusion genes induced by ionizing radiation in human hematopoietic stem cells.	83
<i>Štefančíková L., Lacombe S., Depeš D., Pagáčová E., Salado D., Porcel E., Tillement O., Lux F., Kozubek S., Falk M.</i> Tumor cell radiosensitisation by metal nanoparticles.	84

Астробиология

<i>Розанов А.Ю.</i> К проблемам астробиологии.	86
<i>Астафьева М.М.</i> Первые результаты бактериально-палеонтологического изучения раннедокембрийских железистых кварцитов Карелии и Кольского полуострова.	87
<i>Бочкарев Н.Г.</i> Некоторые недостаточно проработанные астрономические вопросы происхождения и эволюции жизни.	90
<i>Гиндилис Л.М., Гусева Г.Ю.</i> Астробиология и SETI.	97
<i>Гиндилис Л.М., Цельмович В.А., Шевелев Г.Н., Гусева Г.Ю.</i> Опыт сбора и исследования пыли в снежном покрове в районе пролета челябинского метеорита.	100
<i>Котеров А.Н.</i> Проблема репарации повреждений нуклеиновых перво-матриц при построении моделей ранней биосферы земли.	105
<i>Новосельцев Д.А.</i> О возможности сбора биологических образцов в космической пыли в точке либрации 11 системы «земля-луна».	108
<i>Обридко В.Н., Пипин В.В., Руденчик Е.А., Рагульская М.В., Храмова Е.Г.</i> Экстремальные процессы в гелиосфере и эволюция биосферы.	110
<i>Панасюк М.И.</i> Радиация в космосе – потенциальная опасность для биологических объектов.	113
<i>Пахневич А.В.</i> Исследование следов жизнедеятельности бактериальных сообществ с помощью рентгеновской микротомографии.	115

<i>Решетняк М.Ю., Павлов В.Э.</i> Геомагнитное поле и его связь с эволюцией земли.	118
<i>Самылина О.С.</i> Роль содовых условий в эволюции биосферы.	120
<i>Цельмович В.А.</i> Микроскопические индикаторы в диагностике импактного происхождения геологических структур.	121
<i>Чепцов В.С., Воробьева Е.А., Осипов Г.А., Булат С.А., Горленко М.В., Манучарова Н.А., Павлов А.К., Вдовина М.А., Ломасов В.Н.</i> Пределы устойчивости микробных сообществ в экстремальных местообитаниях к воздействию ионизирующих излучений.	129
<i>Чепцов В.С., Воробьева Е.А., Осипов Г.А., Булат С.А., Горленко М.В., Манучарова Н.А., Павлов А.К., Вдовина М.А., Ломасов В.Н., Звягинцев Д.Г.</i> Реголит Марса как потенциальная среда сохранения микробных экосистем.	132
<i>Di Mauro E.</i> Origin of life made closer at dubna accelerators.	139
<i>Frontasyeva M.V., Hoover R.B.</i> Evidence for extraterrestrial life and search for cosmic dust.	141
<i>Hoover R.B.</i> Microfossils in carbonaceous meteorites: evidence for extraterrestrial life.	142
<i>Зимин А.А., Скобликов Н.Э.</i> Подходы к изучению происхождения и эволюции вирусов.	146

РАДИАЦИОННАЯ БИОЛОГИЯ

УСТРОЙСТВО ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ БИОЭФФЕКТИВНОСТИ ФОНОВЫХ ВАРИАЦИЙ НЕЙТРОННОЙ КОМПОНЕНТЫ ВТОРИЧНЫХ КОСМИЧЕСКИХ ЛУЧЕЙ У ПОВЕРХНОСТИ ЗЕМЛИ

Белишева Н.К.¹, Петрашова Д.А.¹, Балабин Ю.В.², Маурчев Е.А.²

¹ФГБУН Кольский научный центр Российской академии наук,

²Полярный Геофизический Институт РАН,

Разработано и создано устройство (совместно с сотрудниками сектора космических лучей Полярного Геофизического института РАН) для выявления отдельных эффектов нейтронной компоненты КЛ (определенного энергетического спектра) у поверхности Земли на основе «вырезания» низко энергетического диапазона. Устройство представляет собой парафиновый октаэдр с внутренней «борируемой» камерой для инкубации биологических объектов. Толщина стенок экранирования была рассчитана с применением моделирования условий прохождения нейтронов через вещество с использованием метода Monte Carlo PLANETOCOSMICS (*Monte-Carlo N-particle transport code*), на основе пакета GEANT4 (*Maurchev E A, Yu V Balabin, E V Vashenyuk and B B Gvozdevsky, 2013*). Сравнение частоты и характера цитогенетических нарушений в исследуемых объектах при фоновом воздействии КЛ у поверхности Земли и в условиях экранирования позволит понять роль КЛ для функционирования биосистем и возможные эффекты КЛ в период космических миссий.

Показано, что при инкубации биологических объектов (*Allium cepa*) в этом устройстве, в модельных объектах выявляются специфические цитогенетические нарушения, отличающиеся от тех, что возникают при фоновом воздействии полного потока вторичных КЛ. В частности, в условиях воздействия высокоэнергетической нейтронной компоненты КЛ с энергиями > 50 МэВ, в проростках *Allium cepa* наблюдается снижение скорости пролиферации клеток, возрастает частота разнообразных нарушений генетического материала (встречаемость мостов в анафазе и телофазе и микроядер в клетке), возникают эффекты агглютинации хромосом, появление двуядерных клеток. Такие летальные для клетки нарушения, как агглютинация хромосом, наряду с запаздыванием цитокинеза, могут быть специфическими показателями биоэффективности высокоэнергетической нейтронной компоненты КЛ. Характер нарушений генетического материала в экранированных объектах свидетельствует о более выраженных нарушениях ДНК, включая двойные разрывы, по сравнению с объектами, пребывающими в фоновых условиях. В работе представлены предварительные результаты, свидетельствующие о проявлении феноменов, ассоциированных с воздействием высоко энергетических нейтронов в составе вторичных КЛ у поверхности Земли. Данные исследования имеют основополагающее фундаментальное значение, позволяющее понять и спрогнозировать возможные последствия взаимодействия вторичных заряженных частиц с генетическим материалом клеток жителей высоких широт, а также космонавтов во время космических полетов, и оценить дозу, обуславливающую возникновение необратимых генетических повреждений.

МОДИФИКАЦИЯ РЕНТГЕНОВСКИМ ОБЛУЧЕНИЕМ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ ПАТТЕРНОВ СТАРЕНИЯ *LINUM USITATISSIMUM*

Берестяная А.Н., Гродзинский Д.М.

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАНУ

a.berestyanaya@yandex.ru

Эпигенетические явления касаются статуса экспрессии генов, но не затрагивают структуру нуклеотидных последовательностей. С помощью эпигенетической регуляции осуществляется активация или репрессия генов, что выражается в изменении паттерна метилирования ДНК определенных клеток на разных этапах развития. Известно, что в ходе клеточной дифференцировки и онтогенеза вегетативных органов растений происходят изменения в уровне метилирования сайт-специфичных последовательностей генома. Каждому этапу онтогенеза присущ свой эпигеном. Целью исследования было выяснить влияние факторов абиотического стресса, в частности рентгеновского облучения на эпигеном в ходе старения вегетативных органов растения *Linum usitatissimum*.

Сайты метилирования наиболее распространены в промоторах генов, в повторяющихся последовательностях гетерохроматина, центромерных областях. В процессе развития растений происходит дифференциальное метилирование остатков цитозина в регуляторных областях генов рРНК. Растениям, в отличие от животных не свойственно постепенное снижение уровня метилирования ДНК в ходе старения. В различных тканях уровень метилирования ДНК может, как уменьшаться, так и увеличиваться.

Семена *Linum usitatissimum* облучали источником рентгеновского облучения в диапазоне доз от 10 до 100 Гр. Растения выращивали в условиях вегетационного опыта. Выделяли ДНК модифицированным СТАБ-методом на разных стадиях онтогенеза вегетативных органов. Изменения эпигенома определяли по показателям уровня тотального метилирования ДНК и по сайт-специфичным последовательностям регуляторных областей генов рРНК, а также сателлитных районов. Использовали комбинацию методов рестрикционного и ПЦР-анализа со специфическими праймерами и метод метилчувствительной ПЦР с праймерами фланкирующими сайты узнавания метилчувствительных рестриктаз в исследуемом фрагменте гена.

Было установлено, что рентгеновское облучение вызывает появление дополнительных сайтов метилирования, однако в процессе старения вегетативных органов растения, понижается степень метилирования как в облученных, так и в контрольных образцах. Понижение уровня метилирования, вероятно обусловлено деградационными процессами в клетках стареющих вегетативных органов. Наблюдение согласуется с литературными данными о том, что метилирование *de novo* может выступать в роли защитного механизма против воздействий, нарушающих нормальную организацию генома, ведущим среди которых является ионизирующая радиация, как фактор, вызывающий больше всего генетических перестроек. Метилирование ДНК может выступать в качестве защитного механизма от воздействия неблагоприятных факторов на геном. Облучение вызывает изменения генетической и эпигенетической структуры. Тем не менее, на сегодняшний день, молекулярная взаимосвязь между эффектами радиационного повреждения генома и эпигеномным ответом еще не выяснена. Феномен вариабельного метилирования и деметилирования сайт-специфичных участков тех или иных областей генома в ходе старения, предположительно является генетически обусловленным процессом, компонентой глобального механизма деградации клеток стареющих вегетативных органов.

РОЛЬ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ В СОВЕРШЕНСТВОВАНИИ СИСТЕМЫ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ КОСМОНАВТОВ

Бондаренко В.А.¹, Иванов А.А.¹, Новицкая Н.Н.², Снигирева Г.П.²

¹ ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

² ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии»

Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

snigiryova@rncrr.ru

Результаты многочисленных работ свидетельствуют о том, что при длительных полетах под воздействием космического излучения частота хромосомных aberrаций возрастает (Obe et al., 1997, Fedorenko et al., 2001, Greco et al., 2003, Durante et al., 2003, Snigiryova et al. 2012). Хорошо известно, что ионизирующее излучение вызывает образование преимущественно aberrации хромосомного типа, частота которых является объективным показателем дозы излучения. Однако с помощью цитогенетического анализа лимфоцитов крови можно не только определить дозу облучения, но и получить дополнительные сведения о влиянии других факторов космического полета (невесомость, стресс и т.д.) на организм человека. Контроль уровня облучения, который осуществляется во время космического полета с помощью индивидуальных термолюминесцентных дозиметров и стационарного радиометра Р-16 на борту космического корабля, к сожалению, не всегда позволяет получить полную и объективную информацию о степени опасности воздействия космического излучения на организм космонавтов. Результаты цитогенетического анализа могут быть полезны при построении моделей, используемых для оценки рисков на основе физических измерений дозы космического излучения. Наблюдаемое в отдельных случаях несоответствие между результатами физической и биологической дозиметрии может быть связано как с индивидуальной радиочувствительностью, так и с дополнительным воздействием на организм космонавтов модифицирующих факторов нерадиационной природы.

В докладе будут представлены результаты цитогенетического обследования 39 космонавтов, принимавших участие в длительных космических полетах в составе основной экспедиции на Международной Космической Станции (МКС) в период с 2000 по 2015 год. Большинство космонавтов принимали участие в космических экспедициях несколько раз.

Особое внимание будет уделено информативности и значению цитогенетического анализа лимфоцитов периферической крови в системе клинко-физиологического обследования космонавтов.

ИЗУЧЕНИЕ РАДИОМИТИГАТОРНЫХ СВОЙСТВ РЯДА ПРИРОДНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ

*Брусков В.И., Гудков С.В., Иванов В.Е., Карп О.Э., Попова Н.Р., Усачева А.М.,
Шелковская О.В., Черников А.В.*

ФБГУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино,
Московская обл., Россия
bruskov_vi@rambler.ru

Установлена одна из причин продления окислительного стресса после воздействия рентгеновского облучения. Главной мишенью этого воздействия являются молекулы белков. В результате воздействия продуктов радиолиза воды происходит образование долгоживущих окисленных реактивных форм белков, которые после облучения приводят к длительной в течение многих часов генерации активных форм кислорода.

Показана возможность существенной нейтрализации повреждающего воздействия долгоживущих радикалов белка и их пероксидов, длительно генерирующих активные формы кислорода и уменьшение радиационных повреждений, как в модельных системах, так и в организме животных после воздействия ионизирующего облучения с помощью ряда природных биоантиоксидантов. Можно полагать, что этот процесс является одним из механизмов радиомитигаторного и потенциально терапевтического действия исследованных биоантиоксидантов при введении их в организм животных вскоре после облучения.

Целью работы является разработка эффективных терапевтических средств, способных устранять пагубные последствия окислительного стресса, обусловленного воздействием ионизирующего излучения и других экстремальных воздействий на организм. С помощью методов усиленной хемилюминесценции, иммуноферментного анализа, индуцированной ионизирующей радиацией люминесценции белков, флуоресцентных и спектрофотометрических методов в системах *in vitro* проведен отбор наиболее эффективных природных соединений по их антиоксидантному потенциалу.

Объектом исследования были природные биологически активные соединения – дигидрокверцитин (таксифолин), рутин, теofilлин, теобромин, водные растворы нуклеиновых кислот и ряд других соединений. В качестве стандарта для сравнительной эффективности радиомитигаторных свойств использованы растворы рибоксина (инозина), которые дают 50% выживаемость самцов мышей линии Kv:SHK в течение 30 дней после облучения их в летальной дозе 7 Гр и при внутрибрюшинном введении рибоксина в концентрации 30 мг на кг. С помощью микроядерного теста исследована способность данных соединений на процессы репарации двунитевых разрывов ДНК в полиморфоядерных эритроцитах костного мозга мышей в пострadiaционный период и предотвращение окислительных повреждений в белках сыворотки крови.

Отобранные соединения исследованы в тесте на выживаемость мышей после воздействия ионизирующей радиации. Были исследованы также возможности защитного действия данных соединений от токсического комплексного воздействия рентгеновского излучения и ионов уранила, как соединения обладающего способностью к генерации активных форм кислорода, вызывающие отдаленные генотоксические последствия. Установлено, что все отобранные как эффективные антиоксиданты природные вещества обладают как радиопротекторными свойствами при введении их до облучения, так и радиомитигаторными свойствами при введении их в организм мышей вскоре после облучения. Кроме этого они обладают эффективными защитными свойствами от токсического влияния ионов уранила.

Работа поддержана грантом РФФИ и Московской обл. № 14-44-03562-р_центр-а.

ВЛИЯНИЕ СПОНТАННОГО УРОВНЯ γ H2AX НА РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННУЮ ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ В СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

Васильев С.А.^{1,2}, Величевская А.И.², Вишневская Т.В.², Скрыбин А.А.^{1,2}, Беленко А.А.^{1,2}, Агаб А.В.¹, Слепцов А.А.^{1,2}, Грибова О.В.³, Старцева Ж.А.³, Лебедев И.Н.^{1,2}

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томск, Россия

² Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

³ Томский НИИ онкологии, Томск, Россия

stanislav.vasilyev@medgenetics.ru

Фокусы фосфорилированного гистона H2AX (γ H2AX) хорошо известны в качестве маркеров двунитевых разрывов ДНК в клетках человека. Спонтанные фокусы γ H2AX формируются на нерепарированных двунитевых разрывах ДНК, укороченных теломерах и участках с измененной конформацией хроматина. Наличие такого постоянного фокуса γ H2AX в клетке является важным компонентом эпигенетического фона и потенциально может привести к активации системы репарации ДНК. Целью настоящего исследования являлся анализ влияния спонтанного уровня фокусов γ H2AX на радиационно-индуцированный ответ в соматических клетках человека.

Спонтанные фокусы γ H2AX и радиационно-индуцированные микроядра были проанализированы в лимфоцитах периферической крови 54 здоровых людей после воздействия γ -излучения в дозе 2 Гр *in vitro*. Анализ уровня фокусов γ H2AX был осуществлен с помощью иммунофлуоресцентного анализа препаратов, тогда как для оценки частоты микроядер был использован микроядерный тест на цитокинез-блокированных двухъядерных клетках в комбинации с флуоресцентной гибридизацией *in situ* (FISH) с панцентромерными ДНК-зондами. Была обнаружена обратная корреляция между спонтанным уровнем фокусов γ H2AX и частотой центромеро-негативных микроядер после облучения, являющихся маркером потерь ацентрических хромосомных фрагментов ($R = -0,37$, $p = 0,025$). Однако, подобной корреляции не наблюдалось в 18 первичных линиях фибробластов экстраэмбриональной мезодермы человека после воздействия γ -излучением в дозе 1 Гр. Затем был проведен полнотранскриптомный анализ с использованием экспрессионных микрочипов в лимфоцитах периферической крови индивидов из двух групп: 1) с низким спонтанным уровнем фокусов γ H2AX и высокой частотой радиационно-индуцированных микроядер ($n = 3$) и 2) с высоким спонтанным уровнем фокусов γ H2AX и низкой частотой радиационно-индуцированных микроядер ($n = 3$). Между группами были обнаружены дифференциально экспрессирующиеся гены, среди которых наибольшие различия были выявлены для генов *THBS1*, *WHSC1*, *RBFOX2*, *ADAMTS1*. Экспрессия гена *THBS1* оказалась снижена, а экспрессия генов *WHSC1*, *RBFOX2*, *ADAMTS1* – повышена в лимфоцитах радиорезистентных индивидов с высоким спонтанным уровнем фокусов γ H2AX и низкой частотой микроядер. Интересно, что при анализе с помощью ПЦР в реальном времени с помощью TaqMan-зондов в линиях фибробластов экстраэмбриональной мезодермы человека наблюдалась обратная корреляция спонтанного уровня фокусов γ H2AX с экспрессией генов *WHSC1* ($R = -0,73$, $p = 0,005$), *RBFOX2* ($R = -0,58$, $p = 0,037$), *ADAMTS1* ($R = -0,66$, $p = 0,012$). Однако, как и в лимфоцитах, высокая экспрессия этих генов в фибробластах экстраэмбриональной мезодермы была ассоциирована с низкой частотой радиационно-индуцированных микроядер ($R = -0,56$, $p = 0,037$ и $R = -0,63$, $p = 0,016$ для генов *WHSC1* и *ADAMTS1*, соответственно). Это указывает на то, что экспрессия этих генов связана в первую

очередь с эффективностью репарации двунитевых разрывов ДНК после воздействия радиации.

Таким образом, в работе впервые получен профиль дифференциальной экспрессии генов в лимфоцитах периферической крови индивидов с различной радиочувствительностью и спонтанным уровнем фокусов γ H2AX. Это позволило выделить генную сеть, ассоциированную, с одной стороны, с эффективностью репарации двунитевых разрывов ДНК, а с другой – со спонтанным уровнем фокусов γ H2AX. Так, генами, экспрессия которых преимущественно связана с эффективностью репарации ДНК, являются *WHSC1*, *RBFOX2*, *ADAMTS1*. Связь некоторых из выявленных генов, таких как *THBS1*, с радиочувствительностью клеток, уже известна в литературе, тогда как механизмы участия продуктов других генов в определении индивидуальной радиочувствительности еще предстоит выяснить.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 14-04-31867 и стипендии Президента № СП-3647.2015.4.

ФРАГМЕНТЫ ДНК ИЗ ГИБНУЩИХ КЛЕТОК МОЖНО РАССМАТРИВАТЬ КАК МОБИЛЬНЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭЛЕМЕНТЫ, ИНДУЦИРУЮЩИЕ МУТАГЕНЕЗ

Газиев А.И.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, РФ
gaziev.iteb@gmail.com

Миллиарды клеток со структурно-функциональными нарушениями ежедневно подвергаются гибели в тканях человека и других млекопитающих посредством различных механизмов. Столь массовая гибель клеток представляет собой процесс, поддерживающий обновление клеточных популяций в тканях, их функциональную целостность и гомеостаз. При воздействии на организм ионизирующей радиации (ИР) и других повреждающих агентов клеточная гибель в тканях усиливается, а в кровоток поступает значительное количество фрагментов циркулирующей внеклеточной ДНК (вк-ДНК), экзосомы (с грузом микроРНК), другие клеточные структуры и макромолекулы. Многие экспериментальные и клинические исследования показывают, что изменение общего содержания вк-ДНК и ее качественного состава (метилирование, копии мтДНК, микросателлиты, мутантные копии и др.) в плазме/сыворотке или моче происходит при различных заболеваниях и состояниях организма. Вк-ДНК может служить в качестве неинвазивного, диагностического и прогностического биомаркера при перинатальной диагностике, в трансплантационной медицине, при сердечно-сосудистых онкологических заболеваниях. В настоящее время образцы вк-ДНК, получаемые из биологических жидкостей (жидкая биопсия), стали широко использоваться для диагностики опухолей и прогностики в процессе их терапии. При воздействии ИР на организм млекопитающих, как и при радиотерапии опухолей, количество вк-ДНК увеличивается в биологических жидкостях. Тем не менее, несмотря на растущий интерес к этой проблеме в различных клинических областях (особенно в области онкологии и радиологии), существует мало исследований по оценке и роли повышенного поступления фрагментов вк-ДНК, высвобождаемых в результате клеточной гибели, в кровоток, в межклеточное пространство и в клетки организма. Мы еще недостаточно знаем о последствиях на организм, которые появляются с повышением уровня фрагментов вк-ДНК, и которые можно отнести к классу мобильных генетических элементов (МГЭ), способных индуцировать мутагенез и поддерживать нестабильность генома. Из масштабной классической работы Б. Мак Клинток (McClintock B., PNAS USA. 1950) известно, что МГЭ широко распространены в природе. Они играют важную роль в формировании геномов прокариот, архей и эукариот, влияют на их эволюционное преобразование и адаптацию к условиям среды обитания. Наследственная изменчивость, основанная на вставках МГЭ (перемещающихся элементов, транспозонов) в геномы различных организмов, давно доказана многочисленными исследованиями (Хесин Р.Б., «Непостоянство генома», 1984). За последнее время появились достаточно убедительные данные, свидетельствующие о внедрении вк-ДНК в хромосомы нормальных клеток. Как известно, передача фрагмента мтДНК в ядерный геном представляет собой динамический процесс, в результате которого образуется ядерно-митохондриальные псевдогены (numt-псевдогены или numt-вставки). Numt-псевдогены образуют «природную библиотеку» всех предков мтДНК, мигрировавших в ядро, и дают важнейшую информацию по истории эволюции видообразования и популяции.

Ранее проведенные нами исследования показали, что в составе вк-ДНК животных (облученных ИР), содержание копий мтДНК в несколько раз выше, чем

число копий фрагментов ядерной ДНК (ядНК). Удалось экспериментально установить встраивание фрагментов вк-мтДНК депонов ядерный геном тканей эмбрионов кур после их облучения ИР. В настоящее время механизмы интеграции фрагментов вк-ДНК в ядерный геном остаются недостаточно понятными. Однако ясно, что повышенное содержание копий мтДНК в суммарном составе вк-ДНК и появление двунитевых разрывов (ДР) в яДНК облученных животных способствует встраиванию фрагмента мтДНК в ядерный геном. Можно полагать, что репарация ДР в яДНК может происходить с “захватом” фрагмента мтДНК в сайты стыковки концов разрыва, по механизму негомологичного соединения концов разрыва, а также - путем вовлечения микрогомолгий, располагающихся на концевых последовательностях. Возможно, интеграция мтДНК в яДНК может происходить преимущественно в открытых регионах хроматина. Следует отметить, описан синдром человека, возникший в результате вставки фрагмента мтДНК депово в ядерный геном. Мутация закрепилась в результате радиационного воздействия. Установлено также, что со старением организма увеличивается количество вставок мтДНК в ядерный геном. Для различных опухолевых клеток характерно повышенное содержание numt-вставок в ядерном геноме. Анализ литературы позволяет полагать, что частота “захвата” фрагментов вк-ДНК ядерным геномом будет зависеть от темпов возникновения ДР в яДНК, активности систем их репарации, а также от количества мигрирующих фрагментов мтДНК или яДНК в ядро. Такая ситуация, способствующая интеграции фрагментов вк-ДНК в ядерный геном, возникает после воздействия на организм повреждающих агентов, в первую очередь ИР. Согласно данным (Mittra et al, 2015), фрагментированные образцы вк-яДНК и вк-хроматина, выделенных из крови онкологических пациентов и здоровых добровольцев, инкубировали с различными клетками мышей. Обнаружили, что фрагменты вк-ДНК и вк-хроматина ассоциируются с хромосомами клеток мышей. В них происходит активация ответа на повреждение ДНК и ее репарацию (с индукцией γ -H2AX фокусов). Эти процессы сопровождаются встраиванием фрагментов вк-ДНК человека в геномы клеток мышей. При внутривенном введении мышам вк-ДНК и вк-хроматина человека обнаруживается интеграция фрагментов ДНК человека в геномах клеток жизненно важных органов мышей. Также установлено, что при инкубации мышинных клеток NIH-3T3 с плазмой (содержащих вк-ДНК) больных раком толстой кишки, клетки подверглись онкогенной трансформации с интеграцией в ядерный геном фрагментов вк-ДНК из плазмы пациента. Имеются также указания на локализации последовательностей ДНК бактерий в геноме здоровых людей и, в большей степени, в клетках опухолей человека. Однако эти сведения нуждаются в серьезной проверке, возможно, что в этом случае авторы регистрируют numt-псевдогены, которых в хромосомах человека более 700 вставок. Поскольку, согласно общепринятой теории, мтДНК представляет собой остатки генома древних α -протеобактерий.

Таким образом, фрагменты вк-ДНК, высвобождаемые в результате клеточной гибели, можно рассматривать как потенциальные мобильные генетические элементы, которые могут играть роль внутреннего инициатора мутагенеза ядерного генома здоровых клеток в тканях организма, способствуя тем самым нестабильности генома. Становится очевидным, что интеграция новых фрагментов вк-ДНК изменяет не только структуру генома на участках их внедрения, но и может оказать существенное влияние на реализацию генетической информации. Мутагенез и нестабильность генома, инициируемые в результате интеграции собственных фрагментов вк-ДНК в геномы клеток, могут приводить к развитию онкогенеза, ускоренному старению, возникновению различных патологий и резкому повышению заболеваемости всего организма.

ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА БОЛЕЗНЕУСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ В 30-КМ ЗОНЕ ОТЧУЖДЕНИЯ ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС

Дмитриев А.П., Гуца Н.И., Дяченко А.И., Гродзинский Д.М.

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, Киев

dmyt@voliacable.com

Комбинированное действие радиационного и биотического стресса на растения представляет потенциальную опасность для окружающей среды, по крайней мере, по двум причинам. Во-первых, малые дозы ионизирующего излучения могут снижать фитоиммунный потенциал растений и, следовательно, способность растений противостоять инфекции. Во-вторых, могут выступать в роли мутагенного фактора и вызывать усиление процессов расообразования, что приведет к возникновению новых клонов в популяциях фитопатогенных микроорганизмов.

После аварии на ЧАЭС можно было ожидать существенного возрастания темпов радиационного мутагенеза, прежде всего, в популяциях возбудителей болезней растений, которые характеризуются высокими темпами репродукции. Среди них фитопатогенные грибы вызывают наиболее вредоносные заболевания культурных растений. Ранее нами было показано, что под действием малых доз хронического облучения могут происходить изменения агрессивности фитопатогенных грибов.

Цель работы состояла в изучении влияния ионизирующего излучения на болезнеустойчивость культурных растений и анализе изменений расового состава возбудителя стеблевой ржавчины *Puccinia graminis* в 30-км зоне отчуждения ЧАЭС.

Объектом исследований служили семена и растения трех районированных в зоне Украинского Полесья сортов пшеницы (*Triticum aestivum* L.) – Мироновская 808, Полесская 70, Киянка), ржи (*Secale cereale* L.) сорта Саратовская, а также двух линий кукурузы (*Zea mays* L.) – исходной (W64A +/+) и высоколизиновой *opaque*-мутантной формы (W64A o2/o2), для которой характерна повышенная чувствительность к действию стрессовых факторов. Семена, собранные в зоне отчуждения, и контрольные (не загрязненные радионуклидами), высевали в чистую, не загрязненную радионуклидами почву в теплице. В условиях вегетационных опытов оценивали уровень естественной пораженности возбудителем мучнистой росы (*Erysiphe graminis*) проростков пшеницы, выращенных из семян, собранных в зоне ЧАЭС, и контрольных проростков. В следующей серии экспериментов проростки трех сортов пшеницы, выращенные из семян, собранных в зоне ЧАЭС, опрыскивали на стадии второго листа суспензией спор бурой ржавчины (*Puccinia triticana*) и анализировали пораженность при искусственном инфицировании.

Вторая часть работы была проведена в полевых условиях. В 10- и 30-км зоне отчуждения ЧАЭС были заложены экспериментальные участки, на которых изучали влияние радиационного и биотического стресса на иммунный потенциал культурных растений, а также оценивали изменения вирулентности и агрессивности фитопатогенных грибов. Были выбраны участки, сходные между собой по почвенным характеристикам, но различающиеся по уровню радионуклидного загрязнения. Контрольные (не загрязненные радионуклидами) семена пшеницы и ржи высаживали на этих участках, искусственно инфицировали выросшие растения в начале фазы молочной спелости суспензией спор бурой ржавчины (10^4 спор/мл) и проводили анализ развития болезни через 5 и 10 дней после заражения. Параллельно высаживали две линии кукурузы (*Zea mays* L.) – для оценки влияния ионизирующего излучения.

В результате вегетационных опытов по определению уровня естественной пораженности у растений, выращенных из семян, собранных в зоне ЧАЭС, было

обнаружено, что ионизирующее облучение приводило к снижению болезнеустойчивости растений. Анализ естественной пораженности вегетирующих растений трех сортов пшеницы (Мироновская 808, Полесская 70 и Киянка) мучнистой росой показал, что степень развития болезни у растений, выращенных из семян, собранных в зоне ЧАЭС, оказалась в 1,5–2,0 раза выше, чем у растений, выращенных из контрольных семян.

Данные о снижении болезнеустойчивости растений пшеницы под действием радиационного стресса получены в условиях вегетационных опытов и при искусственном инфицировании другим патогеном – возбудителем бурой ржавчины *P. tritricana*. Пораженность проростков пшеницы, выращенных из семян, собранных в зоне ЧАЭС, у трех сортов пшеницы, искусственно зараженных спорами бурой ржавчины, была выше, чем у контрольных проростков. Так, у сорта Киянка пораженность бурой ржавчиной была почти в 1.5 раза выше, чем у проростков, полученных из необлученных семян (Бровары, Киев).

Для выявления изменений болезнеустойчивости растений в условиях внешнего и внутреннего ионизирующего излучения контрольные (не загрязненные радионуклидами) семена пшеницы сорта Киянка высевали на экспериментальных участках в зоне ЧАЭС с разными уровнями радионуклидного загрязнения. Оказалось, что через 5 и 10 дней после искусственного заражения *P. tritricana* наблюдается усиление пораженности и степени развития болезни у растений, выросших на более загрязненных участках.

Обнаруженные различия в степени развития болезни у пшеницы обусловлены, по-видимому, различиями в дозе поглощенной ионизирующей радиации. Так, доза внешнего облучения растений на наиболее загрязненном участке 3 была в 27 раз выше, чем на участке 1. Вместе с тем, судя по удельной активности растительной массы, доза внутреннего облучения растений, выросших на участке 3, была на два порядка выше, чем у растений на участке 1.

Мы попытались выяснить биохимическую природу снижения болезнеустойчивости растений под действием малых доз и начали с анализа ингибиторов протеиназ, поскольку в листьях и семенах некоторых растений содержатся, как известно, ингибиторы ферментов фитопатогенных грибов, в частности, протеолитических, которые патоген использует для расщепления белков растения–хозяина.

Три сорта озимой пшеницы, рожь и кукурузу выращивали на участках в зоне ЧАЭС (поглощенная доза за вегетацию составляла для пшеницы и ржи 7–8 сГр, для кукурузы 3 сГр). Полученные данные свидетельствуют, что под влиянием малых доз хронического облучения происходит снижение активности растительных ингибиторов протеиназ (трипсина, химотрипсина и субтилизина). Так, в зерне пшеницы и ржи их активность снижалась на 15–60% по сравнению с контролем. Известно, что ингибиторы протеиназ образуют устойчивые комплексы с протеолитическими ферментами фитопатогенных грибов, в результате чего последние теряют свою активность.

Снижение активности ингибиторов протеиназ могло быть причиной снижения болезнеустойчивости растений в условиях хронического облучения. Это предположение подтвердилось в опытах с высоколизиновой мутантной формой кукурузы (несущей ген *opaque-2*), отличающейся повышенной чувствительностью к действию ряда стрессовых факторов.

Существенные различия в угнетении активности ингибиторов протеиназ под действием хронического облучения регистрировали после 30 дней созревания

зерновок. И если активность ингибиторов трипсина, химотрипсина и субтилизина на 50-й день созревания в зерновках обычной кукурузы в зоне ЧАЭС снижалась в 1,5 раза, то у мутантной формы с геном *opaque-2* активность этих ингибиторов снижалась в 3–4 раза по сравнению с контролем (растения на чистой почве).

Полученные результаты свидетельствуют о высокой чувствительности растений кукурузы, содержащих ген *opaque-2*, к действию малых доз облучения. Эту мутантную форму кукурузы, по аналогии с *waхu*-мутацией ячменя, можно рассматривать как перспективную тест-систему для оценки действия малых доз биотических и абиотических стрессов.

Таким образом, результаты, полученные независимо в условиях вегетационных опытов и на полевых стационарах в зоне ЧАЭС, свидетельствуют о том, что малые дозы ионизирующего облучения снижают болезнеустойчивость ряда культурных растений.

Под действием малых доз хронического облучения у фитопатогенных грибов могут происходить различные изменения, в том числе изменения их вирулентности и агрессивности. В результате мутаций, рекомбинаций, притока мигрантов из других популяций могут возникать новые гены или их комбинации. В связи с этим, была изучена структура обитающей в зоне ЧАЭС популяции гриба *P. graminis* Pers., возбудителя стеблевой ржавчины злаков, который развивается на культурных видах (пшенице, ржи, ячмене, овсе) и относится к числу весьма вредоносных патогенов. Болезнь широко распространена, в том числе в России и Украине, и вызывает в отдельные годы значительные (до 20–35%) потери урожая.

Стеблевая ржавчина была выявлена на 12 видах злаков в 30-км зоне ЧАЭС. Из образцов стеблевой ржавчины, собранных на экспериментальных участках, выделено 642 монопустульных клона, среди которых на сортах-дифференциаторах пшеницы выявлены 9 физиологических рас патогена, а именно: 11, 21, 34, 40, 100, 189, 3к, а также раса, условно названная нами “Х”, характеристики которой нет в Европейском регистре рас.

Таким образом, ареал и частота встречаемости стеблевой ржавчины, а также пораженность многих видов злаков свидетельствуют о том, что на территории 30-км зоны ЧАЭС происходят активные формо- и расообразовательные процессы. Под влиянием малых доз ионизирующего облучения и при наличии большого количества инфекционного начала возникают “новые” популяции *P. graminis*, которые характеризуются высокой частотой встречаемости более вирулентных клонов.

Результаты, полученные независимо в условиях вегетационных опытов и на полевых стационарах в 30-км зоне ЧАЭС, свидетельствуют о влиянии ионизирующего излучения на взаимодействия в системе патоген–растение и необходимости проведения мониторинга над микроэволюционными процессами у растений и их патогенов в условиях техногенных аварий.

ИНДУКЦИЯ МУТАЦИЙ В ПОЛОВЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА И МЫШЕЙ

Дуброва Ю.Е.

Кафедра генетики Университета г. Лестер, Великобритания

yed2@le.ac.uk

Воздействие мутагенов приводит к увеличению частоты возникновения мутаций в соматических и половых клетках человека. Если индукция мутаций в соматических клетках приводит к развитию онкологических заболеваний, то возрастание частоты возникновения мутаций в половых клетках может привести к увеличению груза наследственной патологии среди потомков. Иными словами, воздействие мутагенов следует рассматривать в качестве серьезного фактора риска развития патологии, всестороннее изучение которого в настоящее время приобрело особую актуальность. Это в первую очередь связано с тем, что за последние десятилетия резко возросло число людей, подвергнувшихся воздействию мутагенов.

В докладе будет дан обзор ряда публикаций, посвященных изучению индукции мутаций в половых клетках человека и мышей. Особое внимание будет уделено сопоставлению результатов работ, в которых изучалась индукция мутаций в половых клетках мышей. В докладе также будут представлены результаты недавних исследований радиационно-индуцированных мутаций в половых клетках мышей, выполненных на уровне генома с применением методов сиквенирования ДНК нового поколения и сравнительной геномной гибридизации.

ОБЛУЧЕНИЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА ВЛИЯЕТ НА ЧИСЛО КОПИЙ мтДНК И ЕЕ ТРАНСКРИПТОВ В НЕОБЛУЧЕННЫХ ТКАНЯХ МЫШЕЙ

Евдокимовский Э.В., Абдуллаев С.А., Митрошина И.Ю., Губина Н.Е.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия
evdokimovskyew@gmail.com

На сегодняшний день устоявшейся парадигмой в радиобиологии является то, что биологические эффекты в облученных клетках образуются при прямом попадании в эти клетки высокоэнергетических частиц, повреждающих внутриклеточные структуры. Однако к настоящему моменту эта парадигма поколеблена, в том числе и тем, что существуют и так называемые немишенные эффекты, проявляющиеся в клетках которые не были облучены напрямую. Такие явления получили прочно закрепившееся название «эффект свидетеля» (ЭС). В настоящий момент известно уже многое о механизмах передачи и развития этого эффекта. Однако большинство исследователей изучают данный эффект *in vitro*, в то время как на уровне целого организма «эффект свидетеля» изучен слабо. Важность такого рода исследований обусловлена необходимостью оценки риска последствий радиационного воздействия и разработки более эффективных методов радиотерапии.

Для изучения эффекта свидетеля *in vivo* мы подвергали мышей локальному облучению головы рентгеновским излучением в дозе 5 Гр, при этом необлученная часть тела мышей защищалась свинцовым экраном. При выполнении этого исследования были получены новые данные о «эффекте свидетеля» в животных, подвергшихся локальному облучению головы. Установлено, что ядродержащих клетках крови, после облучения повышается относительное количество транскриптов митохондриального гена АТР6 на протяжении 14 дней с момента облучения. Установлено, что в гранулоцитах этот эффект выражен намного сильнее, чем в моноцитах. В эти же самые сроки, количество митохондриальной ДНК в ядродержащих клетках крови снижается относительно контрольного уровня в 2-3 раза. В головном мозге, подвергшемся облучению, также наблюдается увеличение относительного количества транскриптов мтДНК примерно в 3 раза, по сравнению с контролем. В органах, не подвергшихся облучению (сердце, печень, селезенка), наблюдается такой же эффект, что и в головном мозге, а именно, увеличение относительного количества транскриптов мтДНК. Число копий самой мтДНК в клетках головного мозга, после резкого повышения через сутки после облучения, резко снижается и остается таким до самого окончания эксперимента, через 30 дней. В клетках печени и сердца происходит противоположный процесс, а именно, значительное увеличение числа копий мтДНК, с максимумом на 14-21 день с момента облучения. Через 30 дней после облучения, число копий мтДНК в этих тканях возвращается к контрольному значению. Таким образом, полученные результаты говорят о том, что в клетках органов мышей, не подвергавшихся непосредственному воздействию рентгеновского излучения, наблюдаются значительные изменения копийности как самой мтДНК, так и относительное число транскриптов ее гена – АТР6. Эти изменения сохраняются на протяжении значительного срока после облучения, вплоть до трех недель, что позволяет говорить о том, что локальное рентгеновское облучение головного мозга в дозе 5 Гр, вызывает достоверные изменения числа копий мтДНК и ее транскриптов в необлученных тканях и органах на протяжении до трех недель с момента облучения.

ДЕЙСТВИЕ МАЛЫХ ДОЗ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ И ФЕНОЗАНА НА СТРУКТУРУ ДНК И МЕМБРАН КЛЕТОК МЫШЕЙ

Жижина Г.П., Заварыкина Т.М., Фаткуллина Л.Д., Голощапов А.Н., Бурлакова Е.Б.

Институт биохимической физики РАН, Москва, Россия

zhizhina@sky.chph.ras.ru

Хроническое действие малых доз ионизирующей радиации (ИР) низкой интенсивности на биологические объекты приобрело в настоящее время большую социальную значимость. Это придало значительный импульс научным исследованиям биологических эффектов и механизмов такого воздействия. Последний период развития радиобиологии характеризуется активными исследованиями действия ионизирующей радиации (ИР) низкой интенсивности в малых дозах – молекулярных механизмов, биологических эффектов и отдаленных последствий таких воздействий. Эта проблема стала особенно актуальной после аварии на ЧАЭС в 1986 году, а также из-за локальных повышений радиационного фона вследствие других техногенных радиоактивных загрязнений.

Малая доза ионизирующей радиации – это доза, соответствующая пролету одной частицы (кванта) излучения через заданную мишень (клетку или ядро). В результате облучения образуются свободные радикалы молекул воды и молекулярных компонентов клеток. Биологические эффекты действия ИР в малых дозах имеют стохастический характер, в то время как для больших доз они являются детерминированными. Малыми дозами считают интервал между дозами естественного радиационного фона (0,01 мЗв/сут) и 0,1-0,2 Зв. Однако верхняя граница этого интервала весьма условна: многие исследователи полагают верхним пределом дозу 0,5 Зв или выше.

Изучение действия низкоинтенсивной радиации в малых дозах на геном и мембраны клеток показало, что оно вызывает их повреждения, изменение экспрессии различных генов, метаболической активности клеток, их движения по циклу, индукции апоптоза. Зависимости доза-эффект для ИР в малых дозах по многим показателям имеют немонотонный полимодальный характер и масштаб изменений структурных характеристик макромолекул, сравнимый с масштабом изменений, вызванных облучением в дозах на порядок выше.

Основными повреждениями генома клетки под действием ИР в малых дозах считаются, как и в области больших доз, двунитевые разрывы (ДР) и однострунные разрывы (ОР) ДНК, модификация оснований (окислительное повреждение или отщепление), кластерные повреждения нитей ДНК, ее конформационные модификации, инверсии генов. Однако функциональные последствия этих повреждений (изменения активности генов, индукция репаративных процессов или апоптоза, адаптивный ответ) отличаются от результатов действия радиации в больших дозах, о чем свидетельствуют данные, полученные на культурах клеток и реже при облучении животных.

Целью нашей работы явилось исследование структурных характеристик ДНК и мембран клеток мышей, подвергнутых низкоинтенсивному облучению в малых дозах, и влияние антиоксиданта фенозана, обладающего радиозащитным действием. Фенозан (3,5-дитретбутил - бензойной кислоты К соль), синтезированный в ИБХФ РАН, принадлежит к этому классу соединений и проявляет АО свойства даже в сверхнизких концентрациях.

При облучении мышей-гибридов F1(CBAxС₅₇Bl) показано изменение их антиоксидантного (АО) статуса, а также биофизических свойств мембран

(микровязкости) и ДНК селезенки (адсорбции на нитроцеллюлозных фильтрах). Величина адсорбции ДНК на нитроцеллюлозе (НЦ) зависит от конформационного состояния макромолекул ДНК, отличаясь для эухроматина и гетерохроматина. Дозовая зависимость величины адсорбции ДНК на НЦ фильтрах имеет экстремальный характер в указанном интервале доз облучения с максимумом при 0,25 сГр для 0,06 сГр/сут; 1,2 сГр для 0,6 сГр/сут; и 6,0 сГр при мощности дозы 6,0 сГр/сут. Величина возрастания адсорбции на единицу дозы (1 сГр) оказалась обратно пропорциональной мощности дозы. Вероятно, при облучении мышей в малых дозах ИР характер дозовых кривых адсорбции ДНК, зависящей от степени конденсации хроматина в клетках, обусловлен изменением конформации хроматина и его функционального состояния под действием облучения, изменением топологии ДНК *in vivo* и структурной перестройкой генома, обнаруженным и другими авторами (Falk M, 2008).

Двунитевые разрывы ДНК считаются наиболее важными первичными радиационными повреждениями структуры ДНК, поскольку они могут индуцировать делеции ДНК, разрывы и транслокации хромосом, а также другие цитогенетические повреждения клетки. Мы измеряли количество ДР ДНК селезенки мышей линии F1, индуцированных γ -излучением в интервале доз 0,06–60 сГр низкой интенсивности, используя метод стандартного электрофореза в постоянном поле. Также обнаружен нелинейный характер дозовых зависимостей образования ДР ДНК. Отметим, что изменения, полученные при дозе 6 сГр, сопоставимы с изменением структурных характеристик макромолекул при дозах в 20-30 раз более высоких.

Низкоинтенсивное γ -облучение стимулирует окислительный стресс, интенсифицируя параметры пероксидного окисления липидов (ПОЛ) в крови и нарушение структурной организации мембран клеток крови, печени и мозга мышей. Изучая структурное состояние липидов ядерных мембран методом ЭПР, мы обнаружили, что микровязкость изменяется экстремально с дозой облучения, причем дозовые зависимости подобны таковым, полученным для адсорбции ДНК, но с некоторым сдвигом максимумов в сторону больших доз (2,4-12 сГр). Общей закономерностью дозовых зависимостей ДНК и мембран явилось также смещение максимума в область более низких доз при уменьшении интенсивности облучения. Обращает на себя внимание сравнимый масштаб структурных сдвигов, происходящих в ДНК и мембранах под влиянием столь малых доз облучения низкой интенсивности.

Установленное в настоящее время молекулярное проявление действия ИР в малых дозах – возникновение в организме животных состояния окислительного стресса – указывает на возможность предотвращения этого состояния путем введения антиоксидантов (АО). Защитное действие фенозана было показано по интенсивности процессов окисления липидов при пролонгированном облучении мышей в дозе 15 сГр и введении препарата как до, так и после облучения.

Изменения биохимических и биофизических характеристик в организме мышей линии F1(СВАхС₅₇В1) под действием фенозана в концентрации 10^{-14} и 10^{-4} моль/кг изучали через 2 и 30 суток после его четырехкратного введения. Повышение адсорбции ДНК на НЦ фильтрах, характеризующей компактизацию макромолекул, под действием фенозана наблюдалось у обеих концентраций АО на 2-е сутки и вызывало ее повышение на 25% при 10^{-14} и 45% при 10^{-4} моль/кг. Облучение мышей F1 в дозе 1,2 сГр после введения фенозана оказывало понижающее действие на величину адсорбции ДНК до 1,3 относительно интактного контроля. Облучение мышей после введения фенозана в концентрациях 10^{-14} и 10^{-4} моль/кг не приводило к образованию ДР ДНК. Таким образом, малые дозы ИР вызывают структурные изменения ДНК клеток мышей, а фенозан в указанных дозах препятствовал их появлению.

В этих экспериментах были исследованы также параметры ПОЛ эритроцитов и структурные характеристики мембран эритроцитов и микросом клеток печени до и после введения фенозана и облучения мышей F1(СВАхС₅₇Вl) в дозе 1,2 сГр (0,6 сГр/сут). Введение фенозана контрольным животным снижало степень гемолиза эритроцитов в среднем на 20% и содержание малонового диальдегида (МДА) в эритроцитах, что указывает на торможение фенозаном процесса пероксидного окисления липидов в организме. Что касается влияния этого АО на структурное состояние липидной фазы и прибелковых липидов мембран у мышей линии F1, было обнаружено повышение микровязкости липидного бислоя эритроцитарных мембран мышей на 20-30% и, напротив, повышение микровязкости мембран микросом клеток печени для обеих доз фенозана. При этом увеличение этого показателя во всех мембранах более выражено в случае применения фенозана в дозе 10⁻⁴ моль/кг.

Введение фенозана перед облучением мышей F1 в дозе 1,2 сГр нейтрализовало на 20-30% повреждающее действие ИР на микровязкость мембран эритроцитов и прибелковых липидов микросом печени, а также на содержание МДА в эритроцитах. Получены однонаправленные изменения для обеих доз фенозана, причем доза 10⁻¹⁴ моль/кг вызывала больший эффект, чем доза 10⁻⁴ моль/кг. Введение фенозана перед облучением в дозах 1,2 сГр (0,6 сГр/сут) замедляло процесс ПОЛ в организме животных.

Таким образом, фенозан проявляет антиоксидантные свойства и способность защищать организм от окислительного стресса, вызванного низкоинтенсивным облучением. Обнаружение радиозащитных свойств фенозана даже в сверхнизких концентрациях (10⁻¹⁴ моль/кг) при облучении мышей в малых дозах важно для поиска профилактических защитных средств для людей, проживающих в регионах с повышенным радиационным фоном. Полученные результаты могут иметь практическое значение для применения малых доз антиоксидантов в качестве профилактических препаратов, нормализующих клеточный метаболизм.

РЕЗУЛЬТАТЫ ДЛИТЕЛЬНОГО МОНИТОРИНГА ЧАСТОТЫ ГЕННЫХ МУТАЦИЙ ПО ЛОКУСУ Т-КЛЕТОЧНОГО РЕЦЕПТОРА В РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУППАХ ЖИТЕЛЕЙ РАДИАЦИОННО ЗАГРЯЗНЕННЫХ ТЕРРИТОРИЙ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Замулаева И.А., Смирнова С.Г., Орлова Н.В.

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Минздрава России, Обнинск, Калужская обл., Россия
zamuлаeva@mail.ru

Целью работы является оценка уровня соматического мутагенеза по частоте лимфоцитов, несущих мутации по локусу Т-клеточного рецептора (TCR), при низкоинтенсивном радиационном воздействии на организм человека в зависимости от стадии онтогенеза и возраста. Группу исследования составили 790 лиц, проживающих в радиационно загрязненных районах Брянской, Калужской, Орловской и Тульской областей и обследованных нами в 2001-2004 и 2014 годах. Средняя плотность загрязнения по ^{137}Cs варьировала в обследованных районах от 20 до 555 кБк/м².

Группа контроля включала 455 здоровых лиц, не подвергавшихся зарегистрированным генотоксическим воздействиям вследствие проживания на загрязненной радионуклидами территории, участия в ликвидации радиационных аварий или профессиональной вредности (в основном жители г. Обнинск, являющиеся донорами крови или сотрудниками МРНЦ им. А.Ф. Цыба). Частоту TCR-мутантных клеток определяли с помощью проточной цитометрии как соотношение числа CD3⁺ HLA-DR⁺ лимфоцитов среди CD4⁺ Т-хелперов. Критерием повышенной частоты TCR-мутантных клеток на индивидуальном уровне считали превышение возрастной нормы этого показателя (95% доверительного интервала, установленного в контрольной группе с учетом возрастной зависимости).

Средняя частота TCR-мутантных клеток в общей группе жителей загрязненных территорий, обследованных в 2014 году, статистически значимо не отличалась от таковой в группе контрольных лиц сходного возраста: $3,8 \cdot 10^{-4}$ vs $3,5 \cdot 10^{-4}$, соответственно ($p=0,84$). Однако после разделения обследованных лиц на 3 группы в зависимости от возраста в момент начала облучения оказалось, что средняя частота TCR-мутантных клеток у лиц, подвергшихся облучению *in utero*, выше в 1,6 раза, чем в контрольной группе ($p=0,04$). Доля лиц с повышенной частотой мутантных клеток среди пренатально облученных жителей достигала 23,8%, что примерно в 4 раза больше, чем в контрольной группе ($p=0,04$). Доля лиц с повышенной частотой TCR-мутантных клеток в группе «0-17 лет в момент начала облучения» была примерно в 2 раза выше, чем в контроле, но это различие не было статистически значимым (8,0% vs 4,3%, соответственно, $p=0,33$). В последней возрастной группе «18 и более лет в момент начала облучения» не удалось зарегистрировать различий по сравнению с контролем ни по средней групповой частоте TCR-мутантных клеток, ни по доле лиц с повышенной частотой этих клеток.

Сходные результаты были получены нами при обследовании жителей загрязненных радионуклидами районов в 2001-2004 годах. Повышение частоты TCR-мутантных клеток было наиболее выражено, если радиационное воздействие начиналось на пренатальной стадии. Средняя частота мутантных клеток в этом случае была в 1,5 раза выше, чем в группе соответствующего возрастного контроля ($p<0,05$). Менее выраженное увеличение частоты мутантных клеток наблюдалось в группе лиц в возрасте 0-14 лет в момент начала облучения: по сравнению с контролем в 1,3 раза

($p < 0,05$). В исследовании 2014 года различия существовали только на уровне тенденции, что может быть связано с более старшим составом группы на момент начала облучения (0-17 лет). Лица старше 18 лет в момент начала облучения не отличались статистически значимо от контроля по частоте мутантных клеток как в исследовании 2001-2004 годов, так и в последнем исследовании 2014 года. Важно отметить, что доля лиц с повышенной частотой TCR-мутантных клеток была статистически значимо выше среди жителей более загрязненных территорий (плотность по ^{137}Cs более 100 кБк/м^2) по сравнению с таковой на менее загрязненных территориях ($p = 0,03$).

Таким образом, возрастные закономерности соматического мутагенеза, установленные спустя 15-18 лет после аварии на ЧАЭС, в целом сохраняются и в более поздние сроки (спустя 28 лет). Полученные результаты обосновывают необходимость дальнейшего генетического мониторинга жителей загрязненных радионуклидами территорий, особенно тех лиц, которые подвергались облучению *in utero*, в детском или подростковом возрасте.

МОДИФИКАЦИЯ ПРИРОДНЫМИ АНТИМУТАГЕНАМИ- АНТИКАНЦЕРОГЕНАМИ ДЕЙСТВИЯ РАДИАЦИИ НА ОСНОВЕ ИЗУЧЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ МИКРОРНК И ГЕНОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ КЛЕТОЧНЫЙ ГОМЕОСТАЗ

Засухина Г.Д.¹, Михайлов В.Ф.², Васильева И.М.¹, Шуленина Л.В.², Старцев М.И.²

¹Федеральное Государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им.Н.И.Вавилова РАН, Москва, Россия

²Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

К природным антимутагенам, большинство которых обладают и антиканцерогенными свойствами, относятся растительные препараты (экстракты различных компонентов растений, в том числе пептиды), витамины, цитокины, аминокислоты. Антимутагены-антиканцерогены характеризуются многофакторностью действия, модифицируя трансмембранный перенос, процессы метаболизма, перехватывая свободные радикалы (антиоксидантная активность), ингибируя клеточную пролиферацию, стимулируя безошибочные пути восстановления спонтанных и индуцированных повреждений ДНК и т.п. Антимутагены-антиканцерогены оказывают влияние на транскрипцию генов, которые могут контролировать эпигенетические механизмы их экспрессии, не связанные с изменением первичной структуры ДНК. К эпигенетическим факторам относятся метилирование ДНК и РНК, микроРНК, модификация гистонов, геномный импринтинг.

Ранее нами было показано, что предобработка клеток человека ретинолом, чесночным экстрактом и синтетическим антимутагеном – краун-соединением (C₁₈H₂₆N₂O₇), синтезированным в Центре фотохимии РАН (М.В.Алфимов, С.П.Громов), снижал повреждающее действие ионизирующей радиации и хлорида кадмия в клетках крови здоровых доноров, в перевиваемых клетках человека (линия RD) и в клетках, полученных от пациентов с репаративно-дефектными заболеваниями, характеризующимися неспособностью восстанавливать гамма – и CdCl₂ – индуцированные повреждения ДНК: клетки прогерии, гомотистинурии, синдромов Элерса-Данло, Дауна (Г.Д.Засухина, 2011). Однако в клетках синдрома Дауна адаптивный ответ (воздействие малых доз радиации с последующим, через 4 часа, действием повреждающих доз мутагенов) не формируется. Следовательно, защита клеток человека от действия радиации при адаптивном ответе и при применении антимутагенов осуществляется разными путями. Нами было показано, что β-пуротионин, выделенный из проростков пшеницы, обладал антимутагенными свойствами, связанными, в том числе, и с антиоксидантной активностью (Т.И.Одинцова, Г.Д.Засухина и др., 2011, Г.Д.Засухина и др., 2013. и др.). Предобработка этим препаратом клеток человека приводило к изменению экспрессии ряда генов, контролирующих клеточный гомеостаз (P53 и др.), которые оказывали влияние на каскад процессов в клетках (Г.Д.Засухина и др., 2015). Уровни экспрессии этого же спектра генов менялась также при предобработке клеток человека тионином, выделенным из семян тмина черного (*Nigella sativa*). При этом было показано, что тионин из тмина обладает цитотоксическими свойствами в злокачественных клетках RD и Jukart (Т-лимфоидные клетки человека), не оказывая влияния на нормальные клетки. Кроме того, тионин снижал экспрессию генов и микроРНК, принимающих участие в процессах превращения нормальных клеток в злокачественные.

Наиболее эффективный путь изучения препаратов, снижающих повреждающее действие радиации – это изучение клеток, контрастирующих по критерию

устойчивость/чувствительность к облучению. Исходя из этого нами были исследованы в сравнительном аспекте радиочувствительные клетки пациентов с синдромом Дауна (31 человек) и клетки здоровых доноров (41 человек) по ряду критериев: полиморфизму генов, контролирующим клеточный гомеостаз (семейство генов детоксикации, репарации, P53 и др.). Были выявлены четкие различия по частоте встречаемости этих генов в опытных и контрольных группах.

К отдаленным последствиям действия радиации также относятся лейкозы, а синдром Дауна характеризуется высоким уровнем развития лейкозов (в 20 раз выше частоты в контрольной популяции). По этой причине клетки пациентов с синдромом Дауна могут служить моделью для изучения детерминант наследственной предрасположенности к лейкозам, а антимуагены-антиканцерогены могут рассматриваться в качестве препаратов снижающих как повреждающее действие радиации, так и риск развития онкогенеза. Исследование уровней экспрессии генов-супрессоров (P53, ARF, NPM1) в клетках пациентов с синдромом Дауна выявило их ингибирование, тогда как экспрессия генов-онкогенов (kRas), была резко повышена по сравнению с аналогичными показателями в клетках здоровых доноров. В клетках пациентов с синдромом Дауна был значительно повышен уровень экспрессии генов семейства матриксных металлопротеиназ MMP (MMP-8, MMP-9, MMP-13 в 3-10 раз), играющих роль в отдаленных последствиях действия радиации (токсикозы, опухоли, метастазирование и т.п.) Нами были получены данные об изменении уровнях экспрессии генов DYRK1A (ключевого гена при синдроме Дауна) и микроРНК-1246 при облучении дозой 3Гр. Уровень экспрессии микроРНК-1246 увеличивался более, чем на два порядка, а DYRK1A – в 3 раза. Этот путь изменений можно представить как: P53→микроРНК-1246 - DYRK1A – NFAT 9L/Liao et.al.,2012).

В настоящее время нами изучается модифицирующее действие тиокинона, являющегося компонентом тмина черного, по критерию снижения повреждающего действия радиации и влияния на гены и микроРНК, контролирующие процессы выживаемости клеток и онкогенеза. Предварительные данные показали, что тиокинон в 3 раза снижал повреждающее действие радиации (10Гр) по критерию выживаемости Т-лимфоидной линии клеток человека в условиях обработки клеток после облучения. Кроме того, проводится сравнение спектра генов и микроРНК по уровням экспрессии при адаптивном ответе (предварительном облучении дозой 0,1Гр с последующим, через 4 часа, воздействием дозой 10Гр.). Таким образом, можно констатировать, что компоненты некоторых растений, обладающие антимуагенными-антиканцерогенными свойствами, оказывают влияние на гены, контролирующие клеточный гомеостаз и микроРНК, как их регуляторы и могут быть в дальнейшем использованы в профилактических и лечебных целях при радиационных воздействиях и при наследственной предрасположенности индивида к онкогенезу.

ОТВЕТ ТИОЛДИСУЛЬФИДНОЙ СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОНА НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС ПРИ ДЕЙСТВИИ РАДИАЦИИ НИЗКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ И КУРЕНИИ.

Иваненко Г.Ф., Бурлакова Е.Б.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля РАН, 119334 Москва, ул. Косыгина, 4
E-mail: galiv@sky.chph.ras.ru; galiv 03@rambler.ru

Полагают, что разнообразные по своей природе внешние факторы при действии на организм животных и человека вызывают однотипную ответную реакцию тиолдисульфидной системы, то есть изменение её окислительно-восстановительного состояния. Несмотря на то, что восстановленный глутатион (GSH) является важным внутри- и внеклеточным антиоксидантом, он может проявлять и прооксидантные свойства. Наблюдаемое в наших исследованиях существенное повышение GSH (биомаркера “вреда”) сопровождается увеличением тиолдисульфидного отношения (ТДО) в плазме крови у людей (отдельных индивидов), подвергшихся воздействию хронической ионизирующей радиации в малых дозах (до 25 сЗв) после аварии на Чернобыльской АЭС. Эти изменения происходят на фоне повышения частоты хроматидных нарушений (индекса разрывов хроматид) в лимфоцитах периферической крови. В литературе повышение GSH связывают с увеличением *de novo* его синтеза при действии радиации в малых дозах (2- 20 сГр) (Lee et al., 2013), или с редуктивным стрессом, характеризующимся аномально высоким уровнем восстановительных компонентов внутри биологических систем). Редуктивный стресс, продолжающийся в течение длительного времени, может привести к изменению другого самого отдаленного редокс баланса, то есть к окислительному стрессу, индуцируя сигнальные нарушения в клетках (Kemp et al., 2008).

Увеличение окисленного глутатиона (GSSG) относительно GSH является важным индикатором окислительного стресса или “дисульфидного стресса.” С повышением индивидуальной поглощенной дозы радиации (приблизительно от 25 сЗв до 150 сЗв) мы наблюдаем обратную зависимость между величиной дозовой нагрузки и содержанием GSH и прямую между дозой и уровнем GSSG в плазме крови у людей, подвергшихся воздействию радиации низкой интенсивности. Увеличение цитогенетических нарушений в лимфоцитах периферической крови и снижение содержания GSH в плазме крови наблюдается, в основном, у ликвидаторов аварии, подвергшихся облучению в больших дозах. Индивидуальный анализ сопряженности между комплексом цитогенетических показателей в лимфоцитах и биохимическими изменениями в плазме периферической крови у лиц, подвергшихся воздействию радиации низкой интенсивности в малых (от 0.1 до 25 сЗв) и больших (от 25 до 150 сЗв) дозах, показал наличие сложной нелинейной зависимости. Эффекты в области низких доз могут превышать эффекты, вызванные высокими дозами радиации.

Авария на Чернобыльской АЭС сопровождалась выбросом в окружающую среду значительного количества радиоактивных веществ, которые способны генерировать большое количество высокореакционных свободнорадикальных и молекулярных соединений. Перепроизводство химически активных форм кислорода в результате загрязнения окружающей среды ионизирующим излучением, твердыми частицами, например, от сигаретного дыма и многими другими соединениями влияет на здоровье человека. Сигаретный дым, как известно, это динамичная неоднородная сложная смесь, состоящая из большого числа химических веществ (в форме газов и частиц), образующиеся при сжигании продуктов табака и сигаретной бумаги, которые

подвергаются дегидрированию, окислению, конденсации и изменению. Все эти элементы могут вызвать воспалительную реакцию в дыхательных путях и повреждение клеток (Wilson et. al., 2011). Воздействие табачного дыма, повреждающего дыхательный эпителий курильщика, увеличивает вероятность злокачественных опухолей полости рта, гортани и легких.

Целью данного исследования было оценить влияние курения на содержание восстановленного (GSH), окисленного (GSSG) глутатиона, и величину тиолдисульфидного отношения (GSH/GSSG) у здоровых людей (контроль) и пациентов с онкологическими заболеваниями. Изучение окислительно-восстановительной системы глутатиона в плазме крови было проведено у здоровых людей, бросивших курить ($n = 29$) и курящих ($n = 22$), среди которых были лица слабокурящие ($n = 12$) и сильно курящие ($n = 7$). В контрольной группе у некурящих и курящих людей не обнаружено различий в содержании GSSG и величины GSH/GSSG в плазме крови. Однако в группе интенсивно курящих (74.9 ± 6.7 мкмоль/л $P < 0.05$) наблюдаются достоверные различия содержания GSH в плазме крови по сравнению с лицами, бросившими курить (56.7 ± 4.0 мкмоль/л).

Для пациентов со злокачественными опухолями разных локализаций: рак гортани (некурящих, $n = 5$; курящих, $n = 10$), рак ротоглотки (некурящих, $n = 5$; курящих, $n = 10$) и рак легких (некурящих, $n = 5$; курящих, $n = 6$) мы обнаружили существенные различия в содержании глутатиона в плазме крови относительно здоровых людей.. У курящих пациентов с онкологическими заболеваниями содержание GSH, GSSG и величина тиолдисульфидного отношения (ТДО) в плазме крови выше (в 3, 2 и 1.7 раза соответственно), чем в контрольной группы курящих людей. Так при заболевании органов дыхания у курящих лиц наблюдается достоверное увеличение уровня не только GSH, но и GSSG (соответственно) в плазме крови (рак гортани **181.6 ± 31.8** ; 77.9 ± 11.7 мкмоль/л, рак ротоглотки **178.7 ± 37.3** ; 79.4 ± 17.1 мкмоль/л и рак легких **251.0 ± 43** ; 90.7 ± 16.6 мкмоль/л) по сравнению со здоровыми курящими людьми (**66.9 ± 6.1** ; 44.1 ± 3.4 мкмоль/л ($P < 0.05$; $P < 0.01$). Анализ экспериментальных данных показал наиболее выраженное повышение содержания GSH, чем повышение уровня GSSG в плазме крови у курящих пациентов с онкологическими заболеваниями. Необходимо отметить, что у некурящих пациентов с опухолями (рак ротоглотки **103.7 ± 17.1** ; 43.7 ± 5 мкмоль/л и рак легких **90.6 ± 12.8** ; 42.3 ± 7.3 мкмоль/л) содержание GSH и GSSG (соответственно) в плазме крови в 2 раза ниже, чем у курящих больных людей (данные представлены выше). Однако, если у некурящих больных содержание GSH в плазме крови достоверно выше, чем у здоровых людей бросивших курить (56.7 ± 4 мкмоль/л), то уровень GSSG у пациентов практически совпадает с содержанием GSSG у здоровых некурящих людей (**39.5 ± 2.9** мкмоль/л). В результате (повышения или снижения) содержания восстановленного и окисленного глутатиона в плазме крови у больных со злокачественными опухолями независимо от того, являются ли они курящими или нет, величина GSH/GSSG у всех пациентов практически имеет одни и те же значения: рак гортани 2.4 ± 0.7 ; **2.5 ± 0.3** ; рак ротоглотки 2.4 ± 0.3 ; **2.5 ± 0.3** ; рак легких 2.2 ± 0.2 ; **3.0 ± 0.6** отн.ед. В группе онкологических больных ТДО достоверно выше, чем у здоровых (некурящих и курящих) людей (1.5 ± 0.1 и **1.6 ± 0.2** отн.ед. $P < 0.01$).

Несмотря на то, что восстановленный глутатион (GSH) является важным внутри- и внеклеточным антиоксидантом, он может проявлять и прооксидантные свойства. Наблюдаемое в наших исследованиях существенное повышение GSH (биомаркера “вреда”) сопровождается увеличением тиолдисульфидного отношения. Так и в модельных экспериментах на мышах гибридах F1 низколейкозной линии (CBA $\times$ C₅₇Bl) с опухолью Льюис и линии BALB/c с перевитой солидной

аденокарциномой Акатола нами обнаружено увеличение содержания GSH (в 3 и 10 раз соответственно) в плазме крови у животных-опухоленосителей по отношению к контролю. Однако рост опухоли Льюис на 25 сутки (поздняя стадия развития) характеризуется двукратным понижением GSSG и повышением ТДО в 6 раз, а рост опухоли Акатола на 6-е сутки (начальная стадия развития) сопровождался трехкратным повышением содержания дисульфида глутатиона в плазме и также повышением ТДО в 4 раза.

Не только радиационное воздействие, но и сигаретный дым является сильным канцерогеном. Он не только подавляет противоопухолевый иммунитет, но и содержит соединения, генерирующие дополнительное образование избытка активных форм кислорода (АФК), которые способны напрямую вызывать повреждение многих клеточных компонентов – липидов, ДНК и белков. Большинство АФК, постоянно образуется в клетке, но их уровень в норме настолько небольшой, что клетка либо инактивирует их с помощью антиоксидантной системы, либо заменяет повреждённые молекулы. При продолжительном окислительном стрессе нарушение редокс равновесия может вызвать переход клеток от покоя к неконтролируемой пролиферации, задержке роста или клеточной гибели (Aw, 2003). В организме курильщика в результате окислительной трансформации компонентов сигаретного дыма окислительный стресс приводит к развитию ряда хронических заболеваний, включая рак.

Таким образом, разнообразные по своей природе внешние факторы при действии на организм животных и человека вызывают однотипную ответную реакцию тиолдисульфидной системы, то есть изменение её окислительно-восстановительного состояния. Изучение параметров, характеризующих окислительный стресс, позволяет нам получить информацию об отдаленных эффектах действия радиации и оценке вреда курения при развитии хронических заболеваний. Нами получены прямые доказательства возможности использования ТДО как маркера для выявления лиц, имеющих повышенный риск возникновения онкологических заболеваний.

Список литературы:

1. Lee E.K., Kim J.A., Kim J.S., Park J.S., Heo K., Yang K.M., Son T.G. Activation of de novo GSH synthesis pathway in mouse spleen after long term low-dose γ -ray irradiation // *Free Radic. Res.*, 2013. V. 47. № 2. P. 89–94.
2. Kemp M., Go Y.M., Jones D.P. Nonequilibrium thermodynamics of thiol/disulfide systems: a perspective on redox systems biology // *Free radical biology & medicine*, 2008. V. 44. P. 921–937.
3. Wilson K.M., Klein J.D., Blumkin A.K., Gottlieb M., Winickoff J. P. Tobacco-smoke exposure in children who live in multiunit housing // *Pediatrics*, 2011. V. 127. P. 85–92.
4. Aw T.Y. Cellular redox: a modulator of intestinal epithelial cell proliferation // *News Physiol. Sci.*, 2003. V. 18. P. 201–204.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ СТАТУС МЫШЕЙ ПРИ γ -ОБЛУЧЕНИИ В ШИРОКОМ ДИАПАЗОНЕ ДОЗ – ОТ СВЕРХ МАЛЫХ ДО БОЛЬШИХ

Иванов А.А.^{1,2,3}, Дорожкина О.В.^{1,2}, Булынина Т.М.^{1,2}, Абросимова А.Н.^{1,2}, Гаевский В.Н.³

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации - Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр Российской Федерации - Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва

³ Объединённый институт ядерных исследований, г. Дубна, Россия
a1931192@mail.ru

Биомедицинские эффекты облучения в малых дозах и при малых мощностях дозы являются предметом многочисленных исследований на молекулярном, клеточном, организменном и популяционном уровнях. Данные о биомедицинских эффектах малых доз облучения многочисленны и, в ряде случаев, противоречивы. Имеются доказательства как их канцерогенного, так и антиканцерогенного, катарактогенного действия и в то же время установлено наличие адаптивного ответа и гормезиса.

Достаточно чувствительными и высокоспецифичными для радиационного воздействия являются патогенетически значимые традиционные радиобиологические показатели: число кариоцитов в костном мозге, уровень хромосомных aberrаций и митотическая активность быстро пролиферирующих тканей.

В доступной литературе мы не встретили сообщений об использовании указанных показателей для оценки радиобиологического эффекта *in vivo* в широком диапазоне доз от малых до летальных, кроме уникального исследования при корпускулярном облучении на модели эпителия роговицы (С.В. Ворожцова и др. 2004). Как правило, исследователи ограничивались узким диапазоном доз. Целью нашей работы стало изучение зависимости доза-эффект показателей клеток костного мозга при облучении мышей в широком диапазоне доз, от очень малых до сублетальных, с тем, чтобы попытаться использовать эти данные для объяснения в ряде случаев парадоксальных эффектов малых доз радиации. В настоящей работе обобщены результаты исследований, проведенных в течение нескольких лет в ГНЦ РФ – ИМБП РАН, ОИЯИ и ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна.

Исследования проводились на аутбредных мышах ICR (CD-1) – SPF категории, и конвенциональных F1(CBA×C57Bl) самцах и самках в возрасте от 1,5 до 4 месяцев с массой тела от 20 до 35 грамм. Общее число животных 176 голов, число животных на точку от 6 до 25. В ходе всего эксперимента животные содержались на стандартном рационе питания и в неограниченном доступе к воде.

Экспериментальные животные были подвергнуты тотальному одностороннему γ -облучению ⁶⁰Со на установке «Рокус-М» МТК ОИЯИ в диапазоне очень малых, малых и средних дозах 5, 10, 15, 25, 50, 75, 100, 200 мГр с мощностью дозы 6,916 мГр/мин. Облучение в дозах 25, 50, 100, 200, 250 и 400 сГр также проводили на установке «Рокус-М», расстояние от источника до поверхности составило 75 см со средней мощностью дозы порядка 100 сГр/мин. Группы биоконтроля составили 35 ложнооблученных животных.

Эвтаназию животных осуществляли путем цервикальной дислокации через 21-22 часа после облучения. Определение числа кариоцитов в костном мозге бедренной кости проводили в камере Горяева по стандартной методике. Критериями изменений в клетках костного мозга являлись величина митотического индекса и количество клеток

с абберрантными митозами, для анализа которых использовался анафазный метод. Все эксперименты над животными проводили с соблюдением требований и правил биоэтики содержания лабораторных животных в условиях вивария, установленных в ГНЦ РФ ИМБП РАН.

В экспериментах на мышах, облученных γ -квантами в широком диапазоне доз от 0,5 до 400 сГр, через 24 часа после воздействия радиации выявлены в костном мозге цитологические и цитогенетические эффекты, начиная с дозы 1 сГр.

В диапазоне доз от 1 до 20 сГр отмечены: дозозависимое снижение числа кариоцитов в костном мозге, нормальный и даже повышенный уровень митотической активности клеток и экстремальный тип зависимости числа хромосомных aberrаций от дозы облучения с максимумом в районе 7,5 сГр.

При облучении в дозах от 1 сГр до 20 сГр имеется четырехкратное превышение клеток с мостами над абберрантными митозами с фрагментами, тогда как в группах с высокими дозами существенно повышается доля клеток с фрагментами. В этих группах с высокой частотой (4,2%) регистрируются клетки с парными повреждениями (мосты и фрагменты) против 0,5% в группах мышей, облученных в малых дозах.

В диапазоне доз от 20 до 400 сГр отмечено линейное дозозависимое снижение числа клеток в костном мозге, снижение митотической активности клеток и увеличение числа абберрантных митозов.

Полученные нами данные могут быть использованы для расширения представлений о радиационном гормезисе, ускоренном старении, онкотрансформации, регламентировании допустимых доз облучения и др.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных исследований ГНЦ РФ – ИМБП РАН.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ В ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ У РАБОТНИКОВ СИБИРСКОГО ХИМИЧЕСКОГО КОМБИНАТА, ПОДВЕРГАВШИХСЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНОМУ ОБЛУЧЕНИЮ

*Исубакова Д.С.^{1,2}, Литвяков Н.В.^{1,2}, Халюзова М.В.¹, Альбах Е.Н.¹,
Брониовская Е.В.¹, Вишневская Т.В.¹, Карпов А.Б.¹, Тахауов Р.М.¹*

¹Северский биофизический научный центр ФМБА России, Северск, Россия

²Томский научно-исследовательский институт онкологии, Томск, Россия

mail@sbrc.ru

Хромосомные и генные мутации, появляющиеся в разных клетках-мишенях, являются характерным эффектом действия ионизирующего излучения. Наиболее объективным и достаточно хорошо разработанным способом биологической индикации мутагенного воздействия на организм человека ионизирующего излучения является цитогенетическое исследование лимфоцитов периферической крови, которое заключается в учёте хромосомных aberrаций в культивируемых лимфоцитах периферической крови (IAEA technical reports series, 1986).

Целью настоящей работы являлось исследование частоты и спектра цитогенетических аномалий у работников Сибирского химического комбината (СХК), подвергавшихся низкоинтенсивному радиационному воздействию.

Работники СХК в процессе профессиональной деятельности подвергались хроническому воздействию внешнего (γ -излучение), внутреннего (за счёт инкорпорированного ^{239}Pu) или сочетанного (внешнего и внутреннего) облучения. Они были распределены по группам в зависимости от вида облучения: группа контроля – без облучения; группа с внутренним α -облучением; группа с внешним облучением и группа с сочетанным облучением.

В ранее проведённых исследованиях нами были изучены частота и спектр хромосомных aberrаций у 657 работников СХК (Литвяков Н.В. и др., 2014). В настоящей работе выборка обследованных работников СХК была увеличена до 1 000. Как и ранее, на увеличенной выборке не было установлено гендерных и возрастных различий в частоте хромосомных aberrаций. Было показано, что для индукции хромосомных aberrаций определяющим фактором является хроническое внешнее облучение. При дополнительной радиационной нагрузке за счёт инкорпорированного ^{239}Pu в крови работников с сочетанным облучением по сравнению с работниками, подвергавшимися только внешнему облучению (при равных дозовых нагрузках по внешнему облучению), уменьшается частота хромосомных aberrаций. Ранее было показано, что дозовая зависимость частоты aberrантных клеток, хроматидных фрагментов, aberrаций хромосомного типа и частоты дицентрических хромосом у работников СХК от внешнего радиационного воздействия имела нелинейный характер, при котором при дозе $> 0\text{--}10$ мЗв наблюдалось явление гормезиса, начиная с диапазона доз $> 40\text{--}100$ мЗв (для дицентриков – с диапазона $> 100\text{--}200$ мЗв), отмечалось статистически значимое увеличение выхода хромосомных aberrаций. В диапазоне доз от 100 до 500 мЗв на дозовой зависимости имелось плато, уровень цитогенетических аномалий не увеличивался, и только возрастала статистическая значимость различий с контролем. После 500 мЗв частота хромосомных aberrаций линейно возрастала с дозой внешнего облучения. При увеличении выборки нелинейный характер дозовой зависимости сохранился для частоты aberrантных клеток, aberrаций хромосомного типа, точечных фрагментов и дицентрических хромосом. Для хроматидных и парных фрагментов ранее установленная нелинейная зависимость не подтвердилась. При увеличении выборки эти типы хромосомных aberrаций показали линейную

зависимость от дозы внешнего облучения. Для всех перечисленных типов хромосомных aberrаций значительно увеличилась статистическая значимость различий между необлучёнными работниками и теми, кто подвергался облучению в дозе от 1 до 10 мЗв (явление гормезиса подтвердилось). Как и ранее дозовая зависимость не была показана для кольцевых хромосом, хроматидных обменов, мультиабберрантных клеток и транслокаций.

Была оценена доля работников в группе, имеющих различные типы хромосомных aberrаций в зависимости от дозы (качественная дозовая зависимость). Даже наиболее частый тип хромосомных aberrаций – хроматидные и парные фрагменты встречались не более чем у 60–87 % облучённых. Качественную дозовую зависимость имели хроматидные, парные, точечные фрагменты, дицентрики, хроматидные обмены и полиплоиды; с увеличением дозы облучения наблюдалось увеличение процента работников с данным типом хромосомных aberrаций. Частота встречаемости других типов хромосомных aberrаций не зависела от дозы.

Таким образом, даже при значительном увеличении обследуемой выборки работников СХК, подвергавшихся облучению в диапазоне "малых" и "средних" доз, подтвердились ранее установленные закономерности и нелинейный характер дозовой зависимости для большинства типов хромосомных aberrаций. Для хроматидных и парных фрагментов была показана линейная зависимость от дозы внешнего облучения. Установлена качественная дозовая зависимость для большинства типов хромосомных aberrаций.

ИССЛЕДОВАНИЕ УРОВНЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА, ИНДУЦИРОВАННЫХ ИЗЛУЧЕНИЕМ РАЗНОГО КАЧЕСТВА, НА ЛИНИИ МИКРОГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК МЫШИ SIM-A9

Коваленко М.А., Комова О.В., Гаврилова В. С.

Объединенный институт ядерных исследований, Дубна

kovalenko@jinr.ru

Повреждения центральной нервной системы (ЦНС) при действии ионизирующих излучений является одним из наименее изученных аспектов отдаленных последствий радиационного облучения на организм. Центральной проблемой в этой области является возникновение когнитивных нарушений, которые были обнаружены, как у пациентов, так и у лабораторных животных, подвергшихся воздействию ионизирующей радиации.

Экспериментальные данные, накопленные к настоящему времени, свидетельствуют о том, что радиационно-индуцированные когнитивные расстройства, могут быть обусловлены такими процессами, как гибель нейронов, ингибирование нейрогенеза и синаптической трансмиссии. Изучение молекулярных механизмов, приводящих к развитию этих патологических процессов, указывает на то, что в значительной степени они могут быть обусловлены развитием окислительного стресса и воспалительной реакции вследствие инициации иммунного ответа в микроглии.

Микроглиальные клетки, относящиеся к системе мононуклеарных фагоцитов, выполняют в ЦНС роль клеток-резидентов неспецифической (иннатной) иммунной системы. Во взрослом мозге микроглия обычно находится в покое. Однако при возникновении инфекции, повреждении нервной ткани или действии иных стрессовых факторов, микроглия быстро переходит в активированное состояние, что сопровождается выработкой в ней различных воспалительных медиаторов, включая цитокины TNF- α , IL-1 β , IL-6 и хемокины ICAM-1 and MCP-1, а также активных форм кислорода (АФК) и активных форм азота (АФА).

Было обнаружено, что наиболее серьезные когнитивные расстройства у лабораторных животных наблюдались при действии тяжелых заряженных частиц. Дозы плотноионизирующих излучений, составляющие лишь несколько десятков сантигрей, приводили к существенному снижению памяти, обучаемости, пространственной ориентации и другим нарушениям когнитивных функций. Изучение роли микроглии в инициации указанных патологических процессов в мозге необходимы для оценки рисков и разработки подходов к их снижению, как для пациентов, получающих лучевую терапию, так и для астронавтов при межпланетных полетах, где основным повреждающим фактором являются тяжелые ядра, входящие в состав галактического космического излучения (ГКИ).

Целью данной работы являлось исследование активации спонтанно иммортализованных микроглиальных клеток мыши SIM-A9 по критерию выхода активных форм кислорода при действии γ -излучения ^{60}Co , 170 МэВ протонов в пике Брегга и ионов бора с энергией 17.3 МэВ/нуклон и ЛПЭ 74.4 кэВ/м.

Для измерения количества АФК использовали краситель 5-(и-6)-хлорметил-2',7'-дихлородигидрофлуоресцеин диацетат ацетиловый эфир (CM-H₂DCFDA). Для оценки количества жизнеспособных клеток использовали реагент CellTiter-Glo, который является индикатором метаболически-активных клеток. При взаимодействии с АТФ данный краситель дает интенсивный люминесцентный сигнал. Измерение интенсивности флуоресценции (F) и люминесценции (L) производили на микропланшетном ридере Synergy H1m фирмы BioTek (США).

Как показали измерения флюоресценции, нормированные на число жизнеспособных клеток, облучение в дозах менее 10 Гр не приводило к генерации АФК при действии гамма-излучения. Для протонов пороговая доза составляла 5 Гр, при которой выход АФК превышал контрольный уровень в 3.7 раза через 48 часов. Иная картина наблюдалась при действии ионов бора. Уже через 24 часа выход АФК превышал контрольный уровень в 1.3, 2.2 и 3 раза для доз 0.1 Гр, 0.5 Гр, 1 Гр, соответственно, хотя для дозы 0,1 Гр он не был статистически достоверным. Таким образом, трехкратное увеличение выхода АФК в клетках микроглии достигалось облучением протонами в дозе 5 Гр, в то время, как при облучении ионами бора такой эффект достигался при дозе всего в 1 Гр. Неожиданным оказалось то, что в этой временной точке в образцах, облученных в дозе 2 Гр, увеличения выхода АФК не было зарегистрировано. При этом анализ люминесценции показал высокий процент жизнеспособных клеток в данном образце через 24 часа (данные не показаны). Чтобы исключить техническую ошибку, связанную с процедурой облучения, необходимы дополнительные эксперименты.

В результате проведения наших предварительных экспериментов с использованием γ -излучения, протонов и ионов бора, можно заключить, что активация микроглияльных клеток SIMA-9, оцениваемая по уровню активных форм кислорода, зависит от плотности ионизирующего излучения. Наибольшая эффективность по данному критерию наблюдалась для ионов бора с высокой ЛПЭ. Для данного вида излучения существенное возрастание выхода АФК было зарегистрировано в области низких доз (0,5 и 1 Гр), в то время, как при действии гамма-излучения достоверные различия с контролем наблюдались при дозе 10 Гр.

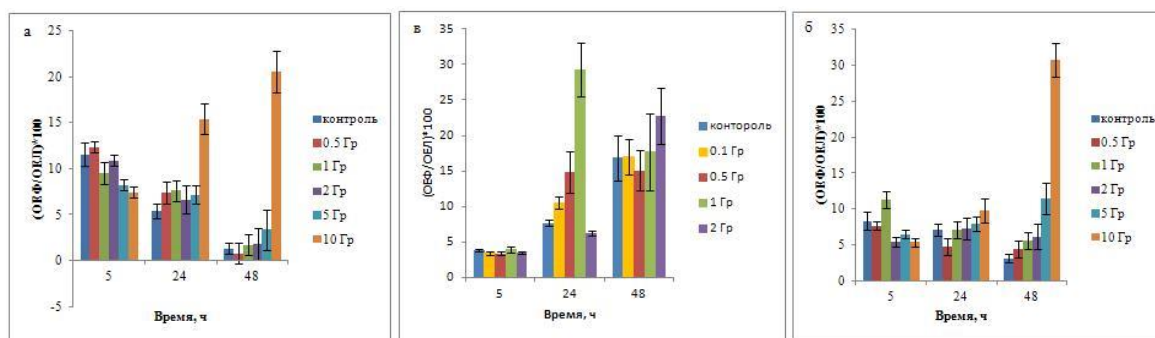


Рис.1. Временная зависимость интенсивности флюоресценции красителя, регистрирующего уровень АФК, нормированного на уровень люминесценции красителя, регистрирующего число метаболически активных клеток при: а – γ -облучении; б – при облучении протонами; в – при облучении ионами бора.

ЭФФЕКТЫ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ И ИНДУЦИРОВАННОЙ РАДИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ В КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ УСКОРЕННЫМИ ИОНАМИ УГЛЕРОДА

Корякина Е.В., Потетня В.И., Трошина М.В., Байкузина Р.М.

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, г. Обнинск, Калужская обл., Россия

ek-koryakina@mrrc.obninsk.ru

Перспективность использования ускоренных ионов углерода в лучевой терапии обусловлена их конечным пробегом в ткани и увеличением локального выделения энергии в конце пробега (кривая Брэгга), что позволяет снизить дозовую нагрузку на здоровые ткани по ходу пучка и, естественно, после остановки ионов. Однако образующиеся при взаимодействии ионов углерода с тканью фрагменты ядер, обладающие высокой энергией и большими пробегами в ткани, всё же приводят к дополнительному облучению здоровых тканей и за пределами пика Брэгга. Достаточно низкие уровни доз облучения нормальных тканей и величины ЛПЭ излучения в области плато кривой Брэгга и за пределами опухоли, в диапазоне 10–25 кэВ/мкм, позволяют предполагать, что в этих условиях могут проявляться радиобиологические эффекты низкодозового радиационного воздействия. В этой связи в работе исследовали цитогенетические нарушения, индуцированные низкими дозами ускоренных ионов углерода и образованных ими вторичных частиц с точки зрения концепции гиперчувствительности и индуцированной радиорезистентности (ГЧ/ИР) и в зависимости от ЛПЭ излучения.

Облучение клеток китайского хомячка линии СНО-K1 проводили немодифицированным пучком ионов ^{12}C с начальной энергией 454 МэВ/нуклон в водном фантоме в области плато кривой Брэгга (среднедозовая ЛПЭ $\sim 10\text{--}12$ кэВ/мкм) или за пиком Брэгга на расстоянии 1 см от него. Клетки в стационарной фазе роста облучали в виде монослоя в дозах 0,09–2 Гр. При фиксации на 24–26 ч наибольший вклад (85–95 %) в общее число аберраций хромосом (АХ) дают аберрации хромосомного типа (терминальные делеции, дицентрики, центрические кольца, интерстициальные делеции). Облучение проводили в двух повторах с использованием дозиметров-свидетелей – радиохромных пленок ЕВТЗ. В связи с низким выходом АХ в исследуемом диапазоне доз на каждую дозовую точку анализировали 1200–1800 метафаз.

На дозовых кривых для обоих условий облучения проявляются аналогичные закономерности: резкое увеличение выхода АХ (по сравнению с начальными наклонами линейно-квадратичных зависимостей) до доз $\approx 0,12\text{--}0,15$ Гр (ГЧ), далее плато в диапазоне доз до $\approx 0,3\text{--}0,35$ Гр (ИР) и затем переход к линейно-квадратичной зависимости. Указанные выше закономерности наблюдались и для общей частоты АХ и для наиболее часто встречаемого типа АХ в клетках СНО-K1 – терминальных делеций (парных фрагментов). Полученные результаты подтвердили предположение о том, что феномен ГЧ/ИР является универсальным при низких уровнях радиационного повреждения после воздействия излучений с низкими и средними ЛПЭ.

Несмотря на аналогичный ход дозовых зависимостей для обоих условий облучения наблюдается небольшая зависимость от ЛПЭ излучения. В случае облучения на плато кривой Брэгга эффект ГЧ проявляется до $\approx 0,12$ Гр, при облучении за пиком Брэгга – также до $\approx 0,12$ Гр, в то время как в случае стандартного γ -излучения ^{60}Co – до 0,08 Гр. Дозовый диапазон эффекта ИР составил 0,12–0,3 Гр в области плато, 0,12–0,35 Гр за пиком Брэгга и 0,08–0,6 Гр для γ -излучения. В проведенных ранее экспериментах

с быстрыми нейтронами ($E_n = 14,5$ МэВ) область плато наблюдалась примерно в этом же диапазоне 0,15–0,35 Гр. Как отмечали ещё первооткрыватели этого эффекта, В. Marples и М. Joiner, хотя механизмы эффектов ГЧ и ИР являются общими для разных видов излучений, но некоторые особенности их проявления зависят от ЛПЭ действующего излучения. В большей степени это проявляется в области индуцированной резистентности. Так, полученные результаты показывают, что её величина в зависимости от ЛПЭ, в целом уменьшается, от почти 0,5 Гр для γ -излучения до 0,2–0,25 Гр для ионов углерода и быстрых нейтронов. Выход АХ в этой области либо не изменяется (γ -излучение), образуя плато, либо только существенно замедляется (область плато кривой Брэгга, «хвост» кривой Брэгга, нейтроны). Наблюдаемые различия радиационных повреждений, индуцированных исследуемыми видами излучений, можно объяснить разными спектрами действующих частиц. Если в области плато кривой Брэгга повреждения обусловлены первичными ионами углерода, то за пиком Брэгга они индуцируются набором вторичных частиц (нейтроны, протоны, α -частицы, ионы Li, Be, B), как и в случае облучения нейтронами.

Таким образом, при терапии ионами углерода необходимо принимать во внимание также и физические дозы, поглощенные здоровыми тканями по ходу пучка и за пределами расширенного пика Брэгга, т.к. при дозах, меньших 0,3–0,4 Гр нерегулярная форма дозовой кривой делает оценку ОБЭ как по выживаемости, так и по мутагенному действию (поскольку с определенными типами АХ могут быть связаны мутации), затруднительной и неоднозначной.

**ОТСУТСТВИЕ ПОВЫШЕНИЯ ЧАСТОТЫ ГЕННЫХ ПЕРЕСТРОЕК *RET/PTC*
В ПАПИЛЛЯРНЫХ КАРЦИНОМАХ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОСЛЕ
ОБЛУЧЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ. ОБЪЕДИНЕННЫЙ АНАЛИЗ
(*POOLED*-АНАЛИЗ) МОЛЕКУЛЯРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ ДАННЫХ**

Котеров А.Н., Ушенкова Л.Н. Бирюков А.П.

ФГБУ ГНЦ Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна
ФМБА России, Москва
govorilga@inbox.ru

Среди известных в настоящее время кандидатов на генетические маркеры папиллярного рака щитовидной железы ЩЖ наиболее изучены, вероятно, генные перестройки *RET/PTC*, для которых предполагается специфичность применительно к индукции/промоции как папиллярных карцином ЩЖ, так и, возможно, радиогенных форм этого рака.

Вопрос о том уровне практического порога, для которого можно получить статистически значимое учащение *RET/PTC* в облученных клетках и тканях ЩЖ поднимался ранее. В опытах *in vitro* было показано, что увеличение показателя выявляется только при воздействии в больших дозах, начиная от 1 Гр и выше (Caudill С.М. et al., 2005; Ameziane-El-Hassani R. et al., 2010 и другие). В работе Caudill С.М. et al., 2005 была обнаружена, однако, позднее никем не воспроизведенная тенденция к индукции *RET/PTC* в трансформированных тироцитах после облучения в дозе 0,1 Гр. В молекулярно-эпидемиологических исследованиях (Bounacer A. et al., 1997; Ory C. et al., 2011) реконструированные дозы на ЩЖ при индукции *RET/PTC* у двух индивидуумов среди порядка трех десятков составили 0,1 Гр, но не ясны ни атрибутивность эффекта лучевому фактору, ни точность оценки дозы на ЩЖ при радиотерапии иных органов.

В нашем предыдущем анализе путем объединения опубликованных данных впервые было статистически доказано наличие значимых зависимостей доза—эффект для частоты *RET/PTC* в радиогенных карциномах различных облученных когорт (Котеров А.Н. и др., 2016). Таким образом, впервые была продемонстрирована действительная причинная связь с радиацией для выхода указанных генных перестроек *in vivo*. В представленной работе, также путем *pooled*-анализа, было обнаружено, что, хотя дозовая зависимость и имеется, но для индукции *RET/PTC* характерен, вероятно, некий практический порог, поскольку эффекты экспозиции в малых дозах (до 0,1 Гр радиации с низкой ЛПЭ) отсутствуют. При использовании самых жестких поправок для уровня вероятности при множественных сравнениях (поправки Бонферрони), ряд показателей *RET/PTC* для средних и больших доз облучения (0,1–1 Гр и 1–10 соответственно) значимо отличался от фонового уровня перестроек в спонтанных карциномах (и от параметров группы с воздействием в малых дозах). Ничего подобного не выявлялось сравнительно с фоном после облучения в малых дозах даже при оценке значимости различий без поправок Бонферрони (т.е., при $p < 0,05$).

Имеются определенные ограничения настоящего исследования, связанные в первую очередь с малыми размерами выборок. Тем не менее, охваченный материал представляет собой, судя по всему, 100% всех возможных источников по теме за более чем 20 лет исследования *RET/PTC* в радиогенных карциномах (характеристика и анализ соответствующей базы данных представлены в работах Ушенкова Л.Н. и др., 2015 и Котеров А.Н. и др., 2016).

Полученные данные о вероятности практического порога индукции *RET/PTC* в тканях ЩЖ, который по крайней мере не превышает границы малых доз радиации с низкой ЛПЭ, потенциально имеют более широкое значение для практики

радиационной безопасности и расчета рисков, чем конкретика воздействий только на ЩЖ. Из представленного *pooled*-анализа следует, что некая составляющая молекулярного механизма радиационного канцерогенеза для одной из наиболее чувствительных к индукции лучевых новообразований ткани после облучения в дозах до 0,1 Гр отсутствует. Это совпадает с результатами исследования биологического правдоподобия реальности канцерогенеза после воздействия радиации в малых дозах. Так, в (Crump K.S. et al., 2012) путем мета-анализа была изучена база данных из 262-х экспериментов по индукции опухолей различными типами радиации (пожизненное прослеживание за мышами, крысами и собаками, облученными различными видами ионизирующего излучения). Опубликованные результаты не дают никаких оснований для вывода об учащении опухолеобразования у животных после воздействия рентгеновского, β - и γ -излучения в дозах до 0,1 Гр.

В последние годы, в связи (вероятно) с уже продекларированной (Kitahara C.M. et al., 2015) «Новой эрой в эпидемиологии малых доз» и с наступившим, как полагают в (Mabuchi K. et al., 2013), «временем пересмотра рисков рака ЩЖ при облучении во взрослом возрасте», мы можем видеть около двух десятков исследований, в которых утверждается об учащении случаев рака и лейкоза после облучения в дозах даже немногие десятки миллигрей. К примеру — после компьютерной томографии (Pearce M.S. et al., 2012; Mathews J.D. et al., 2013; Krille L. et al., 2015 и другие; всего уже не менее десятка публикаций), при проживании в условиях повышенного естественного радиационного фона (Nair R.R. et al., 2009; Tao Z. et al., 2012; Kendall G.M. et al., 2013) и пр. Время покажет, насколько во всех этих сложных для выполнения и интерпретации эпидемиологических работах описанные эффекты действительно атрибутивны радиационным воздействиям, а не являются следствием вмешательства нерадиационных факторов и субъективных уклонов. Полученные в настоящем исследовании данные пока не позволяют связать с продекларированными эффектами малых доз радиации молекулярно-генетический механизм формирования генных перестроек *RET/PTC* в ткани ЩЖ, то есть в органе, являющемся одним из самых радиочувствительных в плане индукции/промоции солидных типов рака.

МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК КАК СОСТАВЛЯЮЩАЯ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ К ОБЛУЧЕНИЮ

Кравец А.П., Соколова Д.А.

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАНУ,

Киев, Украина

kaplibra@gmail.com

В четырех сериях экспериментов с использованием различных режимов облучения (острое облучение в режиме «адаптивное- ударное» с различными временными интервалами между сеансами облучения, фракционированное облучение также с различным интервалом между фракциями, хроническое гамма –облучение с последующим острым облучением) исследовано изменения профилей метилирования ДНК при формировании адаптивной реакции растений кукурузы. В качестве показателя радиационного повреждения и адаптивных изменений использован выход хромосомных aberrаций.

Показано, что при формировании радиоадаптивной реакции изменяются профили метилирования как сателлитной, так и транскрибируемой ДНК. Такие изменения происходят в основном за счет деметилирования существующих и метилирования новых сайтов, что свидетельствует о переходе от поддерживающего к метилированию *de novo* обеих функциональных форм ДНК.

Установлено, что переключение метилирования ДНК в режим *de novo* происходит при превышении интервала между сеансами облучения 1 час. При дальнейшем увеличении интервала между сеансами облучения наблюдаются взаимосвязанные изменения профилей метилирования и степени проявления радиоадаптивной реакции, что свидетельствует о связи этих эффектов с реализацией разных по времени развития эпигенетических механизмов.

Показано, что при хроническом и комбинированном облучении диапазон изменения длин рестрикционных фрагментов шире, чем при остром облучении; это говорит в пользу большего вклада метилирования ДНК *de novo* в формирование радиобиологической реакции.

Проведение статистического анализа установило существование значимой ранговой корреляции (по Спирмену) между грациями вариабельности спектров рестрикционных фрагментов и выходом (%) хромосомных aberrаций.

Выявлена связь разной активности прорастания семян с полиморфизмом профилей метилирования функционально различных последовательностей ДНК проростков и их радиоустойчивостью, что позволяет рассматривать характер метилирования ДНК как фактор индивидуальной радиоустойчивости организма, а полиморфизм профилей метилирования в популяции организмов – как фактор популяционной устойчивости. Показано, что адаптивный потенциал растения связан с активностью процессов прорастания и начальным профилем метилирования функционально различных последовательностей ДНК проростков.

Вся совокупность полученных результатов позволяет предполагать полифункциональную роль метилирования ДНК. Этот процесс, являясь одним из механизмов эпигенетической регуляции, одновременно играет роль фактора формирования устойчивой к радиационному воздействию конформации хроматина.

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ СОСТАВЛЯЮЩЕЙ В ПРОЦЕССЕ АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ *HYPERICUM PERFORATUM* К УСЛОВИЯМ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИЕЙ

Крипка А.В., Михеев А.Н.

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, Украина,
03680, Киев, ул. академика Заболотного, 148
akripka@yahoo.com

В адаптивной стратегии растений большая роль принадлежит репродуктивным процессам. В частности, влияние экологических факторов на эпигеном может реализовываться через систему полового размножения. Особый интерес в этом отношении представляют факультативные апомикты, которые под влиянием стресс-факторов могут переходить с преимущественно неполового размножения к половому. Апомиксис служит эффективным способом сохранения гетерозиготности, благодаря чему обеспечивает повышенную индивидуальную и популяционную жизнеспособность. Любой биотип (экотип), обладающий в данных условиях среды преимуществом, может воспроизводиться в массовых количествах. Апомиксис исключает генетическое расщепление, поэтому апомиктические формы образуют клоны, в пределах которых все особи обладают одинаковой генетической конституцией. Однако, преимущества, обеспечиваемые апомиктическим способом размножения, носят несколько односторонний характер. Апомикты благоденствуют лишь пока условия среды остаются для них неизменными, но в изменившихся условиях они могут страдать (частично вымирать), поскольку не обладают достаточной генетической пластичностью. Если же мы рассмотрим факультативные апомикты, которые могут переходить к половому способу размножения под влиянием стрессовых факторов, то можно предположить, что они будут иметь наиболее широкий диапазон генетической вариабельности и будут наиболее адаптированы к изменяющимся условиям среды.

В нашей работе мы изучали растения факультативного апомикта *Hypericum perforatum* L из Чернобыльской зоны отчуждения, которые выросли в условиях хронического облучения. Был изучен процесс адаптации растений зверобоя с половым и апомиктическим типом репродукций, а также эпигенетические изменения в растениях, подверженных хроническому облучению и их последующих поколениях, которые были выращены без влияния хронического воздействия.

Уровень метилирования цитозина определяли, используя рестриктазы HpaII и MspI. Уровень метилирования аденозина в ДНК определяли с помощью изошизомеров Sau3A (расщепляет как метилированные так и неметилированные последовательности GATC), DpnI (расщепляет только метилированные последовательности GMeATC) EcoRV (расщепляет только неметилированную последовательность GAT⁺ATG).

В растениях с половым и апомиктическим типом размножения наблюдали различный уровень и спектр метилирования. Картина метилирования оставалась не измененной в следующем поколении этих растений, которые росли уже без влияния хронического воздействия. Также, было показано, что в ценопопуляциях растений *Hypericum perforatum*, которые выросли в условиях хронического облучения, значительно увеличивается количество репродуктивных растений ($2n = 16$), соответственно растений апомиктов ($2n = 4 \times 32$) становится относительно меньше.

Увеличение в ценопопуляций, которая была подвержена хроническому воздействию, доли растений, перешедших к половому типу размножения, может быть одним из способов радиоадаптации. Таким образом, увеличение диапазона

эпигенетической (и, как следствие, генетической) изменчивости, которые выражаются в расширении границ адаптации с дальнейшим изменением норм реакции, является свидетельством отбора наиболее приспособленных к хроническому воздействию радиационного фактора особей и, в конечном итоге, видовых популяций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Щербаков В.П., 2005. Эволюция как сопротивление энтропии. I. Механизмы видового гомеостаза // *Журн. общ. биологии*.-2005.- Т.66.- № 4.- С.300-309.
2. Hamilton W.D., Axelrod R., Tanese R. . Sexual reproduction as an adaptation to resist parasites // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*.-1990.- V. 87.- № 9. -P. 3566-3573.
3. Crow J.F., An advantage of sexual reproduction in a rapidly changing environment // *J. Hered.*-1992.- V. 83.- № 3. -P. 169-173.
4. Robson A.J., Bergstrom C.T., Pritchard J.K., Risky business: Sexual and asexual reproduction in variable environments // *J. Theor. Biol.*-1999.- V. 197.- № 4.- P. 541-556.
5. Doyle J.J., Doyle J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue//*BRL Focus*.-1990.- Vol.12.-P.13-15.
6. Tsumura Y., Ohba K., Strauss S.H. Diversity and inheritance of inter-simple sequence repeat polymorphisms in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) and sugi (*Cryptomeria japonica*)//*TAG*.-1996.-Vol.92.-P.40-45
7. Williams J. G. K., Kubelik A. R., Livak K. J., Rafalski J. A., Tingey S. V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers//*Nucleic Acid Research*.-1990.-Vol.18.-P.6531-6535

ИЗУЧЕНИЕ ГИПЕРМЕТИЛИРОВАНИЯ ПРОМОТОРОВ ГЕНОВ В ЛЕЙКОЦИТАХ КРОВИ ОБЛУЧЕННЫХ ЛИЦ

Кузьмина Н.С.¹, Лаптева Н.Ш.¹, Русинова Г.Г.², Азизова Т.В.²,
Вязовская Н.С.², Рубанович А.В.¹

¹ФГБУ науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук,
Москва, Россия

²ФГУП Южно-Уральский институт биофизики ФМБА России,
г.Озерск Челябинской обл., Россия

Ранее в лаборатории экологической генетики ИОГен РАН было проведено пилотное изучение (Kuzmina et al., 2014, 2016) гиперметиличивования CpG островков промоторов генов клеточного цикла (*RASSF1A*, *p16*, *p14*) и детоксикации (*GSTP1*) в лейкоцитах 124 облученных лиц (ликвидаторы аварии на ЧАЭС – 83 чел., профессионалы атомщики г. Сарова – 21 чел., жители территорий с радионуклидными загрязнениями – 20 чел., в том числе 4 чел., эвакуированные в 1986 г. из зоны ЧАЭС). В ходе этой работы, во-первых, впервые показана реальность аберрантного метилирования CpG-островков генов, участвующих в основных защитных функциях клетки, в организме человека в отдаленный период после облучения. Во-вторых, выявлена дифференциальная роль возраста и радиационного фактора в метилировании различных генов. Гиперметиличивование локусов *RASSF1A* и *p14* обусловлено возрастом, а генов *p16* и *GSTP1* – фактом облучения.

С целью верификации полученных данных на независимых выборках, проведено изучение гиперметиличивования промоторов вышеперечисленных генов у 49 работников реакторов предприятия атомной промышленности «Маяк», подвергшихся пролонгированному внешнему воздействию гамма-излучения в дозах 0,96 – 4,1 Гр. Возраст обследованных лиц на момент взятия крови составлял от 67 до 84 лет. Промежуток времени между окончанием работы в условиях радиационного воздействия и взятием крови находился в диапазоне от нескольких месяцев до 39 лет. Одновозрастная контрольная группа (50 чел.) представлена необлученными индивидами – жителями г. Озерска. Банк ДНК лиц вышеперечисленных групп был создан в клиническом отделе ЮУрИБФ ФМБА России. Оптимизированная и стандартизованная в лаборатории экологической генетики ИОГен РАН методика метилчувствительной ПЦР (МЧ-ПЦР) позволяет диагностировать аберрантное метилирование генов, имеющее место в 0,1 – 1 % клеток. При обследовании данных выборок облученных и необлученных лиц, спектр анализируемых генов был расширен и включал не только *RASSF1A*, *p16*, *p14* и *GSTP1* гены, но и следующие локусы: *p53*, *ATM*, *SOD3*, *ERα*.

В группе облученных работников ПО «Маяк» доля лиц с гиперметиличиванием гена *GSTP1* составила 12,2 % и достоверно превышала ($p = 0,012$; OR = 8,41; 95 % CI = 1,63 – 43,46) таковой показатель в контрольной группе – 0 %. Выявлена тенденция ($p = 0,012$; OR = 8,41; 95 % CI = 1,63 – 43,46) к более высокой частоте встречаемости облученных пациентов (16,3 %) с аберрантным метилированием локуса *p16* по сравнению с необлученными лицами (6 %). Объединение двух независимых одновозрастных выборок облученных индивидов, а также лиц контрольных групп (discovery set + validation set), позволило подтвердить выявленные закономерности. Статистически значимых различий в частоте пациентов с метилированием генов *RASSF1A* и *p14* между экспонированной и контрольной группами не обнаружено.

В группе облученных работников ПО «Маяк» доля индивидов с гиперметиличиванием CpG-островков промоторов генов *p53* и *SOD3* составила 20,4 %

и 42,9 %, и статистически значимо превышала аналогичные показатели в контрольной группе – 6 % и 18 %, соответственно ($p = 0,041$; $OR = 4,02$; 95 % $CI = 1,03 - 15,62$ и $p = 0,009$; $OR = 3,42$; 95 % $CI = 1,37 - 8,55$, соответственно). Достоверных отличий в частоте лиц с метилированием генов *ATM* и *ERα* между экспонированной и контрольной группами не выявлено. Проведен анализ распределения общего количества гиперметилированных локусов (из числа *p16*, *GSTP1*, *p53* и *SOD3*) в обследованных группах. Частота встречаемости индивидов с выявленным метилированием промоторов хотя бы одного из четырех перечисленных генов составила 55,1 % и значительно превышала таковую в контрольной группе – 28 %. Предикативность этого показателя метилирования следующая: $AUC = 0,636$; $Se = 0,551$; $Sp = 0,72$; $OR = 3,16$, $p = 0,008$. Доля облученных лиц с метилированием **более одного** локуса составила 26,5 % и многократно превышала таковую в контрольной группе – 2 %. Прогностическая эффективность такого показателя следующая: $AUC = 0,623$, $Se = 0,265$, $Sp = 0,98$, $OR = 17,69$, $p = 0,0004$. Анализ построенной характеристической кривой (ROC-анализ) показал приемлемую информативность рассматриваемого эпигенетического теста: $AUC = 0,668$; $SE = 0,055$; $p = 0,004$; 95% $CI = 0,561 - 0,775$.

На данном этапе не выявлена зависимость индукции гиперметилирования изученных генов от дозы облучения, что требует дальнейших исследований.

Таким образом, в результате предпринятого обследования двух независимых выборок как облученных, так и необлученных индивидов, были получены воспроизводимые результаты, свидетельствующие о гиперметилировании промоторов определенных генов в лейкоцитах крови лиц, подвергшихся радиационному воздействию. У большей части обследованных людей эти эпигенетические нарушения выявлены спустя многие годы после облучения. Следует отметить, что отобранные для исследования гены отвечают основному требованию – сопряженность с основными защитными системами клеток организма, а эпигенетические изменения в них ассоциированы с возрастными заболеваниями, в первую очередь онкологическими и кардиоваскулярными. Поэтому, дальнейшие исследования с учетом эпидемиологических данных, дадут возможность оценить индивидуальные радиационно-индуцированные эпигенетические эффекты в аспекте их возможной связи с возраст-ассоциированными заболеваниями и преждевременным старением организма.

БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАДИОСТИМУЛЯЦИИ У РАСТЕНИЙ

Михеев. А. Н., Жук В. В., Овсянникова Л. Г., Войтенко Л. В., Гродзинский Д. М.

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАНУ, Киев, Украина
mikhalex7@yahoo.com

Радиостимуляционные (радиогормезисные) эффекты обнаружены у всех систематических групп организмов и характеризуются стимуляцией функций после действия невысоких доз ионизирующего излучения [1, 2]. Прикрепленный способ существования растений усиливает их способность реагирования на стрессовые факторы среды и возникновение специфических механизмов поддержания гомеостаза на разных уровнях его проявления [3, 4]. Определяющая роль в формировании ответа на стрессовые факторы у растений принадлежит сигналам, которые приходят от корней. К наиболее важным компонентам данной сигнальной системы относятся фитогормоны, в частности зеатин и его транспортная форма – зеатин-рибозид [5,6]. Зеатины преимущественно синтезируются в корнях, однако их рецепторы локализованы в клетках побега, непосредственно участвующие в формировании реакции растительного организма. Несмотря на значительный интерес к проблеме участия цитокининов в адаптации растений к стрессам, их роль в проявлениях радиационного гормезиса остается мало изученной.

Нами ранее были проведены исследования адаптации растений к действию ионизирующей радиации, результаты которых позволили выявить гормезисное действие гамма-излучения на интактный растительный организм [7]. Целью данной работы было изучение биохимического механизма радиогормезисного эффекта у растений гороха.

Объектом исследования служил горох (*Pisum sativum* L.) сорта Аронис, семена которого в воздушно-сухом состоянии облучали дозами 2, 5, 10, 50 Гр на гамма-облучателе «ИССЛЕДОВАТЕЛЬ» с ^{60}Co при мощности 3,4 сГр/с. Проростки выращивали в условиях водной культуры. Спустя 12, 24, 48, 72 ч от начала проращивания семян отделяли первичные корни для определения содержания цитокининов зеатинового типа. Содержание зеатинов определяли методом жидкостной хроматографии на хроматографе Agilent 1200 LC с диодно-матричным детектором G 1315B (“Agilent”, США). Одновременно определяли активность α -амилазы в семядолях крахмал-йодным методом [8]. Меристемы корней фиксировали в смеси Карнуа на протяжении 2 ч. Дегидратацию тканей, насыщение парафином, изготовление и окрашивание срезов проводили по стандартной гистологической процедуре [9]. Митотическую активность клеток корневой меристемы определяли по количеству клеток в митозе (МИ – митотический индекс), для которой учитывали не менее 1000 клеток на каждом препарате. После начала проращивания на протяжении 4 сут измеряли длину первичных корней, которую выражали в процентах по отношению к контролю. Результаты обработаны статистически с помощью программы ANOVA.

После действия дозы 5 Гр, которая оказывала гормезисное воздействие, было определено суммарное содержание цитокининов в первичном корне на протяжении 36 часов от начала набухания зерна. Значительное увеличение содержания цитокининов в корне по сравнению со значениями контроля отмечено после 20 часов проращивания, продолжало увеличиваться до 24 часов. Митотическая активность клеток меристемы первичного корня до 20 часов от начала проращивания зерна не отмечалась в контрольном и опытном вариантах.

На 24 час проращивания количество клеток в митозе в опытном варианте возрастало и превышало уровень контроля на 80% и более, что свидетельствует о

стимуляции пролиферативных процессов. Исследование динамики роста первичного корня позволило установить, что наиболее значительная стимуляция ростовых процессов происходила спустя 2 суток после облучения сухих семян дозой 5 Гр, однако радиогормезисный эффект получено после облучения зерна также и другими дозами.

Полученные нами результаты позволяют считать, что действие γ -лучей на семена гороха на состояние покоя способно производить гормезисный эффект в период его прорастания.

Изучение активности α -амилазы в семядолях гороха после действия гамма-излучения в период прорастания семян свидетельствует об усилении ее ингибирования с увеличением дозы. При этом угнетение активности фермента на 18 ч от начала замачивания зерна было более значительным, чем на 12 ч.

При этом уменьшение активности α -амилазы в семядолях после облучения зерновок дозой 5 Гр не привело к ингибированию пролиферативных процессов в меристеме первичного корня, что свидетельствует о включении альтернативных ресурсов метаболитов и энергии. Подтверждением этого стала также стимуляция ростовых процессов. Одним из ключевых механизмов, лежащих в основе явления радиационного гормезиса можно считать активацию фитогормонального комплекса, в частности, цитокининов зеатинового типа. Взаимодействие фитогормонов с компонентами сигнальной системы на уровне клетки, ткани и организма в целом обеспечивает интегральный ответ растений на стрессовый фактор.

Таким образом, в формировании явления радиационного гормезиса задействован комплекс механизмов, которые образуют комплексную систему и в результате обеспечивают восстановление повреждений и компенсаторный эффект усиления ростовой функции растений.

Список литературы

1. *Calabrese E.J., Baldwin L.A.* Radiation hormesis: origins, history, scientific foundation // Hum. Exp. Toxicol. – 2000. – 19, No 1. – P. 41-75.
2. *Lucky T.D.* Radiation Hormesis // Tokyo: Boca Raton Publisher, CRC Press, – 1991. – 239 p.
3. *Кузин А.М.* Идеи радиационного гормезиса в атомном веке // Москва: Наука, – 1995. – 158 с.
4. *Гродзинский Д.М.* Адаптивная стратегия физиологических процессов растений // Киев: Наук. думка, – 2013. – 301 с.
5. *Sakakibara H.* Cytokinins: activity, biosynthesis, and translocation// Annu. Rev. Plant Biol. – 2006. – 57. – P. 431-449.
6. *Міхеев О.М., Овсяннікова Л.Г., Євдокимова С.О.* Можлива роль надклітинних механізмів у радіоадаптаційних ефектах рослин // Вісник Харк. Нац. ун-та ім. В.Н. Каразіна. Серія: біологія. – 2012. – 15, № 108. – С. 233-243.
7. *Мусатенко Л.И., Веденичева Н.П., Васюк В.А., Генералова В.Н., Мартын Г.И., Сытник К.М.* Комплекс фитогормонов в проростках различных по устойчивости к повышенным температурам гибридов кукурузы // Физиол. раст. 2003. – 50. – С. 499–504.
8. *Fursov O.V., Khaidarova G.S., Darkanbayev T.B.* Purification, separation and some properties of α -amilase component of germinating wheat grains // Biochem. Physiol. Pflanzen. – 1986. – 181. – P. 177-187.
9. *Паушева З.П.* Практикум по цитологии растений // Москва: Агропромиздат, – 1988. – 271 с.

ЧАСТОТЫ АБЕРРАЦИЙ ХРОМОСОМ В КУЛЬТУРАХ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И РИСКИ РАЗВИТИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПОСЛЕ РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Нугис В.Ю., Козлова М.Г., Никитина В.А.

Федеральное Государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна», Москва, Россия

nugisvju@list.ru

Вклад хромосомных перестроек в процессы развития канцерогенеза определённых нозологий в настоящее время является хорошо установленным фактом. Отдельно стоит вопрос о возможной связи уровней аберраций хромосом, обнаруживаемых в культурах лимфоцитов периферической крови, с риском развития злокачественных и незлокачественных заболеваний. Особенно данная проблема обострилась после аварии на Чернобыльской АЭС в связи с постулируемой индуцированной нестабильностью генома. Одним из показателей этой нестабильности служат парные фрагменты и хроматидные аберрации, как фрагменты, так и обмены, которые могут являться одним из источников злокачественного перерождения. В той или иной степени положительные данные были получены только в конце XX века. Это было связано с опубликованными в 1990 и 1994 гг. результатами объединённого цитогенетического исследования нескольких скандинаво-датских лабораторий. С целью преодоления имевшихся межлабораторных различий был применён способ разбиения всего массива данных на три группы в зависимости от обнаруженных уровней аберраций хромосом (низкий, средний, высокий). В группе обследованных с наивысшими уровнями аберраций хромосом частота злокачественной заболеваемости в 2,5 раза достоверно превышала таковую в группах с низкой и средней частотой перестроек. В дальнейшем ещё большее количество стран было включено в рассматриваемое исследование, в котором уже также стали участвовать лаборатории из Италии, Венгрии, Германии, Литвы, Польши, Словакии, Хорватии, Чехии. Проведенные масштабные исследования позволяют сделать следующие выводы. 1. В целом все наблюдаемые частоты перестроек хромосом находились в пределах ранее установленных фоновых значений. 2. Наблюдалась корреляция риска развития злокачественных новообразований и/или смертности от них с числом аберраций в культурах лимфоцитов периферической крови, обнаруженных за несколько лет до развития заболевания. Различие обнаруживалось не только в паре низкий – высокий уровень, но и в паре низкий – средний уровень. 3. Связь с риском развития канцерогенеза существовала также и для микроядер, но не для сестринских хроматидных обменов. 4. Полученные данные свидетельствовали о большем значении аберраций хромосомного типа по сравнению с аберрациями хроматидного типа. 5. Сам по себе факт предшествовавшего профессионального вредного воздействия не влиял на рост заболеваемости. 6. Недостаточность информации не позволила установить закономерности, присущие всей сумме злокачественных новообразований, для каждой отдельной нозологии, за исключением рака желудка по отношению к аберрациям хромосом и раков в желудочно-кишечной и урогенитальной областях по отношению к микроядрам. 7. Не было обнаружено влияния пола, возраста и курения на все эти взаимоотношения.

Однако, найденные при цитогенетическом обследовании повышенные уровни аберраций хромосом у лиц, подвергшихся или подвергающихся радиационному воздействию, вообще говоря, могут и не свидетельствовать об увеличенном риске

развития злокачественных новообразований. Они являются просто следствием перенесенного воздействия и не отражают процессы злокачественного перерождения, идущие в организме и связанные с нестабильностью хромосом, хотя и обусловлены общим уровнем нанесенного генетического повреждения. В научной литературе имеются сообщения о положительной корреляции повышенных уровней аббераций хромосом в культурах лимфоцитов периферической крови с риском развития некоторых как злокачественных, так и других соматических (сердечно-сосудистые, эндокринные, в частности, тиреоидные заболевания) патологий. Однако существенным являлось то, что, в отличие от описанных выше европейских исследований, цитогенетический анализ в этих работах не предшествовал постановке диагноза. Таким образом, в данном случае не может быть речи об оценках риска развития заболеваний, так как любая болезнь подразумевает применение адекватных лекарственных препаратов. Влияние последних на хромосомный аппарат в большинстве случаев, собственно говоря, и не исследовалось.

ОСОБЕННОСТИ РЕПАРАЦИИ ДВУНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ ДНК ПРИ ПРОЛОНГИРОВАННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ РЕДКОИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

*Осипов А.Н.¹, Грехова А.К.¹, Пустовалова М.В.¹, Цветкова А.Д.¹, Озеров И.В.¹,
Еремин П.С.¹, Воробьева Н.Ю.¹, Клоков Д.Ю.²*

¹ФГБУ ГНЦ РФ Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна
ФМБА России, Москва, Россия

²Канадские ядерные лаборатории, Чок-Ривер, Канада
andreyan.osipov@gmail.com

Двунитевые разрывы (ДР) являются наиболее значимыми радиационно-индуцированными повреждениями ДНК, так как они являются основным триггером, вызывающим гибель клеток, мутагенез и канцерогенез. Основными механизмами репарации ДР ДНК являются быстрое, но часто ведущее к потере генетического материала, негомологичное соединение концов и медленная, но корректная, гомологическая рекомбинация. Процессы репарации ДР ДНК хорошо изучены после острого облучения, в то время как особенности изменений количества ДР при длительном воздействии ионизирующего излучения до сих пор мало исследованы. Это обусловлено как техническими сложностями при проведении таких экспериментов, так и проблемами с интерпретацией полученных данных. Например, необходимо учитывать, что при длительном облучении с низкой мощностью дозы: 1) происходит два противоположных процесса - одновременная индукция повреждений и репарация ДНК; 2) изменяется распределение клеток по клеточному циклу; 3) меняется пролиферативная активность; и т.д. Цель настоящей работы состояла в изучении особенностей изменений количества ДР ДНК и вклада гомологической рекомбинации в их репарацию в культивируемых фибробластах кожи и мезенхимальных стволовых клетках (МСК) человека при длительном воздействии рентгеновского излучения. Длительное (до 6 ч) облучение клеток при температуре 37°C проводили на рентгеновской биологической установке РУБ РУСТ-М1 (Россия), оснащенной двумя рентгеновскими излучателями, при мощности дозы 4.5 мГр/мин, напряжении 50 кВ, токе 0.4 мА, фильтре 1.5 мм Al. Для оценки изменений количества ДР ДНК использовали количественный и качественный анализ фокусов фосфорилированного гистона H2AX (γ H2AX), являющегося суррогатным маркером ДР ДНК. Оценку доли ДР, репарируемых путем гомологической рекомбинации проводили путем анализа фокусов ключевого белка гомологической рекомбинации - RAD 51. Результаты исследований как количества так и интегральной флуоресценции фокусов γ H2AX свидетельствуют о том, что в течение первых 2 ч облучения (доза ~ 0.54 Гр) наблюдается линейное увеличение количества γ H2AX, после чего с 2 до 6 ч (дозы ~ 0.54-1.62 Гр) наблюдается плато свидетельствующее о наступлении равновесия между процессами образования и репарации ДР ДНК. В отличие от γ H2AX, количество и интенсивность интегральной флуоресценции фокусов, образованных белком RAD51 непрерывно увеличивались в течение всех 6 ч облучения. Полученные данные свидетельствуют о принципиальных различиях вкладов негомологичного воссоединения концов и гомологичной рекомбинации в репарацию ДР ДНК в клетках млекопитающих в зависимости от мощности дозы облучения. Показанное в настоящей работе увеличение доли корректно репарируемых ДР ДНК при длительном облучении является, по всей видимости, одним из клеточных механизмов, снижающих негативные биологические последствия длительного воздействия ионизирующего излучения и обеспечивающих адаптацию клеток к таким воздействиям.

ЛИМФОЦИТЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА КАК ПОКАЗАТЕЛИ РЕАКЦИИ НА ИОНИЗИРУЮЩЕЕ ОБЛУЧЕНИЕ.

*Пелевина И.И., А.В. Алещенко², М.М. Антоцина³, В.А. Бирюков³, О.Б. Карякин³,
Е.В. Рева¹, А.М. Серебряный²*

¹ Институт химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН, Москва,

² Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва

³ Медицинский радиологический научный центр им.А.Ф.Цыба Минздрава РФ,
Обнинск, Россия

Лимфоциты периферической крови (ЛПК) человека являются системой поддерживающей гомеостаз организма, остро реагирующей на все изменения в организме. Эти свойства ЛПК обусловили их широкое использование для изучения реакции на разные воздействия.

Цель настоящей работы состоит в изучении свойств лимфоцитов периферической крови при воздействии радиации на целый организм и в условиях *in vitro*. Были исследованы цитогенетические показатели у разных категории людей и их возможные связи с оксидативным статусом и иммунологическими показателями. Были изучены аберрации хромосом в лимфоцитах периферической крови, их типы, содержание активных форм кислорода (АФК) у здоровых людей, у жителей загрязненных после аварии на ЧАЭС регионов, у ликвидаторов аварии на ЧАЭС, у больных с опухолями (после облучения лимфоцитов *in vitro*).

У ликвидаторов аварии на ЧАЭС даже спустя 25 лет после аварии частота клеток с аберрациями хромосомного типа увеличена. У детей (13-14 лет), живущих в загрязненных районах, возрастает частота клеток с микроядрами.

Зависимость от дозы облучения нестабильных аберраций хромосомного типа при облучении лимфоцитов периферической крови в условиях *in vitro* у здоровых мужчин и больных раком предстательной железы оказалась линейной. Было обнаружено, что при облучении в дозе 0,05 Гр возрастает частота клеток только с аберрациями хроматидного типа и только у доноров.

Наклоны кривых «доза-реакция» для частоты клеток с аберрациями для ЛПК доноров и больных раком предстательной железы не различаются, т.е. радиочувствительность лимфоцитов периферической крови по этому критерию практически одинакова.

Исследование содержания активных форм кислорода показало, что их содержание понижено в ЛПК всех индивидуумов, подвергавшихся облучению, но возрастает у больных раком предстательной железы.

Обсуждаются возможные связи цитогенетических изменений в лимфоцитах с оксидативным статусом, рядом иммунологических изменений.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ В КОРНЕВОЙ МЕРИСТЕМЕ РАСТЕНИЙ САЛАТА ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ СЕМЯН ПРОТОНАМИ В МАЛЫХ ДОЗАХ

Платова Н.Г., Толочек Р.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный
научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем
Российской академии наук, Москва
nataliaspl@inbox.ru

Радиация является одним из факторов ограничивающим возможность длительного пребывания человека в космосе при орбитальных и межпланетных полётах. Радиационная обстановка характеризуется сложным спектром излучений: радиационные пояса Земли, галактические космические лучи, солнечные космические лучи. Большую часть этих излучений составляют протоны различных энергий. Помимо экспериментов в космосе, возможно изучение эффектов космической радиации на Земле при облучении биообъектов на ускорителях с заданными параметрами пучка.

Семена салата *Lactuca sativa* L. сорта Московский парниковый облучали протонами с энергией 30 и 235 МэВ на ускорителе Национального Института Радиологических Наук (NIRS, QST, г. Чиба, Япония) в дозах 1, 50 и 100 мГр. Семена проращивали, оценивали первичные ростовые процессы, а также цитогенетические нарушения в ана-телофазах первого митоза меристемы корня.

Отмечено некоторое увеличение энергии прорастания и всхожести облучённых семян по сравнению с контрольными семенами. Тогда как на цитогенетическом уровне наблюдается достоверное увеличение процента аберрантных клеток и клеток с множественными хромосомными повреждениями. Частота хромосомных aberrаций при облучении семян протонами с энергией 30 МэВ увеличена при дозе 50 мГр по сравнению с дозами 1 и 100 мГр. Тогда как после облучения протонами с энергией 235 МэВ процент клеток с хромосомными aberrациями и клеток с множественными aberrациями остаётся на одном уровне при всех рассмотренных дозах.

В докладе приводится систематизированное изложение полученных результатов с точки зрения оценки эффективности действия малых доз радиации.

МАЛЫЕ ДОЗЫ РАДИАЦИИ: ИЗУЧЕНИЕ УРОВНЯ ПОЛИМОРФИЗМА ДНК У КРАСНОЙ ПОЛЕВКИ (*MYODES RUTILUS*) ИЗ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ

Ракитин С.Б., Григоркина Е.Б.

Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург, Россия

rakitin@ipae.uran.ru, grigorkina@ipae.uran.ru

В условиях нарождающегося глобального экологического кризиса изучение отдаленных последствий крупных радиационных инцидентов для живых организмов в их естественной среде обитания становится всё более актуальной проблемой, требующей решения мировым сообществом. В результате одной из наиболее крупных в мировом масштабе аварий на ПО «Маяк» осенью 1957 г. значительная территория Челябинской, Курганской и Свердловской областей была загрязнена радиоактивными веществами, образовавшими Восточно-Уральский радиоактивный след (ВУРС). В настоящее время территория ВУРСа является единственным в России научно-исследовательским полигоном, позволяющим изучать воздействие радиации на живые организмы и окружающую среду в естественных условиях. Зона ВУРСа имеет специфическую конфигурацию – узкую и протяженную территорию с резко падающим градиентом радиоактивного загрязнения, усложнённым гидрометеорологическими и ландшафтными факторами, что позволяет ожидать разнообразия биологических эффектов. Кроме того, многолетние полевые исследования населения мелких млекопитающих в зоне ВУРСа свидетельствуют об их высокой миграционной подвижности, наличии активных перемещений как в зоне загрязнения, так и за пределами радиационного заповедника (Григоркина, Оленев, 2013).

В подобных случаях при изучении последствий радиационного воздействия на природные популяции мелких млекопитающих явным преимуществом обладают молекулярно-генетические маркеры, способные предоставить ценную информацию, часто недостижимую при использовании других подходов, например, для осуществления мониторинга за уровнем миграций, определения степени генетического разнообразия и т.п. При этом высокую эффективность продемонстрировали разнообразные методы оценки ДНК-полиморфизма, в частности, анализ изменчивости микросателлитной и митохондриальной ДНК. Для увеличения достоверности полученных результатов часто используют ядерные и митохондриальные маркеры в комплексе.

В настоящей работе с помощью двух молекулярно-генетических маркеров (микросателлитная ДНК и фрагмент гена цитохрома *b* (*cyt b*) митохондриальной ДНК (мтДНК)) впервые изучено генетическое разнообразие в выборках модельного вида – красной полевки (*Myodes rutilus*) – из зоны радиоактивного загрязнения (ВУРС), с сопредельной и географически удаленной фоновых территорий.

Импактный участок (Бердениш) находится в головной части зоны ВУРСа в окрестностях озера Бердениш в 13 км от эпицентра аварии, исходная плотность загрязнения почвы ^{90}Sr – 500 Ки/км²; по современным оценкам запас радиостронция в почве составляет 9.7 МБк/м² (5.5-15.0), ^{137}Cs – 315.5 кБк/м² (173.6-429.1), $^{239, 240}\text{Pu}$ – 29.1 кБк/м² (25.0-33.2) (Позолотина и др., 2008). По данным авторов дозовые нагрузки, получаемые живыми организмами в настоящее время, относятся к области малых доз. Основная часть дозовой нагрузки была получена растениями и животными в течение первых четырех лет после Кыштымской аварии (Некипелов и др., 1990).

Сопредельный фоновый участок – Метлино расположен за пределами радиационного заповедника в 9-10 км от импактного в окрестностях озера Кожакуль, плотность загрязнения почвы ^{90}Sr – 2 Ки/км² (44 кБк/м²). Географически удаленным

контролем (референтная группа) послужила выборка из окрестностей с. Шигаево (Свердловская область, Шалинский район), находящегося на расстоянии 220 км от двух других участков, уровень загрязнения находится в пределах региональной нормы (Gileva et al., 2008).

Была проанализирована изменчивость четырех микросателлитных локусов: MSCg4, MSCg9, MSCg15, LIST-3-003 (Gockel et al., 1997; Barker et al., 2005). Наибольшие различия были отмечены между полевыми из референтной выборки (N = 28) и из зоны ВУРСа (N = 24). У полевых из зоны ВУРСа зарегистрировано наибольшее значение средней наблюдаемой (0,906) и ожидаемой гетерозиготности (0,867), среднего числа аллелей на локус (10) и индекса Гарза-Вильямсона (0,513). Генетическая структура импактной (ВУРС) и референтной группировок значительно различается ($F_{st} = 0,015$; $P = 0,010$). В то же время межгрупповые различия "ВУРС" – "сопредельный участок Метлино (N = 15)" оказались на границе 5%-ного уровня значимости ($F_{st} = 0,012$; $P = 0,052$). У грызунов из фоновых выборок не выявлено значимой межпопуляционной дифференциации ($F_{st} = 0,011$; $P = 0,073$), несмотря на значительное расстояние между ними (220 км). Вместе с тем обнаружено повышение некоторых параметров внутривидового генетического разнообразия (аллельное разнообразие и число уникальных аллелей) на сопредельном участке ВУРСа (Метлино) по сравнению с импактным и референтным локалитетами (Ракитин и др., 2016). Следует подчеркнуть, что уровень радиоактивного загрязнения в окрестностях пос. Метлино на данный момент соответствует таковому на территориях, разрешенных для проживания населения и ведения хозяйственной деятельности.

Параллельно нами были начаты исследования показателей генетического разнообразия, полученных на основании анализа изменчивости фрагмента (866 пн) гена *cyt b* мтДНК у тех же самых животных, которые были использованы для анализа полиморфизма микросателлитной ДНК. Предварительные результаты свидетельствуют о высоком гаплотипическом разнообразии красной полевки по фрагменту гена *cyt b* из зоны ВУРСа ($h = 1,000 \pm 0,127$; N = 5) и с сопредельной территории ($h = 1,000 \pm 0,272$; N=3), по сравнению с референтной выборкой ($h = 0,786 \pm 0,151$; N = 8). Нуклеотидное разнообразие и среднее число парных различий между гаплотипами оказались наиболее высокими в выборке полевых с сопредельного участка (Метлино) ($\pi(\times 100) = 0,539 \pm 0,450$; $k = 4,667 \pm 3,127$), при сравнении выборок из зоны ВУРСа и референтной (Шигаево) эти показатели оказались близкими по значениям ($\pi(\times 100) = 0,370 \pm 0,267$; $k = 3,200 \pm 1,980$ и $\pi(\times 100) = 0,392 \pm 0,255$; $k = 3,393 \pm 1,939$, соответственно). По предварительным оценкам обнаружен достаточно высокий уровень межпопуляционной генетической дифференциации ($F_{st} = 0,124$), рассчитанной на основе дисперсии частот гаплотипов мтДНК, при этом определяемая ею доля дисперсии составила 12,40 % ($P = 0,039$).

На основании полученных данных, можно заключить, что выборки грызунов из головной части зоны ВУРСа и из удаленного контрольного участка различаются по показателям изменчивости локусов микросателлитной ДНК и уровню гаплотипического разнообразия фрагмента гена *cyt b* мтДНК. При этом обнаружено повышение ряда параметров внутривидового генетического разнообразия, оцененного с использованием локусов микросателлитной ДНК (аллельное разнообразие, число уникальных аллелей) и на основании анализа полиморфизма гена *cyt b* мтДНК (нуклеотидное разнообразие, среднее число парных различий между гаплотипами) на сопредельном участке ВУРСа, где уровень радиоактивного загрязнения соответствует фоновым величинам.

Несомненно, наблюдаемая картина, вероятнее всего, связанная с миграционной активностью грызунов и особенностями конфигурации зоны радиоактивного

загрязнения, требует дальнейшего исследования с увеличением объема анализируемых выборок, в том числе количества локусов микросателлитной ДНК. Тем не менее, анализ данного материала позволяет сделать вывод о переносе радиационно-индуцированных генетических эффектов на сопредельные с зоной ВУРСа территории, выражающемся в увеличении некоторых показателей генетического разнообразия на этих участках по сравнению с импактными и референтными локалитетами.

Таким образом, результаты проведенных исследований:

1) подтверждают необходимость учета миграционного фактора при изучении разного рода отдаленных последствий у мелких млекопитающих в зонах локального техногенного загрязнения, где биологические эффекты поллютантов подвержены постоянному «размыванию» за счет изменения состава населения;

2) позволяют рекомендовать использованные нами молекулярно-генетические маркеры при анализе полиморфизма ДНК в природных популяциях модельных видов грызунов, обитающих в зонах радиационных инцидентов и на сопредельных с ними территориях.

Работа частично поддержана РФФИ (№ 14-04-00614) и Программой фундаментальных исследований УрО РАН (проект № 15-2-4-21).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Григоркина Е.Б., Оленев Г.В. Миграции грызунов в зоне влияния Восточно-Уральского радиоактивного следа (радиобиологический аспект) // Радиационная биология. Радиоэкология. 2013. № 1. С. 76-83.
2. Некипелов Б.В., Романов Г.Н., Булдаков Л.Н. и др. Об аварии на Южном Урале 29 сентября 1957г. // Информ. бюл. Межвед. совета по информации и связям с общественностью в области атомной энергии. М. 1990. С. 39-48.
3. Позолотина В.Н., Молчанова И.В., Караваева Е.Н. и др. Современное состояние наземных экосистем зоны Восточно-Уральского радиоактивного следа. Екатеринбург: Голицынский, 2008. 204 с.
4. Ракитин С.Б., Григоркина Е.Б., Оленев Г.В. Анализ микросателлитной ДНК у грызунов из зоны Восточно-Уральского радиоактивного следа и сопредельных территорий // Генетика. 2016. Т.52. № 4. С. 453-460.
5. Barker F.S., Helyar S.J., Kemp S.J. Highly polymorphic microsatellite loci in the bank vole (*Clethrionomys glareolus*) // Molecular Ecology Notes. 2005. № 5. P. 311–313.
6. Gileva E. A., Rakitin S. B., Fokin M. V. et al. Microsatellite DNA variation in Ural bank vole populations // Rus. J. Ecology. 2008. V. 39. №. 7. P. 544–547.
7. Gockel J., Harr B., Schlötterer C. et al. Isolation and characterization of microsatellite loci from *Apodemus flavicollis* (Rodentia, Muridae) and *Clethrionomys glareolus* (Rodentia, Cricetidae) // Molecular Ecology. 1997. № 6. P. 597–599.

ИЗМЕНЕНИЕ ОРИЕНТИРОВОЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ПОВЕДЕНИЯ И ПОКАЗАТЕЛЯ СПОНТАННОГО ЧЕРЕДОВАНИЯ В Т-ЛАБИРИНТЕ У КРЫС ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПРОТОНОВ РАЗЛИЧНЫХ ЭНЕРГИЙ

*Северюхин Ю.С.¹, Иванов А.А.², Молоканов А. Г. Гаевский В. Н. К.Н.Ляхова¹,
Колесникова И.А., Красавин. Е. А.*

¹Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия, ² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр - Институт Медико-Биологических проблем РАН, Москва, Россия
yucucumber@mail.ru

За время космического полета тело космонавта подвергается воздействию космических лучей (КЛ). Около 90% спектра частиц в межпланетном пространстве Солнечной системы составляют ядра атома водорода. Помимо прочего, в околоземном пространстве потоки протонов с широким диапазоном энергий являются составной частью радиационного пояса планеты. При прогнозировании радиационного риска космической миссии является важным оценить возможные биологические эффекты при воздействии протонов. При этом особый интерес представляет изучение изменений функций центральной нервной системы (ЦНС). Этому аспекту необходимо уделить особое внимание, так как возможное нарушение операторской деятельности космонавтов связано с угрозой их жизни непосредственно в процессе полета.

Оценку рабочей памяти крыс (самки линии SD) проводили в Т-лабиринте, изменения двигательной активности и исследовательского поведения регистрировали в установке “Открытое поле”. Первая группа животных была подвергнута облучению протонами с энергией 171 МэВ/ нуклон, вторая группа протонами с энергией 70 МэВ/нуклон. Доза в обоих случаях составила 1 Гр. Также было сформировано 2 контрольные группы: крысы, подверженные гамма-излучению и интактные животные. Животные проходили тестирование в “Открытом поле”(ОП) в различные периоды после облучения. Оценку показателей спонтанного чередования проводили до воздействия протонами и спустя месяц после облучения.

Анализ полученных результатов может свидетельствовать о достоверном снижении двигательной активности у экспериментальных животных после воздействия протонами с энергией 70 МэВ/нуклон. Различия между показателями исследовательской активности в ОП не были достоверными, а проявлялись лишь в виде тенденций. Радиационное воздействие на крыс, привело к изменению соотношения различных поведенческих элементов при прохождении Т-лабиринта. Полученные данные указывают на существование неоднозначных поведенческих проявлений у крыс при облучении протонами различных энергий.

О РОЛИ НЕМИШЕННЫХ ЭФФЕКТОВ В ИЗМЕНЕНИИ СВОЙСТВ ОРГАНИЗМОВ ПОСЛЕ СЛАБЫХ РАДИАЦИОННЫХ И ХИМИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

Серебряный А.М.

ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия.

amserebr@gmail.com

В докладе будут обсуждаться опубликованные в литературе экспериментальные данные, полученные при изучении двух далеких друг от друга биологических объектов: лимфоцитов периферической крови человека и семян растений. Мы объединили эти объекты по той причине, что у них есть одно и то же свойство: в большинстве случаев после действия повреждающих факторов в малой дозе (и радиации и химических агентов) у них наблюдается снижение чувствительности к действию тех же или других факторов в большой дозе. В случае, когда снижается радиочувствительность, феномен называют радиационным адаптивным ответом, а снижение чувствительности к действию химических агентов – феноменом антимутагенеза. Обычно предполагается, что оба феномена являются следствием повреждения ДНК и индукции, вследствие этого, специфических систем репарации, повышающих устойчивость объекта. Напротив, по мнению автора, эти феномены объединяет то, что оба они являются типичными немишенными эффектами.

Под немишенным механизмом формирования эффекта, понимается процесс формирования его вследствие повреждения любой структуры в клетке, то есть в клетке отсутствует специфическая структура, повреждение которой необходимо для инициации процесса, приводящего к эффекту. Чувствительность снижается просто как следствие нарушения гомеостаза клетки.

К таким немишенным эффектам, по мнению автора, относится феномен стимуляции развития семян растений в результате воздействия повреждающих факторов. Первым фактором, у которого еще в 19 веке была обнаружена способность стимулировать развитие семян, было рентгеновское излучение. Затем было показано, что этим свойством обладают и другие физические воздействия, например: γ -лучи, α -частицы – продукты распада радона, вторичное биологически активное излучение растительных структур после их γ -облучения в малых дозах, переменные электромагнитные поля низкой частоты, красный свет и воздействие лазерного облучения, воздействие вибрации и звука и некоторые другие. Эта способность была выявлена и у огромного числа разнообразных химических соединений. Например, неорганические соединения: углеродные нанотрубки увеличивают прорастание и последующую скорость роста семян томатов и рост клеток в культуре клеток табака, нано частицы нуль-валентного железа стимулируют прорастание и последующее развитие семян арахиса, а соли кадмия – семян пшеницы.

Обширен и список органических соединений, разного строения и с различными свойствами, в низких дозах стимулирующих развитие семян. Например, среди них есть антибиотики, гербициды, красители, мутагены, антиоксиданты. Примечательно, что даже декапитация кончика корешков у проростков кукурузы активирует пролиферацию клеток в покоящемся центре, а удаление апикальной части главного корня проростка гороха усиливает рост, число и размер боковых корней и, по сравнению с контролем, повышает митотический индекс в них.

Ясно, что стимуляция является следствием воздействий, различающихся по механизму действия, по внутриклеточным мишеням, с которыми взаимодействует действующий фактор. По мнению автора, маловероятно, что в клетке существует

единственная структура, модификация которой начинала бы цепь событий, реализующихся в стимуляции. Поэтому автор и считает, что стимуляция относится к числу, так называемых, «немишенных эффектов», и модификация любого компартмента клетки может феноменологически реализоваться в виде стимуляции.

Анализ литературных данных показал, что немишенный эффект – стимуляция развития семени участвует в формировании феноменов адаптивного ответа и антимутагенеза у растений. Показано, что снижение повреждающего эффекта воздействия в большой дозе обратно пропорционально изменению митотического индекса, вызванного неспецифическим воздействием. Коэффициент корреляции в большинстве случаев близок к единице, что позволяет полагать, что изменение митотического индекса и является основой этих феноменов. К объяснению этой связи мы перейдем ниже.

У лимфоцитов периферической крови человека (ЛПК) процесс, аналогичный процессу стимуляции не описан, но с адаптивным ответом у растений адаптивный ответ ЛПК роднит такая же неспецифичность факторов, его вызывающих. Обычно предполагают, что адаптивный ответ ЛПК инициируется повреждениями ДНК и индукцией репаративных систем. Но показано, что каскад событий, приводящих к снижению радиочувствительности лимфоцитов, может быть инициирован не только ионизирующим облучением с низкой ЛПЭ, но и облучением нейтронами, действием перекиси водорода, солей цинка, блеомицина и даже гипертермией. Показано также, что радиочувствительность лимфобластоидных клеток человека может быть снижена предварительной обработкой их N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидином – мутагеном, вызывающим принципиально иные, чем радиация, повреждения ДНК. Еще более парадоксален результат работы, в которой описан феномен снижения радиочувствительности ЛПК, вызванный облучением клеток неионизирующим электромагнитным облучением с частотой 1950 МГц, неспособным повреждать ДНК. Столь разнообразный набор воздействий исключает возможность существования индуцибельной универсальной репаративной системы, функционирование которой и обеспечит повышение радиоустойчивости клеток. К тому же показано, что облучение ЛПК в дозе, вызывающей адаптивный ответ, не активирует гены, кодирующие синтез ферментов репарации повреждений ДНК. Эти факты позволяют полагать, что адаптивный ответ является немишенным эффектом и может индуцироваться повреждением любого компартмента клетки.

Таким образом, показано, что у двух столь различных объектов, разнообразнейшие слабые воздействия могут вызывать одинаковый ответ: снижение чувствительности к сильным воздействиям, повышение устойчивости организмов. Правда, следует отметить, что у растений изменение митотического индекса и соответствующее изменение их чувствительности отмечается не у всех сортов даже одного вида, а радиационный адаптивный ответ лимфоцитов наблюдается не у всех индивидуумов. Возможно, что эти свойства генетически детерминированы. Какие же процессы обеспечивают это изменение свойств?

Первичным событием является появление вследствие повреждения любого компартмента клетки «сигналов опасности» (danger signals, McBride et al., 2004). Часто возникшее состояние называют стрессом. Пути реализации стрессового состояния в повышение устойчивости, конечно, у растений и ЛПК различны. У растений, для которых более характерно репопуляционное восстановление, а не поклеточная репарация поврежденной ДНК, воздействие в малой дозе, повреждая любые компартменты клетки, переводит их в состояние стресса и, по-видимому, снимает запрет на деление покоящихся клеток. В результате повышается митотический индекс,

сокращается продолжительность клеточного цикла и этим обеспечивается источник клеток для процесса репопуляции и повышается его эффективность.

Для ЛПК в ряде работ показано, что первичными событиями после перехода в состояние стресса являются синтез стресс-активируемых и митоген-активируемых протеин киназ, ферментов, контролирующих межклеточные взаимодействия и сигналинг. Лишь на следующих этапах происходит активация и повышение эффективности функционирования репарационных ферментов и других систем, контролирующих гибель клеток или их выживание, арест или прогрессию по клеточному циклу. Но детальный механизм реализации первичных сигналов в повышении эффективности функционирования этих систем после перехода клеток в состояние стресса все еще неизвестен.

Итак, можно обоснованно полагать, что немишеные эффекты могут играть существенную роль в защите организмов от генотоксических воздействий окружающей среды.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 16-04-00963а).

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ УСКОРЕННЫХ ИОНОВ УГЛЕРОДА С ЭНЕРГИЕЙ 450 МЭВ/Н НА МЫШАХ *IN VIVO*

Сорокина С.С.¹, Заичкина С.И.¹, Розанова О.М.¹, Смирнова Е.Н.¹, Романченко С.П.¹,
Дюкина А.Р.¹, Сирота Н.П.¹, Кузнецова Е.А.¹, Вахрушева О.А.¹, Шемяков А.Е.¹,
Пикалов В.А.²

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики

² Институт физики высоких энергий НИЦ "Курчатовский институт"
sv0723@yandex.ru

Онкологические заболевания являются очень серьезной проблемой. В России ежегодно выявляется около 500 тысяч случаев первичных злокачественных новообразований. Для борьбы с этими заболеваниями в мире активно разрабатываются новые высокоэффективные методы лечения. Одним из таких методов является лучевая терапия пучками ионов углерода, которые могут лечить труднодоступные опухоли, устойчивые к рентгеновскому и протонному излучениям. Вторая задача, касающаяся исследования биологического действия ускоренных ионов углерода, связана с современным этапом развития космической радиобиологии, поскольку в ближайшее время планируются длительные межпланетные пилотируемые полёты на Луну и Марс, во время которых экипажи будут подвергаться воздействию галактического космического излучения, в спектре которого преобладают протоны и ионы высоких энергий - углерода и железа. Исследований по моделированию действия ускоренных тяжелых частиц на животных также еще недостаточно в связи с ограниченностью источников облучения ускоренными частицами и сложностью проведения таких экспериментов. Исследование низких доз ионов углерода, которые сопоставимы с прогнозируемыми дозами во время космических полетов, позволит оценить вклад генетического риска в общий спектр воздействий неблагоприятных факторов полёта. Не менее важным является решение вопросов, связанных с нормированием лучевых нагрузок на персонал, работающий в смешанных полях ионизирующих излучений, и влияния подобных нагрузок на потомство.

Целью работы является отработка способов позиционирования животных в зоне облучения, получение дозовых зависимостей количества цитогенетических повреждений в костном мозге, клеточности тимуса и селезенки, продукции АФК и повреждений ДНК в цельной крови при облучении мышей *in vivo* ускоренными ионами углерода с энергией 450 МэВ/н в пике Брэгга и рентгеновским излучением в диапазоне доз от 0,1 до 1,5 Гр.

Исследования проводили на мышах *in vivo* в помещении временного радиобиологического стенда ускорительного комплекса У-70 (г. Протвино). Облучение двухмесячных самцов линии SHK пучком ионов углерода с энергией 450 МэВ/нуклон проходило в режиме медленного вывода 1 раз в 8 сек, длительность выпуска – 0,6 сек. Облучение рентгеновскими лучами осуществлялось на установке РУТ при напряжении 200 кВ и средней мощности дозы 1 Гр/мин (г. Пущино). Облучение вели с сопровождением каждой экспозиции дозиметрической пленкой «ЕВТ 3» (Gafchromic® film). На каждую экспериментальную точку использовали не менее 6 мышей. Животных выводили из эксперимента методом декапитации через 28 ч после воздействия. Критерием цитогенетических повреждений служил процент полихроматофильных эритроцитов с микроядерами в костном мозге. Относительные массы тимуса и селезенки были рассчитаны по отношению среднего абсолютного веса органа к среднему весу животного в группе. Уровень повреждений ДНК в лейкоцитах

периферической крови оценивали с помощью «комета»-теста по количеству ДНК в хвосте кометы (%TDNA) и доли клеток с неповрежденной ДНК (% клеток, не имеющих хвоста «комет»). Уровень продукции АФК измеряли в цельной крови методом люминол-зависимой зимозаниндуцированной хемилюминесценции с помощью 12-канального прибора CHEMILUM-12 (Россия). Ответ хемилюминесценции в крови определяется, в основном, реакцией фагоцитирующих клеток, продуцирующих АФК. Индекс активации рассчитывается как отношение индуцированной светоплощади к спонтанной и отражает резерв иммунной системы организма. Для оценки статистической достоверности различий между группами использовали t-критерий Стьюдента.

Таким образом, при облучении мышей ускоренными ионами углерода с энергией 450 МэВ/н в пике Брэгга и рентгеновским излучением в диапазоне доз от 0,1 до 1,5 Гр с помощью микроядерного теста была получена нелинейная дозовая зависимость выхода полихроматофильных эритроцитов с микроядрами и определено значение ОБЭ от 1,3 до 2,4, которое зависело от дозы; относительная масса тимуса и селезенки была значительно снижена при более низких дозах по сравнению с мышами, облученными рентгеновским излучением; присутствие повреждений в ДНК лейкоцитов наблюдалось через 24 ч после облучения при дозах от 0,3 Гр до 1,5 Гр в отличие от рентгеновского излучения; индекс активации хемилюминесценции снижался с увеличением дозы облучения ионами углерода, что свидетельствует об истощении резерва защитных систем организма.

Полученные данные могут послужить основой для разработки рекомендаций нормирования радиационных нагрузок для дальних длительных космических полётов, а также поиска средств защиты от функциональных нарушений, обусловленных воздействием космического галактического излучения – протонов высоких энергий и тяжелые ионов.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАДИАЦИОННЫХ ЭФФЕКТОВ У ОБЛУЧЕННЫХ ЛЮДЕЙ И ИХ ПОТОМКОВ

Тельнов В.И.

ФГУП Южно-Уральский институт биофизики ФМБА России, г. Озерск,
Челябинская область, Россия

tvi@subi.su

Введение. Известно, что при воздействии неблагоприятных факторов внешней среды не у всех индивидов развиваются нарушения или заболевания. Это обстоятельство в общем плане является отражением неодинаковых индивидуальных особенностей индивидов. Значительный вклад в индивидуальные особенности организма вносят генетические факторы. Многочисленные исследования свидетельствуют о важной роли генетической предрасположенности в развитии широкого спектра патологий и неблагоприятных эффектов под влиянием факторов различной природы [1]. В значительно меньшей степени эта актуальная проблема изучена относительно радиорезистентности человека, что затрудняет учет генетических факторов при оценке риска неблагоприятных последствий облучения у людей [2].

В данном сообщении представлены некоторые итоги генетических и эпигенетических исследований у работников ПО «Маяк» и их потомков, а также анализ литературных данных.

Генетическая предрасположенность людей к детерминированным и стохастическим эффектам облучения. Достоверно повышенный ОР таких детерминированных эффектов облучения, как острая и хроническая лучевая болезнь, лучевой дерматоз, ранний церебральный атеросклероз, хронический гастрит, хронический гепатит и цирроз печени, сокращение ожидаемой продолжительности жизни. Также у людей с радиочувствительными генотипами установлен повышенный ОР стохастических эффектов облучения – хромосомных aberrаций, рака легкого, молочной железы, менингиомы и меланомы кожи. Помимо оценки ОР необходимо определять генотипический ОР (ГОР), который учитывает не только ОР генотипа, но и распространенность радиочувствительного генотипа в общей популяции.

Анализ также показал, что в рамках отдельной генетической системы можно выделить лишь относительно наиболее радиочувствительные генотипы, поскольку каждый из них в разной степени может обуславливать генетическую предрасположенность к различным детерминированным эффектам.

Важное значение генетическая предрасположенность имеет и в случае развития канцерогенных эффектов у людей после радиохимиотерапии по медицинским показаниям. Среди лиц с радиочувствительными генотипами, получивших радиохимиотерапию по поводу злокачественных новообразований, в дальнейшем наблюдался повышенный ОР лейкоза и рецидивов солидных опухолевых заболеваний.

Особенности взаимодействия радиационных и генетических факторов при развитии детерминированных и стохастических эффектов. Результаты проведенной оценки взаимодействия факторов радиационной и генетической природы свидетельствуют о том, что ведущим видом их взаимодействия при детерминированных и стохастических эффектах является синергизм (от аддитивного до мультипликативного) – [3]. Тот факт, что ОР стохастических эффектов совместного действия генетического и радиационного факторов во всех случаях был достоверно повышенным, очевидно, указывает на то, что генетическая предрасположенность к радиационным эффектам в значительной степени определяется ведущим значением в их развитии радиационного воздействия. Следовательно, генетическая

предрасположенность людей к неблагоприятным последствиям радиационного воздействия имеет определенные ограничения, но, тем не менее, оказывает существенное влияние на их развитие.

Интенсивность радиационного фактора, генетическая предрасположенность и риск детерминированных и стохастических эффектов. Важное значение в реализации генетической предрасположенности к радиационным эффектам у людей имеет и то, что последняя наиболее выражена при действии *минимальных эффективных* доз облучения. Основанием для такого вывода являются полученные данные о наибольших значениях относительного риска хронической лучевой болезни у людей с генотипом Нр 2-2 при относительно меньших эффективных дозах облучения [4]. Оценка ОР рака легкого показала, что при относительно меньшей интенсивности курения у людей с чувствительными генотипами по сравнению с резистентными наблюдается наибольший риск рака легкого ($OR=3,1$), чем при большей интенсивности курения ($OR=1,5$). При этом в целом ОР рака легкого повышался с увеличением интенсивности курения.

Эпигенетические механизмы лучевого канцерогенеза. В эпидемиологических исследованиях, выполненных у работников ПО «Маяк», которые подверглись радиационному воздействию, установлен повышенный риск рака легкого. Из возможных молекулярных механизмов лучевого канцерогенеза большой интерес вызывает эпигенетическая активация протоонкогенов или инактивация генов супрессоров опухолей путем аномального метилирования CpG-островков. Сравнительный анализ показал, что относительно контроля в тканях аденокарциномы легкого работников частота аномального метилирования в генах p16, O⁶-MGMT и GATA5 достоверно повышена, а в гене RASSF1A, напротив, снижена. При этом частота множественного метилирования (в трех и более генах) достоверно повышалась с увеличением поглощенной дозы на легкие от плутония-239 [5]. Появившиеся в последние годы данные о возможности диетической регуляции аномального метилирования имеют несомненное профилактическое значение.

Распределение генетических маркеров у потомков облученных людей. Итоги изучения распределения ряда генетических маркеров у потомков 1-го поколения работников ПО «Маяк» в зависимости от прекоцептивной дозы облучения свидетельствуют о том, что дети, родители которых получили прекоцептивные дозы γ -облучения более 200 сГр, по сравнению с контролем характеризуются средней приспособленностью и снижением среднего коэффициента отбора по генетической системе Нр за счет достоверного повышения частоты генотипа Нр 2-2. Наиболее вероятной причиной наблюдаемых сдвигов может быть направленный гаметический отбор (аллель Нр² против аллеля Нр¹) при данных условиях прекоцептивного облучения, который проявляется в нарушении сегрегации у гетерозигот Нр 2-1, имеющих оба аллеля. Результатом такого отбора в названной группе потомков явилось: снижение частоты гетерозиготности по системе Нр, тенденции к снижению средней гетерозиготности по всем исследованным генетическим маркерам, изменение в частоте сочетаний отдельных генотипов и групп крови, уменьшение генетической идентичности и увеличение генетического расстояния относительно контроля [6]. На основе нерадиационного варианта генотипических различий в ОППЖ для этой группы потомков был проведен предварительный расчет ОППЖ, который показал ее уменьшение на 0,5 года по сравнению с контролем. Полученные результаты указывают на необходимость проведения более интенсивных кардиологических профилактических мероприятий у данной группы потомков облученных людей. Важно отметить, что наблюдаемые сдвиги у потомков 1-го поколения (F1) облученных людей

не передаются 2-му поколению.(F2, внуки) вследствие вступления их в браки в 94,6% с партнерами, не имеющих таких преконцептивных доз облучения.

Канцерогенный риск преконцептивного облучения у потомков работников облученных людей.

Оценка связи возникновения опухолевых заболеваний у потомков облученных отцов с радиационным воздействием является важной и далеко не решенной проблемой радиационной эпидемиологии. Имеющиеся литературные данные по вопросу влияния преконцептивного облучения отцов на возможность возникновения и развития опухолей у их потомков весьма противоречивы, что обусловлено рядом причин, в частности недостаточной численностью наблюдений, некорректными оценками доз облучения, отсутствием индивидуальных доз облучения и другими причинами. В этой связи представляет большой интерес оценка риска опухолевых заболеваний у потомков 1949-1968 годов рождения, отцы которых к моменту зачатия детей подвергались профессиональному хроническому облучению в широком диапазоне доз во время работы на первом атомном предприятии России ПО «Маяк». Так, канцерогенный риск у потомков достоверно повышался при преконцептивных дозах облучения отцов: более 11 сГр, полученных в течение 1 года до зачатия, (ОР=3,5; 95% доверительный интервал (ДИ) =1,8-6,9). При этом установлено взаимодействие преконцептивного облучения и родительской онкопатологии по типу выше аддитивного {7}.

Закключение. Таким образом, результаты оценки генетической предрасположенности к детерминированным и стохастическим эффектам облучения у людей свидетельствуют о высоком риске радиационных эффектов у лиц с радиочувствительными генотипами. Анализ роли генетических маркеров в развитии радиационных эффектов показал, что в пределах генетической системы можно выделить отдельные радиочувствительные генотипы, которые обуславливают генетическую предрасположенность к различным радиационным эффектам. Взаимодействие генетических и радиационных факторов характеризуется синергизмом разной степени. Генетическая предрасположенность к радиационным эффектам наиболее выражена при действии минимальных эффективных доз. Установлены эпигенетические механизмы радиационного канцерогенеза у профессиональных работников, подвергшихся инкорпорации плутония-239. Выявлено взаимодействие преконцептивного облучения работников ПО «Маяк» и родительской онкопатологии у их потомков. Полученные результаты свидетельствуют о важном значении генетических и эпигенетических механизмов в реализации радиационных эффектов у облученных людей и их потомков.

1. *Спицын В.А.* Экологическая генетика человека. М.: Наука, 2008. 503 с.
2. Genetic heterogeneity in the population and its implication for radiation risk // Doc. NRPB.- 1999.- V.10.- №3.
3. *Тельнов В.И.* Взаимодействие генетических и радиационных факторов в реализации эффектов облучения у людей // Гигиена и санитария, 2012, №6. С. 75-77.
4. *Тельнов В.И.* Оценка роли генетических факторов в радиорезистентности людей // Генетика. 2005. Т.41. №1. С.85–92.
5. *Lyon Ch.V., Klinge D.M., Liechty K.C. et al.* Radiation Induced Lung Adenocarcinoma is Associated with Increased Frequency of Genes Inactivated by Promoter Hypermethylation // Radiation Research, 2007, V.168, №6, p. 409-414.
6. *Тельнов В.И.* Показатели генетической изменчивости и отбора у потомков облученных людей // Радиационная биология. Радиоэкология, 2009.- Т.49.- №6. С.645-651.

7. Тельнов В.И., Кабирова Н.Р., Окатенко П.В. Синергизм преконцептивного облучения и родительской онкопатологии в повышении канцерогенного риска у потомков профессиональных работников // Гиг. Сан., 2015, Т.94, № 7, С.110-114.

**РАСЧЕТНО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ
РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ НА МОЛЕКУЛЯРНО-
ГЕНЕТИЧЕСКОМ УРОВНЕ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ
ИЗЛУЧЕНИЙ РАЗНОГО КАЧЕСТВА**

*Ульяненко С.Е., Потетня В.И., Корякин С.Н., Лычагин А.А., Корякина Е.В.,
Соловьев А.Н., Бекетов Е.Е., Исаева Е.В.*

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ
«Национальный медицинский исследовательский радиологический центр»
Минздрава России, Обнинск
ustev@mail.ru

Изучение эффектов излучений разного качества и их сочетаний важно для понимания и моделирования радиобиологических процессов на всех уровнях организации живых организмов, включая молекулярно-генетический, а его результаты должны учитываться при разработке регламентов комбинированных схем и планировании лучевой терапии.

Принято считать, что определяющими молекулярными повреждениями, лежащими в основе клеточной гибели, хромосомных и генных мутаций являются одно- и двунитевые разрывы ДНК (ОР, ДР), модификация оснований. Их соотношения (и соответственно развитие различных молекулярно-генетических эффектов) характерны для каждого из источников излучения, как фотонного, так и корпускулярного. При действии редкоионизирующих излучений с небольшой плотностью ионизации (γ - и рентгеновское излучения, быстрые электроны, ускоренные ионы с энергиями >200 МэВ/а.е.м.) соотношение ДР/ОР ДНК составляет 1:(20-100). Плотноионизирующие излучения вызывают значительно большее число ДР. В области максимума зависимости ОБЭ/ЛПЭ при значениях ЛПЭ $\approx 100-200$ кэВ/мкм соотношение ДР/ОР снижается до 1:(4-6). При этом в спектре молекулярных повреждений ДНК возрастает количество так называемых кластерных повреждений, трудно или нерепарируемых, т. е. фактически летальных для клетки. Поэтому изучение влияния излучений разного качества на клеточные структуры, анализ закономерностей повреждений ДНК, полученные расчетными методами и в радиобиологических экспериментах, обладают как теоретическим, так и прикладным значением.

Ионы и протоны характеризуются определенной длиной пробега и имеют максимальную потерю энергии в его конце (пик Брэгга). Это позволяет создавать равномерное распределение дозовой нагрузки по всему объему опухоли с высочайшими краевыми градиентами дозы на дистальной и латеральной границах мишени. Несмотря на худшее по сравнению с ионами дозовое распределение нейтронов в теле пациента, они обладают рядом радиобиологических преимуществ: действие нейтронов в широком диапазоне энергий слабо зависит от насыщения клеток кислородом и фаз клеточного цикла (что также обусловлено эффективным индуцированием кластерных повреждений ДНК вторичными частицами с высокой ЛПЭ).

При терапевтическом применении ускоренных ионов и нейтронов необходимо учитывать, что действующий спектр излучения в облучаемой ткани представлен большим набором частиц ($Z=0-8$ для нейтронов и $Z=0-19$ для ионов углерода), причем в широком диапазоне ЛПЭ от единиц до 1000 кэВ/мкм и выше. Основной вклад в дозу в опухоли дают: протоны, α -частицы, ионы С, О, В – в случае нейтронов; протоны, α -частицы, ионы С, В – в случае пучка ионов углерода. С учетом сложных зависимостей радиационно индуцированных молекулярно-генетических повреждений и эффектов для

моноэнергетических излучений разного качества и неполноты знаний о них, теоретическое описание возможных ближайших и отдаленных результатов сочетанного воздействия на опухоль, окружающие нормальные органы и ткани в зоне облучения пучком и вне ее представляет непростую задачу.

Анализ моделей, описывающих биологические эффекты ионизирующего излучения, свидетельствует о разной степени детализации процессов поражения и восстановления, их поэтапности или одновременности протекания, прогностической ценности. В биофизических моделях используются разные методы моделирования структуры трека заряженных частиц, уровней описания структуры ДНК и хроматина, образования повреждений ДНК, и их репарации, образования аббераций хромосом (АХ). Современные вычислительные средства позволяют моделировать отдельные этапы репарации повреждений ДНК с участием ферментов, задействованных, в частности, в негомологичной репарации повреждений ДНК, в том числе их кластеров. Итогом репарации являются генные мутации (с некоторой вероятностью), а также АХ, из которых нестабильные (дицентрики, центрические и ацентрические кольца, крупные делеции) приводят клетку к репродуктивной гибели. Современный биофизический расчетный комплекс PARTRAC впервые детально моделирует все уровни клеточных радиобиологических процессов, учитывая полную структуру трека, но лишь для моноизлучений, включая ускоренные ионы и образуемые ими дельта-электроны, и в приближении мгновенного облучения.

Базой для совершенствования радиобиологических моделей являются данные экспериментальных исследований, проведенных в МРНЦ им. А.Ф. Цыба с использованием пучка ускоренных ионов углерода (435 МэВ/нуклон), нейтронного импульсного излучения генератора ИНГ-103 и смешанного γ -нейтронного излучения импульсного ядерного реактора БАРС-6 («ГНЦ РФ – ФЭИ», г. Обнинск). Характеристики излучения ядерного реактора БАРС-6 позволяют оценивать эффективность совместного действия γ -излучения (с вкладом ≈ 20 -40 % в суммарную дозу) и нейтронов при мощностях доз, различающихся более чем в 10^7 раз. Показано, что в зависимости от вида, величины энергии, мощности дозы, дозового состава излучения наблюдаются разные цитогенетические эффекты. Так, при облучении лимфоцитов человека смешанное γ -нейтронное излучение реактора с мощностью дозы $\approx 10^6$ Гр/мин было менее (на 60-80 %) эффективно по сравнению с пролонгированным ($\approx 10^{-2}$ Гр/мин) по суммарной частоте АХ с максимумом повышения по отдельным видам аббераций, т. е. наблюдался обратный эффект сверхвысокой мощности дозы. Величина ОБЭ, рассчитанная из начальных наклонов дозовых кривых суммарной частоты АХ, составляла 15-20. Феномен гиперчувствительности/индуцированной радиорезистентности (ГЧ/ИР) по тесту образования АХ наблюдали как на лимфоцитах человека, так и клетках китайского хомячка СНО-K1 при облучении нейтронами с энергией 14,5 МэВ в диапазоне доз до 0,5 Гр на импульсном генераторе. При этом в лимфоцитах человека наблюдался обратный эффект мощности дозы нейтронов в диапазоне малых мощностей доз (0,3-60 мГр/мин).

В экспериментах на клетках меланомы В-16 показано, что эффективность воздействия одновременного нейтронного (14,5 МэВ, при вкладе нейтронной составляющей 20-30 %) и γ -облучения выше, чем последовательного (эффект синергизма). Это означает, что предположение о независимом действии компонентов излучений сложного состава на клетки млекопитающих не всегда обосновано.

Выявлен нерегулярный ход начального участка дозовой кривой выхода АХ в клетках СНО-K1 при воздействии продуктов фрагментации ядер (преимущественно

протонов, нейтронов, ионов гелия и бора) на расстоянии 2 см за пиком Брэгга пучка ускоренных ионов ^{12}C .

Полученные данные должны приниматься во внимание при совершенствовании прогностических моделей молекулярно-генетических эффектов излучений разного качества и учитываться в системах планирования лучевой терапии.

ИССЛЕДОВАНИЕ ИНДУКЦИИ АБЕРРАЦИЙ ЧИСЛА КОПИЙ ДНК У ЛИЦ, ПОДВЕРГАВШИХСЯ ХРОНИЧЕСКОМУ РАДИАЦИОННОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ

Халюзова М.В.¹, Исубакова Д.С.^{1,2}, Литвяков Н.В.^{1,2}, Брониковская Е.В.¹,
Альбах Е.Н.¹, Коростелев С.А.³, Карпов А.Б.¹, Тахауов Р.М.¹

¹Северский биофизический научный центр ФМБА России, Северск, Россия

²Томский научно-исследовательский институт онкологии, Томск, Россия

³ООО "Геномед", Москва, Россия

gedonna@yandex.ru

Ионизирующее излучение помимо индукции хорошо известных нестабильных хромосомных aberrаций способно вызывать образование стабильных цитогенетических аномалий, в том числе, CNV (copy number variation), которые широко представлены в геноме и связаны с генетической изменчивостью, но, тем не менее, могут возникать в геноме *de novo* под действием радиации (Arlt M.F. et al., 2014).

Данная работа посвящена исследованию возникновения *de novo* CNV, а также их сохранению с течением времени у работников Сибирского химического комбината (СХК), подвергавшихся длительному радиационному воздействию. Исследование проводили на микроматрицах (ДНК-чипах) высокой плотности фирмы "Affymetrix" (США) "CytoScan™ HD Array". Исследовали кровь 46 здоровых работников СХК мужского пола, которые в процессе профессиональной деятельности подвергались длительному воздействию внешнего γ -излучения. Средняя доза внешнего облучения составила $281,7 \pm 38,7$ мЗв, медиана – 196,4 мЗв, интерквартильный размах – 160,1–288,7 мЗв. Установлено, что долговременное радиационное воздействие может индуцировать в лимфоцитах крови CNV. У 19 из 46 работников в лимфоцитах крови были выявлены не менее одной образовавшейся *de novo* CNV. Эти 19 работников были включены в опытную группу; работники без возникших *de novo* CNV (27 человек) были включены в контрольную группу. В общей сложности у работников опытной группы обнаружено 39 индуцированных *de novo* CNV различных типов. Из них: 11 мозаичных амплификаций, 2 мозаичные делеции, 26 CNV, отражающихся на структуре аллельных пиков и протяжённостью более 100 kbp (21 делеция и 5 амплификаций). У 9 работников общее количество протяжённых CNV было более 5. С учётом одинаковой дозы внешнего облучения в контрольной и опытной группах ($p = 0,6785$) проведённый анализ позволяет предположить у индивидов опытной группы высокий уровень радиочувствительности. Для подтверждения полученных результатов было проведено сравнение частоты хромосомных aberrаций, определяемых при помощи стандартного метода цитогенетического анализа, в опытной и контрольной группах работников СХК. Установлено, что в лимфоцитах крови работников из опытной группы, где детектировались индуцированные *de novo* CNV, более чем в 2 раза выше частота aberrантных клеток и в 3 раза выше частота парных фрагментов.

Таким образом, с учётом одинаковых доз облучения в контрольной и опытной группах, проведённый цитогенетический анализ позволяет предполагать у индивидов опытной группы повышенный уровень радиочувствительности.

Для исследования длительности сохранения радиационно-индуцированных CNV была подобрана опытная группа из работников СХК, у которых ранее были обнаружены индуцированные *de novo* мозаичные делеции и амплификации, а также работники без индуцированных CNV в качестве негативного контроля.

Микроматричный анализ также проводили на микроматрицах (ДНК-чипах) высокой плотности "CytoScan™ HD Array" ("Affymetrix", США).

По результатам исследования 2014 г. мозаичная делеция 15-й хромосомы была обнаружена у обследованного № 1490. Повторное исследование спустя год, показало, что представленность мутантного клона не изменилась.

У обследованного № 450 согласно исследованиям 2014 г. была установлена мозаичная амплификация 22-й хромосомы. По результатам работы, проведенной в 2015 г., было обнаружено, что представленность мутантного клона увеличилась в 1,5 раза (с 26 до 40 %). Такое резкое увеличение представленности клональных клеток, может свидетельствовать о высоком риске развития заболевания из группы гемобластозов у данного пациента. Мутантный клон не просто существует в костном мозге, он размножается и представленность его в крови увеличивается, что свидетельствует в пользу радиационно-индуцированного происхождения.

Таким образом, показано, что для людей с высокой индивидуальной радиочувствительностью хроническое радиационное воздействие приводит к значительному накоплению в крови аберрантных клеток, которые содержат стабильные хромосомные aberrации (CNV), что может свидетельствовать о повышенном риске развития злокачественных новообразований.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА МЕДИЦИНСКИХ ПОСЛЕДСТВИЙ ТЕРАПИИ РАДИОАКТИВНЫМ ЙОДОМ БОЛЬНЫХ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫМ РАКОМ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Хвостунов И.К., Крылов В.В., Родичев А.А., Шепель Н.Н., Коровчук О.Н.

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба - филиал
Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный
медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства
здравоохранения Российской Федерации, Обнинск, Калужская обл., Россия
igor.khvostunov@gmail.com

Для лечения дифференцированного рака щитовидной железы применяется терапия радиоактивным йодом с целью аблации остатков тиреоидной ткани и разрушения отдаленных метастазов. Несмотря на длительный опыт её применения, соотношение пользы и негативных последствий такой терапии требует дальнейшего изучения. Попадая в организм пациента и накапливаясь в опухолевых очагах, радиоактивный йод убивает раковые клетки, но при этом облучаются и здоровые ткани всего организма. Чтобы снизить подобное негативное воздействие, необходима оценка побочной дозы общего внутреннего облучения и совершенствование схемы лечения с учетом индивидуальных особенностей пациентов.

В настоящей работе для оценки дозы применяли метод биологической дозиметрии на основе анализа хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови. Биологическая дозиметрия имеет ряд преимуществ перед расчетными методами. Во-первых, оцененная по частоте aberrаций доза является индивидуальной и вычисляется без использования параметров «стандартного» человека. Во-вторых, частота радиационно-индуцированных aberrаций характеризует не только уровень радиационного воздействия, но и способность облученных лимфоцитов крови к восстановлению, что косвенно отражает иммунный статус пациента. Наконец, мутационные изменения в лимфоцитах крови является одним из признаков канцерогенного перерождения клетки и могут служить предвестником нестабильности генома. Кроме того, именно доза на кровь, а не введенная активность, является надежным показателем для клинического прогноза результата лечения.

В ходе проведенных работ были обследованы две группы лиц: сотрудники отделения радионуклидной терапии МРНЦ, имеющие профессиональный контакт с радиоактивным йодом (5 чел.), и больные дифференцированным раком щитовидной железы, получающие радиойодтерапию в данном отделении (15 чел.). Для цитогенетического анализа использовали образцы периферической крови, взятые у обследованных лиц из локтевой вены. Образцы крови у всех обследованных лиц брались в соответствии с действующим законодательством Российской Федерации и нормами медицинской этики после получения информированного согласия.

Хромосомные aberrации изучались метафазным методом в клетках первого митоза. Методика заключалась в подготовке препаратов метафазных хромосом, их окрашивании и микроскопическом анализе препаратов. Культивирование клеток проводилось с использованием фитогемагглютинаина (РНА М-form, Gibco). Для изучения стабильных хромосомных aberrаций применяли метод флуоресцентной *in situ* гибридизации с использованием в качестве зондов биотинилированных ДНК-проб, специфичных к отдельным хромосомам человека 2, 4 и 12. Для контрастного окрашивания оставшихся хромосом применяли DAPI (4,6-diamidino-2-phenylindole). Приготовление препаратов и фиксация выполняли по стандартной методике в соответствии с международными рекомендациями МАГАТЭ.

В настоящей работе в группе сотрудников отделения радионуклидной терапии, длительное время контактирующих с радиофармпрепаратами, средняя частота дицентриков составила (0.26 ± 0.08) на 100 клеток. Данная величина превышает спонтанный уровень и близка к средней по группе частоте дицентриков 0.33 на 100 клеток, которая была получена в работе Anjaria et al. (2004), где обследовались 15 работников атомной промышленности, хронически облучавшихся в течение 20-30 лет в суммарной дозе 500 мЗв, оцененной физическим методом. Рассчитанные в настоящей работе дозы по частоте дицентриков оказались меньше, чем дозы по частоте транслокаций примерно в 1.5 – 2 раза. Данный факт обусловлен элиминацией нестабильных aberrаций (дицентриков) с течением времени. Таким образом, при оценке последствий длительного хронического облучения следует отдавать предпочтение анализу стабильных aberrаций (транслокаций).

В группе пациентов при назначении от 2000 МБк (54 мКи) до 4000 МБк (108 мКи) средняя частота дицентриков у первичных пациентов составила (1.38 ± 0.17) , а у пациентов с повторными назначениями средний прирост частоты дицентриков после курса радиойодтерапии равнялся (1.54 ± 0.68) на 100 клеток.

Методом цитогенетической биодозиметрии были оценены дозы общего внутреннего облучения больных дифференцированным раком щитовидной железы в результате курса радиойодтерапии. Оценка проводилась с учетом эффекта мощности дозы при рассчитанном в рамках модели неполной репарации факторе мощности дозы $G \approx 0.25$. Данная величина соответствует примерно середине интервала оценок этой величины в аналогичных исследованиях (0.0 – 0.58). В результате среднегрупповые оценки соотношения доза-активность составили: (0.235 ± 0.028) мГр/МБк в группе первичных пациентов и (0.203 ± 0.044) мГр/МБк в группе пациентов с повторными назначениями.

Биологическая дозиметрия на основе анализа aberrаций в лимфоцитах крови дает возможность индивидуализировать схему применения радиойодтерапии. Цитогенетические показатели пациента после курса радиойодтерапии отражают индивидуальную реакцию организма на побочное внутреннее облучение, что позволяет уточнить прогноз и оценить возможные риски данного вида противоопухолевой терапии. Используемая в работе методика расчета дозы по частоте aberrаций учитывает эффект мощности дозы путем оценки фактора G по модели неполной репарации, что позволяет устранить систематическое занижение дозы общего облучения на величину порядка 40%. Биодозиметрическая оценка дозы общего облучения после окончания курса радиойодтерапии позволяет установить, не был ли фактически превышен порог миелотоксичности (2 Гр). Такое превышение можно ожидать, если частота дицентриков в лимфоцитах крови находится в диапазоне (10 – 15) диц./100 клеток или выше.

Анализ частоты aberrаций в лимфоцитах крови до начала терапии позволяет оценить т.н. «цитогенетический статус» пациента, который является показателем индивидуальной радиационной чувствительности, поскольку является следствием баланса повреждений и репарации хромосом. Кроме того, он содержит информацию о полученной ранее радиационной нагрузке, на основании которой можно оценить суммарную накопленную дозу. Повышенный уровень aberrаций может быть предупредительным сигналом необходимости внесения изменений в схему лечения для предупреждения негативных гематологических осложнений.

*Исследования проведены при финансовой поддержке Российского гуманитарного научного фонда и Правительства Калужской области
(проект № 15-16-40011a(p))*

ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАЩИТНЫХ СВОЙСТВ ПЕРОКСИРЕДОКСИНОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Шарапов М.Г.¹, Новоселов В.И.¹, Брусков В.И.², Гудков С.В.²

¹Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия.

²Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия.

sharapov.mg@yandex.ru

Пероксиредоксины (Prx) – семейство селен-независимых пероксидаз, которые способны восстанавливать гидропероксиды как органической, так и неорганической природы, участвуют в поддержании окислительно-восстановительного гомеостаза клетки, а также в передаче внутриклеточных и межклеточных сигналов. У млекопитающих обнаружено 6 представителей семейства пероксиредоксинов (Prx1–Prx6). Для пероксиредоксинов, в модельных экспериментах на животных, показана высокая эффективность при лечении патологий, сопровождающихся окислительным стрессом. Известно, что ионизирующее излучение сопровождается развитием мощного окислительного стресса, поэтому была поставлена цель – оценить радиозащитный потенциал пероксиредоксинов.

В настоящей работе проведено исследование радиозащитных свойств трех представителей семейства пероксиредоксинов: Prx1, Prx2 и Prx6. Исследована выживаемость 6-недельных самцов мышей Kv:SHK при облучении их в летальной дозе 7-10 Гр после внутривенного введения 0,2 мл раствора рекомбинантного Prx1, Prx2 и Prx6 (в 0.9 % NaCl), до конечной концентрации в организме 20 мг/кг до воздействия рентгеновского излучения. Средняя продолжительность жизни облученных (7 Гр) мышей, не получавших пероксиредоксины, составила 7 сут, а максимальное время дожития 13 сут. Введение пероксиредоксинов за 15 мин до воздействия рентгеновского излучения (7 Гр) существенно увеличило выживаемость мышей, 95% мышей оставались живыми к 30 дню эксперимента ($P < 0.001$). Фактор изменения дозы (ФИД) для Prx6 равен примерно 1,4. ФИД для Prx1 ~ 1,25 и Prx2 ~ 1,20.

Проведено исследование влияния экзогенного Prx6 на изменение гематологических показателей у животных подвергнутых воздействию ионизирующей радиации (7 Гр). В группе облученных мышей, не получавших пероксиредоксин, количество лейкоцитов, гранулоцитов и тромбоцитов на 6-й день эксперимента уменьшилось на 90-100%. В группе животных, которым вводили Prx6, на 6-й день эксперимента сохранялось 20-25% лейкоцитов и гранулоцитов, и 50% тромбоцитов. Начиная с 8 дня после облучения, количество форменных элементов крови стало увеличиваться и к 30-му дню гематологические показатели полностью соответствовали норме. Таким образом, установлено, что Prx6 в существенной степени уменьшает тяжесть радиационно-индуцированной лейко- и тромбопении.

С помощью микроядерного теста исследовано влияние Prx6 на процентное содержание ПХЭ с МЯ в красном костном мозге мышей при его внутривенном введении за 15 мин до облучения в дозе 1,5 Гр. При введении Prx6 (20 мг/кг) интактным животным не наблюдалось достоверного изменения процента (0,26%) ПХЭ с МЯ. После облучения животных 1,5 Гр процент ПХЭ с МЯ увеличился в ~ 16 раз (4,24%). При введении животным до облучения Prx6 в концентрации 20 мг/кг процент ПХЭ, содержащих МЯ, уменьшается на 90% по сравнению с облученным контролем. Таким образом, Prx6 в существенной степени уменьшает степень радиационно-индуцированных повреждений ДНК клеток красного костного мозга.

Мутантная форма Prx6 (C47S), лишенная пероксидазной активности, также обладает небольшим радиозащитным эффектом. Мы предполагаем, что Prx6 может

осуществлять радиозащитную функцию опосредованно – участвуя в передаче внутри- и межклеточных сигналов. С целью проверки данного предположения, было исследовано влияние ионизирующего излучения (1,5 Гр) на экспрессию некоторых «стрессовых» генов в клетках костного мозга, а также влияние экзогенного Prx6 и его мутантной формы на уровень экспрессии этих «стрессовых» генов спустя 1, 15 и 30 суток после облучения. Были проанализированы уровни экспрессии генов вовлеченных в нейтрализацию окислительного стресса (CAT, HO-1, SOD1-3, Prx1-6, NRF2, KEAP), воспалительный процесс (Nfkb, NKRF, TNFa, IL6, HSP70, HSP90), апоптоз (p53, Caspase3, ATR, ATM, AP1), репарацию ДНК (LigIV, XRCC4, XRCC5) и регенерацию (ki67). В контрольной группе необлученных мышей уровень экспрессии генов во всех 3-х временных точках практически не менялся. В группе необлученных мышей и получавших внутривенную инъекцию Prx6 (20 мг/кг), спустя 1 сутки после облучения наблюдается незначительный рост уровня экспрессии HSP90, SOD1, Prx5 (2-4 раза); падение уровня экспрессии Prx1, Prx2, Prx6, caspase 3 (1,5-3 раз); остальные гены соответствуют уровню экспрессии контрольной необлученной группы. Спустя 15 суток значительный рост экспрессии наблюдается для Prx6 (17 раз). На 30 сутки остается повышенным уровень экспрессии только гена Prx6 (6 раз). В группе облученных 1,5 Гр мышей и не получавших Prx6, спустя 1 сутки после облучения наблюдается значительный рост NFkb и Nkrf (25 раз), SOD3 (24 раза), Prx2 (8 раз), Prx6 (18 раз), XRCC4 и ATR (2-4 раза). Спустя 15 суток значительный уровень экспрессии только для Nkrf (27 раз). На 30 сутки значительный рост уровня экспрессии наблюдается для NFkb (40 раз), SOD2 (57 раз), SOD3 (85 раз), Prx6 (7 раз), XRCC4 (18 раз), XRCC5 (32 раза), LigIV (26 раз), AP-1 (23 раза), IL-6 (4 раза). В группе облученных 1,5 Гр мышей и получавших Prx6, на первые сутки после облучения наблюдается рост экспрессии NFkb, SOD3 (4 - 5 раз), Prx6, XRCC4 (3-4 раза). На 15 стуки уровень экспрессии всех генов приближен к контрольной группе необлученных животных. На 30 сутки наблюдается рост экспрессии NFkb (6 раз), SOD2 и SOD3 (12 раз), XRCC5 (20 раз), Lig IV (16 раз), TNFa (4-5 раз), AP-1 (8 раз), IL-6 (5 раз). Наблюдается компенсаторный эффект от введения экзогенного Prx6, т.к. уровень экспрессии этих генов приближается к контрольным значениям необлученных животных.

По-видимому, радиозащитный эффект Prx6 состоит из двух составляющих: 1) пероксидазная активность, обеспечивающая нейтрализацию широкого спектра перекисных субстратов, 2) сигнально-регуляторная функция Prx6, которая в стрессовых условиях способствует запуску восстановительных процессов клетки. Таким образом, пероксиредоксины могут рассматриваться как потенциально перспективные радиозащитные и профилактические средства для устранения и уменьшения рисков повреждающего воздействия ионизирующего излучения на организм млекопитающих.

ВНЕКЛЕТОЧНАЯ ДНК И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ПРИ ОБЛУЧЕНИИ МЫШЕЙ В МАЛЫХ ДОЗАХ

Шишкина Л.Н., Климович М.А., Козлов М.В., Смотряева М.А.

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия

shishkina@sky.chph.ras.ru

Еще в 1990-х годах было показано, что механизм возникновения повреждений ДНК различен при действии облучения в малых и высоких дозах (Бурлакова, 1994; Спитковский и др., 1994). Было предположено, что при малых дозах облучения важную роль в этих процессах играют мембраны, поскольку состояние мембраны влияет на интенсивность и полноту репарации ДНК (George et al., 1980; Алесенко, 1981). Огромную роль в регуляции метаболизма на мембранном, клеточном и органном уровнях в норме и при действии повреждающих факторов играет процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ). Обратная зависимость интенсивности ПОЛ от дозы облучения и ее мощности обуславливает определяющую роль мембран как координатора регуляции окислительных процессов при действии слабых повреждающих факторов, в том числе и радиационной природы (Шишкина, 2003).

Кроветворная система, участвующая в поддержании гомеостаза в течение всей жизни особи, наиболее остро реагирует при воздействии различных повреждающих факторов на живые организмы. Изменения кроветворной системы, вызванные факторами окружающей среды, имеют приоритетное значение при формировании ранних и отдаленных биологических эффектов повреждающих воздействий. В качестве перспективных тестов для оценки функционирования иммунных систем организма активно используется изменение содержания внеклеточной ДНК в плазме крови относительно нормы и контроль этого показателя во времени (Балева и др., 1995).

Цель данной работы – выявление взаимосвязи между содержанием внеклеточной ДНК и процессом ПОЛ в крови мышей с разным антиоксидантным статусом в норме и при облучении в малых дозах.

Работа проводилась в следующих направлениях;

1. изучение структурных нарушений ДНК лимфоцитов периферической крови при γ -облучении мышей SHK (самцы) в дозе 15 сГр с мощностью дозы 0,01 сГр/мин; 0,25 сГр/мин и 9 сГр/мин в течение месяца после воздействия;
2. анализ взаимосвязи между содержанием внеклеточной ДНК и интенсивностью ПОЛ в плазме крови мышей разных линий (белые беспородные, SHK и линии Balb/c) в зависимости от сезона проведения эксперимента;
3. влияние рентгеновского излучения в дозах менее 1,5 мГр с переменной мощностью дозы на содержание внеклеточной ДНК и интенсивность процессов ПОЛ в плазме крови белых беспородных мышей (самки) в зависимости от суммарной дозы облучения и времени после воздействия.

Определение величин константы скорости щелочной элюции ДНК лимфоцитов периферической крови спустя 1, 7 и 32 суток после γ -облучения мышей в дозе 15 сГр показало, что структурные нарушения в ДНК возникают при всех мощностях дозы и сохраняются в течение месяца после воздействия (Шишкина, Смотряева, 2000). При этом в ранние сроки после воздействия преимущественное образование сшивков ДНК-белок и/или ДНК-ДНК наблюдается при низкоинтенсивном облучении (мощность дозы 0,01 и 0,25 сГр/мин), а преимущественное образование разрывов и щелочелабильных сайтов после облучения с мощностью дозы 9 сГр/мин. Выявлена обратная взаимосвязь между содержанием продуктов ПОЛ в плазме крови и величинами константы скорости щелочной элюции ДНК лимфоцитов и в контрольной и облученных группах мышей.

Однако коэффициенты линейной регрессии обратной корреляции в группах облученных мышей достоверно ниже, чем в контроле. Это свидетельствует о неодинаковой чувствительности к действию ионизирующего излучения в малых дозах структурной целостности ДНК и интенсивности процессов ПОЛ.

Ранее были обнаружены выраженные сезонные колебания антиоксидантного статуса тканей животных (Бурлакова и др., 1975; Козлов и др., 2008). Исследование содержания внеклеточной ДНК и интенсивности ПОЛ, о которой в сложных биологических системах обычно судят по содержанию продуктов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК-активные продукты), в плазме крови мышей разных линий также выявило существенные различия в величинах этих показателей как в зависимости от линии мышей, так и от сезона проведения эксперимента. В целом, обнаружена прямая корреляционная взаимосвязь между содержанием внеклеточной ДНК и количеством ТБК-активных продуктов в плазме крови интактных мышей, однако степень выраженности этой взаимосвязи зависит не только от интенсивности процессов ПОЛ, но и линии и пола мышей. Так, связь между данными показателями в плазме крови разных групп мышей Balb/c, характеризующимися наиболее низким антиоксидантным статусом тканей среди лабораторных животных, имеет сложный характер. Хотя, в целом, обнаружен рост величины коэффициента линейной регрессии между данными показателями с увеличением исходного содержания ТБК-активных продуктов в плазме крови беспородных мышей и мышей SHK (самки) их взаимосвязанность имеет характер тенденции.

Высокая гетерогенность ответа организма на воздействие физических и химических факторов в малых дозах (Бурлакова, 1994), как мы полагаем, обусловлена существенными различиями исходных значений параметров у индивидуумов, а направленность изменения параметров после воздействия определяется его исходным значением. Это четко подтвердили результаты рентгеновского излучения в дозах менее 1,5 мГр с переменной мощностью дозы. Во-первых, выявлена достаточно высокая вариабельность содержания внеклеточной ДНК в плазме крови контрольных и опытных групп мышей. Это не позволило в большинстве случаев сделать однозначных выводов о влиянии рентгеновского излучения переменной мощности в малых дозах на данный показатель, хотя ранее (Shishkina et al., 2001) было показано достоверное увеличение и содержания внеклеточной ДНК, и рост интенсивности ПОЛ спустя месяц после рентгеновского облучения мышей SHK (самки) в дозе 16 сГр (мощность дозы 44 сГр/мин). Во-вторых, масштаб изменения содержания ТБК-активных продуктов в плазме крови после воздействия рентгеновского излучения переменной мощности в дозах менее 1,5 мГр существенно зависит не только от исходной величины показателя в плазме крови интактных мышей, но и от времени после воздействия и динамики мощности дозы в процессе облучения.

Совокупность представленных данных и анализ литературы свидетельствуют о связи повреждения мембраны и ДНК с процессами ПОЛ при действии радиации в малых дозах и позволяют предположить, что дальнейшее развитие исследований в этом направлении позволит прояснить механизм формирования биологических последствий воздействия ионизирующих излучений в малых дозах, который до сих пор является предметом оживленных дискуссий.

СОДЕРЖАНИЕ микроРНК И мРНК ГЕНОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ОСЛОЖНЕНИЙ ОРГАНОВ МАЛОГО ТАЗА ПОСЛЕ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

*Шуленина Л.В.¹, Михайлов В.Ф.¹, Раева Н.Ф.¹, Засухина Г.Д.², Незнанова М.В.¹,
Салеева Д.В.¹*

¹ФГБУ ГНЦ - Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна
ФМБА России, Москва, Россия

²ФГБУН Институт общей генетики им.Н.И.Вавилова РАН, Москва, Россия
Shulenina2010@mail.ru

Лучевая терапия (ЛТ) является в настоящее время одним из ведущих методов лечения рака предстательной железы (РПЖ). Однако лучевые ректиты и циститы представляют собой существенные факторы, ограничивающие применение эффективных лечебных стратегий. Данные осложнения со стороны близлежащих органов обусловлены их попаданием в зону облучения, что связано с их топографо-анатомической локализацией. Максимальная доза радиотерапии, которая может быть применена в течение лечения, определяется толерантностью нормальных тканей в области облученного поля. Пациенты значительно различаются в своих ответах на излучение и это необходимо учитывать при ЛТ. В онкологической практике в настоящее время разрабатываются лечебные методы, включающие сочетание фармакологического воздействия с действием ионизирующего излучения, позволяющие повысить радиорезистентность нормальных тканей и снизить её в опухолях [Begg A. C. et.al. 2011].

Ответ клеток на различные воздействия, включая облучение, определяется изменением экспрессии генов, модулирующих внутриклеточные программы функционирования. В связи с этим в окружающих опухоль тканях и периферической крови активно изучается кДНК, полученная из мРНК клеток, как характеристика величины транскрипции генов. При исследовании лимфоцитов периферической крови онкологических больных было выявлено различие в экспрессии 19 генов до ЛТ для лиц с низким и высоким поражением окружающих опухоль тканей [Hummerich J. et.al. 2006]. Аналогичные исследования проведены на 21 больном РПЖ [Svensson J.P. et. al. 2006]. Показано, что блокада генов Rho и MMP может снижать развитие лучевых энтеритов [Vozenin-Brotons M.C. et al. 2004.; Strup-Perrot C. et.al. 2004]. Экспрессия важнейших генов, в том числе и определяющих эффективность работы таких программ, как сохранение стабильности генома, пролиферативная активность, клеточная миграция, регулируются микроРНК. В контексте лучевых циститов и ректитов определение микроРНК и мРНК генов, принимающих участие в р53-зависимой системе сохранения стабильности генома и в формировании воспалительного ответа клеток через активацию ядерного транскрипционного фактора NF-κB, может быть инструментом для количественной оценки риска формирования этих заболеваний. Поэтому нами были выбраны следующие показатели: мРНК генов P53, MDM2, MDM4, NF-κB, IAP-1, IAP-2, IL-8, IL-6, MMP-7, MMP-13, TIMP-2, RhoA, а также зрелые микроРНК miR-34a, miR-145, miR-125b, miR-21, miR-16, let-7a. Объектом исследования явились образцы крови от 33 пациентов с диагнозом РПЖ с классификацией от T1N0M0 до T3N0M0 и 30 здоровых доноров. Содержание данных показателей в периферической крови было оценено с помощью метода ПЦР в реальном времени у больных РПЖ до и после курса ЛТ при выписке больного.

Выбранные нами показатели характеризуют работу комплекса генов, отвечающих за р53-зависимое сохранение стабильности генома (P53, MDM2, MDM4,

miR-34a, miR-145, miR-16, let-7a) и пролиферацию (гены-мишени NF-kB-транскрипционного фактора: NF-kB, IAP-1, IAP-2, Il-8, Il-6, miR-21). Во многом эти системы антогонистичны.

Установлено, что у больных с РПЖ как до, так и после ЛТ наблюдается достоверное снижение экспрессии генов mdm4 и IAP1 (более чем в 2 раза), и увеличение содержания let-7 (в 100 – 400 раз) и Il-8 (в 4 раза) по сравнению с группой «доноры». Выявленные изменения показателей не зависели от появления патологий, связанных с ЛТ (циститы и ректиты).

Отмечено достоверное увеличение содержания зрелой miR-34 после ЛТ в 6 раз у больных с образовавшимся лучевым циститом, и в 10 раз у пациентов без этой патологии. Также обнаружено высокое содержание зрелой miR-34 после ЛТ в крови у больных РПЖ как при отсутствии клинических лучевых воспалительных заболеваний органов малого таза, так и у пациентов с лучевым ректитом.

Выявлено, что содержание зрелой miR-21 в периферической крови у пациентов может быть показателем, характеризующим риск развития лучевого цистита и ректита, поскольку только у больных РПЖ с высоким содержанием зрелой miR-21 в крови при проведении последующей ЛТ развивались эти патологии. Причем уровень зрелой miR-21 в группе «РПЖ+ цистит» был выше как до ЛТ, так и после проведения ЛТ и появления цистита по сравнению с группой больных РПЖ, у которых лучевой цистит не формировался. В крови у больных с развившимся лучевым ректитом до ЛТ содержание miR-21 было в 30 раз выше контрольного уровня, в то время как у больных РПЖ без лучевых осложнений экспрессия miR-21 превышала контрольные значения только в 3 раза.

MiR-21 является микроРНК, которая часто высоко экспрессируется в различных типах клеток при развитии злокачественных новообразований и воспалительных заболеваний [Sheedy F.J. 2015]. Полученные нами данные показывают перспективность проведения исследований, кроме miR-21, и других микроРНК с целью возможного использования этих показателей в периферической крови для комплексной оценки толерантности нормальных тканей в области облученного поля. В частности, в работе [Gee H.E. et.al. 2015] обосновывается важность исследования микроРНК в качестве биомаркеров систем репарации ДНК и контроля клеточного цикла для идентификации пациентов с высоким риском развития последствий после ЛТ.

Исследования проведены при финансовой поддержке Российского гуманитарного научного фонда и Правительства Калужской области (проект № 15-16-40011a(p))

ЗАВИСИМОСТЬ ГЕННЫХ ПЕРЕСТРОЕК RET/PTC В ПАПИЛЛЯРНЫХ КАРЦИНОМАХ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ОТ ДЛИТЕЛЬНОСТИ ЗАБОЛЕВАНИЯ И ОПУХОЛЕВОЙ ПРОГРЕССИИ

Яргин С.В.

Российский университет дружбы народов, Москва.

sjargin@mail.ru

Значительная часть карцином щитовидной железы (КЩЖ), выявленных в течение первых 10 лет после аварии на ЧАЭС, была представлена относительно низко дифференцированным солидным вариантом папиллярного рака с генными перестройками RET/PTC3. Напротив, среди КЩЖ, диагностированных через 10 лет после аварии и позже, преобладали RET/PTC1. Процент RET/PTC-положительных опухолей в целом был выше среди КЩЖ, выявленных в течение первых 10 лет после аварии. Перестройки RET/PTC были ассоциированы с поздними стадиями КЩЖ, в особенности, с последней стадией T4, а также с метастазами в лимфатические узлы. Отмечалось, что группа чернобыльских КЩЖ первого десятилетия после аварии с преобладанием RET/PTC3 уникальна в мировом масштабе. Среди спорадических КЩЖ преобладают перестройки RET/PTC1. Следует уточнить, что ранние чернобыльские КЩЖ уникальны не в мировом масштабе, а для развитых стран, где проводилась большая часть исследований. В когорте КЩЖ из Индии преобладали RET/PTC3, что может быть связано с более поздней диагностикой. Аналогично, RET/PTC3 чаще обнаруживали в КЩЖ у необлученных пациентов с Украины по сравнению с пациентами из Франции: 64,7 % против 42,9 %. Согласно обсуждаемой гипотезе, генные перестройки RET/PTC ассоциированы с давностью заболевания и определенными этапами опухолевой прогрессии папиллярной КЩЖ, причем RET/PTC3 – с более поздним этапом. Соответственно, частота перестроек RET/PTC у больных КЩЖ должна коррелировать со средней продолжительностью заболевания. Зависимость может быть нелинейной. В литературе неоднократно сообщалось о корреляциях между частотой RET/PTC в КЩЖ и оцененной дозой на железу. Корреляция не обязательно отражает причинно-следственную связь. Известно, что интенсивность скрининга была выше на территориях с более высоким уровнем загрязнения. Способность скрининга многократно повышать зарегистрированную заболеваемость КЩЖ известна. Представляется вероятным, что лица, информированные о своих относительно высоких дозах или проживающие на территориях с высоким уровнем загрязнения, чаще обращались в медицинские учреждения, где им уделялось в среднем больше внимания. Таким образом, дозозависимый самоотбор должен был повышать эффективность диагностики среди лиц с относительно высокими оценочными значениями доз. КЩЖ редко диагностировали среди детей и подростков в Белоруссии и на Украине до аварии на ЧАЭС. Соответственно, на загрязненных территориях имелся пул больных запущенными КЩЖ. Кроме того, могла иметь место регистрация необлученных пациентов как жертв Чернобыля. В Российской Федерации данные о заболеваемости КЩЖ стали отдельно учитываться медицинской статистикой только в 1989 году, когда начинались скрининговые мероприятия. По мере скрининга количество запущенных случаев среди населения уменьшалось; стали преобладать более ранние КЩЖ, чему также способствовало улучшение диагностики. Соответственно, в ранние сроки после аварии на ЧАЭС, средняя давность заболевания среди вновь выявляемых случаев КЩЖ была выше, чем в более поздние сроки. Старые КЩЖ, выявляемые при скрининге или

привезенные с незагрязненных территорий, иногда классифицировались как агрессивные радиогенные раки, развивающиеся после короткого латентного периода. Если частота RET/PTC ассоциирована с продолжительностью заболевания, то эффективность диагностики RET/PTC-положительных раков повышалась в соответствии с дозозависимым механизмом. Это может служить одним из объяснений корреляций доза-эффект. В заключение, имеются данные в пользу связи генных перестроек RET/PTC с определенными этапами опухолевой прогрессии папиллярной КЩЖ, RET/PTC3 – с более поздним этапом, чем RET/PTC1. Частота RET/PTC в популяции больных КЩЖ, по-видимому, отражает среднюю продолжительность заболевания. Динамика RET/PTC после аварии на ЧАЭС этому соответствовала: частота перестроек RET/PTC в целом снижалась с течением времени после аварии, причем частота RET/PTC1 нарастала, а RET/PTC3 – снижалась. Представляется вероятным, что морфологические и цитогенетические особенности КЩЖ после аварии на ЧАЭС определялись нерадиационными факторами: динамикой скрининга, повышением качества диагностики, истощением посредством скрининга пула больных КЩЖ среди населения и снижением средней давности заболевания вновь выявляемых случаев. Jargin SV. J Thyroid Res 2012;373879.

О БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ОСТРОГО И ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ

Яргин С.В.

Российский университет дружбы народов, Москва

sjargin@mail.ru

Продолжается дискуссия о возможном снижении рекомендованного МКРЗ значения коэффициента эффективности дозы и мощности дозы (КЭДМД), которое на сегодняшний день равняется 2. Форма кривой доза-эффект для низких значений дозы и мощности дозы может быть предсказана теоретически. Существуют многие экзогенные и эндогенные канцерогенные факторы. По мере уменьшения уровня облучения за счет радиоактивного загрязнения, вклад загрязнения по сравнению с естественным радиационным фоном будет снижаться, также как и роль радиации в целом по сравнению с прочими канцерогенными факторами. Соответственно, зависимость доза-эффект будет все более отклоняться от линейной по мере уменьшения мощности дозы, а в некотором диапазоне может стать обратной в связи с гормезисом. Соответствующий график, построенный на основании экспериментальных данных, представлен Mitchel (Dose Response 2009;8:192-208), где кривая доза-эффект проходит почти горизонтально ниже фонового уровня риска рака в диапазоне доз 1-100 мГр, постепенно поднимаясь за пределами этого диапазона к фоновому уровню. Темы порога, гормезиса и КЭДМД связаны с линейной беспороговой гипотезой, которая не учитывает, что повреждение и репарация ДНК в норме находятся в состоянии динамического равновесия. Соответственно, можно предположить существование некоего оптимального уровня воздействия, подобно тому, как это имеет место для многих факторов внешней среды. Представляется вероятным, что живые организмы адаптировались в ходе эволюции к естественному радиационному фону, существующему сегодня, или к некоему среднему уровню прошлых времен, когда радиационный фон был выше. Подобная адаптация имеет место по отношению к разным факторам внешней среды (в т.ч. продуктам радиолитиза воды), где отклонение от оптимального уровня может быть вредным для живых организмов. Очевидно, если облучение растянуто во времени или разделено на фракции, биологическая система будет иметь время для репарации. Зависимость биологической эффективности радиации от величины линейной передачи энергии (ЛПЭ) нелинейна с пиком в области высоких значений ЛПЭ; в целом облучение с высокой ЛПЭ более эффективно. Среди возможных причин можно назвать тот факт, что более крупные частицы (альфа-частицы, нейтроны, протоны) чаще вызывают летальные повреждения клеток, не оставляя адаптации. Излучение с высокой ЛПЭ, будучи малым компонентом естественного радиационного фона (за исключением радона), наверное, в меньшей степени индуцировало адаптацию внутренних органов за исключением легких. Вероятно, именно в связи с этим снижение мощности дозы излучения с высоким ЛПЭ, как сообщается, не ведет к уменьшению канцерогенного эффекта. Данные многих эпидемиологических исследований (пострадавших от атомных бомбардировок в Японии, от аварии на ЧАЭС, когорты реки Теча и др.), свидетельствующие о канцерогенности облучения с малой мощностью дозы, противоречат излагаемой здесь концепции. Те же и другие исследователи сообщали об увеличении риска неопухолевых заболеваний (сердечнососудистых, респираторных, желудочно-кишечных) под действием облучения малой мощности, например, о повышении риска цереброваскулярных заболеваний после хронического облучения в суммарной дозе 100

мГр. Против истинного повышения риска сердечнососудистых заболеваний под действием малых доз свидетельствуют, например, результаты сравнения рисков после радиотерапии рака правой и левой молочной железы, где применяются дозы на железу около 40 Гр. Среди нерадиационных причин корреляций доза-эффект следует отметить дозозависимый самоотбор (dose-dependent self-selection) в эпидемиологических исследованиях. Представляется вероятным, что лица, знающие о своих относительно высоких дозах или проживающие на территориях с высоким уровнем загрязнения, чаще обращались в медицинские учреждения, где им уделялось в среднем больше внимания. Таким образом, дозозависимый самоотбор должен повышать эффективность диагностики среди лиц с относительно высокими оценочными значениями доз. Кроме того, могла иметь место регистрация необлученных больных как облученных, например, как жертв Чернобыля. Необходимо также подчеркнуть тенденцию к гипердиагностике сердечнососудистых заболеваний в неясных случаях, что может служить конфаундером. Некоторые исследования с оценкой применимости разных математических зависимостей к имеющимся эпидемиологическим данным приходили к выводу об отсутствии порога, по-видимому, в связи с a priori ограниченным набором испытываемых математических функций. Расширение набора функций, а также использование искусственных нейронных сетей, приводило к выводу о наличии порога. В экспериментах на животных с использованием доз, сравнимых с таковыми у пострадавшими от атомных бомбардировок, различавшихся по мощности в 1000 и более раз, получено среднее значение КЭДМД около 4. При помощи математических моделей получены значения КЭДМД от 2 до бесконечности. Последнее соответствует изложенным выше соображениям, согласно которым вред от облучения стремится к нулю при мощности дозы, стремящейся к таковой от естественного радиационного фона. Однако оценки риска должны основываться в первую очередь не на математических моделях, а на непосредственных сравнениях эффектов острого и хронического облучения. В заключение, тенденциозные результаты некоторых эпидемиологических исследований способствуют занижению рекомендованного значения КЭДМД, что может иметь отрицательные последствия для науки и экономики в связи с нереалистической оценкой радиационных рисков. Jargin SV. J Environ Stud 2(1):5.

THE LEVEL OF CELL-FREE DNA IN THE URINE OF AGED RATS RISES SHARPLY AFTER X-RAY IRRADIATION AND METFORMIN ADMINISTRATION

Abdullaev S.A.¹, Kamenskikh K.A.^{1,2}, Minkabirova G.M.^{1,2}, Gaziev A.I.¹

¹Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, RAS, Pushchino, Russia

²Pushchino State Institute of Natural Sciences, Pushchino, Russia

saabdullaev@gmail.com

The presence of circulating cell-free DNA (cf-DNA) in biological fluids of mammals, such as blood or urine, results from cell death in the tissues. Activation of cell death at a whole organism level in mammals can be assessed by an increase in cf-DNA in urine or plasma. We conducted a comparative study for the excretion of cf-nuclear DNA (cf-nDNA) and cf-mitochondrial DNA (cf-mtDNA) in the urine of young and aged rats after X-irradiation and administration of metformin, which stimulates autophagy through activation of AMPK. Groups of Fisher 344 male rats aged 3 and 24 months were subjected to X-irradiation at a dose of 5 Gy, while other groups received 300 mg/kg body weight metformin two times with an interval of 3 hours. Urine was collected from the same rats prior to exposure and metformin introduction (control), as well as following 6, 12, 24 and 72 hours after their treatment. The content of cf-nDNA and cf-mtDNA in the urine was determined by quantitative real-time PCR. The results testified that rat urine contains fragments of cf-DNA 300-600 bp in size, regardless of age and treatment with radiation and metformin. Analysis of cf-DNA in the urine samples of rats collected prior to treatment showed that the amount of cf-nDNA is 40% higher, and cf-mtDNA is 50% higher in the urine of 24-month-old rats compared to that of 3-month-old animals. The amount of cf-DNA in the urine of young and aged rats varies considerably depending on the time of urine collection after irradiation and administration of metformin. For instance, following 6 and 12 hours after irradiation the content of cf-nDNA in the urine of young rats is increased by 290-390%, and the content of cf-mtDNA is increased by 350-430 %, relative to the control. By the same time point after irradiation the urine of aged rats is characterized by an increase in the contents of cf-nDNA and cf-mtDNA by 330-520% and 530-680%, respectively. After 6 and 12 hours following metformin administration, the content of cf-DNA in the urine of rats is also increased, but less prominently. The number of cf-nDNA and cf-mtDNA fragments in the urine of young rats is elevated by 60%, 6 hours after administration of metformin. Urine samples collected from the same rats after 12 hours exhibited only an increase of cf-mtDNA (by 35%). The number of cf-nDNA and cf-mtDNA fragments in the urine of older rats is significantly higher compared to young rats. For example, the numbers of cf-nDNA and cf-mtDNA are increased by 120% and 160%, respectively, in the urine of aged rats 6 hours after metformin administration. Urine samples collected from the same rats following 12 hours after administration of metformin contain elevated levels of cf-nDNA and cf-mtDNA, increased by 50% and 120%, respectively. Thus, judging by the results of analysis, it is obvious that X-rays, inducing cell death mediated by apoptosis, necrosis and autophagy, in the urine of aged rats provide a significantly higher level of transrenal cf-DNA fragments comparing to the corresponding parameter in young rats. Metformin also causes an increase in urine excretion of cf-nDNA and cf-mtDNA in aged rats, as compared to that in young rats. However, in this case, the increase in the level of cf-mtDNA in the urine of aged rats is more pronounced, relative to the level of cf-nDNA. These results suggest that metformin possibly initiates the death of cells which contain structural and functional abnormalities, by autophagy.

This work was supported in part by the Russian Foundation for Basic Research (Grant 12-04-31070, Grant 16-34-00832) and by the Institute of Theoretical and Experimental Biophysics RAS.

DNA DAMAGE RESPONSE AND PRELEUKEMIC FUSION GENES INDUCED BY IONIZING RADIATION IN HUMAN HEMATOPOIETIC STEM CELLS

Belyaev Igor^{1,2}, Markova Eva¹, Skorvaga Milan¹, Vasilyev Stanislav^{1,3}, Sorokina Svetlana^{1,4}, Kosik Pavol¹, Durdik Matus¹, Jakl Lukas¹, Vokalova Lenka¹, Kruzliakova Jana¹

¹ Laboratory of Radiobiology, Cancer Research Institute, BMC Slovak Academy of Science, Bratislava, Slovakia

² Laboratory of Radiobiology, General Physics Institute, Russian Academy of Science, Moscow, Russia

³ Laboratory of Cytogenetics, Institute of Medical Genetics, Tomsk, Russia

⁴ Laboratory of Cytogenetics, Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Science, Pushchino, Russia
Igor.Beliaev@savba.sk

Ionizing radiation (IR) is well established inducer of leukemia. Leukemia is a clonal disease arising from the neoplastic transformation of a single hematopoietic stem/progenitor cells (HSC). DNA damage and apoptosis are key elements in the accumulation of changes associated with cell transformation. Number of proteins such as γ H2AX and 53BP1 are involved in DNA damage response and produce discrete foci in response to ionizing radiation (IR). These foci co-localize with DNA double strand breaks (DSB) and referred to as ionizing radiation induced foci (IRIF) or DNA repair foci. IRIF are the most sensitive assay for detecting DSB.

We have analysed DSB and apoptosis induced by IR in the CD34+/CD133+ HSC and CD34-/CD133- lymphocytes derived from umbilical cord blood (UCB). The cells were irradiated with γ -rays (1 - 200 cGy) and followed up to 42 h post-irradiation. The 53BP1/ γ H2AX foci were analyzed using automated fluorescent microscopy and imaging flow cytometry. IR induced more 53BP1 and co-localized 53BP1/ γ H2AX foci in CD34+ HSC while similar yield of IR-induced γ H2AX was observed in both cell types. Analysis of the live (Annexin-V-/7-AAD-) and apoptotic cells (γ H2AX - pan-stained, Annexin-V+/7-AAD- and Annexin-V+/7-AAD+) has shown that CD34+ cells were extremely resistant to the IR - induced apoptosis. Imaging flow cytometry showed lower level of endogenous γ H2AX foci in HSC in comparison to lymphocytes suggesting better protection of HSC from endogenous DNA damage. In line with this data, lower level of apoptosis was observed in unirradiated CD34+ cells as compared to CD34-.

A key event in origination of leukemia is a formation of a specific chromosomal translocation resulting in an *in-frame* preleukemic fusion gene (PFG) in HSC. We have analyzed induction of the most frequent PGF for acute lymphoblastic leukemia (ALL) and acute myeloid leukemia (AML) (TEL-AML1, E2A-PBX, BCR-ABL p190, MLL-AF4, AML1-ETO, CBF β -MYH11) using RT qPCR. Despite very high sensitivity of this method, 1×10^{-5} , no induction was observed in cells irradiated with doses up to 10 Gy while the obtained data indicate PFG induction at a higher dose.

To conclude, we found significant difference in radiation response between HSC and mature human lymphocytes. Our data suggested new experimental approaches for analysis of PGF induced by IR at low doses for cancer risk assessment.

Acknowledgements

This work was supported by the Structural Funds of EU (Agency by the Ministry of Education, Science, Research and Sport of the Slovak Republic (Protonbeam, 26220220129)); the Slovak Research and Development Agency (APVV-0669-10, APVV-15-0250); and the VEGA Grant Agency (2/0109/15, 2/0106/15) of the Slovak Republic.

TUMOR CELL RADIOSENSITISATION BY METAL NANOPARTICLES

Štefančíková Lenka^{1,2}, Lacombe Sandrine², Depeš Daniel¹, Pagáčová Eva¹, Salado Daniela², Porcel Erika², Tillement Olivier³, Lux François³, Kozubek Stanislav¹, and Falk Martin¹

1. Department of Cell Biology and Radiobiology, Institute of Biophysics of ASCR, Brno, CR

2. Institute des Sciences Moléculaires d'Orsay, Université Paris Sud, Orsay Cedex, France

3. Institut Lumière Matière, Université Claude Bernard Lyon 1, Villeurbanne cedex, France

Selective targeting of radiation effects to tumors represents a fundamental challenge in radiotherapy. Metal nanoparticles, such as gadolinium, gold, or platinum nanoparticles are preferentially internalized by tumor cells and have been recognized to locally amplify the radiation dose upon irradiation. Hence, nanoparticles delivered in tumor cells might increase tumor-specificity and efficiency of radiotherapy at the same time. The physical mechanisms related to the radiation dose amplification by nanoparticles have been already well described; however, cellular structures targeted by nanoparticles remain unknown. The DNA molecule is the most sensitive and critical cell structure in the cell concerning the effects of ionizing radiation. Hence, a crucial question remains open of whether a damage to the nucleus is necessary for the radiosensitization exerted by gadolinium and other nanoparticles.

In this work, we studied the effect of 3 nm gadolinium based nanoparticles (GdBNs) on the induction and repair of DNA double-strand breaks (DSBs) in the nuclear DNA of U87 tumor cells irradiated with γ -rays. For this purpose, we used currently the most sensitive method of DSB detection based on high-resolution confocal fluorescence microscopy coupled with immunodetection of two independent DSB markers, γ H2AX and 53BP1. Equivalent data for Au and Pt nanoparticles are just being analyzed.

Our experiments brought about quite surprising results. In the conditions where GdBNs amplify the radiation effects, they remain localized in the cytoplasm and their influence on DSB induction and repair is only insignificant. This suggests that the radiosensitization mediated by GdBNs and potentially other nanoparticles (of defined parameters) is a cytoplasmic event that is independent of the nuclear DNA breakage (a phenomenon commonly accepted as the explanation of biological radiation effects). Based on recognized intracellular localization of nanoparticles studied, we hypothesize about possible non-DNA targets for (some) nanoparticles.

Acknowledgement

The work was supported by the following projects: the Ministry of Health of CR (16-29835A), The Ministry of Education, Youth and Sports of CR (OPVK CZ.1.07/2.3.00/30.0030), the Czech Science Foundation (P302/12/G157 and 16-12454S), EU COST MP1002 Nano-IBCT, and the Czech contribution to JINR Dubna 2015/2016-2018. The research leading to these results has received funding from the People Programme (Marie Curie Actions) of the European Union's Seventh Framework Programme (FP7/2007-2013) under REA grant agreement n°[624370].

АСТРОБИОЛОГИЯ

К ПРОБЛЕМАМ АСТРОБИОЛОГИИ

А.Ю. Розанов

Палеонтологический институт им. А.А. Борисяка РАН,
Лаборатория радиационной биологии Объединенный институт ядерных
исследований

1. Астробиологические исследования ведутся во многих учреждениях России, и проводится достаточное большое количество семинаров, школ и так далее.
2. Многие интереснейшие направления исследований особенно интенсивно развиваются на российской почве. Наиболее крупные группы исследователей работают в Пущино, ГАИШе, ИЗМИРАНе, ПИНе, МГУ и других учреждениях.
3. Однако, наблюдается асистемность исследований и не очень точное или слишком общее формулирование биологических задач.
4. Приборно-инженерная составляющая часто определяет постановку биологических задач, и это не способствует их четкому формулированию.
5. Необходимо более четко обрисовывать ситуации, с которыми могут столкнуться наши исследования других планет и ранней Земли. Последнее особенно важно, поскольку Земля является наиболее изученной частью Солнечной системы.
6. Необходима срочная подготовка первой версии учебника по астробиологии и специальная подготовка значительно более молодых, чем сегодня, астробиологов.

ПЕРВЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ БАКТЕРИАЛЬНО-ПАЛЕОНТОЛОГИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ РАННЕДОКЕМБРИЙСКИХ ЖЕЛЕЗИСТЫХ КВАРЦИТОВ КАРЕЛИИ И КОЛЬСКОГО ПОЛУОСТРОВА

Астафьева М.М.

Палеонтологический институт им. А.А. Борисяка РАН

astafieva@paleo.ru

Бактерии играют значительную роль в образовании многих минералов железа, об этом было известно еще в прошлом веке. Но проблема появления железистых кварцитов продолжает вызывать интерес по причине масштабов накопления железа в палеобассейнах раннего докембрия, ритмичной полосчатой структуры и несомненной связи формирования полосчатых железистых кварцитов с определенным этапом геологической истории Земли.

По современным представлениям железистые кварциты представляют собой метаморфизованные осадочные или вулканогенно-осадочные кварцево-железистые породы, широко распространенные в докембрийских образованиях. Характерной их чертой является чередование железистых (магнетит, гематит, сидерит) и кремнистых/карбонатных (кварц, сланцы, яшма, доломит и анкерит) прослоев, образующих слои мощностью от нескольких микрон до нескольких метров. Тонко-полосчатые, яшмовидно-тонкозернистые разновидности железистых кварцитов называют джеспилитами.

Железистые кварциты известны на всех материках. Самые ранние включения железистых кварцитов с возрастом, превышающим 3.8 млрд. лет (эоархей), известны из юго-западной окраины зеленокаменного пояса Нуввуагиттук (Nuvvuagittuq supracrustal belt), Канада (Dodd, Pariseau, 2015). Архейские железистые кварциты района Исуа (Гренландия) – одни из самых древних осадочных горных пород Земли (3.76 млрд. лет) (Schopf, 1983; Posth et al., 2011). Железистые кварциты достигают наибольшего развития в протерозое и являются составной частью метаморфических комплексов всех древних щитов. Архей-ранний протерозой – время мощного общепланетарного накопления железисто-кремнистых формаций, представленных пластовыми телами железистых кварцитов в пределах докембрийских щитов и платформ (в России – месторождения КМА, Балтийского и Алданского щитов, на Украине – Криворожья, Приазовья, за рубежом – железорудные месторождения Бразилии, Индии, Западно-Австралийского и Канадского щитов) (Чернышов и др., 2011). Последние железистые кварциты встречены в начале палеозоя (?Казахстан, Восточный Саян, Хамардабан).

В настоящее время большинство исследователей подразделяют все железистые кварциты на 2 главные группы: месторождения типа Алгома (Algoma), представленные, в том числе, месторождениями Кольского п-ова и Карелии – небольшими месторождениями, связанными с вулканитами, и месторождения типа оз. Верхнего (Superior), представленные месторождениями типа КМА – месторождениями крупных размеров, представленными ассоциациями, образовавшимися осадочным путем в мелководных обстановках седиментационных бассейнов (Холодов, 1993; Posth et al., 2011). Тип Алгома приурочен, в основном, к архейским структурно-формационным комплексам, а особенностью месторождений типа оз. Верхнее является их формирование в определенном возрастном интервале – 2.4-1.9 млрд. лет. Выделяется также формация Рапитан - нижняя часть ледниковых отложений в северной части Канадской Кордильеры, возраст - 717 млн. лет. Особенность - ассоциация с ледниковыми отложениями и крайне малое количество органического углерода, по виду - такие же полосчатые железистые кварциты, как и архейские и т.п.

Начавшиеся бактериально-палеонтологические изучения раннедокембрийских железистых кварцитов позволили обнаружить предположительно биогенные объекты, скорее всего, бактериальной природы. Причем биоморфные структуры встречаются как в архейских, так и протерозойских железистых кварцитах.

В полосчатых железистых кварцитах архея Карелии и Кольского п-ова обнаружены подобные объекты, скорее всего, бактериальной природы. Овальные или округло-овальные формы встречаются двух модификаций: крупные – размером порядка 5 μm и мелкие – размером $< 1 \mu\text{m}$.¹ Встречены кокки, как в железистых, так и в кремнистых прослоях. Интересно, что некоторые кокки несут следы деления – вполне вероятно, нам удалось наблюдать следы деления клеток. Нитевидные формы встречаются реже и представлены в основном длинными тонкими одиночными нитями.

Подчеркиваю, часто мы имеем дело с предполагаемыми организмами наноразмеров – нанобактериями, которые мало изучены.

В железистых кварцитах раннего протерозоя картина несколько иная – характерной особенностью изученных пород является обилие fossilized гликокаликса – внеклеточной полисахаридной слизи, выделяемой бактериями и цианобактериями, однородной или с включениями полисахаридных фибрилл. Он образован переплетением полисахаридных волокон (декстраны и леваны). Основная функция гликокаликса — адгезия к различным субстратам, гликокаликс также является важным фактором при образовании колоний микроорганизмов и транспортировки питательных веществ. Обильны биопленки, это может свидетельствовать о неблагоприятных условиях для жизнедеятельности бактерий. Обнаружены также остатки fossilized бактерий и, вероятно, цианобактерии. Судя по взаимоотношению с вмещающими породами, нет оснований отрицать захоронение микрофоссилий *in situ*.

Представленные результаты свидетельствуют о разнообразии микробиальных форм во всех изученных архейских железистых кварцитах. Вероятно, в формировании докембрийских месторождений железистых кварцитов принимали участие диссимиляционные железоредукторы (Слободкин, 2008). Также выдвигалась гипотеза о том, что диссимиляционное восстановление Fe(III) могло быть первым возникшим типом метаболизма. Поскольку большинство железоредуцирующих бактерий является микроаэрофилами и развиваются на содержащем Fe³⁺ субстрате, правомерно предположить наличие свободного кислорода в зоне гипергенеза, начиная со времени начала образования железистых кварцитов (~3.8 млрд. лет) (Dodd, Parineau, 2015), содержание которого было достаточно для окисления железа. Транспортировка железа в бассейны формирования железистых кварцитов происходила в форме Fe³⁺, часть которого могла восстанавливаться посредством бактериальной редукции в среде с высоким содержанием органического вещества с образованием магнетита до стадий позднего диагенеза и метаморфизма. Возможно, некоторое количество магнетита образовалось на стадии транспортировки железа в континентальных обстановках в результате бактериальной редукции.

1 Микроскопические живые объекты нанометрового диапазона (обычно $< 0.3 \mu\text{m}$) были описаны под названием «нанобактерии». Считается, что они играют важную роль в отложении и обогащении многих минералов, включая их рудные разности. Они были обнаружены практически везде – в горячих сернистых источниках, в строматолитах, в организме человека и животных и т.д. Однако часто «нанобактерии» рассматриваются как органо-минеральный комплекс, и доказывается их неживая природа. Также предполагается, что «нанобактерии» могут являться продуктами жизнедеятельности бактерий (Барсков и др., 2010).

В образовании осадочных раннепротерозойских железистых кварцитов также значительную роль играл биогенный фактор. Об этом свидетельствует обилие в образцах ископаемого гликокаликса и присутствие фоссилизированных бактерий, вероятно, и цианобактерий. Изучение протерозойских железистых кварцитов только начинается и возможны другие интересные находки.

Наличие железистых кварцитов в неопротерозое (Рапитан), венде-нижнем кембрии Восточного Саяна (Кизир-Казырская складчатая зона) (Князев, 2010) и, возможно, Казахстана (Карсакпай-Улутауский район - возраст железистых кварцитов последнего региона однозначно не определен) говорит о том, что общие характеристики бассейнов осадконакопления должны быть общими. К числу таких принципиальных характеристик относится и аэрированность бассейнов, т.е. содержание свободного кислорода, и температура палеобассейна.

Работа выполнена по Программе Президиума РАН «Эволюция органического мира и планетарных процессов» (подпрограмма 2) и поддержана грантами РФФИ №№ [14-04-00260](#); 15-04-00774 и научной школой НШ-3785.2014.4

НЕКОТОРЫЕ НЕДОСТАТОЧНО ПРОРАБОТАННЫЕ АСТРОНОМИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ ПРОИСХОЖДЕНИЯ И ЭВОЛЮЦИИ ЖИЗНИ

Бочкарев Н.Г.

Государственный астрономический институт имени П.К.Штернберга МГУ им.
М.В.Ломоносова, Москва, Россия

В последние годы выяснялось, что в условиях протопланетных дисков могут легко синтезироваться предбиологические соединения, включая аминокислоты. Для понимания процессов, определивших возникновение на Земле жизни, необходимо разработать модели химической эволюции протопланетных дисков учитывающих все основные факторы, определяющих их эволюцию. Для поддержания и развития жизни на Земле необходима защита от радиационной опасности, прежде всего, от космических лучей (КЛ). Недостаточно проработанным вопросом является влияние окружающей Солнечную систему среды на параметры гелиосферы и ослабление потока галактических КЛ низких энергий. Параметры межзвездной среды, определяющие степень проникновения галактических КЛ в Солнечную систему, сильно различаются в разных участках траектории движения Солнца в Галактике. Бурное звездообразование, вызванное, например, поглощением (мерджингом) соседней галактики, усиливает генерацию КЛ и изменяет параметры межзвездной среды. В результате изменяется облучение КЛ поверхности Земли. Поэтому надо принимать во внимание возможное влияние эволюции Галактики на биосферу.

Химические процессы в протопланетных дисках

Недавно Российско-итальянская группа ОИЯИ по радиационной биологии (г. Дубна) [1-3] показала, что широко распространенные в космосе молекулы формамида (NH_2CONH_2) в присутствии мелко раздробленных фрагментов метеоритов и при облучении быстрыми протонами приводят к абиогенному образованию разнообразных аминокислот и др. важнейших биологических соединений. Аналогичные результаты получены в [4] при облучении УФ излучением пиримидина ($\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2$) замороженного в "грязный лед" с астрофизическим содержанием элементов. Это может означать, что молекулы -- "кирпичики жизни" возникают в протопланетных дисках еще на стадии слипания пылинок и образования планетезималей. В процессе эволюции диска некоторые из этих "кирпичиков" попадают туда, где могут создаться условия подходящие для возникновения жизни, например, в те рождающиеся астероиды, которым предстоит пережить фазу жидкого водяного ядра [5]. Таким образом, вполне можно ожидать, что земная жизнь могла возникнуть еще на стадии формирования Солнечной системы. Этим определяется актуальность изучения химической эволюции вещества протопланетных дисков.

Хотя строение и эволюция протопланетных дисков и физические процессы в них давно активно изучаются, до сих пор не построены детальные численные модели физико-химической эволюции протопланетных дисков, учитывающие все важнейшие физические и химические процессы. Развитие таких моделей, безусловно, является актуальной, но сложной задачей современной астрофизики, которая потребует многолетних усилий. В связи с недавним введением в строй радиотелескопа ALMA, позволяющим обнаруживать и изучать молекулярный состав протопланетных дисков в последние годы резко возрос интерес к изучению молекул и химических процессов в протопланетных дисках [6-14].

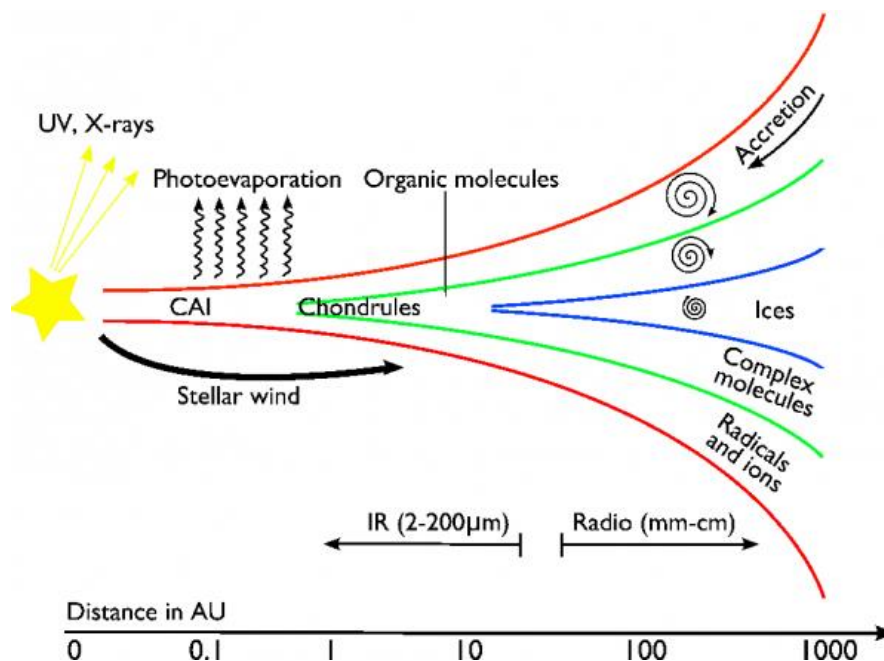


Рис. 1. Схема предполагаемой физической и химической структуры протопланетного диска вокруг молодой мало-массивной звезды типа Солнца

Стадия Хаяши эволюции протосолнца

Протозвезда, еще до загорания термоядерных реакций, высвечивает гравитационную энергию, выделяющуюся при ее сжатии протозвездного облака (т.н. стадия Хаяши эволюции звезды).

Звезда с массой, равной 1 массе Солнца, изменяет свою светимость от ~ 400 до современной светимости Солнца (L_{SUN}) за 1 миллион лет. Затем в звезде загораются первые термоядерные реакции, ее светимость проходит через минимум, равный $0.6\text{--}0.7 L_{\text{SUN}}$, и звезда медленно эволюционирует к начальной главной последовательности, достигая ее в возрасте 50 миллионов лет [15].

Таким образом, поправку за выделение протосолнцем гравитационной энергии необходимо учитывать в основном лишь в первый миллион лет его существования.

Проблема возникновения гомохиральности жизни на Земле

Причина возникновения гомохиральности жизни на Земле до сих пор не выяснена (см., напр., [16, 17]). Недавно появились новые наблюдательные данные, которые, возможно, помогут решить эту проблему. Впервые удалось измерить распределение по картинной плоскости круговой поляризации ближнего ИК излучения (2 мкм) в ближайшей к нам области интенсивного звездообразования -- туманности Ориона. Около массивной протозвезды BN/KL обнаружен примыкающий к нему протяженный участок неба размером $0.4 \text{ пк} = 1.2 \text{ св. года}$, излучение которого имеет значительную круговую поляризацию достигающую $\sim 10\%$ [18].

Этот результат указывает на возможный источник происхождения гомохиральности жизни на Земле. Действительно, изотопный состав солнечной системы говорит о том, что на раннем этапе ее формирования рядом произошел взрыв массивной сверхновой. Это в свою очередь означает, что за несколько миллионов лет до взрыва протопланетный диск, из которого сформировалась Солнечная система, должен был испытать сильное облучение излучением той же звезды, когда она еще только формировалась. Если эта протозвезда испускала свет со степенью круговой

поляризации характерной для протозвезды BN/KL, то подвергнутый такому облучению рацемический набор молекул протопланетного диска приобретает небольшую преимущественную хиральность [19]. Последующие химические реакции могут усилить ее [20], в том числе в условиях протопланетного диска.

Космические лучи (КЛ) и температура Земли

Уже более 10 лет назад было эмпирически установлено [21-24], что вариации потока КЛ низких энергий, измеряемые по дозе облучения, полученной железными метеоритами разного возраста (Exposure Ages), коррелируют с вариациями температуры на Земле (Рис. 2 [24]).

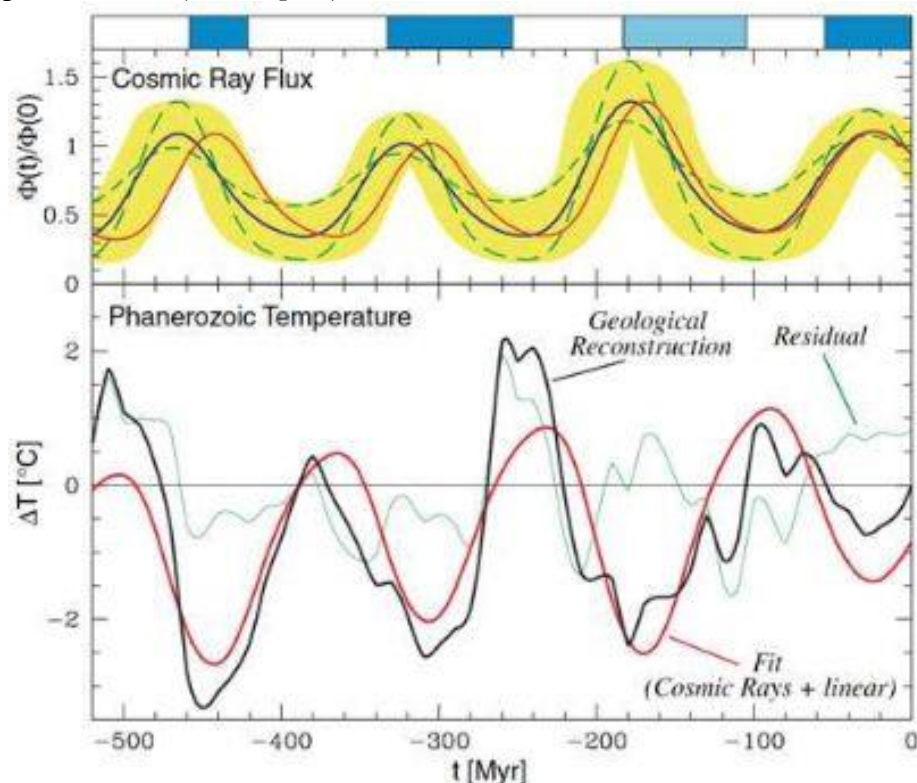


Рис. 2. Сравнение между реконструкциями потока космических лучей и количественной реконструкцией температуры в фанерозое [24]

На рис. 2 показано сравнение между реконструкциями потока КЛ и температуры T в приэкваториальной части Земли в фанерозое. В верхней части рисунка приведены реконструкции изменений потока космических лучей на шкале времени 500 миллионов лет, измеренных по дозе облучения, полученной железными метеоритами разного возраста (exposure ages). На нижней части рисунка: черным обозначена реконструкция изменений температуры океанов в тропических широтах, полученная с помощью изотопов, содержащихся в органических останках (т.н. геологическая реконструкция). Красным обозначено восстановление температуры, сделанное только на основании реконструкции потока космических лучей. Явная корреляция указывает на то, что в основном изменения температуры могут быть объяснены изменением потока космических лучей, так что на долю других климатических факторов, включая CO_2 , остается очень немного [21-24]. Иными словами, космические лучи на протяжении сотен миллионов лет оставались основным (в тропиках) регулятором температуры.

К сожалению этот цикл работ до сих пор не получил дальнейшего развития.

Траектория движения Солнца в Галактике и вариации космических лучей

Большую (но пока почти не изученную количественно) роль в модуляции проникающих в Солнечную систему галактических КЛ низких энергий могут играть изменения размеров гелиосферы и свойств гелиопаузы, вызванные вариациями физических характеристик окружающего их межзвездного вещества.

Параметры межзвездной среды, определяющие степень проникновения галактических КЛ в Солнечную систему, сильно различаются в разных участках траектории движения Солнца в Галактике.

Траектория движения Солнца немного не совпадает с плоскостью Галактики, так что каждые примерно 32 миллиона лет Солнце удаляется от плоскости Галактики примерно на 60 парсек [25]. Но более важным фактором является его прохождение сквозь спиральные рукава и межрукавное пространство. Однако точному восстановлению эпох прохождения Солнца сквозь спиральные рукава Галактики мешает ограниченная точность знания параметров Галактики, особенно в связи с тем, что Солнце расположено недалеко от области коротации, где угловая скорость его движения вокруг центра Галактики мало отличается от угловой скорости вращения спирального узора Галактики [25].

Несовпадение плоскости траектории движения Солнца с плоскостью Галактики, по-видимому, связано с образованием Солнца в очаге звездообразования, подобном Туманности Ориона, но, вероятно, более массивном [26]. Подобные очаги звездообразования хорошо видны в спиральных рукавах галактик, наблюдаемых "плашмя", то есть, таких, плоскость которых близка к картинной плоскости (Рис. 3).



Рис. 3. Спиральная галактика M101, наблюдаемой "плашмя"

Неустойчивость Релея-Тейлора-Паркера – причина волнообразных изгибов диска Галактики



- Характерный масштаб неустойчивости, т.е. типичное расстояние между очагами звездообразования в Галактике, 1.5 – 2 кпк.
- Обычный размер очага – 700 пк
- Момент вращения сгустка может значительно отклоняться от плоскости галактики.

Рис. 4. Схема формирования массивных очагов звездообразования

Они образуются за счет т. н. неустойчивости Релея-Тейлора-Паркера, возникающей в замагниченном газовом диске галактики за счет того, что вещество, скользя вдоль силовых линий магнитного поля, собирается в комки и уплотняется (рис. 4, см., напр., [27]). Так формируется очаг звездообразования, порождающий большое количество звезд, в том числе яркие массивные звезды, звездные ассоциации и массивные звездные скопления. Звезды наибольшей массы своим мощным звездным ветром выметают остатки газа, не превратившегося в звезды.

Совокупное действие звездного ветра многих звезд, а также последующие вспышки сверхновых, которыми завершается эволюция массивных звезд, приводит к образованию газо-пылевых сверхоболочек диаметром сотни парсек. Такие сверхоболочки, существуют десятки миллионов лет. Внутренние части сверхоболочек

заполнены т. н. корональным газом с температурой сотни тысяч Кельвинов и низкой концентрацией вещества ~ 0.01 частиц в кубическом сантиметре.

Солнечная система, движущаяся относительно межзвездного вещества, в разные моменты времени оказывается в разном межзвездном окружении. Вариации параметров этого окружения и скорости движения Солнца относительно межзвездной среды должны приводить к сильным изменениям размеров гелиосферы, и свойств окружающей ее гелиопаузы – переходной области между гелиосферой и межзвездным газом, и тем самым влиять на способность низкоэнергичных галактических космических лучей проникать в Солнечную систему и, в конечном счете, на Землю, то есть, влиять на биосферу. В таблице 1 приведены физические параметры основных структур межзвездной среды [27].

Таблица 1. Структурные компоненты межзвездного газа Галактики [27]

Структура	Температура T , К	Концентрация n , см ⁻³	Размер, пк	Доля объема
Корональный газ	$\sim 5 \cdot 10^5$	~ 0.003	-	~ 0.5
Зоны НII низкой плотности	$\sim 10^4$	~ 0.3	-	~ 0.1
Межоблачная среда	$\sim 10^4$	~ 0.1	-	~ 0.4
Теплые области НI	$\sim 10^3$	~ 1	-	~ 0.01
Средние области НI	~ 80	~ 10	~ 10	~ 0.01
Темные облака	~ 10	$\sim 10^3$	~ 1	$\sim 10^{-5}$
Большие глобулы	~ 10	$\sim 10^4$	~ 0.3	$\sim 3 \cdot 10^{-9}$
Области НII	$\sim 10^4$	~ 30	~ 10	$\sim 10^{-4}$
Гигантские молекулярные облака	~ 20	~ 300	~ 40	$\sim 3 \cdot 10^{-4}$
Уплотнения в молекулярных облаках	~ 6	$\sim 10^5$	~ 0.5	
Мазерные конденсации	> 100	$\sim 10^{10}$	$\sim 10^{-5}$	

Возможное влияние эволюции Галактики на биосферу

Время, прошедшее с образования Солнечной системы (4.6 млрд. лет), составляет заметную долю возраста нашей Галактики (10-12 млрд. лет). Поэтому физические условия в межзвездной среде, которая окружает Солнечную систему и сквозь которую она движется, могли испытать значительные изменения.

Недавно выяснилось, что важнейшую роль в эволюции галактик играет мерджинг, т.е. их слияние (гл. обр., поглощение маленьких большими). Вызванные мерджингом возмущения часто вызывают в галактиках вспышку звездообразования. Процесс бурного рождения звезд усиливает генерацию КЛ и изменяет параметры межзвездной среды. В результате изменяется облучение космическими лучами поверхности Земли. Поэтому надо изучить возможное влияние эволюции Галактики на биосферу.

Однако в последние несколько лет стало понятно, что бурный этап своей эволюции наша Галактика прошла задолго до рождения Солнечной системы. За последние 5 млрд. лет наша Галактика не испытывала сильных мерджингов и не будет испытывать их еще несколько миллиардов лет. Поглощение Магеллановых облаков Галактикой завершится через 4 млрд. лет. Столкновение с галактикой М31 (туманность Андромеды) произойдет через 5 млрд. лет.

Отсутствие сильных мерджингов, однако, не означает отсутствия эволюции Галактики. По мере старения Галактики убывает количество межзвездного вещества и увеличивается доля тяжелых элементов в нем, изменяются доли объема, которые заполняют различные структуры, перечисленные в таблице 1.

Литература

1. *Saladino, F.; Botta, G., Pino S, Costanzo G., Di Mauro, E.* Genetics First or Metabolism First? The Formamide Clue // *Chemical Society Review*, 2012, V.41, p. 5526-5565
2. *Саладино, Р., Ботта Дж., Дельфино, М., Ди Мауро, Э., Капралов М., Тимошенко Г., Красавин Е., Розанов А.* Образование предбиотических соединений формамида при облучении ускоренными частицами высоких энергий // *Новости ОИЯИ* [ISSN 0134-4811], 2013 http://www1.jinr.ru/News/News_4_2013
3. *Saladino, F.; Carota, E.; Botta, G.; Kapralov, M., Timoshenko, G.; Rozanov, A.; Krasavin, E. and Di Mauro, E.* Meteorite-catalyzed syntheses of nucleosides and of other prebiotic compounds from formamide under proton irradiation, *PNAS*, 2015, V.112, E2746–E2755, 10 pp. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1422225112
4. *Nuevo M., Matarese Ch.K.* The Photochemistry of Pyrimidine in Realistic Astrophysical Ices and the Production of Nucleobases. *The Astrophysical Journal*, 2014, 793, 125 (7 pp.)
5. *Бусарев В.В.* Каменно-ледяные тела как возможные инкубаторы первичной жизни. В кн: *Космические факторы эволюции биосферы и геосферы* // Ред. В.Н.Обридко, СПб: Изд. ВВМ, 2014, с.32-38
6. *Bast J.E., Lahuis F., van Dishoeck E.F., Tielens A.G.G.M.* Exploring organic chemistry in planet-forming zones 2013, *A&A* 551, id.A118, 24 pp.
7. *Hincelin U., Wakelam V., Commerçon B., Hersant F., Guilloteau S.* Survival of Interstellar Molecules to Prestellar Dense Core Collapse and Early Phases of Disk Formation. *The Astrophysical Journal*, 2013, V. 775, article id. 44, 11 pp.
8. *Henning Th., Semenov D.* Chemistry in Protoplanetary Disks. *Chemical Reviews*, 2013, Vol. 113, No. 12, p. 9016-9042
9. *van Dishoeck E. F.* Astrochemistry of dust, ice and gas: introduction and overview. // *Faraday Discussions*, 2014, vol. 168, p. 9-47 (arXiv:1411.5280)
10. [Walsh C.](#), [Herbst E.](#), [Nomura H.](#), [Millar T. J.](#), [Widicus](#), *Weaver S.* Complex organic molecules along the accretion flow in isolated and externally irradiated protoplanetary disks.// *Faraday Discussions*, 2014, vol. 168, p. 389-421 (arXiv:1406.0695)
11. *Walsh C., Millar T. J., Nomura H., Herbst E., Widicus Weaver S., Aikawa Y., Laas J.C., Vasyunin A. I.* Complex organic molecules in protoplanetary disks *Astronomy & Astrophysics*, 2014, V. 563, id.A33, 35 pp.
12. *Cleeves, L. Ilse; Bergin, Edwin A.; Adams, Fred C.* Exclusion of Cosmic Rays in Protoplanetary Disks. II. Chemical Gradients and Observational Signatures. *The Astrophysical Journal*, 2014, 794, article id.123, 23 pp.
13. *Walsh C., Nomura H., van Dishoeck E.* The molecular composition of the planet-forming regions of protoplanetary disks across the luminosity regime. *Astronomy & Astrophysics*, 2015, 582, id.A88, 28 pp.
14. *Caselli P., Ceccarelli C.* Our astrochemical heritage. *The Astronomy and Astrophysics Review* 2012, V. 20, id 56
15. *Бисноватый-Коган Г.С.* Физические вопросы теории звездной эволюции. Москва, "Наука", 1989 488 сс.
16. *Царев В.А.* Физические и астрофизические аспекты проблемы происхождения киральной асимметрии биосферы.// *Физика элементарных частиц и атомного ядра*, 2009, Т.40, вып.7, с.103-168.
17. *Манагадзе Г.Г.*, 2009 Плазма метеоритного удара и добиологическая эволюция, Москва: Физматлит, 352 сс.
18. *Fukue T., Tamura M., Kandori R., Kusakabe N., Hough J.H., Bailey J., Whittet D.C.B., Lucas P.W., Nakajima Ya., Hashimoto J.* Orig. Life Evol. Biosph., 2010, v. 40, pp. 335-346.

19. *Modica P., Meinert C., de Marcellus P., Nahon L., Meierhenrich U. J., Le Sergeant d'Hendecourt L.* Enantiomeric Excesses Induced in Amino Acids by Ultraviolet Circularly Polarized Light Irradiation of Extraterrestrial Ice Analogs: A Possible Source of Asymmetry for Prebiotic Chemistry. *The Astrophysical Journal*, 2014, V. 788, article id. 79, 11 pp.
20. *Klussmann M., Iwamura H., Mathew S. P., Wells D.H., Pandya U., Armstrong A., Blackmond D.G.* Thermodynamic control of asymmetric amplification in amino acid catalysis. *Nature*, 2006, v. 441, pp. 621-623
21. *Veizer J., Godderis Y., Francois L.M.* Evidence for decoupling of atmospheric CO₂ and global climate during the Phanerozoic eon: *Nature*, 2000, v. 408, p. 698–701
22. *Shaviv N.J.* Cosmic Ray Diffusion from the Galactic Spiral Arms, Iron Meteorites, and a Possible Climatic Connection: *Phys. Rev. Lett.*, 2002, v.89, 051102
23. *Shaviv, N.J.* The spiral structure of the Milky Way, cosmic rays, and ice age epochs on Earth: *New Astronomy*, 2002, v. 8, p. 39–77
24. *Shaviv N.J., Veizer J.* Celestial driver of Phanerozoic climate? *GSA Today*, July 2003, V.13, p.4-10
25. *Gies D.R., Helsel J.W.* Ice age epoch and the Sun's path through the galaxy, *The Astrophysical Journal*, 2005, v.626 p.844–848
26. *Витязев .А.В., Печерникова Г.В.* Ранняя Земля в тесном окружении молодых звезд. В кн. Проблемы происхождения жизни. Москва, ПИН РАН, с.131-155
27. Бочкарев Н.Г. Основы физики межзвездной среды. Москва: Книжный дом "ЛИБРОКОМ" (URSS), 2009, 352 сс.

АСТРОБИОЛОГИЯ И SETI

Гиндилис Л.М.¹, Гусева Г.Ю.².

¹ГАИШ МГУ им. М.В.Ломоносова, ²ГБПОУ «Воробьевы Горы»

Астробиологию можно определить как научное направление, изучающее проблемы происхождения и существования жизни в Космосе. Умозрительные представления о жизни во Вселенной существовали с глубокой древности, а научные представления стали формироваться в XX веке. Одним из истоков астробиологии явилось изучение происхождения жизни на Земле. Это направление формировалось, начиная с 1960-х годов, вокруг журнала а «Origins of Life and Evolution of Biospheres». В рамках этого направления было создано Международное Общество Исследования Происхождения Жизни (The International Society for the Study of the Origin of Life – ISSOL), впоследствии переименованное в Международное Общество Астробиологии. Вторым истоком явилась проблема SETI (Search for Extraterrestrial Intelligence). Она стала формироваться в 1960-е годы, после того, как появилась техническая возможность обнаружения радиосигналов от внеземных цивилизаций (ВЦ).

Проблема SETI возникла как чисто *техническая* задача, связанная с поисками радиосигналов ВЦ. Однако, как сразу же стало ясно, она не сводится только к технике связи, хотя развитие технических средств имело решающее значение в постановке этой проблемы. При проектировании системы обнаружения, необходимо задать *дальность обнаружения*, которая зависит от числа цивилизаций в Галактике. Попытка определить число цивилизаций ставит нас перед необходимостью оценить целый ряд факторов, таких как распространенность планетных систем, долю планет с подходящими для возникновения жизни условиями; следовательно, надо знать, какие условия необходимы для жизни. А это зависит от того, какие формы жизни мы будем рассматривать: ограничимся ли мы только водно-углеродной жизнью, известной нам на Земле, или будем принимать во внимание иные возможные формы жизни. В связи с этим неизбежно встает вопрос: что такое жизнь, и как она возникает; то есть весь комплекс вопросов, связанных с происхождением жизни, включая панспермию. Далее необходимо оценить вероятность возникновения разумной жизни и технически развитой цивилизации, что приводит в область биологической и социальной эволюции. Наконец, проектируя систему связи, мы должны рассчитывать на определенную мощность передающих систем. А это поднимает вопрос о возможном уровне и характере развития ВЦ. Таким образом, проблема поиска ВЦ приводит к постановке самого широкого круга научных и философских проблем. Фактически – это проблема *изучения жизни и разума во Вселенной*. Она содержит исторические, естественнонаучные, философские и даже этические аспекты. В отличие от чисто умозрительных рассуждений прошлых веков, проблема SETI базируется на прочном естественнонаучном фундаменте и включает проведение исследований и опытов по обнаружению ВЦ. В Международном Астрономическом Союзе (МАС) это направление получило наименование «Биоастрономия». Надо сказать, что из двух терминов «Астробиология» и «Биоастрономия» большее распространение получил термин «Астробиология».

Основные пути поиска ВЦ, как они представляются в настоящее время, включают поиск сигналов, поиск астроинженерной деятельности, поиск автоматических зондов и непосредственные контакты или взаимные посещения. Что касается поиска сигналов, в настоящее время используется лишь один канал – связь с помощью электромагнитных волн. Поиск ведется в оптическом, ИК- и радиодиапазоне. Основные усилия до сих пор были сосредоточены на поисках радиосигналов. Здесь

наметились два пути: поиски сигналов, предназначенных для внутренних нужд цивилизаций (“подслушивание”) и поиск сигналов, специально предназначенных для связи. В этом случае выделяются две задачи: поиск позывных и прием информативной передачи.

Эксперименты по поиску длятся уже более полувека и пока не привели к положительному результату. Были обнаружены десятки «подозрительных» сигналов, но поскольку они наблюдались однократно, в отношении их невозможно сказать ничего определенного. Эта ситуация вполне естественная, ибо поиски велись эпизодически, и до полного перекрытия необходимого пространства поиска (по времени, направлению, частотам и другим параметрам) пока еще очень далеко. Для успеха необходимо обеспечить непрерывный круглосуточный мониторинг всего неба в предельно широком диапазоне частот. Но такая задача, в практическом плане, пока даже не ставится. Делается то, что возможно. В результате поведенных исследований уточняется постановка вопроса, методика и стратегия поиска.

Помимо электромагнитных волн, принципиально возможно использование других каналов, основанных на иных носителях сигнала: нейтрино, гравитационные волны, модулированные корпускулярные потоки, биологический канал (связанный с кодированием информации в структуре ДНК живых организмов) и т.п. Но мы пока не владеем соответствующими технологиями. Могут быть и другие, неизвестные нам каналы связи, основанные на пока еще не познанных нами законах природы, на еще не открытых формах материи. Возможно, внеземные цивилизации уже знают о них и успешно используют для своих целей. А мы не имеем о них никакого понятия.

Наряду с поисками, предпринимались попытки передачи сигналов. Это направление получило название METI (Messaging to Extraterrestrial Intelligence). Помимо радиопосланий, были отправлены послания на космических кораблях «Пионер» и «Вояджер».

Длительное отсутствие каких-либо сенсационных сообщений, связанных с SETI, породило у части общественности представление о том, что программа SETI свернута. Это, конечно, не соответствует действительности. На мой взгляд, она просто вступила в фазу обычных исследований. Продолжается программа сопутствующего поиска Serendip с участием SETI@HOME, отдельные эксперименты ведутся на австралийском радиотелескопе в Парксе. Даже в России, несмотря на бедственное положение российской науки, продолжаются поиски по программе SETI с помощью радиотелескопа РАТАН-600. В США несколько лет назад вступил в строй радиотелескоп им. Аллена, специально предназначенный для SETI. Сейчас мировое астрономическое сообщество занято разработкой гигантского радиотелескопа площадью в 1 кв. км. Предусматривается, что, наряду с астрофизическими задачами, он будет использоваться и для целей SETI. В России, в АКЦ ФИАН разрабатывается космический проект Миллиметрон, в программе которого также предусмотрены исследования по SETI.

Под влиянием новых открытий в астрономии изменяется и стратегия SETI. Она все более сближается с астробиологией. Проявлением этой тенденции можно считать совместное заседание комиссии МАС и Международного Общества Астробиологии (бывшее ISSOL), состоявшееся в 2011 г. В середине XX века единственной возможностью обнаружения жизни во Вселенной был прием радиосигналов от разумных существ. Сейчас появились иные возможности. Это касается, прежде всего, обнаружения примитивной жизни. Большое значение имеет обнаружение биофоссилий в метеоритах. Это доказывает, что жизнь – феномен космический, она не ограничивается только нашей планетой. Появляется все больше свидетельств того, что всюду во Вселенной распространены молекулы, дающие начало жизни; они устойчивы

в окружающей среде и при аккумуляции планет из газо-пылевых дисков сохраняются и могут войти в состав метеоритов и кометных ядер, которые способны доставить эти структуры на формирующиеся и уже готовые планеты. Возрождается и получает все больше подтверждений гипотеза панспермии. Выявлена чрезвычайная приспособляемость жизни к самым разнообразным, в том числе экстремальным условиям. Это заставляет по-новому исследовать возможности жизни на планетах Солнечной системы, их спутниках, астероидах, кометах, в межзвездной и межпланетной среде. Признаки жизни теперь можно искать не только с помощью радиотелескопов.

Обнаружение земноподобных планет в зоне жизни планетных систем открывает возможности исследования их атмосферы на предмет наличия линий кислорода, что может рассматриваться как признак существования на них фотосинтезирующих форм жизни. С другой стороны, это позволяет более направленно, чем прежде, вести поиск радиосигналов ВЦ.

ОПЫТ СБОРА И ИССЛЕДОВАНИЯ ПЫЛИ В СНЕЖНОМ ПОКРОВЕ В РАЙОНЕ ПРОЛЕТА ЧЕЛЯБИНСКОГО МЕТЕОРИТА

Гиндилис Л.М.¹, Цельмович В.А.², Шевелев Г.Н.³, Гусева Г.Ю.⁴

¹Государственный Астрономический институт им. П.К.Штернберга МГУ им. М.В.Ломоносова lgindilis@mail.ru. ²Геофизическая обсерватория «Борок» ИФЗ РАН. ³Автономная некоммерческая культурно-просветительская организация «Звенигород» (г. Магнитогорск). ⁴Государственное профессиональное образовательное учреждение «Воробьевы горы».

Введение. Метеоритная пыль образуется в процессе высокотемпературной абляции, поэтому все компоненты, существенные для астробиологии (органика и др.), при этом уничтожаются. Следовательно, данная работа представляет интерес не столько непосредственно для астробиологии, сколько для исследования космической пыли. Что же касается космической пыли, то она тесно связана с астробиологией.

Космическая пыль играет важную роль в процессе синтеза органических соединений. В ее составе обнаружены такие сложные соединения как полициклические ароматические углеводороды и фуллерены. При формировании планет из газопылевых дисков органические молекулы сохраняются и могут войти в состав метеоритов и кометных ядер, которые способны доставить их на формирующиеся и уже готовые планеты. Возможно, в составе космической пыли имеются и живые бактерии. Космическая пыль играет также важную роль в процессах панспермии. Частицы КП могут быть весьма эффективны в доставке добиогенного органического, а возможно и биогенного, вещества на Землю.

Челябинский метеорит, вошедший в атмосферу Земли в районе г. Челябинска 15 февраля примерно в 9.20 по местному времени, вызвал большой интерес, как в научных кругах, так и среди широкой общественности. Как астрономическое событие это был обычный метеорит. Особое (не всегда адекватное) внимание к нему было вызвано тем, что все связанные с ним явления (вспышка, распад основного тела, ударная волна, падение фрагментов на поверхность земли) происходили в густонаселенном районе и сопровождались значительными разрушениями. Для научного изучения это обстоятельство оказалось благоприятным, так как позволило оперативно собрать большой объем информации.

Падение метеорита сопровождалось его разрушением, в результате на поверхность Земли выпало большое количество фрагментов. Дезинтеграция метеорита сопровождалась образованием газопылевого шлейфа и выпадением пылевой компоненты. Экспедициями был собран богатейший материал фрагментов метеорита. К сожалению, недостаточное внимание было уделено сбору пылевой компоненты. Между тем, частицы из пылевого облака, образовавшегося при пролете болида через атмосферу, по своим свойствам могут отличаться от материнского тела метеорита; представляет интерес сравнение частиц осевших на поверхность Земли, и извлеченных из метеорита. Учитывая эти обстоятельства, нами, в рамках Рабочей группы по исследованию космической пыли (РГКП) Научного совета по астробиологии при президиуме РАН, предпринята попытка сбора снега в районе падения метеорита с целью извлечения из него пылевой компоненты.

Сбор снега осуществлялся группой добровольцев из г. Магнитогорска (А.А.Диваев, Е.Б.Поликарпов, Е.В.Соколова, Б.М.Штельтер под руководством Г.Н.Шевелева.) по методике, разработанной с учетом опыта сбора пыли на Российской Антарктической станции «Восток» в 2011г. (в рамках РАЭ 56 по заказу АКЦ ФИАН). Результаты докладывались на конференциях в Чебаркуле, Челябинске и Борке [1-5].



Сбор снега был проведен 3 и 6 апреля 2013 г. в трех местах под трассой полета метеорита вдали от населённых пунктов. Особое внимание было уделено защите от загрязнения земной пылью. В стороне от места взятия проб весь инструмент, тару и уже одетые полиэтиленовые накидки тщательно обтирали местным снегом, удаляя городское загрязнение. Перед загрузкой снега контейнеры тщательно ополаскивались внутри дистиллированной водой.

Снег собирался послойно, 5 слоев в каждом месте, толщина слоя 10 см. Всего в 15 контейнеров собрано 1600 куб. дециметров снега. С утрамбовкой они разместились в 15 контейнерах общим объёмом 950 л.

Извлечение пылевой компоненты проводилось из талой воды. Всего после таяния снега образовалось 453,5 литров талой воды с взвешенной в ней пылью. Извлечение пыли проводилось в обычных помещениях. При этом были приняты меры, чтобы минимизировать загрязнение образцов земной пылью. Перед каждой операцией тщательно промывались и протирались руки, использовались одноразовые медицинские перчатки; инструмент и прочий вспомогательный материал и инвентарь промывались в проточной воде, а при необходимости с окончательным ополаскиванием дистиллированной водой. Для протирки использовался нетканый искусственный материал типа прорезиненной замши. Волосы закрывались медицинской шапочкой. Одежда из прорезиненной синтетики и плотная полиэтиленовая дождевая накидка с резинкой на запястьях, резиновая обувь. В местах просушки собранных образцов пыли закрывались окна и система домовой естественной вентиляции.

Последовательно было проведено извлечение четырех фракций: двух магнитных и двух немагнитных (различающихся по размеру частиц). Извлечение магнитной фракции осуществлялось с помощью сильных неодимовых магнитов диаметром 5 см. Извлечение немагнитной фракции – путем отстаивания и фильтрации. Фильтрация проводилась с помощью мембранных фильтров «ФиТрем 1» с порами 0,2 и 0,4 мкм.

Анализ магнитной фракции был проведен в Геофизической обсерватории «Борок» ИФЗ РАН с помощью микрозонда «Тескан Вега 2» с приставками для энергодисперсионного и волнового анализа. Обнаружены разнообразные по форме и составу частицы, имеющие различное происхождение (Рис.2).

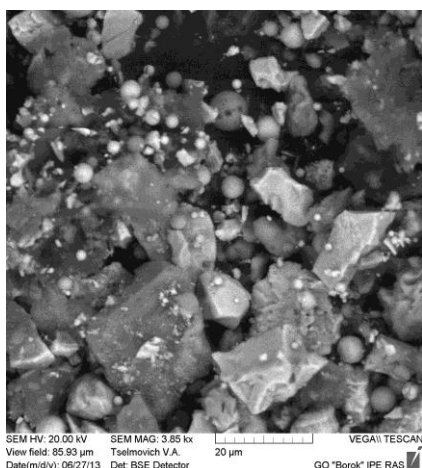


Рис. 2. Частицы в месте сбора № 1, магнитная фракция (обзорная картинка).
Представляют интерес *полые* шарики размером 20 мк. (рис. 3).

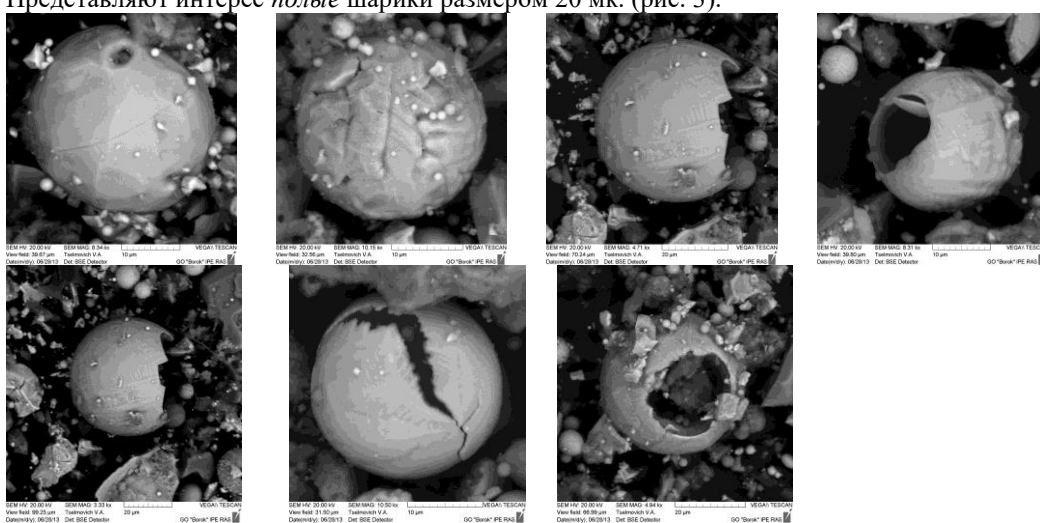
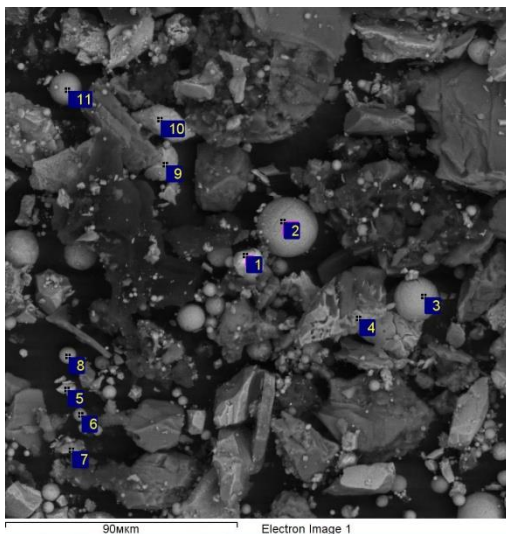


Рис. 3. Полые магнетитовые шарики в пылевой фракции Челябинского метеорита

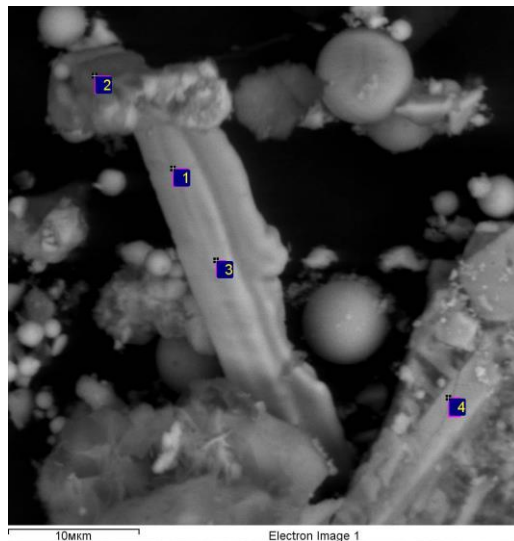
Магнетитовые сферулы могут образовываться при различных процессах. Обычно они состоят из однородного вещества, заполненного другим веществом. Полые шарики встречаются сравнительно редко. Такие шарики были обнаружены в корке плавления метеорита Bjurböle из Гарвардского минералогического музея, который так же, как и Челябинский, относится к типу хондритов [6]. Магнетитовые шарики обнаружены и в корке плавления Челябинского метеорита [7]. Это в сочетании с данными по метеориту Bjurböle дает основание полагать, что, по крайней мере, некоторые из найденных в снежном покрове полых магнетитовых сферул имеют метеоритное происхождение. Однако среди них могут быть и шарики техногенного происхождения, ибо подобные шарики образуются при некоторых промышленных процессах

Чтобы оценить влияние техногенной составляющей, нами предпринято изучение образцов промышленной пыли с площадки Магнитогорского металлургического комбината. Анализ этого материала показал, что лопнувшие пустотелые магнетитовые шарики попадались, хотя и реже, чем в пыли из снега. Выделение космогенной составляющей на основании одной морфологии практически невозможно. Более определенные результаты дает элементный анализ пыли.

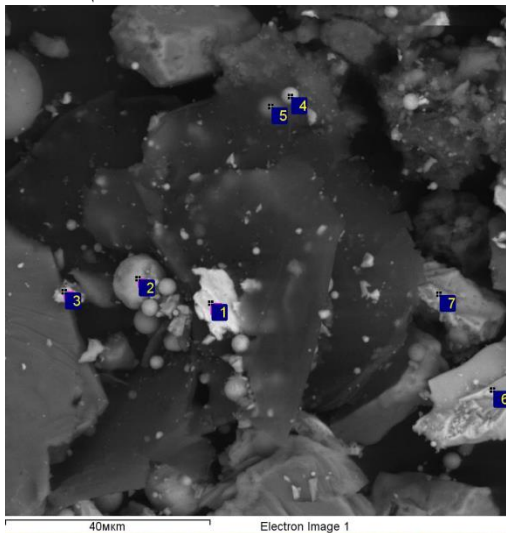
Для поиска частиц-кандидатов было исследовано более 350 спектров. На основе изучения коры плавления фрагмента ЧМ в качестве частиц-кандидатов были выделены: интерметаллиды железохромистые, частица тэнита, частицы троилита, частицы самородного железа.



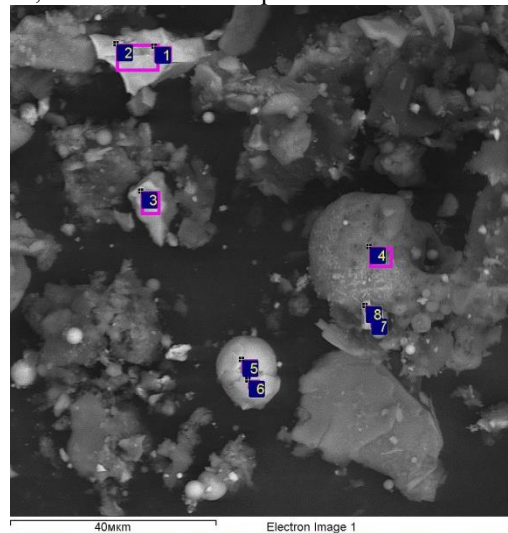
Частица тенита 9



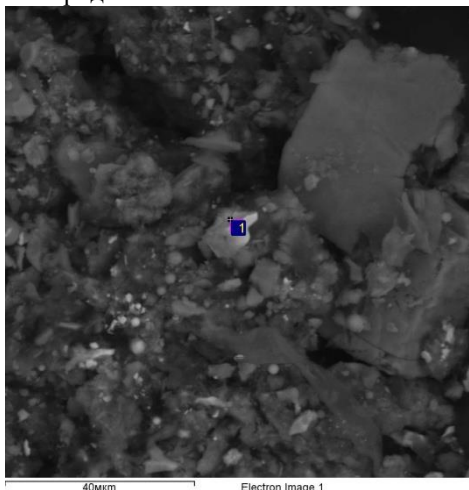
Частицы 1, 3 – сплав железо-хромистый



Самородное железо



Троилит (1, 2) в углеродистой частице (1 – 7)



Интерметаллид железо-хромистый

В результате проведенной работы отработана методика сбора снега и выделения пылевой компоненты для магнитной и немагнитной составляющей. Определены критерии для выделения космогенной составляющей, на основе которых отобраны частицы-кандидаты. Опыт изучения пылевой компоненты Челябинского метеорита

показал, что даже при значительном загрязнении образцов земными продуктами возможно выделение космогенной составляющей. Мы считаем этот вывод наиболее значимым.

Полный текст размещен на сайте Рабочей группы по исследованию космической пыли <http://www.life-universe.ru/rgkp/publications/item/48-chelyabinsk-meteorite.html>

Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект 13-05-00348а.

Литература

1. Гиндилис Л.М., Шевелев Г.Н. Сбор снега в районе пролета челябинского метеорита с целью изучения пылевой компоненты. // Астероиды и кометы. Челябинское событие и изучение падения метеорита в озеро Чебаркуль: материалы международной научно-практической конференции (Чебаркуль, 20-22 июня 2013 г.) – Челябинск «Край Ра», 2013. С. 63-70.
2. Гиндилис Л.М., Шевелев Г.Н. Сбор снега в районе пролета Челябинского метеорита и выделение пылевой компоненты // Метеорит Челябинск – год на Земле: материалы Всероссийской научной конференции. Челябинск: Агентство СІР Челябинской ОУНБ, 2014. С. 266- 278.
3. Гиндилис Л.М., Цельмович В.А., Шевелев Г.Н. Пылевая компонента Челябинского метеорита. Предварительные результаты // Четырнадцатая международная конференция «Физико-химические и петрофизические исследования в науках о Земле» Москва, 7-9, Борок 10 октября 2013 г. Материалы конференции. Москва, 2013. С. 78-81
4. Цельмович В.А., Гиндилис Л.М., Шевелев Г.Н. Анализ магнитной фракции в пылевой компоненте Челябинского метеорита // Метеорит Челябинск – год на Земле: материалы Всероссийской научной конференции. Челябинск: Агентство СІР Челябинской ОУНБ, 2014. С. 301-307.
5. Цельмович В.А., Гиндилис Л.М., Шевелев Г.Н. Морфология и состав частиц, выделенных из снежного покрова по трассе пролета Челябинского метеорита // Метеориты, астероиды, кометы. Падения на Землю, исследования и экологические последствия. II международная научно-практическая конференция. Материалы и доклады. Челябинск, 2014. С. 138-145.
6. Rletmeijer Frans J. M.and Mackinnon Ian D. R. Melting, Ablation, and Vapor Phase Condensation During Atmospheric Passage of the Bjurbole Meteorite // Proceeding of the Fourteenth Lunar and Planetary Science Conference. Part 2. Journal of Geophysical Research, Vol. 89. Supplement? Page B597- B604. February 15, 1984.
7. Цельмович В.А. Космические шарики на поверхности Челябинского метеорита // Астероиды и кометы. Челябинское событие и изучение падения метеорита в озеро Чебаркуль: материалы международной научно-практической конференции (Чебаркуль, 20-22 июня 2013 г.) – Челябинск «Край Ра», 2013. С.140-147.

ПРОБЛЕМА РЕПАРАЦИИ ПОВРЕЖДЕНИЙ НУКЛЕИНОВЫХ ПЕРВОМАТРИЦ ПРИ ПОСТРОЕНИИ МОДЕЛЕЙ РАННЕЙ БИОСФЕРЫ ЗЕМЛИ

Котеров А.Н.

ФГБУ ГНЦ Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна
ФМБА России, Москва
govorilga@inbox.ru

Физико-химические условия на ранней Земле кардинально отличались от современных. В связи с отсутствием кислородной атмосферы поверхность планеты подвергалась воздействию жесткого УФ и проникающей радиации. Тем не менее, с облучением разного рода и воздействием тепла связывают ключевые этапы образования пребиотических соединений: компонентов нуклеиновых кислот, белков и пр. В опытах по типу Миллера-Юри неорганические смеси находились под экспозицией в том числе электронов (Kenyon D.H., Steynman G., 1969).

Таким образом, радиационный фактор, согласно представлениям как прошлых лет, так и нынешних, является одним из ключевых на стадии формирования предбиомолекул (Kenyon D.H., Steynman G., 1969; Ranjan S., Sasselov D., 2015 и др.). Но этот фактор имеет и обратную сторону: помимо энергии формирования, хаотичная экспозиция УФ и радиации с неизбежностью вносит энергию распада (Бочкарев Н.Г., 1985 и пр.). Хотя есть мнение, что проблема УФ на пра-Земле в значительной степени нивелировалась поглощением данного излучения иными веществами, к примеру, Fe(III), которое, как полагают, находилось на древней Земле в высоких концентрациях (Заварзин Г.А., 2009), вряд ли подобный агент был способен полностью заменить защитный слой атмосферы. Считается что именно последняя должна отфильтровывать внешнюю жесткую радиацию (Ксанфомалити Л.В., 2009).

Если радиационно-индуцируемый распад должен был происходить уже на стадии предбиомолекул, то на стадии первичных нуклеиновых матриц, ДНК или РНК из гипотетического РНК-мира (Woese C., 1967; Crick F.H.C., 1968; Orgel L.E., 1968), проблема защиты информационного носителя от повреждений должна была встать во главу угла.

Представляется очевидным, что в процессе возникновения и пра-эволюции первичных нуклеиновых матриц система их защиты от окислительных, радиационных, химических и термодинамических повреждений должна была иметь место с самого начала, иначе спустя всего нескольких репликационных циклов не осталось бы и двух одинаковых молекул, а вся генетическая информация, вместо развития, быстро превратилась бы в белый шум. Нет необходимости перечислять физические и химические агенты, которые должны были повреждать ДНК/РНК на пра-Земле; достаточно сказать, что любой биохимический метаболизм связан в конечном счете с цепочками окислительно-восстановительных реакций, которые должны с неизбежностью приводить к попутным повреждениям молекулярных структур.

Известная нам система репарации ДНК представляет собой сложный комплекс ферментов и различных белковых факторов, все звенья которого (прямая репарация (фотореактивация, лигирование, обратное алкилирование и др.), эксцизионная репарация (поврежденных нуклеотидов и оснований), mismatch-репарация и др.) имеются для клеток всех царств живого мира (археи, прокариоты и эукариоты). Репаративные пути за счет гомологичной рекомбинации и негомологичного соединения концов, хотя в целом и являются прерогативой про- и эукариот соответственно, представляют собой единый механизм, направленный на устранение

двунитевых повреждений, важных в том числе в процессе репликации (Eisen J.A., Hanawalt P.C., 1999).

В названном аспекте не так важно, был ли при предполагаемом возникновении жизни первичным ДНК-, или же РНК-мир, тем более, что в последние десятилетия показано наличие некоторых систем репарации и для РНК (Bellacosa A., Moss E., 2003; Schwer B. et al., 2004; Poole M., Logan D.T., 2005; Svasti S. et al., 2009 и др.; стратегия репарации РНК при генной терапии: Balke D. et al., 2014).

Имеется мало обоснованных предположений о том, как же возникли названные отдельные звенья репаративной системы. К примеру, даже в специальной монографии по появлению и эволюции генетического кода (The Genetic Code and the Origin of Life, ed. by L.R. de Pouplana, 2004; 266 страниц) в главе, посвященной «ранней эволюции механизмов репарации ДНК», нет предположений о том, как же на деле появились сложные элементы данной системы (по идее — одновременно с ДНК/РНК-матрицами). Поскольку, вероятно, авторам (J. DiRuggiero, F.T. Rohh) не удалось путем филогении вычленить среди известных трех царств живого мира репаративные звенья неких «прародителей» и «потомков» применительно к менее и более сложноорганизованным формам, то авторы просто пришли к выводу, что репаративные механизмы появлялись и эволюционировали не один раз в разных царствах. Это предположение не отвечает на вопрос о том, каким же образом устранялись повреждения ранних перво-матриц.

В последние десятилетия значительные надежды в плане подкрепления гипотезы о РНК-мире связывали с рибозимами (Спирин А.С., 2005; Spirin A.S., 2007). Но некоторые репаративные свойства рибозимов (их получают искусственно), если не считать простого лигирования разрывов, ограничены сложными рукотворными конструкциями и специальными условиями (Jones J.T. et al., 1996; Phylactou L.A. et al., 1998; Chinnapen D.J.-F., Sen D., 2004; Lincoln T.A., Joyce G.F., 2009; Balke D. et al., 2014; James H.A., Gibson I., 2016), случайное сочетание которых, по-видимому, немногим менее маловероятно, чем одновременное появление вместе с ДНК/РНК-матрицами собственно сложной белковой системы репарации. Ограничена даже репликационная активность полученных рибозимов (Johnston W.K. et al., 2001; Wochner A. et al., 2011).

Известны отдельные работы, в которых, при реконструкции первичного мира, пытались моделировать способность простых молекул, к примеру, восстановленного флавина, осуществлять репаративные функции (фотолиаза) применительно к ДНК (Van Nguyen K., Burrows C.J., 2012), или же репарировать тиминные димеры в этой молекуле с помощью дезоксирибозима (Sen D., Chinnapen D.J.-F., 2003). Но такие модели не могут охватить всего спектра необходимых функций, неотъемлемых от систем репарации нуклеиновых матриц в реальных земных или внеземных условиях с неизбежными повреждениями. Хотя бы в процессе постулированной эволюции, требующей поступления энергии, а, значит, и сопутствующих издержек.

В целом вопрос о неизбежном присутствии сложных репаративных систем при возникновении информационных матриц в масштабных публикациях по абиогенезу практически не рассматривается. Можно не найти даже термина «репарация», скажем, в объемных материалах академического совещания «Проблемы происхождения жизни» (Москва, сентябрь 2008 г.; издано в 2009 г.; 258 страниц), и это не будет какой-то российской особенностью, поскольку точно так же не найдется термина «repair» в большинстве зарубежных обзоров по проблемам абиогенеза, под названием, к примеру: ‘Prebiotic systems chemistry: new perspectives for the Origins of Life’ (Ruiz-Mirazo K. et al., 2013; 82 страницы, из них 14 страниц ссылок). Или: ‘The Origins of the RNA World’ (Robertson M.P., Joyce G.F., 2012; 22 страницы, из них около 4-х — ссылки).

Насколько нам известно, термин «репарация» отсутствует даже в публикациях А.С. Спирина по РНК-миру и абиогенезу (Spirin A.S., 2007; Спирин А.С., 2009).

Это весьма странная ситуация, когда в специальной литературе по абиогенезу, происходившему, по предположениям, на ранней Земле или, согласно (Spirin A.S., 2007; Проблемы происхождения жизни. М.: ПИН РАН, 2009 и пр.) на иных планетах, кометах либо в туманностях (научный принцип универсализма предполагает единство состава и физических законов во всей вселенной), не рассматривается кардинальный вопрос, без прояснения которого не кажутся столь важными рассуждения о деталях предбиотического появления предшественников биомолекул или возможной биотической эволюции перво-матриц.

На неразрешенность (и, возможно, неразрешимость) вопроса о репарации перво-матриц обратил внимание еще в 1999 г. А.П. Акифьев («Радиационная биология. Радиозкология». Т. 39, № 1; юбилейный номер: статьи без рецензирования):

«В то же время без репарации ДНК не могла бы «выжить» в условиях первичного бульона, поскольку тогда не существовала атмосфера и Земля находилась под мощным воздействием космического излучения и ультрафиолетовых лучей Солнца. Однако столь сложный механизм, как репарация, не может существовать вне клетки, точнее без клетки... Это может означать только одно: клетка и жизнь возникли одновременно».

За прошедшее время, как видим, ни в отечественных, ни в зарубежных исследованиях по моделированию абиогенеза данный момент не только не получил требуемого развития, но, к сожалению, нередко просто не упоминается. Соответствующие же экспериментальные работы единичны; они гипотетически моделируют, причем в особых условиях, только отдельные звенья системы, не решают вопрос и почти никак не отражаются в обобщающих мировых трудах по абиогенезу.

Все это, конечно, не может отвечать научному подходу для эмпирических дисциплин.

О ВОЗМОЖНОСТИ СБОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ В КОСМИЧЕСКОЙ ПЫЛИ В ТОЧКЕ ЛИБРАЦИИ L1 СИСТЕМЫ «ЗЕМЛЯ-ЛУНА»

Новосельцев Д.А.

НП «Сибирское машиностроение», Омск, Россия

danovoseltsev@mail.ru

Как известно, в ходе эксперимента «ТЕСТ» (ЦНИИМАШ), выполненного на Международной космической станции (МКС) в 2010-2014 г.г., в результате отбора проб с внешней поверхности корпуса МКС были обнаружены жизнеспособные бактерии рода *Bacillus* (*B. licheniformis*, *B. subtilis* и *B. sphaericus*, *B. pumilus*) в местах с загрязнением поверхности, фрагменты ДНК *Micobacteria* (гетеротрофного морского бактериопланктона, обитающего в Баренцевом море) и ДНК экстремофильной бактерии *Delftia*. В качестве возможного механизма их переноса с суши и из Мирового океана Земли до высоты орбиты МКС рассматривается перенос с восходящей ветвью глобальной электрической цепи из стратосферы в ионосферу [1]. Ранее, в ряде экспериментов – например, [2, 3], подтверждена возможность сохранения жизнеспособных биологических образцов за пределами герметичного объема Международной космической станции (МКС) в течение 1-1,5 лет. Все данные получены на высоте орбиты МКС, ниже радиационных поясов Земли и вне интенсивного радиационного воздействия солнечного ветра, характерного в этом случае.

Можно предположить возможность дальнейшего переноса бактериопланктона (в т.ч. под действием давления солнечного светового излучения, в соответствии с классической гипотезой панспермии Аррениуса) за пределы низкой околоземной орбиты и его накопления в точке либрации L1 системы «Земля-Луна», вместе с присутствующей в окололунном пространстве космической пылью. Последняя может, аналогично загрязнениям на корпусе МКС в эксперименте «ТЕСТ», играть роль защиты от неблагоприятных факторов космического пространства.

В этой связи представляет интерес возможность отбора образцов космической пыли в области точки либрации L1 системы «Земля-Луна» и их доставки на Землю [4]. Для решения задачи предлагается использование простейшего космического аппарата (КА) наноразмерного класса – «траулера», оснащенного возвращаемым аппаратом и выдвижным «тралом» для сбора образцов в ходе длительного дрейфа в окрестностях точки L1 – например, в виде длинной ленты из толстослойного волокнистого материала, устойчивого к воздействию факторов космического пространства и задерживающего пылевые частицы. При этом осуществляется вращение КА с развернутым «тралом» вокруг продольной оси и сбор пылевых образцов с ометаемой «тралом» площади. Такая конструкция отличается от характерного для быстрых транзитных КА применения выдвижных пылевых ловушек с рабочим слоем аэрогеля, но требует решения ряда технологических проблем обеспечения чистоты ленты «трала» в процессе ее производства и установки на КА. Возможен попутный запуск «траулеров» в рамках планируемых «лунных» проектов Роскосмоса в 2020-х г.г.

Эксперимент позволит оценить влияние длительного воздействия на бактериопланктон неблагоприятных факторов космического пространства, и прежде всего, солнечного излучения. В случае обнаружения в полученных образцах фрагментов ДНК значительной сохранности после длительного воздействия «солнечного ветра», это может стать дополнительным аргументом в пользу различных вариантов гипотезы панспермии.

На основании анализа полученных образцов может быть рассмотрено допущение о возможности использования бактериопланктоном космической пыли не только как защиты от неблагоприятных факторов космического пространства, но и, в определенной степени – питательной среды. Так, в процессе бомбардировки частиц космической пыли, содержащей значительное количество кислорода в виде оксидов, протонами «солнечного ветра», возможно образование необходимой для жизнедеятельности бактериопланктона воды. В этом случае в качестве возможной области для дальнейшего поиска внеземной жизни могут рассматриваться не только экзопланеты, но и пылевые кольца и скопления в «зоне жизни» ряда звезд.

По результатам эксперимента может потребоваться коррекция перспективных «лунных» космических программ, особенно пилотируемых, для обеспечения экологической безопасности области точки L1, минимизации воздействия токсичных компонентов ракетного топлива и утечек из систем жизнеобеспечения пилотируемых КА.

В 2014 г. предложение было направлено в Федеральное космическое агентство в рамках конкурса научных работ «Россия в космосе: от мечты к реальности» на тему «Использование результатов космической деятельности в социально-экономической сфере».

С учетом положительного опыта создания инициативными группами сверхдешевых КА наноразмерного класса – например, светоотражающего спутника «Маяк» [5] - проект представляется реалистичным, но нуждается в создании соответствующей инициативной группы и поддержке научного сообщества.

Литература

1. Сыроешкин А.В., Гребенникова Т.В., Лапшин В.Б., Южаков А.Г., Садыкова Г.В., Цыганков О.С., Шубралова Е.В., Шувалов В.А., Морозова М.А., Чичаева М.А., Головкин А.В.. Бактерии Мирового океана и суши Земли в космической пыли на международной космической станции: панспермия или ионосферный «лифт»? Гелиогеофизические исследования, выпуск 5, 124 – 132, 2013. Исследования средней и верхней атмосферы, взаимодействия геосфер. С. 124-132.
2. Баранов В.М., Новикова Н.Д., Поликарпов Н.А., Сычев В.Н., Левинских М.А., Алексеев В.Р., Окуда Т., Сугимото М., Гусев О.А., Григорьев А.И. Эксперимент «Биориск»: 13-месячная экспозиция покоящихся форм организмов на внешней стороне российского сегмента Международной космической станции (предварительные результаты) // Доклады академии наук. 2009. Т. 426. №5. С.1-4.
3. Novikova N.D., Polikarpov N.A., Deshevaya E.A., Levenskikh M.A., Alekseev V.P., Okuda T., Sugimoto M., Gusev O.A., Sychev V.N., Grigoriev A.I. Survival of dormant organisms after long-term exposure to the space environment // Acta Astronautica. 2011, V 68, P. 1574-1580.
4. Dmitry Novoseltsev The experiment in collection of material samples from the libration point L1 of system "Earth-Moon" in order to assess possibility of presence of these forms of living organisms. Space Colonization Journal, Issue 3, 2013, p. 1-3. <http://spacecolonization.info/issues/issue-3-2013/>.
5. <http://cosmomayak.ru/>.

ЭКСТРЕМАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ГЕЛИОСФЕРЕ И ЭВОЛЮЦИЯ БИОСФЕРЫ

Обридко В.Н.¹, Пипин В.В.², Руденчик Е.А.¹, Рагульская М.В.¹, Храмова Е.Г.¹

¹ Институт земного магнетизма и распространения радиоволн им. Н. В. Пушкова РАН,
Москва

² Институт солнечно-земной физики СО РАН, Иркутск

Изменения динамики солнечной активности (СА) оказывает влияние на климатические и биосферные процессы как в краткосрочном, так и в долгосрочном масштабе. Так за последние 1000 лет наблюдались существенные колебания СА, периоды повышенной активности сменялись периодами практически полного ее исчезновения (Рис. 1).

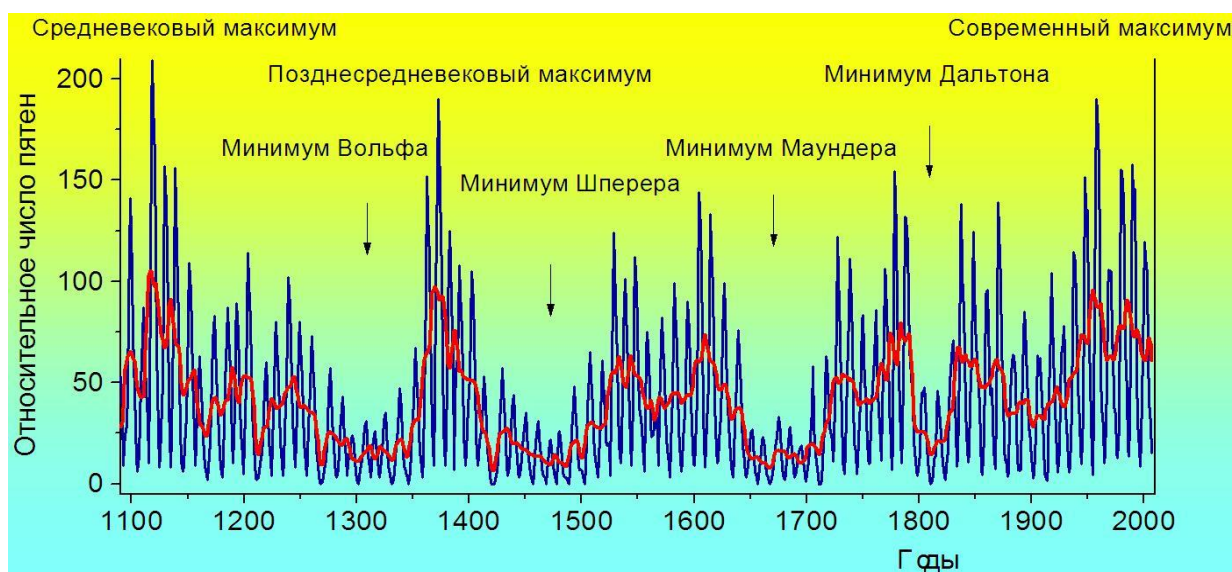


Рис. 1. Динамика солнечной активности на 1000-летней шкале (Ю. А. Наговицин, 1997).

С 1840 годов человечество живет в периоде повышенной активности, однако последние гелиогеофизические данные и данные длительных биомедицинских мониторингов позволяют предположить наступление длительного периода низкой солнечной активности вплоть до 2060 годов. Регуляторные механизмы биосферы откликаются как на высокие, так и на низкие периоды СА, меняются только основные действующие факторы космической погоды [1]. Удельный вклад солнечной активности на различных временных масштабах представлен на Рисунке 2. Он составляет от 5-10% на временной шкале 5-15 лет до 50 -70 % на временной шкале от 200 до 1000 лет [2].

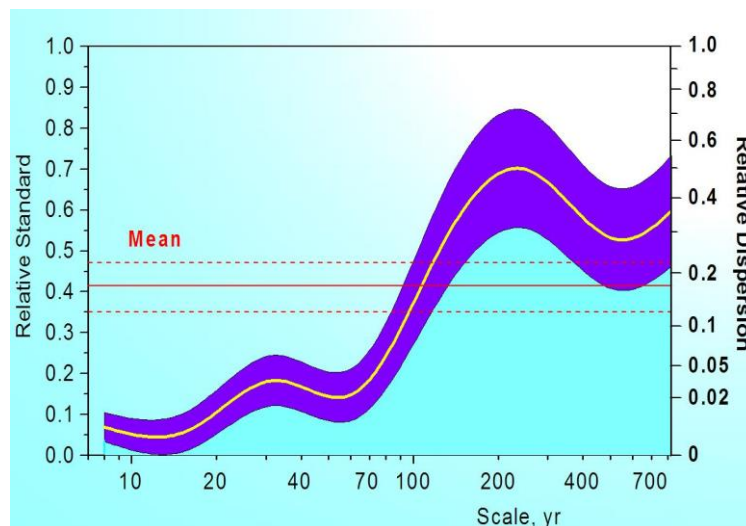


Рис. 2. Вклад солнечной активности в изменения климата и биосферы Земли на различных временных масштабах: среднее по 5 реконструкциям (Ю.А. Наговицин, 2014)

Для выяснения динамики Солнца на более крупных временных масштабах рассмотрены общие вопросы эволюции Солнца как звезды, а также изменения параметров внутренней структуры, скорости вращения и магнитной активности. Привлекались данные по наблюдениям магнитной цикличности на молодых аналогах Солнца разного возраста, а также рассматривались результаты по численному моделированию солнечной активности для звезд, вращающихся с периодом от 15 до 25 суток, что примерно соответствует возрасту Солнца от 2,5 млрд лет назад до современного состояния (именно в это время сформировался современный тип магнитной динамики Солнца).

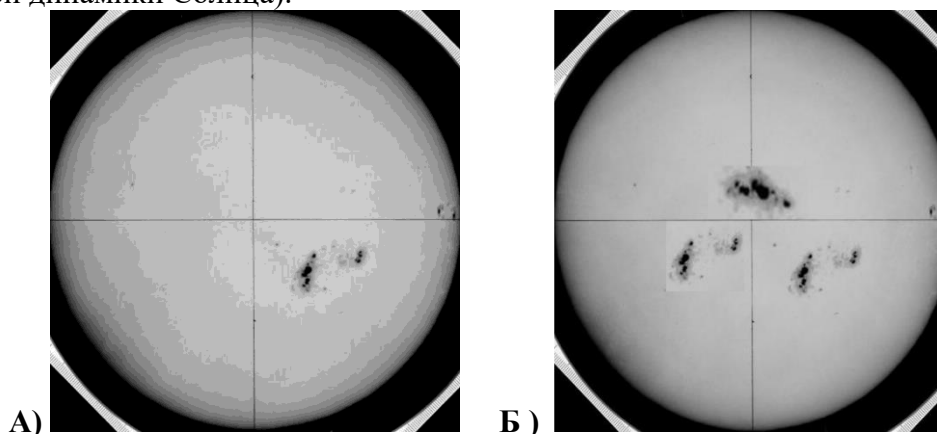


Рис. 3. А) Наблюдения в максимуме СА — Кисловодск июль 1947, площадь пятен 0,8% Б) Реконструкция СА 2,5 млрд. лет назад — площадь пятен около 3%.

Модели В.В. Пипина [3] показывают, что период цикла на Солнце 2,5 млрд. лет назад был около 5 лет, при этом уровень запятненности был выше современного примерно в 5 раз. Эти результаты качественно согласуются с современными данными наблюдений магнитной активности на молодых звездах солнечного типа.

Проведены оценки максимальной интенсивности экстремальных солнечных событий для современного типа магнитной динамики (последние 2,5 млрд. лет) и частоты встречаемости экстремальных вспышек в зависимости от интенсивности. По оценкам Н. Maehara (Nature, 2012) вероятность вспышек на звездах солнечного типа с $E = 10^{34}$ — одна за 800 лет с $E = 10^{35}$ — одна за 5000 лет, по К. Shibata et al., (PASJ, 2013) вероятность вспышек на Солнце: с $E = 10^{34}$ — одна за 800 лет, с $E = 10^{35}$ —

маловероятно. Наши данные: $10^{33.5}$ — 1 за 60-100 лет, 10^{34} — 1 за 600-1000 лет, $10^{34.5}$ — 1 за 1 мл. лет.

Comparison of statistics between solar flares/microflares and superflares

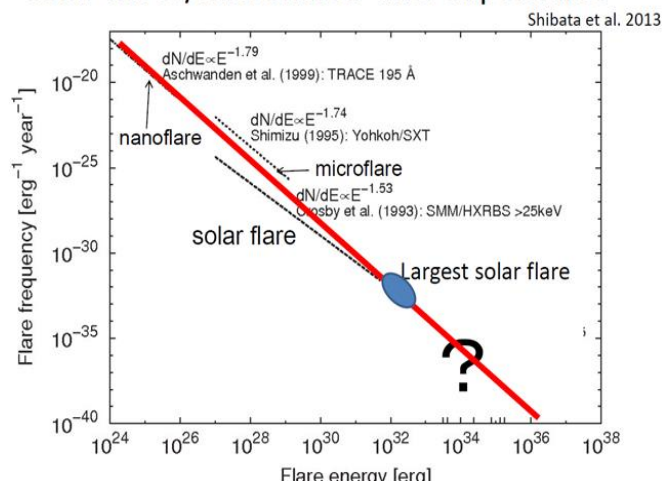


Рис. 4. Зависимость частоты возникновения супер-мощных вспышек на звездах типа современного Солнца в зависимости от интенсивности вспышек.

В докладе обсуждается, что на разных стадиях эволюции звезды в солнечном динамо могли работать разные типы нелинейных процессов, ответственных за перестройку гидродинамических течений и топологию магнитных полей в зависимости от уровня магнитной активности. Для звезд среднего возраста (более 2 млрд. лет) наиболее существенным оказывает механизм нелинейности, основанный на сохранении магнитной спиральности. В тоже время для совсем молодых звезд существенным оказывается обратное влияние магнитных полей на дифференциальное вращение.

Литература:

1. Obridko V., Ragulskaya M., Rudenchik E., Khabarova O., Hramova E. Solar activity 23-24 cycles and structure of biomedical monitoring data, Tekhnologii zhivyykh system. // Technologies of live systems, ISSN 2070-0997, 2014, V. 11(3), PP. 12-22, DOI: 10.13140/2.1.2980.4167
2. Nagovitsyn Yu.A. A nonlinear mathematical model for the Solar cyclicity and prospects for recon-structing the Solar activity in the Past. // Astronomy Letters. 1997. V. 23. No.6. PP.742-748.
3. Pipin V.V. Dependence of magnetic cycle parameters on period of rotation in nonlinear solar-type dynamos // Monthly Notices of the Royal Astronomical Society, 2015, 451(2), PP.1528-1539. DOI: 10.1093/mnras/stv1026

РАДИАЦИЯ В КОСМОСЕ – ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ ОПАСНОСТЬ ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ

Панасюк М.И.

НИИ ядерной физики имени Д.В.Скобелева, Физический факультет, МГУ им.М.В.
Ломоносова, г.Москва, Россия

Радиация — одно из самых опасных явлений в космическом пространстве, которое обусловлено существованием заряженных частиц различной природы. Радиация не только создает проблемы для "живучести" самих космических аппаратов, но и для человека в космосе. Для космических аппаратов, летающих на низких орбитах, опасность создает радиация, во основном, двух типов. Это — космические лучи — заряженные частицы огромных энергий, попадающие в окрестности нашей планеты из межзвездного пространства, а также — частицы, захваченные в магнитные поля некоторых планет солнечной системы, — радиационные пояса. Именно радиационные поля представляют наибольшую опасность для низкоорбитальных космических аппаратов около Земли, где в настоящее время сосредоточена космическая активность человека. Дело в том, что радиационные пояса, хотя они и расположены на больших высотах, в районе Южно-атлантической аномалии (ЮАА) "провисают" над поверхностью Земли из-за аномальной структуры магнитного поля Земли. В этой области оно ослаблено по сравнению с другими областями. Поэтому, например, Международная космическая станция, летающая на высоте 400 км, лишь нескольких витках "задевает" эту опасную зону. Здесь дозы радиации значительно выше, чем вне ее, но для кратковременных полетов они не представляют существенной опасности. Однако в этой области существует другая по своей природе радиационная опасность — это высокоэнергичные заряженные частицы — протоны и ядра более тяжелых элементов, захваченные в магнитное поле Земли. Их энергии велики — они достигают величины в сотни МэВ/нуклон, и внешняя оболочка космического корабля не представляется существенной защитой от них. Потоки тяжелых ядер (ионов) — тяжелых заряженных частиц (ТЗЧ) в космическом пространстве, как правило, малы по сравнению с протонными и электронными и не могут вызвать заметных дозовых эффектов. Однако именно они рассматриваются как основной компонент, вызывающий, так называемые, одиночные сбои в микроэлектронике и, очевидно, локальные нарушения в биологических структурах на молекулярном уровне.

К настоящему времени накоплен достаточно обширный экспериментальный материал, который однозначно позволяет сделать заключение, что район в области Южной Атлантики — наиболее опасный для электроники космических аппаратов, летающих на малых высотах. Наибольшее количество сбоев электроники на самых разных космических аппаратах приходится именно на эту аномальную зону. Следует ожидать аналогичных эффектов (по своим нежелательным последствиям) и при их воздействии на биологические структуры.

Роль ТЗЧ среди других эффектов радиационного воздействия актуальна как с точки зрения надежности космических аппаратов, так и снижения риска длительных космических полетов человека. Но нельзя исключать и влияния протонной радиации на возникновение эффектов типа одиночных сбоев и нарушений в биологических структурах вследствие генерации ими, например, вторичных тяжелых ядер.

Однако ТЗЧ существуют не только в районе ЮАА. Ядра (ионы) в космосе имеют разные источники, подвергаются воздействию различных типов ускорения и переноса, формирующие их различные пространственно-временные и энергетические характеристики. Не все их характеристики, необходимые для моделирования и

последующего применения в имитационных наземных экспериментах, известны на сегодня. Поэтому необходимы их дальнейшие исследования.

Как правило, любой космический аппарат подвергается одновременному воздействию нескольких компонентов космической радиации. Это также вызывает трудности при моделировании эффектов воздействия на наземных установках.

В докладе приведен анализ имеющихся экспериментальных данных об энергетических, пространственных и временных характеристиках всех основных радиационных полей в космосе — радиационных поясов Земли и Юпитера, солнечных энергичных частиц и галактических космических лучей. Рассматриваются особенности радиационных полей на Луне и Марсе, что представляется актуальным в связи с планированием долгосрочных миссий на Луну и Марс.

ИССЛЕДОВАНИЕ СЛЕДОВ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ С ПОМОЩЬЮ РЕНТГЕНОВСКОЙ МИКРОТОМОГРАФИИ

Пахневич А.В.

Палеонтологический институт им. А.А. Борисяка РАН, Москва, Россия,
alval@paleo.ru

Поиск проявлений жизни зачастую нацелен на непосредственное выявление биологических структур, например, фоссилизированных клеток и их групп в метеоритах и других астрообъектах, *раннедокембрийских земных породах*. Однако не всегда это возможно технически с точки зрения размеров объектов, например, найти микронные объекты в веществе объемом несколько кубических сантиметров. Их локализация иногда выявляется случайно. Происхождение некоторых структур вызывает сомнения: являются ли они исходными в веществе метеоритов или это земные контаминации. Помимо поиска непосредственно клеточных структур, внимание необходимо уделять и определению следов жизнедеятельности бактериальных сообществ. Непосредственно организмы, компоненты этих сообществ, могут не сохраниться. По следам жизнедеятельности можно установить не только их присутствие в прошлом, но и особенности метаболизма. Тем более продукты жизнедеятельности бактериальных сообществ относятся к иному размерному классу объектов, шанс обнаружения которых более велик. Достаточно вспомнить строматолиты, встречающиеся в отложениях Земли, начиная с протерозоя.

Одним из перспективных методов поиска следов жизнедеятельности бактериальных сообществ является рентгеновская микротомография. Метод является неразрушающим, то есть исследовать метеориты и земные горные породы почти не разрушая их. Фрагментирование объекта исследования иногда необходимо для достижения хорошего детального разрешения (например, для выявления структур микронных размеров). В настоящее время только криотомография достигла разрешения сопоставимого с разрешением сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) (Le Gros et al., 2005). С помощью этого метода удалось различить клеточные структуры дрожжей и клетки бактерий. Многообещающи успехи синхротронной томографии. С ее помощью удалось получить хорошие изображения оогоний харовых водорослей (Tafforeau et al., 2006) и структур мегаспор (Slater et al., 2011). Но сейчас микротомография не может заменить электронную микроскопию. Она может быть использована в дополнении к ней. У рентгеновской (и любой другой) микротомографии есть важное преимущество. Если с помощью СЭМ изучают структуры на поверхности объекта, то с помощью микротомографии – во всем его объеме и гораздо более детально, чем это можно сделать, изготавливая шлифы и пришлифовки объектов. Используя томографические методы, возможно выявить структуры, которые не просматриваются с помощью СЭМ.

Цель данного исследования изучить особенности следов жизнедеятельности бактериальных сообществ с помощью рентгеновской микротомографии. Для него использовались два объекта различного происхождения. Первый объект – железомарганцевые корки на поверхности гранитных валунов (см. Пахневич,), второй – современная высохшая цианобактериальная пленка. Гранитные валуны происходят из моренных отложений Талдомского района Московской области. Образцы современных цианобактериальных пленок собраны в Орловской области в карьере около с. Крутое рядом с мостом через реку Труды. Образцы изучались с помощью рентгеновского микротомографа Skyscan 1172. Микротомография производилась с использованием следующих параметров: $I = 100 \text{ mA}$, $U = 103\text{-}104 \text{ kV}$, фильтр Al (1 мм) или Al-Cu, шаг

вращения 0.4° , разрешение 2.3 – 5.7 мкм. Для обработки данных использовались программы NRecon, DataViewer. В качестве дополнительного оборудования использовался СЭМ CamScan-4.

На поверхности гранитных валунов были обнаружены темные с металлическим отливом корки. Толщина корок от 50 до 210 мкм. При изучении корок с помощью СЭМ выяснилось, что они богаты соединениями железа и марганца. В основной породе присутствие марганца не установлено, и железо также встречается не во всех образцах. Следовательно, марганец и большая часть железа концентрировались на поверхности валунов, поступая из окружающей среды, но не из породы. Помимо этих двух элементов обнаружены: Si, Al, K, Ca, Ti. Корки имеют двухслойное строение. Нижний слой корок богаче марганцем. На нижней поверхности были обнаружены глобулы диаметром около 7–10 мкм иногда объединенные в цепочки. Поверхность нижнего слоя и глобул имеет ячеистое строение. Нижний ячеистый слой обволакивает неровности субстрата. На поверхности слоя редко встречались сферы диаметром 1 – 2 мкм, некоторые из которых были полыми. Наличие пустот в сферах доказывает, что они являются не минеральными сферическими образованиями, а фоссилизированными оболочками. Также наблюдались гребневидные образования, которые интерпретируются микробиологами, как результат высыхания бактериальной слизи (Бактериальная палеонтология, 2002). Все это дало основание предполагать, что корки образованы, ныне фоссилизированными, бактериальными сообществами. Но микротомографическое исследование позволило увидеть некоторые особенности строения корок, которые нельзя наблюдать с помощью СЭМ. На виртуальных срезах хорошо видно, что корки расслаиваются и проникают внутрь породы по трещинам. Самое важное, что в корках были обнаружены полости. Нижний слой корки является дном полости. Они ветвятся, простираются на сотни микрон по поверхности породы. Полости имеют различную высоту: от 20 до 100 мкм. Если предположить, что ячеистый слой с глобулами и гребневидные структуры — это фоссилизированный гликокаликс бактерий, то вполне вероятно, что полости образованы газом, который выделяется при метаболической активности бактерий в составе бактериальной пленки. Подобные пузыри образуются в цианобактериальных пленках на дне луж и более крупных водоемов. Но какой тип метаболизма был присущ фоссилизированному бактериальному сообществу – сказать трудно. Были это прокариоты-фотосинтетики или нет? Если организмам был присущ процесс фотосинтеза, то изученные корки должны были формироваться в условия присутствия солнечного света. В данном случае с помощью микротомографии не удалось увидеть отдельные бактериальные клетки, но были обнаружены следы метаболизма бактериального сообщества, которые нельзя обнаружить с помощью СЭМ. Наличие этих следов является дополнительным доказательством происхождения подобных корок. Полученные данные заставляют задумываться о типе метаболизма бактерий и условиях их обитания.

Второй образец является высохшей цианобактериальной пленкой, в которой не удалось идентифицировать таксономическую принадлежность всех организмов ее образовавших. Пленка хрупкая, поэтому использование микротомографии для ее исследований как неразрушающего метода очень важно. Она сформировалась в луже на дне известкового карьера в результате жизнедеятельности цианобактериального сообщества, которое из-за высоких летних температур высохло. Пленка толщиной 0.63 – 1.3 мм, состоит из двух слоев: рыхлого, обращенного ко дну лужи (толщина 0.23 – 0.62 мм), и плотного, сформировавшегося на поверхности (0.4 – 0.68 мм). Пленку сформировали нитчатые формы цианобактерий. Слои разделены плотной стенкой, состоящей из нитей прокариот. Помимо цианобактерий, в ней присутствуют фрагменты породы разного размера. В рыхлом слое содержится много мелких

обломков известняка (размером 20 – 50 мкм), которые попали со дна лужи. Наиболее крупные фрагменты породы (например, размером 0.13×0.26 мм, 0.16×0.44 мм) содержатся в верхнем, плотном, слое пленки. В этом же слое есть и мелкие обломки. Появление фрагментов известняка в верхнем слое пленки может быть связано с транспортом обломков потоками воды или ветром. Но также вероятно, что они перемещены цианобактериями, которые структурировали осадок на дне лужи. Отмечено, что цианобактериальные нити оплетают фрагменты породы. Структурированность осадка прокариотными сообществами и есть та особенность жизнедеятельности цианобактерий, которая может быть установлена с помощью микротомографии.

Таким образом, используя рентгеновскую микротомографию, удалось выявить особенности жизнедеятельности прокариотных сообществ, сформировавших железомарганцевые корки на поверхности и в трещинах гранитных валунов и в высохшей цианобактериальной пленке. Такие крупные объекты, как полости высотой до 100 мкм, нити и пучки нитей цианобактерий (длиной в сотни микрометров), оплетающие фрагменты породы, являются хорошо визуализируемыми объектами с помощью рентгеновской микротомографии. Поэтому данный метод может быть перспективен для поиска следов жизнедеятельности бактериальных сообществ в астроматериалах и раннедокембрийских породах.

Исследование выполнено в рамках гранта РФФИ № 16-04-00758.

Список литературы

1. Бактериальная палеонтология. Учебное пособие. Палеонтологический институт РАН. М., 2002. 152 с.
2. *Пахневич А.В.* Железомарганцевые конкреции в почвах и корки на валунах в моренах Московской области / Исследование марганцевой и железомарганцевой минерализации в разных природных обстановках методами сканирующей электронной микроскопии. М.: Эслан, 2012. С. 32-38.
3. *Le Gros M.A., McDermott G., Larabell C.A.* X-ray tomography of whole cells // Cur. Opin. in Struct. Biol. V. 15. 2005. P. 593 – 600.
4. *Slater B.J., McLoughlin S., Hilton J.* Guadalupian (Middle Permian) megaspores from a permineralised peat in the Bainmedart Coal Measures, Prince Charles Mountains, Antarctica // Rev. Palaeobot. and Palynol. V. 167. 2011. P. 140 – 155.
5. *Tafforeau P., Boistel R., Boller E. et al.* Some applications of X-ray Synchrotron microtomography for non-destructive 3D studies of paleontological specimens // Appl. Phys. A. V. 83. 2006. P. 195 – 202.

ГЕОМАГНИТНОЕ ПОЛЕ И ЕГО СВЯЗЬ С ЭВОЛЮЦИЕЙ ЗЕМЛИ

Решетняк М.Ю., Павлов В.Э.

Институт Физики Земли РАН, Москва, Россия

Магнитное поле Земли генерируется в жидком ядре механизмом динамо, представляющим собой процесс преобразования тепловой и гравитационной энергии в энергию конвекции, и далее — в энергию магнитного поля. Важность изучения геомагнитного поля связана с целым рядом причин. Во-первых, магнитное поле является защитным экраном, предотвращающим проникновение солнечного ветра в земную атмосферу. Во времена инверсий геомагнитного поля, когда магнитный диполь уменьшается по амплитуде и меняет свою полярность, воздействие заряженных частиц, уносимых ветром из атмосферы Солнца, на живые организмы на поверхности Земли усиливается, что может приводить к вымиранию живых организмов. В силу быстрого убывания недипольного магнитного поля вдали от поверхности планеты, основную роль в защите Земли от солнечного ветра играет дипольная составляющая поля. В этой связи становится актуальным изучение необходимых условий в жидком ядре Земли, приводящих к устойчивым дипольным конфигурациям геомагнитного поля.

С другой стороны, с точки зрения геофизики, проникающее на поверхность из глубин Земли магнитное поле является уникальным источником информации о процессах внутри жидкого ядра. Поскольку слабо проводящая мантия Земли не искажает вариации магнитного поля на временах более десяти лет, путем экстраполяции потенциального магнитного поля с высокой степенью точности удастся воспроизвести его поведение на поверхности жидкого ядра. Магнитное поле является единственным физическим полем, для которого экстраполяция на такую глубину без привлечения дополнительной информации о строении мантии возможна. С рядом оговорок, экстраполированное магнитное поле может быть использовано для реконструкции течений на поверхности жидкого ядра.

Согласно палеомагнитным данным, магнитное поле существовало, по крайней мере, на протяжении последних 3.5 млрд. лет, что близко к возрасту Земли (4.5 млрд. лет). Оценки полярности и напряженности магнитного поля на ранних стадиях эволюции сопряжены со сложностью нахождения горных пород, для которых удастся определить первичную намагниченность. Вопрос существования магнитного поля и эволюции его морфологии на ранних этапах эволюции Земли тесно связан со сценариями образования планеты, ростом твердого ядра. В настоящее время вопрос о возрасте магнитного поля активно исследуется в двух направлениях: расширение базы палеомагнитных наблюдений, а также исследование возможных сценариев эволюции магнитного поля на базе теории динамо.

В последние десятилетия наблюдается заметный рост числа и качества палеомагнитных данных, характеризующих поведение геомагнитного поля в докембрии (т.е. приблизительно до 540 млн. лет назад). В то же время, имеющихся определений еще совершенно недостаточно, чтобы с уверенностью говорить о существовании каких-либо долговременных трендов в изменении параметров геомагнитного поля на протяжении геологической истории. Необходимо понимать, что развиваемые на этот счет представления носят сугубо предварительный характер.

Успехи теории геодинамо также ощутимы. Если два десятилетия назад вопрос стоял о принципиальной возможности самосогласованной генерации крупномасштабного магнитного поля в сфере тепловой конвекцией, то в настоящее время теория геодинамо вступила в эпоху комплексного уточнения используемых параметров, а также оптимизации решения по целому набору критериев, таких, как

спектральные свойства поля и его вариаций, тонкой структуры инверсий и экскурсов поля, изучения энергетики ядра.

С математической точки зрения модель геодинамо является на редкость жесткой, поскольку для правильного описания геострофического баланса сил в жидком ядре, приводящего к высокой степени анизотропии течений, требуется разрешение экстремально малых масштабов конвекции, требующее больших компьютерных затрат. В то же время, интересные для палеомагнитологов времена и масштабы превосходят минимальные на много порядков. Одновременное разрешение и больших и малых времен существенно затрудняет моделирование.

Эволюция геомагнитного поля на геологических временах определяется длинновременными трендами, вносимыми тепловой конвекцией в мантии Земли и ростом твердого ядра. Если характерные времена процессов в ядре, влияющих на генерацию магнитного поля, не превышают 10000 лет, то конвективные времена в мантии Земли составляют порядка 10-100 млн.лет, а характерное время роста твердого ядра оценивается в миллиардах лет. Если процессы в мантии, меняя тепловой поток на границе ядро-мантия, оказывают влияние на частоту инверсий геомагнитного поля, то с ростом твердого ядра меняется физика источников энергии в жидком ядре Земли. До образования твердого ядра источником энергии являлось тепловое остывание за счет градиента температуры на границе ядро-мантия. С началом роста твердого ядра выделение скрытой теплоты кристаллизации на границе ядро-мантия, а также гравитационной энергии, связанной с дифференциацией тяжелой примеси, вклад тепловой конвекции становится менее значимым. Так, в настоящее время, дифференциация вещества поставляет в три раза больше энергии, чем чистая тепловая конвекция. Согласно оценкам, суммарная мощность, выделяемая за счет радиоактивного разогрева и кристаллизации вещества составляет 10 ± 4 ТВт, что достаточно для генерации магнитного поля, требующего 1-5 ТВт. Не исключена возможность, что только тепловая конвекция не смогла бы поддерживать магнитное поле Земли. В этом случае возраст твердого ядра определял бы возраст геомагнитного поля. Менее категоричная точка зрения состоит в том, что переход от режима тепловой конвекции к режиму смешанной конвекции сопровождался эволюцией свойств геомагнитного поля.

Несмотря на математическое сходство двух моделей тепловой и композиционной конвекции, распределение источников энергии в этих уравнениях различно, что обуславливает различное поведение магнитного поля на поверхности Земли. Переход от режима с чисто тепловой конвекцией к смешанному режиму, когда есть и тепловая конвекция и дифференциация вещества, не мог остаться незамеченным для эволюции геомагнитного поля. Анализ этого явления, а также палеомагнитные данные, указывающие на такую возможность, приведены далее в нашем обзоре.

Помимо чисто энергетических соображений, важным является влияние твердого ядра на гидродинамику жидкого ядра. Это связано с тем, что конвекция в областях над и под твердым ядром, вырезаемых Тейлоровским цилиндром (ТЦ), имеет различные свойства, а само твердое ядро, в силу конечной проводимости, может оказывать стабилизирующее действие на процесс инверсий. Толщина сферического конвективного слоя при росте твердого ядра становится меньше, что приводит к увеличению роста мультипольного магнитного поля.

В докладе приводим обзор прямых палеомагнитных наблюдений о возрасте магнитного поля, остановимся на энергетических оценках для режимов с чистой тепловой конвекцией и смешанного режима, а также изучим влияние твердого ядра на гидродинамику и генерацию магнитного поля в ядре Земли. Последнее позволяет судить о возможности генерации дипольного магнитного поля в прошлом.

РОЛЬ СОДОВЫХ УСЛОВИЙ В ЭВОЛЮЦИИ БИОСФЕРЫ

Самылина О.С.

ФИЦ Биотехнологии РАН, ПИН РАН

Содовые озёра распространены по всему миру преимущественно в аридных климатических зонах – степных, полупустынных и пустынных районах. Под воздействием климатических и ландшафтных факторов, воды таких озёр подвергаются эвапоритовому концентрированию. Недостаток щелочноземельных катионов Ca^{2+} и Mg^{2+} приводит к карбонатному защелачиванию и в силу буферности карбонатных растворов – стабильно щелочным значениям pH. Наиболее широко известными примерами содовых озёр являются озёра Восточно-Африканского рифта (Магади, Натрон, Богория и др), Западной Сибири (в Кулундинской степи), Канады (на плато Карибу), США (Моно), Турции (Ван, Сальда).

Проводя аналогии с современными содовыми озёрами С. Кемпе и Е.Т. Дегенс (1985) выдвинули гипотезу о щелочной природе первичного океана в докембрии (гипотеза «содового океана»). Считая существование такого океана проблематичным, Г.А. Заварзин (1993, 2007) применил “соображения С. Кемпе” к субаэральной поверхности суши и предположил возможность широкого распространения в докембрии обширных мелководных эпиконтинентальных водоёмов содового типа и их основополагающую роль в качестве предполагаемых биотопов формирования наземной биоты (гипотеза «содового континента»). Теоретические обоснования и границы применения обеих гипотез будут рассмотрены в докладе. Основной задачей данного исследования является выявление правомерности использования этих двух концепций применительно к анализу появления жизни на Земле.

Одним из биологических аргументов в пользу обеих гипотез является массовое распространение в докембрии микробных сообществ, эдификаторами которых являются цианобактерии. Среди изученных докембрийских микрофоссилий широко представлены остатки сообществ, обитавших в мелководных древних бассейнах в аридной зоне, причём степень сохранности некоторых из них позволяет проводить аналогии с ныне живущими организмами (Сергеев, 2006). Таким образом, попытка выявить биологические критерии для оценки химического состояния докембрийского «океана» представляется заманчивой.

МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИНДИКАТОРЫ В ДИАГНОСТИКЕ ИМПАКТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ГЕОЛОГИЧЕСКИХ СТРУКТУР

Цельмович В.А.

Геофизическая обсерватория «Борок», филиал ИФЗ РАН, Борок,
e-mail: tselm@mail.ru

В истории эволюции Земли неоднократно происходили катастрофические события различного масштаба. Они были обусловлены как внешними причинами - активностью Солнца, флуктуациями электромагнитного и гравитационного полей, плотностью метеоритных потоков и другими космическими событиями, так и внутренними причинами (вулканическая деятельность). Поиск свидетельств таких катастроф в осадочных толщах различного генезиса являются актуальными как с точки зрения изучения изменений в системе «космос – земля», так и с точки зрения оценки масштабов последствий таких событий.

В случае находки следов этих событий открываются возможности изучения распределения космического вещества по поверхности Земли, исследования его состава и структуры. Кроме того, горизонты, обогащенные характерным катастрофным веществом (космическим или вулканическим), будут служить изохронным стратиграфическим репером для голоцена, что позволит проводить как региональные, так и глобальные корреляции. Отмечают [1], что «переход от плейстоцена к голоцену отмечен серией природных явлений, столь значительных по охвату биосферы и геосферы, по пространственному масштабу и скорости изменений и по их глобальным последствиям, что всю совокупность этих явлений можно назвать последней природной катастрофой в истории Земли». «Новейшие материалы свидетельствуют о необратимости и уникальности плейстоцен/голоценовой перестройки и коренном отличии ее от более ранних переходных фаз от оледенений к межледниковью».

Автором совместно с коллегами накоплен богатый опыт диагностики космического, вулканического и техногенного вещества из десятков самых различных объектов с использованием комплекса методов: сканирующей электронной микроскопии (СЭМ «Tescan Vega II»), оптической микроскопии (микроскоп «Olympus BX 51»), комплекса магнитных методов, рентгеновской компьютерной томографии. Изучены магнитные микрочастицы из десятков объектов.

Среди них: кратер Эльгыгытгын (Чукотка); Карская астроблема (Восточная Сибирь); астроблема Цэнхэр (Монголия); кратер Чиксулуб (Мексика); астроблема Янисъярви (Карелия); музейные образцы метеоритов (более 40); образцы космической пыли из снега, отобранного на станции "Восток" в Антарктиде и по трассе пролета Челябинского метеорита; образцы из веточки предположительно катастрофного периода с места падения Тунгусского космического тела; магнитные минералы и самородные металлы в осадках северо-западной Атлантики; граница мела и палеогена в Гамсе (Австрия) и в Стевенс Клинте (Дания); граница Перми и триаса (Китай, Мейшань). Также изучались пеплы. Слои тефры – надежные индикаторы больших взрывных вулканических извержений. Магнитный компонент прослоев вулканического пепла в донных осадках – важный геофизический инструмент изучения истории эксплозивного вулканизма региона. Были изучены три колонки донных осадков из Японского моря, отобранных в 53 рейсе НИС «Академик М.А.Лаврентьев» на возвышенности Ямото. Анализировались образцы атмосферной пыли из г. Магнитогорска и почв из промышленных зон г. Пензы. Проведен сравнительный анализ магнитных частиц техногенного происхождения и природных. Исследовались образцы, изучение которых было направлено на подтверждение весьма спорных

гипотез импактной природы Ладожского озера (Юрковец В., 2014, 14 точек) и ложа Рыбинского водохранилища (Люхин А. и др., 2015, 52 точки). Важно отметить отрицательный результат этих исследований. Так, на представительных по числу точек отбора коллекциях не были обнаружены традиционные минералы – индикаторы импакта. Этот факт снимает серьезные замечания оппонентов о том, что анализируются загрязнения или о том, что характерные минералы присутствуют повсюду.

В 2015 г. Нами детально изучались микросферы [2,3] и железо различного происхождения [4,5]. Обобщены результаты микрозондовых и термомагнитных исследований самородного железа в земных осадочных породах, мантийных гипербазитах (ксенолитах), базальтах океанов и континентов (Сибирские траппы) и во внеземных породах – метеоритах. В результате обнаруживается сходство составов, форм и размеров частиц самородного железа, не содержащего никеля, во всех перечисленных группах пород. При этом оказывается, что такие частицы железа в осадках имеют в большинстве случаев космическое происхождение, и их повсеместное распространение, очевидно, связано с космической межпланетной пылью.

Полученные результаты по морфологии и составу магнетитовых шариков, самородных металлов и интерметаллидов были использованы для подтверждения импактного происхождения озера Рабига Куль (Татарстан) и астроблемы Янисъярви (Карелия). Показана возможность используемых методов в идентификации фоновой космической пыли в торфе. Показано, что в осадках Ладожского озера и Рыбинского водохранилища типичных для импактов минеральных композиций не найдено.

Известные следующие признаки импактных структур:

1. Кольцевая структура на поверхности.
 2. В центре кратера куполовидная структура и брекчиевидные отложения.
 3. Структура, в которой окружающие кратер пласты опрокинуты.
 4. Брекчирование в окружающих породах.
 5. Присутствие метеоритного материала (обломков метеорита, муассанита, железо-никелевых и железных шариков, повышенные содержания платины, никеля, иридия и др. элементов). Наличие минералогических и микроструктурных (на масштабе 10-6 – 10-5 м) особенностей. Если только кратер древнего происхождения, метеоритный материал может быть не обнаружен.
 6. Изменения в породах, связанные с шок-метаморфизмом, т.е. развитие конусов обрушения, присутствие минералов высокой плотности, развитие планарных структур в минералах, витрификация стекла. Эти признаки могут исчезнуть в результате последующего метаморфизма.
 7. Аномалии геофизических свойств в пределах изучаемой территории: силы тяжести, магнитных свойств, скорости сейсмических волн и др.
- Наиболее надёжными признаками являются четвёртый, пятый (который используется в настоящей работе) и шестой.

Важно отметить, что не всегда находки ударного кварца позволяют сделать вывод о импактном событии [6]. А полный цикл доказательства импактного происхождения структуры может занимать несколько десятилетий (Бирринджер ~ 50 лет, Цванг ~ 70 лет, Лонар ~ 100 лет).

Магнетитовые микросферы в каменноугольных породах разреза Усолка.

Исследование посвящено морфологическому описанию и анализу химического состава магнетитовых микросфер, извлеченных из каменноугольных отложений разреза Усолка. Последний расположен в осевой части Стерлитамакской зоны Предуральяского прогиба. Разрез относится к флишевым образованиям конденсированного типа (от среднего карбона до нижней перми) карбонатно-глинисто-

кремнистого состава с прослоями вулканических туфов. В разрезе Усолка проведено абсолютное датирование по цирконам, изучен изотопный состав углерода. Некоторыми исследователями разрез Усолка предлагается в качестве эталонного объекта, поэтому здесь проведена полевая экскурсия XVIII Международного конгресса по каменноугольной и пермской системам (Казань, 2015). В микросферах равномерно распределено незначительное (максимум 0.68 %) количество марганца; в единичных образцах содержания хрома и никеля достигают, соответственно, 0.14 и 0.13 %. Дополнительным импактного происхождения является размещение стеклянных микросфер (тектитов) из разреза Усолка в области импактитов. Таким образом, по химическим и минералогическим параметрам микросферы разреза Усолка можно, с большой вероятностью, отнести к объектам космического происхождения.

Интересно внутреннее строение магнетитовых микросфер. Наряду с цельными магнетитовыми шариками с доменной структурой, встречаются полые микросферы с магнетитовой коркой толщиной до $\frac{1}{2}$ радиуса. На расплавленной поверхности микросфер встречаются выделения-выпоты барита, которые четко проявляют сложную текстуру магнетитовой корки. Совместный анализ данных изотопных исследований в разрезах Предуральского прогиба и распределения микросфер в разрезе Усолка показал, что одной из возможных причин отрицательных аномалий может являться метеоритная бомбардировка с образованием космической пыли на границе московского и касимовского веков. На основе совпадения максимальной концентрации микросфер с возникновением отрицательной аномалии углерода в разрезе Усолка выдвинуто предположение, что выпадения космической пыли за счет метеоритных бомбардировок (и/или импактных событий) могли произойти в середине серпуховского яруса и на границе сакмарского и артинского ярусов. Необходимо отметить, что сегодня в позднепалеозойской истории Земли (250-350 млн. лет назад, т.е. практически полностью пермский и каменноугольный периоды) имеются лишь единичные данные об импактных событиях. Изученные магнетитовые микросферы, возможно, образовались в земной атмосфере при полете и разбрызгивании метеоритного тела. Нахождение металлических микрочастиц в осадочных толщах, независимо от их генезиса, может выступить новым инструментом для региональной корреляции, привести к пересмотру моделей биотических кризисов. По мнению авторов, необходимо продолжить специальные литолого-геохимические, минералогические, палеонтологические, палеомагнитные и космологические исследования по поиску импактных структур в верхнепалеозойских отложениях.

Микросфера диаметром 200 мкм была изучена на рентгеновский микротомографе v|tome|x s 240 (GE Phoenix X-ray, Германия). Анализы выполнены в лаборатории рентгеновской компьютерной томографии Казанского федерального университета (аналитик Стаценко Е.О). Отверстия в шарике могли быть вызваны высокоэнергетичными частицами при полете шарика. Это могли быть как космические частицы, встреченные шариком при полете в дальнем космосе, так и частицы - спутники шарика в последнем полете. На одном месте в шарике виден след такого бокового прострела частицы. Такие дефекты могли образоваться и при рикошете мелких частиц в процессе полета шара в Земной атмосфере. На Рис1а. явно видны следы от сквозного пролета частицы через шарик.

Внутреннее содержание шарика - тоже сфероиды! Согласно предложенному механизму образования магнетитовых шариков из троилита [Цельмович, 2013], сделанному при анализе Челябинского метеорита, магнетитовые шарики образуются при реакции окисления троилита в атмосфере. На первом этапе в коре окисления формируются микрошарики троилита. Далее газы (оксиды серы) распирают

магнетитовый шарик - оболочку, сферичность которой задается высоким поверхностным натяжением.

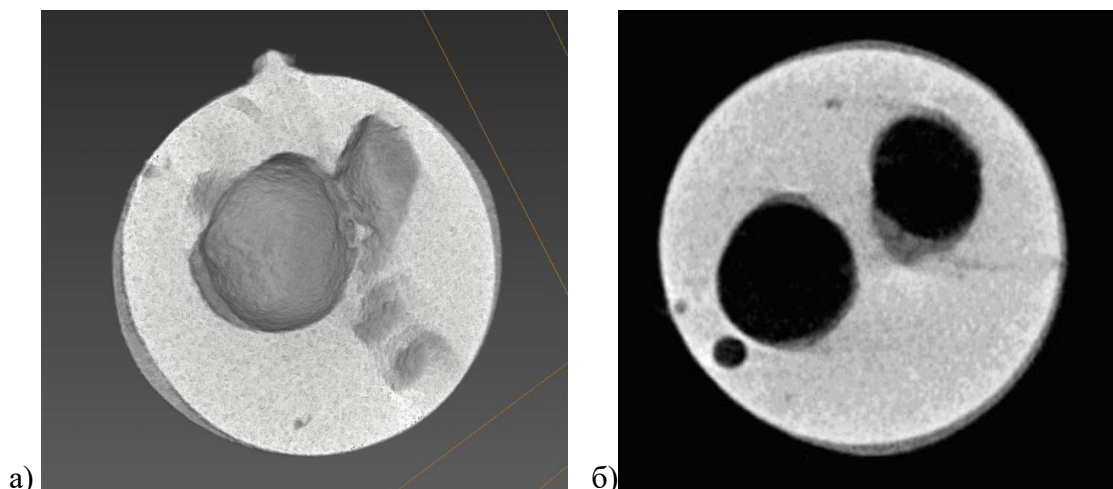


Рис.1 а,б. Томографическое изображение магнетитовой микросферы диаметром 200 мкм. Внутреннюю часть микросферы заполняют сфероиды предположительно троилитового состава, окисление которых на воздухе создает газонаполненную микросферу.

Микроструктура, химический и минеральный состав железо-никелевых микрочастиц из осадочных отложений Прикаспийской впадины

Установлено [2], что микросферы образовались в результате фракционной конденсации Fe–Ni-расплава и его кристаллизации на ранней стадии эволюции вещества протосолнечной туманности. Попадая в атмосферу Земли, данные микросферы претерпевают изменения, выражающиеся в частичном окислении магнетита до гематита, самородного никеля до окислов никеля, расплавлении легкоплавких металлов в ядерной части и их ухода в атмосферу под действием «пульверизаторного эффекта», в результате чего могут быть образованы микрочастицы железистого никеля самой разнообразной формы. Полученные данные, с большой вероятностью, подтверждают внеземное происхождение Fe–Ni-микрочастиц и их связь с падениями космических тел на Землю в геологическом прошлом.

Озеро Рабига Куль

Изучены геоморфологические и геолого-минералогические предпосылки импактного происхождения озерной котловины Рабига Куль, (Республика Татарстан) [7]. Импактные структуры позднечетвертичного (голоцен – поздний плейстоцен, до 50 тыс. лет) возраста вызывают в последнее время повышенный интерес исследователей в геонауках как в России, так и за рубежом. Существует предположение, что развитие современной человеческой цивилизации коррелирует с изменениями климата на Земле в данный период, которые, в свою очередь, могут быть связаны с последствиями падения космических тел и похолоданиями климата («импактные зимы»).

В период 2007-2011 гг. при исследованиях четвертичных отложений были обнаружены объекты, напоминающие космическую пыль. В 2013 г. Р. А. Вафиным на бортах склона озера, преимущественно, из подпочвенных песков с глубины 10 см равномерно по всему периметру отобраны 18 проб. Изучение образцов проведено на сканирующем электронном микроскопе «Tescan Vega II» с энергодисперсионным спектрометром в геофизической обсерватории «Борок», филиале ИФЗ РАН. В образцах обнаружен большой набор самородных металлов (Fe, Ni, Zn, Cu, W, Al), а также интерметаллиды (FeCr, CuNiZn, CuFeAu и др.), углеродистые микросферы. Последние могут свидетельствовать о восстановительной среде, характерной для космических

объектов [3]. Кроме интерметаллидов, в изученных образцах встречаются другие объекты, характерные для импактных структур – магнетитовые микросферы. Обнаружены оплавленные зерна кварца, ильменита, хромшпинелидов, магнетита и титаномагнетита. Найдены также объекты техногенного (?) происхождения (ильменит-титаномагнетитовые, железо-силикатные, алюминий-кремнистые микросферы.

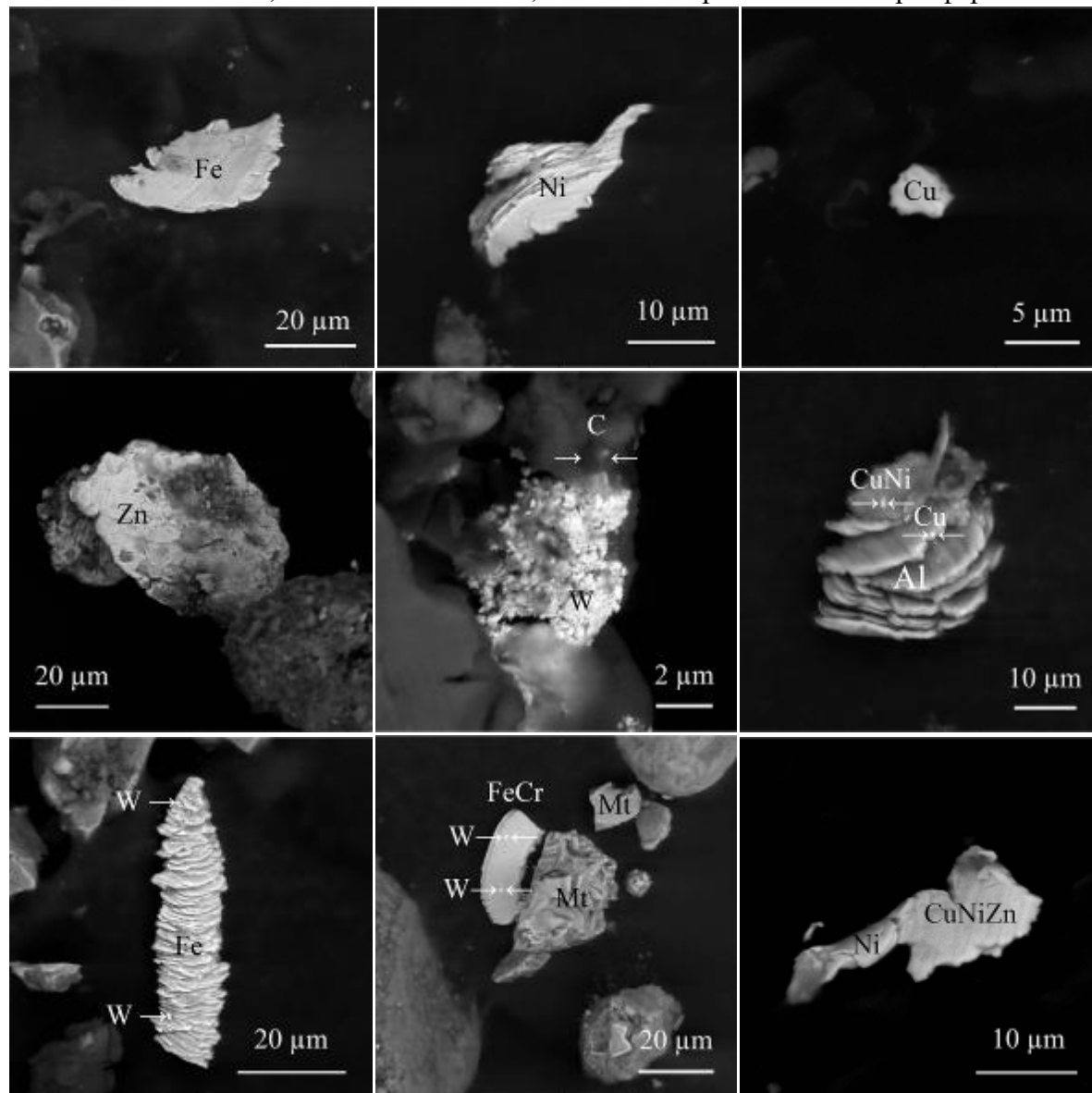


Рис.2. Микрочастицы самородных металлов, озеро Рабига Куль

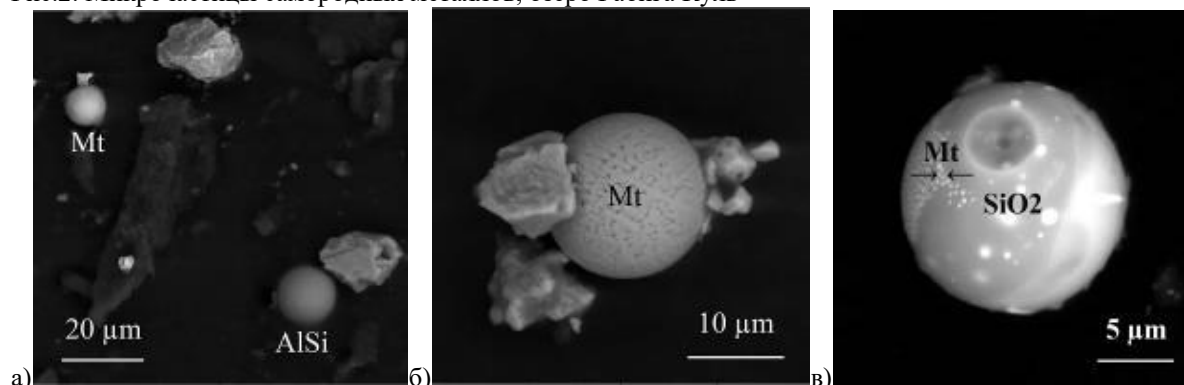


Рис.3. Микросферы, озеро Рабига Куль а) – микросферы магнетита и алюмосиликата; б) - магнетитовый «космический» шарик; в) силикатная микросфера с магнетитовыми микроглобулями.

Анализ вышеприведенных данных позволяет авторам сделать предположение, что возраст изученного озера Рабига Куль является позднеплейстоценовым-голоценовым, т. к. возраст подобных по размерам озер гумидной зоны обычно не превышает 15 тыс. лет. Обнаруженные в пределах озерной котловины находки металлических микрочастиц - индикаторов импактов (Mt микросферы, частицы с оплавленной коркой, самородные металлы, включая Fe и Ni, интерметаллиды), наряду с характерными морфологическими признаками и геологическими данными, могут свидетельствовать в пользу ее импактного образования в позднем дриасе, что расширяет область поисков кратерных структур в европейской части России.

Астроблема Янисъярви.

Озеро Большое Янисъярви расположено в юго-западной части Карелии. Географические координаты центра озера -61 59' с.ш., 30 57' в.д., относится к бассейну Ладожского озера. Возраст Большого Янисъярви, как астроблемы, составляет 682 ± 4 млн. лет (Ar-Ar метод) [Jourdan et al., 2008]. Геология этого района хорошо изучена, однако уделено недостаточно внимания необычным для региона породам, которые при геологосъемочных работах картировались как породы вулканического происхождения. Первая работа, в которой высказана иная точка зрения, принадлежит Пентти Эскола, который отметил, что "изверженные породы Янисъярви имеют состав глинистых осадков" [Escola, 1921] и особенности химического состава дацитов Янисъярви являются следствием "ассимиляции больших количеств вмещающих пород, средний состав которых почти точно соответствует составу излившихся пород". Используя данные Эскола и сходство пород Янисъярви с импактитами астроблем Лаппаярви (Финляндия), Мин и Деллен (Швеция), М.Р.Денс предположил, что Янисъярви также является астроблемой [Dence, 1971]. Эта гипотеза была подтверждена работами В.Л.Массайтиса (1973), В.П.Белова (1976, 1977) и Д.Д.Бадюкова (1998), показавшими, что структура Янисъярви имеет все характерные признаки сильно эродированного метеоритного кратера.

Первый признак взрывного происхождения озера Янисъярви – это обнаруженные в северо-западной, западной и северной частях озера простирающиеся радиальной и концентрической систем трещиноватости в кольцевой зоне. Вторым признаком – это наличие высокобарных минералов в астроблеме коэсита и стишовита, образующихся при высоких температурах и давлениях. В 1920 г. геолог П. Эскола обследовал северную часть Ладожского озера. Он обратил внимание на необычную лаву около озера Янисъярви, которая по составу очень напоминала импактиты взрывных кратеров. В пользу этого свидетельствуют также два скалистых лавовых островка в центре озера. Структура кратера отчетливо проявлена на космических снимках. Мишенью для кратера послужили метаморфические породы свит наатселькя и паякъярви ладожской серии нижнего и среднего протерозоя, представленных кварц-биотитовыми сланцами и микросланцами. В зювитах присутствуют обломки сланцев и микросланцев только ладожской свиты, иногда с хорошо сформированными конусами разрушения, обломки стекол, а также фрагменты ударно-метаморфизованных кварцевых и полевошпат-кварцевых жил.

Тагамиты раскристаллизованы и состоят из зерен основного плагиоклаза, окруженного оторочкой калиевого полевого шпата, кварца, кордиерита с незначительным количеством гиперстена, биотита, ильменита и магнетита. Тагамиты, найденные в валунах на юго-восточном берегу озера отличаются от тагамитов островов большей раскристаллизованностью и грубозернистостью. Составы тагамитов идентичны составам сланцев, обогащение Ni, Co и Cr не наблюдается.

Данные о внутреннем строении кратера Янисъярви противоречивы. С одной стороны предполагается, что кратер имеет простое строение – центральное поднятие отсутствует, тогда как другие исследователи предполагают наличие центральной горки [8]. В импактитах возможно присутствие алмазов.

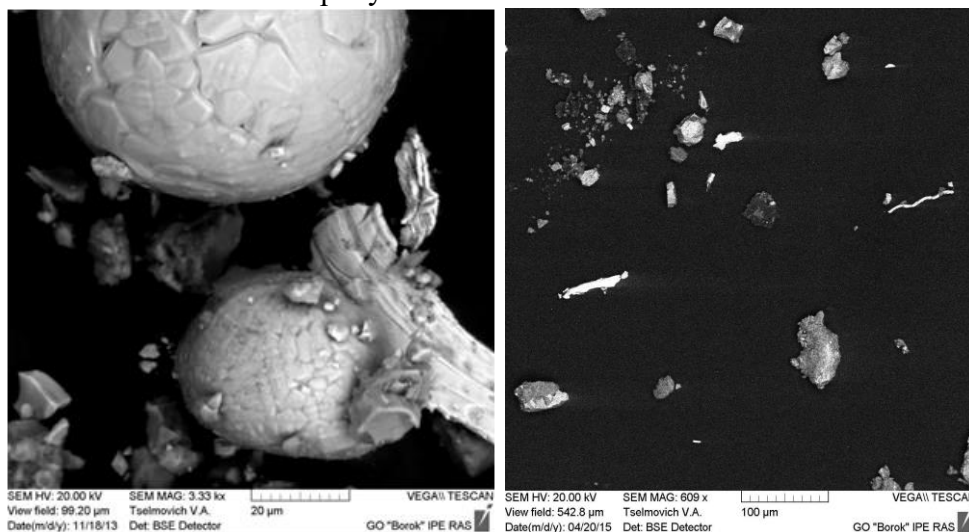


Рис.4.АстроBLEMA Янисъярви микрочастицы Fe и магнетитовые микросферы.

Перечисленные подробные, но отчасти противоречивые результаты нами были дополнены микрозондовыми исследованиями магнитных частиц. Были обнаружены: терригенные, хорошо раскристаллизованные Tm, IL, часто в виде монокристаллов, микрочастицы Fe, «космические» магнетитовые шарики (рис.4), Ni, Cu, W, Au, сплав FeNi, нитевидные Ni и Fe, нитевидные Tm и IL, интерметаллиды FeCrNi, NiAl, FeAl, углеродистые микросферы и алмазные зерна. Эти находки можно отнести к космогенным [3-5].

Нитевидные формы металлов и оксидов являются особенностями изученных объектов, которые возникли, вероятно, в результате импакта. Также к ним можно отнести тонкие пластики самородного Fe в силикатной матрице. Обнаружена микрочастица самородного железа с репликой алмазных зерен.

Вывод. На основе анализа большого количества выделенных частиц показано, что находки металлических микрочастиц индикаторов импактов: магнетитовых микросфер, частиц с оплавленной коркой, самородных металлов, включая железо и никель, интерметаллидов, наряду с характерными морфологическими признаками и общегеологическими данными, могут свидетельствовать в пользу импактного образования изученной структуры. Накопленный опыт предполагается использовать при изучении голоценовых катастроф, записанных в слоях торфа.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект №13-05-00348a

Литература

1. Kuznetsova T.V., Sher A.V. Diversity of Beringian horses in the Early - Middle Pleistocene *International Conference "Biochrom 97"*, 1997. Montpelie, France, . 73.
2. Р.Х. Сунгатуллин, А.И. Бахтин, В.А. Цельмович, Г.М. Сунгатуллина, М.С. Глухов, Ю.Н. Осин, В.В.Воробьев Железо-никелевые микрочастицы в осадочных породах как индикаторы космических процессов. Ученые записки казанского университета Том 157, кн. 3. 2015

3. Сунгатуллин Р. Х., Сунгатуллина Г. М., Закиров М. И., Цельмович В. А., Глухов М. С., Осин Ю. Н., Воробьев В. В. Магнетитовые микросферы в каменноугольных породах разреза Усолка, Предуральский прогиб // Геология и геофизика. 2015. В печати.
4. Печерский Д. М., Марков Г. П., Цельмович В. А. Чистое железо и другие магнитные минералы в метеоритах //Астрономический вестник, 2015, том 49, № 1, с. 65–75
5. Печерский Д. М., Кузина Д. М., Нургалиев Д. К. , Цельмович В. А. Единая природа самородного железа в земных породах и метеоритах. результаты микрозондового и термомагнитного анализов // Физика земли, 2015, №5, С. 140-156
6. Van Hoesel, Annelies, Hoek, Wim Z., Pennock, Gillian M., Kaiser, Knut, Plümper, Oliver, Jankowski, Michal, Hamers, Maartje F., Schlaak, Norbert, Küster, Mathias, Andronikov, A. V. & Drury, Martyn R. (01.01.2015). A search for shocked quartz grains in the Allerød-Younger Dryas boundary layer. Meteoritics and Planetary Science, 50(3), (pp.483-498).
7. Цельмович В.А. Сунгатуллин Р.Х., Вафин Р.А. О признаках импактного происхождении озера Рабига Куль (Татарстан). "Метеориты, астероиды, кометы" Материалы международной конференции и школы молодых ученых "ЧЕБАРКУЛЬ 2015".ISBN 978-5-9905440-8-6. Издательство "ТЕТА", г. Челябинск. С. 189-192
8. Масайтис В.Л. и др. (1980). Геология астроблем. Ленинград: Недра.

ПРЕДЕЛЫ УСТОЙЧИВОСТИ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ МЕСТООБИТАНИЯХ К ВОЗДЕЙСТВИЮ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ

*Чепцов В.С.¹, Воробьева Е.А.^{1,2}, Осипов Г.А.³, Булат С.А.^{4,5}, Горленко М.В.¹,
Манучарова Н.А.¹, Павлов А.К.⁶, Вдовина М.А.⁶, Ломасов В.Н.⁷*

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Институт космических исследований РАН, Москва, Россия

³Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева, Академическая группа академика РАМН Ю.Ф. Исакова, Москва, Россия

⁴Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, НИЦ
“Курчатовский институт”, Гатчина, Россия

⁵Физико-технологический институт Уральского федерального университета имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

⁶Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН, Санкт-Петербург, Россия

⁷Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

cheptcov.vladimir@gmail.com

Для планирования космических миссий, имеющих астробиологические задачи, важен обоснованный выбор объектов исследования, где могли сформироваться условия пригодные для эволюции жизни подобной земной. В связи с этим для поиска возможных мест обитания или сохранения живых организмов необходимы эксперименты по лабораторному моделированию воздействия условий, максимально приближенных к условиям целевого астробиологического поиска, на жизнеспособность земных организмов. Одним из наиболее важных астробиологических факторов является ионизирующая радиация. Данное исследование было ориентировано на оценку возможной длительности сохранения покоящихся клеток микроорганизмов в составе естественных микробных сообществ на различных объектах Солнечной системы.

Изучено совместное воздействие радиации, низкой температуры и низкого давления на сообщества микроорганизмов, населяющих экстремальные, но принципиально различные по генезису и физико-химическим условиям местообитания. Объектами исследования послужили образцы древней (возрастом 1.8-2 млн. лет) вечномерзлой породы Арктики (Восточная Сибирь, Колымская низменность), вечномерзлые породы Антарктики, а также серозем пустыни Негев (Израиль) и горная серо-коричневая почва подножия Атласа (Марокко), как условные природные аналоги объектов астробиологического поиска (Марс, метеориты и др.). Проведено облучение этих образцов гамма-излучением в градиенте доз от 1 Гр до 1 МГр при низком давлении (1 торр) и низкой температуре (-50°C), т.е. смоделированы основные физические параметры поверхностного слоя реголита Марса, защищенного от ультрафиолетового излучения, с учетом накопления дозы во времени. Те же объекты были облучены электронами (1 МэВ) в дозах 10 кГр – 1 МГр при температуре -120°C и давлении $8-9 \times 10^{-3}$ торр. В этом случае условия эксперимента были приближены к ситуации на поверхности Европы.

Получены экспериментальные данные о сохранении микробными сообществами экстремальных местообитаний (гетеротрофный аэробный блок микробной экосистемы) высокой численности жизнеспособных клеток и биоразнообразия при облучении гамма-излучением дозой до 1 МГр в условиях, приближенных к параметрам реголита Марса. Установлено, что во всех исследованных экотопах независимо от генезиса

реакция микробных сообществ на облучение сходна: часть популяций переходит в некультивируемое (возможно, покоящееся) состояние, другая часть, напротив, активизируется. Следствием этих процессов является перестройка таксономической структуры сообществ. При этом, как правило, происходит некоторое угнетение отдельных доминантных и субдоминантных популяций, что создает условия для роста минорных видов. Однако в целом структура сообщества и его биоразнообразие сохраняются. После облучения дозой 100 кГр наибольшую устойчивость и активность проявили бактерии родов *Deinococcus*, *Methylococcus*, *Clostridium* и *Arthrobacter*. В работе показано, что после воздействия экстремальных нагрузок сообщества сохранили высокое функциональное разнообразие и метаболическую активность.

Облучение электронами в сравнении с воздействием гамма-излучения вызывало значительно большие повреждения микробных сообществ. Воздействие дозы 10 кГр привело к резкому снижению метаболической активности и сокращению численности и разнообразия культивируемых бактерий. В то же время, репродуцирующие жизнеспособные клетки обнаруживались и после облучения электронами дозой 1 МГр.

Экстраполяция доз излучения, примененных в эксперименте, на интенсивность излучения на различных объектах Солнечной системы позволяет предполагать возможность сохранения потенциальных внеземных микробных сообществ в анабиотическом состоянии: а) в течение не менее 13-20 млн. лет в поверхностном слое марсианского реголита в условиях, близких к современным (Pavlov et al., 2012; Dartnell et al., 2007; Hassler et al., 2014); б) в течение 200-500 тыс. лет в открытом космосе (в составе метеоритов); в) в течение 1100-1300 лет в поверхностном слое льда Европы (на глубине около 10 см) (Baumstark-Khan, Facius, 2002). Такой результат дает экспериментально подтвержденные основания для более оптимистичного анализа потенциального существования биосфер на целом ряде объектов Солнечной системы. Настоящее исследование в целом расширяет существующие представления о пределах устойчивости биосистем и подчеркивает первостепенную важность роли гетерофазной естественной среды для обеспечения выживания микроорганизмов при экстремальных нагрузках.

Результаты исследования могут быть применены при планировании астробиологических миссий (выбор мест высадки посадочных модулей), при разработке приборов для автоматического поиска жизни вне Земли, для коррекции карантинных мер в планетных исследованиях с учетом диапазона устойчивости микробных сообществ земного типа к экстремальным воздействиям, а также при планировании исследований и мероприятий по освоению и терраформированию планетных тел. Изучение механизмов поддержания устойчивости биосистем и отдельных организмов в естественной среде обитания открывает новые перспективы для развития биотехнологий.

Работа поддержана грантом РФФИ №13-04-01982-а, Программами Президиума РАН «Эволюция органического мира и планетарных процессов» и "Фундаментальные проблемы исследований и освоения Солнечной Системы" (ПРАН I.7П), а также грантом РФФИ №14-50-00029.

Список литературы:

1. Baumstark-Khan C., Facius R. Life under conditions of ionizing radiation, in: G. Horneck, C. Baumstark-Khan (Eds.), *Astrobiology: The Quest for the Conditions of Life*, Springer, Berlin, 2002, pp. 261-284.
2. Dartnell et al. Martian subsurface ionising radiation: biosignatures and geology // *Biogeosciences*, 2007, V. 4, pp. 545–558.

3. *Hassler et al.* Mars' Surface Radiation Environment Measured with the Mars Science Laboratory's Curiosity Rover // *Science*, 2014, V. 343, no. 6169, 1244797.
4. *Pavlov et al.* Degradation of the organic molecules in the shallow subsurface of Mars due to irradiation by cosmic rays // *Geophysical research letters*, 2012, V. 39(13).

РЕГОЛИТ МАРСА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ СРЕДА СОХРАНЕНИЯ МИКРОБНЫХ ЭКОСИСТЕМ

*Чепцов В.С.¹, Воробьева Е.А.^{1,2}, Осипов Г.А.³, Булат С.А.^{4,5}, Горленко М.В.¹,
Манучарова Н.А.¹, Павлов А.К.⁶, Вдовина М.А.⁶, Ломасов В.Н.⁷, Звягинцев Д.Г.¹*

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва,
Россия

²Институт космических исследований РАН, Москва, Россия

³Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева,
Академическая группа академика РАМН Ю.Ф. Исакова, Москва, Россия

⁴Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, НИЦ
“Курчатовский институт”, Гатчина, Россия

⁵Физико-технологический институт Уральского федерального университета
имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

⁶Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН, Санкт-Петербург, Россия

⁷Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-
Петербург, Россия

Астробиология ставит перед собой двойственную задачу: поиска жизни или ее предшественников и следов вне Земли и оценки возможности существования жизни во внеземных условиях. С одной стороны, поиск доказательств наличия настоящей или следов ранее существовавшей жизни, доказательств химической эволюции, которая потенциально могла привести к возникновению жизни, должен быть скоординирован для всех объектов Солнечной системы. С другой – необходим анализ специфических комбинаций данных планетологии применительно к конкретным астробиологическим объектам, позволяющий выстроить сравнительный параметрический ряд, сформулировать принципиальные отличия от земной модели, изучить отклик живых систем на ключевые совокупности воздействующих факторов.

Единственная известная нам биологическая форма жизни идеально адаптирована к земным условиям, и на Земле практически не существует мест, где бы она не присутствовала в той или иной форме. Приспосабливаясь к изменению условий, воздействию экстремальных физико-химических факторов, живые организмы, используя среду обитания, формируют сообщества и экосистемы, активно участвующие в глобальных биосферных процессах. Важнейшим свойством живых систем является наличие в них биологических механизмов, способствующих переходу в глубокий покой (Soina et al., 2004), что обеспечивает поддержание генетического пула и биоразнообразия, а в планетарном масштабе – поддержание живой биосферы. Механизмы стабилизации и консервации природных биосистем не ограничиваются возможностями клетки, но включают в себя внутри- и межпопуляционные взаимодействия в условиях сложной гетерофазной минеральной среды, играющей роль матрицы, активно изменяющей и направляющей биохимические и физиологические процессы. Появление столь сложных сбалансированных систем необходимо требует активного периода эволюции жизни, познания и овладения средой обитания, особенности которой определяют специфичность жизненных форм.

Пределы устойчивости и сохранения жизнеспособности природных биосистем неясны. Сегодня можно уверенно говорить о миллионах лет поддержания жизни в наиболее экстремальных местообитаниях Земли. Получены положительные результаты по выживанию анабиотических форм различных организмов в течение нескольких лет пребывания в открытом космосе на околоземной орбите. Исследования, начатые в космосе, и полученные недавно данные лабораторного моделирования дают основания

полагать, что устойчивость земной формы жизни превосходит существующие научные представления. Однако вопросы возникновения и эволюции жизни, особенно в масштабе Солнечной Системы, требуют рассмотрения задач на геологической шкале времени, что создает проблему для научного эксперимента.

Интенсивно исследуемым сегодня астробиологическим объектом является Марс, эволюционное развитие которого оценивается как наиболее близкое к эволюции Земли. На современном Марсе сформировался экстремальный для организмов земного типа комплекс условий – низкие температуры и давление, высокая интенсивность ультрафиолетового и ионизирующего излучения, низкая доступность воды и пр. Вопрос о возможности метаболической активности и репродукции даже в глубоких слоях реголита и осадочных пород дискутируется. Однако в истории эволюции на планете были периоды благоприятные для появления и развития жизни (Westall et al., 2013). Существует вероятность, что жизнь до сих пор сохраняется на Марсе, подобно земным экосистемам древней мерзлоты Арктики и Антарктики (Beatty et al., 2005; Vorobyova et al., 1997; Gilichinsky et al., 2007).

В комплексе лимитирующих факторов, способных за геологическое время уничтожить предположительно сложившуюся биосферу раннего Марса, ключевым фактором является ионизирующее излучение (Pavlov et al., 2002). Устойчивость микробных экосистем к воздействию радиации остается пока не выясненной. Имеющиеся данные противоречивы и существенно расходятся по дозам, называемым в качестве стерилизующих. Следует учесть и недостатки методических подходов к решению вопроса, когда, например, единственным критерием наличия жизнеспособных форм в экспонированном природном образце служит анализ появления микробного роста на питательной среде. Очевидно, что в данном случае необходимы и *in situ* анализы присутствия клеток с неповрежденной ДНК (эпифлуоресцентная микроскопия), и *in situ* анализы метаболической активности, молекулярно-генетические и *in situ* цитологические и цитохимические исследования. Оценка последствий воздействия ионизирующего излучения подразумевает как проявление отложенных негативных пост-эффектов в случае нестерилизующей дозы, так и возможности реактивации и репарации покоящихся клеток, в том числе, пробуждение глубоко дормантных клеток микробного «пула» почв и пород в результате шокового воздействия. Учитывая сказанное, изучение воздействия ионизирующего излучения на природные микробные системы необходимо должно подразумевать определенный мониторинг процессов, происходящих в гетерогенной минеральной среде, равно как сочетание методов *in situ* и *ex situ* исследования. В случае моделирования ситуации инопланетного грунта, в частности, реголита Марса, весьма существенным корректирующим фактором является низкая температура, следует рассмотреть и вклад других физических и химических факторов.

Оценка возможной длительности сохранения микроорганизмов в составе естественных микробных сообществ в марсианском реголите послужила целью данного исследования.

Изучено совместное воздействие радиации, низкой температуры и низкого давления на сообщества микроорганизмов, населяющих экстремальные, но принципиально различные по генезису и физико-химическим условиям ксерофитные местообитания. Объектами-моделями в исследовании послужили образцы арктической древней вечномерзлой породы (Восточная Сибирь, Нижне-Колымская низменность, отложения олёрской свиты с глубины 34.0 м, где возраст сингенетически сформированной мерзлой породы достигает 1.8-2 млн. лет. Естественная температура мерзлой породы -7...-12 °С, pH 7.5. Gilichinsky et al., 1992), вечномерзлой породы Антарктиды (долина Бикона, 1270 м над ур. моря. крупнозернистый песок с

включениями гальки, сцементированный льдом; отобран с глубины 1.3-1.5 м; датировки возраста мерзлоты противоречивы по разным оценкам: 50-300 тыс. или 8.1 млн лет. Естественная температура мерзлой породы -18.5°C, pH 8.2. Gilichinsky et al., 2007), а также ксерофитные почвы пустыни Негев (Израиль. Серозем на лессовидном суглинке, pH 8.1.; Angel et al., 2009) и горной пустыни у подножия Атласа (Марокко. Горная серо-коричневая почва на андезите. Возраст – Прекембрий, Верхний Палеозой), как условные природные аналоги марсианского реголита.

Для проведения экспериментов использовали созданную в ФТИ им. А.Ф. Иоффе РАН климатическую камеру (Pavlov et al., 2009), позволяющую поддерживать низкое давление и низкую температуру при облучении. Проведено облучение образцов гамма-излучением в градиенте доз 1 Гр, 1 кГр, 10 кГр, 40 кГр, 100 кГр, 1 МГр в условиях низкого давления (1 торр) и низкой температуры (-50°C), т.е. смоделированы основные физические параметры поверхностного слоя реголита Марса, защищенного от ультрафиолетового излучения, с учетом накопления дозы во времени.

Получены статистически обоснованные экспериментальные данные о сохранении микробными сообществами экстремальных местообитаний (гетеротрофный аэробный блок микробной экосистемы) высокой численности жизнеспособных клеток и биоразнообразия при облучении ионизирующей радиацией дозой до 1 МГр в условиях, приближенных к параметрам реголита Марса. Установлено, что во всех исследованных экотопах реакция микробных сообществ на облучение сходна: часть популяций переходила в некультивируемое (возможно, покоящееся) состояние, другая часть, напротив, активизировалась. Следствием этих процессов явилась перестройка таксономической структуры сообществ. При этом, как правило, происходило некоторое угнетение отдельных доминантных и субдоминантных популяций, что создает условия для роста минорных видов. Однако в целом структура сообществ и их биоразнообразие сохранялись, что продемонстрировано методом газо-хромато масс-спектрометрии липидных маркеров и методом клонирования области v4-v8 гена 16S рРНК до и после совокупного воздействия гамма-излучения (40 кГр - 1 МГр), низкого давления (1 торр) и низкой температуры (-50°C) (Cheptsov et al., in press). Наибольшую устойчивость и активность проявили бактерии родов *Deinococcus*, *Methylococcus*, *Clostridium* и *Arthrobacter*. В работе показано, что после воздействия экстремальных нагрузок сообщества сохранили высокое функциональное разнообразие и метаболическую активность.

Ранее в ряде работ было отмечено стимулирующее воздействие на микроорганизмы при облучении образцов почв низкими дозами, а также возможность реверсии микробных сообществ с восстановлением разнообразия и численности после применения высоких доз. Однако следует подчеркнуть, что сведения о сохранении бактериями жизнеспособности при облучении гамма-излучением в дозах свыше 80 кГр отсутствуют (Rainey et al., 2005; Pavlov et al., 2006; Dartnell et al., 2010; Cox, Battista, 2005; McNamara et al., 2003). В наших экспериментах сохранялась не только высокая численность живых клеток, но и высокое бактериальное разнообразие и метаболическая активность микробных сообществ после применения гамма-облучения в высоких дозах при низкой температуре и давлении. Таким образом, полученные данные в целом расширяют существующие представления о пределах радиорезистентности микроорганизмов. Столь высокая устойчивость к воздействию гамма-излучения может быть объяснена как протекторной ролью органо-минеральных комплексов почв и пород (McNamara et al., 2003; El-Sayed, Ghanem, 2009), внутри- и межпопуляционными взаимодействиями (Panitz et al., 2014), так и моделируемыми в исследовании условиями облучения. Известно, что понижение температуры во время облучения снижает радиационные повреждения (Dartnell et al., 2010). Кроме того,

одним из основных источников свободных радикалов при воздействии ионизирующего излучения является вода (Baumstark-Khan, Facius, 2001; Kuipers, Lafleur, 1998). При понижении давления возможен процесс сублимации воды. Вызванное этим процессом высушивание образцов и содержащихся в них клеток микроорганизмов могло несколько снизить количество образующихся свободных радикалов, и, следовательно, уменьшить повреждения микроорганизмов *in situ* при облучении. Радиорезистентность микроорганизмов связана с устойчивостью к воздействию других экстремальных факторов, таких как высушивание, воздействие УФ-излучения и др. (Mattimore, Battista, 1996; Auerbach, 1976; Wassmann et al., 2010; Romanovskaya et al., 1999). Бактерии же, обитающие в таких экстремальных экотопах, как вечномёрзлые осадочные породы и аридные почвы, вероятно, должны обладать повышенным адаптационным потенциалом (Kryazhevskikh et al., 2013) и достаточно развитыми механизмами устойчивости к воздействию экстремальных факторов среды, а, следовательно, иметь повышенную радиорезистентность.

Гетерогенность почвенной среды и возникновение стохастических эффектов при воздействии радиации вызывают вопрос о воспроизводимости результатов лабораторного моделирования. Такая оценка была проведена в работе после проведения экспериментального облучения в трехкратной повторности. Различия в показателях численности бактерий в трех повторностях не превышали НСР, отклоняясь на $\pm 10\%$ от среднего значения, при этом все повторности значимо отличались от контроля. Различия индексов функционального состояния биосистемы и спектров потребления субстратов между облученными образцами также были незначительными, что подтверждено результатами кластерного анализа (рис. 1). Следует отметить, что, несмотря на относительно малые изменения, показатели *in situ* метаболической активности бактериальных сообществ после облучения объединяются в один кластер на очень близком расстоянии, тогда как контрольный образец выделяется в отдельный кластер, что свидетельствует о высокой воспроизводимости результата эксперимента.

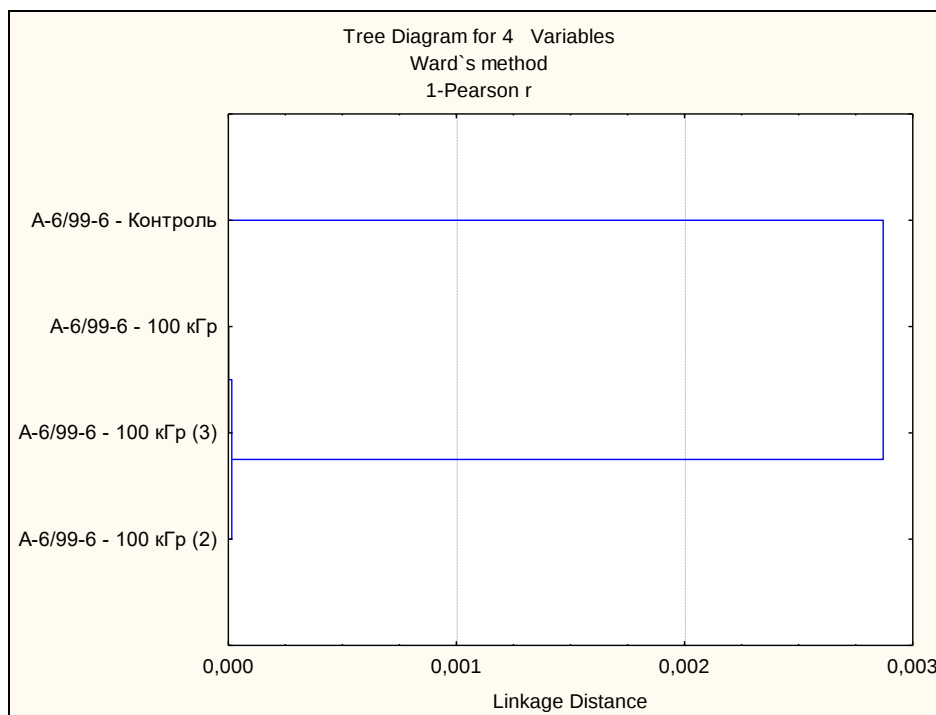


Рис. 1. Кластерный анализ спектров потребления субстратов сообществами контрольных и облученных образцов мерзлой осадочной породы Антарктиды.

Был рассмотрен также вопрос развития возможных постэффектов воздействия гамма-излучения на микробиоту в образцах. В задачи исследования был включен повторный анализ образца мерзлой осадочной породы облученного в 2005 г. дозой 150 кГр. За время хранения (- 18°C) показатели численности бактерий в контрольном и облученном образцах выровнялись (рис.2). Бактериальные сообщества в облученном образце более интенсивно развивались в сукцессии, их функциональное разнообразие вернулось к контрольному уровню. Таким образом, сделан вывод, что исследуемая биосистема не только выдержала без значительных потерь воздействие высокой дозы гамма-излучения, но и сохранила во времени способность нормальной репродукции и функционирования.

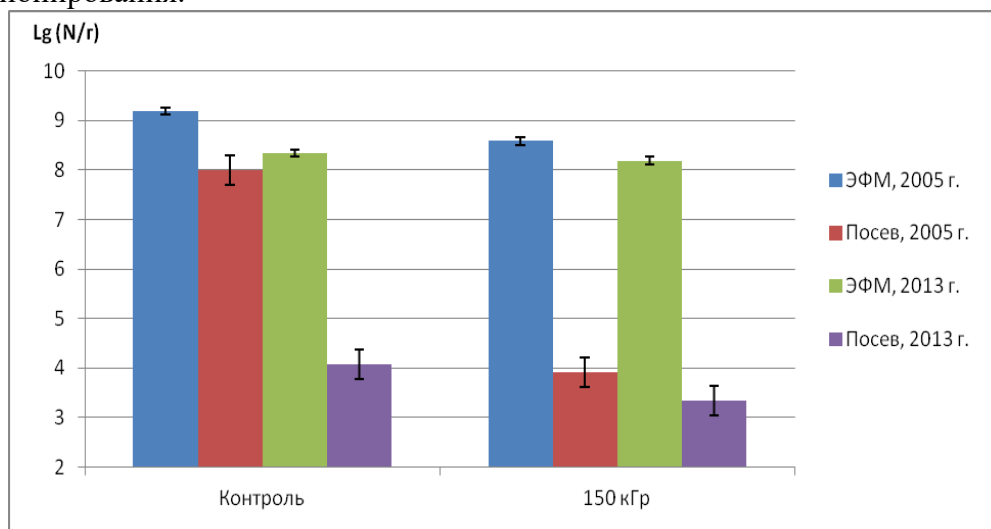


Рис. 2 Оценка последствий высоких доз гамма-излучения (150 кГр) на содержание и репродуктивность бактерий в мерзлой осадочной породе.

Экстраполяция доз излучения, примененных в работе, на интенсивность излучения в поверхностном слое марсианского реголита (Pavlov et al., 2012; Dartnell et al., 2007; Hassler et al., 2014) позволяет предполагать возможность сохранения потенциальных микробных сообществ земного типа в анабиотическом состоянии в течение не менее 13-20 млн. лет в грунте Марса в условиях близких к современным. Такой результат дает экспериментально подтвержденные основания для более оптимистичного прогноза потенциального существования биосфер на целом ряде объектов Солнечной системы. Настоящее исследование, в целом, расширяет существующие представления о пределах устойчивости биосистем и подтверждает важность роли естественной среды для обеспечения выживания микроорганизмов при экстремальных нагрузках. Следует отметить, что максимальные экстремальные воздействия, примененные в эксперименте, не привели к стерилизации образцов, и выяснение пределов устойчивости природных микробных сообществ является следующим этапом работы.

Полученные данные могут быть применены при планировании астробиологических миссий (выбор мест высадки посадочных модулей), при разработке приборов для автоматического поиска жизни вне Земли, для коррекции карантинных мер в планетных исследованиях с учетом диапазона устойчивости микробных экосистем земного типа к экстремальным воздействиям, а также при планировании исследований и мероприятий по освоению и терраформированию планетных тел. Изучение механизмов поддержания устойчивости биосистем и отдельных организмов в естественной среде обитания, а также выделение стабильно резистентных культур, открывает новые перспективы для развития биотехнологий.

Работа поддержана грантом РФФИ №13-04-01982-а, частично Программами Президиума РАН: «Эволюция органического мира и планетарных процессов» и Программой №7, - а также грантом РФФИ №14-50-00029.

Литература

1. *Auerbach C.* Mutation research. Problems, results and perspectives. – Chapman and Hall, London, 1976.
2. *Angel R, Soares M.I.M., Ungar E.D., Gillor O.* Biogeography of soil archaea and bacteria along a steep precipitation gradient.// *ISME J.*, 2009, 4, pp. 553–563.
3. *Baumstark-Khan C., Facius R.* 2002. Life under conditions of ionizing radiation (pp. 261-284). Springer Berlin Heidelberg.
4. *Beatty D.W., Clifford S.M., Borg L.E., Catling D.C., Craddock R.A., Marais D.J. D., Farmer J.D, Frey H.V., Haberle R.H., McKay C.P., Newsom H.E., Parker T.J., Segura T., Tanaka K.L.* Key science questions from the second conference on early Mars: geologic, hydrologic, and climatic evolution and the implications for life // *Astrobiology*, 2005, 5(6), pp. 663-689.
5. *Cheptsov, V. S., E. A. Vorobyova E.A., Pavlov A. K., Vdovina M. A, Lomasov V. N., Bulat S. A .* Gamma-affected (under Martian conditions) microbial communities of Arctic permafrost analyzed by sequencing of 16S rDNA genes: *Arthrobacter* prevalence at 100 kGy dose.//*Extremophiles*. In Press.
6. *Cox, M.M., Battista, J. R.* *Deinococcus radiodurans* - the consummate survivor // *Nature Reviews Microbiology*, 2005, 3(11), pp. 882-892.
7. *Dartnell L.R., Desorgher L., Ward J.M., Coates A.J.* Martian subsurface ionising radiation: biosignatures and geology // *Biogeosciences*, 2007, 4, pp. 545–558.
8. *El-Sayed W.S., Ghanem S.* Bacterial Community Structure Change Induced by Gamma Irradiation in Hydrocarbon Contaminated and Uncontaminated Soils Revealed by PCR-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis // *Biotechnology*, 2009, 8, pp. 78-85.
9. *Gilichinsky D.A., Wilson G.S., Friedmann E.I., McKay C.P., Sletten R.S., Rivkina E.M., Vishnivetskaya T.A., Erokhina L.G., Ivanushkina N.E., Kochkina G.A., Shcherbakova V.A., Soina V.S., Spirina E.V., Vorobyova E.A., Fyodorov-Davydov D.G., Hallet B., Ozerskaya S.M., Sorokovikov V.A., Laurinavichyus K.S., Shatilovich A.V., Chanton J.P., Ostroumov V.E., Tiedje J.M.* Microbial populations in Antarctic permafrost: biodiversity, state, age, and implication for astrobiology // *Astrobiology*, 2007, 7(2), pp. 275-311.
10. *Hassler D.M., Zeitlin C., Wimmer-Schweingruber R.F., Ehresmann B., Rafkin S., Eigenbrode J.L., Brinza D.E., Weigle G., Böttcher S., Böhm E., Burmeister S., Guo J., Köhler J., Martin C., Reitz G., Cucinotta F.A., Kim M., Grinspoon D., Bullock M.A., Posner A., Gómez-Elvira J., Vasavada A., Grotzinger J.P., MSL Science Team.* Mars' Surface Radiation Environment Measured with the Mars Science Laboratory's Curiosity Rover // *Science*, 2014, 343(6169), 1244797.
11. *Kryazhevskikh N.A., Demkina E.V., Loiko N.G., Baslerov R.V., Kolganova T.V., Soina V.S., & Gal'chenko, V.F.* Comparison of the adaptive potential of the *Arthrobacter oxydans* and *Acinetobacter lwoffii* isolates from permafrost sedimentary rock and the analogous collection strains // *Microbiology*, 2013, 82(1), pp. 29-42.
12. *Kuipers G.K., Lafleur M.V.M.* Characterization of DNA damage induced by gamma-radiation derived water radicals, using DNA repair enzymes // *International journal of radiation biology*, 1998, 74(4), pp. 511-519.
13. *Mattimore V., Battista J.R.* Radioresistance of *Deinococcus radiodurans*: functions necessary to survive ionizing radiation are also necessary to survive prolonged desiccation // *Journal of Bacteriology*, 1996, 178(3), pp. 633–637.

14. McNamara N.P., Black H.I.J., Beresford N.A., Parekh N.R. Effects of acute gamma irradiation on chemical, physical and biological properties of soils // *Applied Soil Ecology*, 2003, 24(2), pp. 117-132.
15. Panitz C., Reitz G., Rabbow E., Rettberg P., Flemming H.C., Wingender J., & Froesler J. Biofilms and planktonic cells of *Deinococcus geothermalis* in extreme environments. In 40th COSPAR Scientific Assembly. 2014, 40, p. 2430, Abstract F3. 3-4-14.
16. Pavlov A.K., Blinov A.V., Konstantinov A.N. Sterilization of Martian surface by cosmic radiation // *Planetary and Space Science*, 2002, 50, pp. 669–673.
17. Pavlov A.K., Shelegedin V.N., Vdovina M.A., Pavlov A.A. Growth of microorganisms in Martian-like shallow subsurface conditions: laboratory modelling // *International Journal of Astrobiology* 2010, 9(1), pp. 51-58, doi:10.1017/S1473550409990371
18. Pavlov A.A., Vasilyev G., Ostryakov V.M., Pavlov A.K., & Mahaffy P. Degradation of the organic molecules in the shallow subsurface of Mars due to irradiation by cosmic rays // *Geophysical research letters*, 2012, 39(13).
19. Pavlov A.K., Kalinin V.L., Konstantinov A.N., Shelegedin V.N., Pavlov A.A. Was Earth ever infected by martian biota? Clues from radioresistant bacteria // *Astrobiology*, 2006, 6(6), pp. 911-918.
20. Rainey F.A., Ray K., Ferreira M., Gatz B.Z., Nobre M.F., Bagaley D., Rash B.A., Park M.-J., Earl A.M., Shank N.C., Small A.M., Henk M.C., Battista J.R., Kämpfer P., da Costa M.S. Extensive diversity of ionizing-radiation-resistant bacteria recovered from Sonoran Desert soil and description of nine new species of the genus *Deinococcus* obtained from a single soil sample // *Applied and environmental microbiology*, 2005, 71(9), pp. 5225-5235.
21. Romanovskaya V.A., Rokitko P.V., Malashenko Y.R., Krishtab T.P., Chernaya N.A. Sensitivity of soil bacteria isolated from the alienated zone around the Chernobyl Nuclear Power Plant to various stress factors // *Microbiology*, 1999, 68(4), pp. 465-469.
22. Soina V.S., Mulyukin A.L., Demkina E.V. Vorobyova E.A. El-Registan G.I. The structure of resting microbial populations in soil and subsoil permafrost // *Astrobiology*, 2004, 4(3), pp. 345-358.
23. Vorobyova E., Soina V., Gorlenko M., Minkovskaya N., Zalinova N., Mamukelashvili A., Gilichinsky D., Rivkina E., Vishnivetskaya T. The deep cold biosphere: facts and hypothesis // *FEMS Microbiol. Rev.* 1997, 20, pp. 277-290.
24. Wassmann M., Moeller R., Reitz G., Rettberg P. Adaptation of *Bacillus subtilis* cells to archaean-like UV climate: relevant hints of microbial evolution to remarkably increased radiation resistance // *Astrobiology*, 2010, 10(6), pp. 605-615.
25. Westall F., Loizeau D., Foucher F., Bost N., Bertrand M., Vago J., Kminek G. Habitability on Mars from a microbial point of view // *Astrobiology*, 2013, 13(9), pp. 887-897.

ORIGIN OF LIFE MADE CLOSER AT DUBNA ACCELERATORS

Ernesto Di Mauro

Dipartimento di Biologia e Biotecnologie “Charles Darwin”, “Sapienza” Università di Roma,
Piazzale Aldo Moro, 5, Rome 00185, Italy

I am studying the mechanisms underlying the possible prebiotic synthesis of all the molecular components relevant for the onset of pre-genetic materials and of pre-metabolic apparatuses.

This work is carried out in collaboration with prof. Raffaele Saladino (Università Tuscia, Viterbo, Italy) and his group; with Dr Judit E. Šponer and Prof. Jiří Šponer (Institute of Biophysics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Brno, Czech Republic and CEITEC - Brno, Czech Republic); with Drs Giovanna Costanzo and Samanta Pino in my Department in Rome; and it is planned and conducted in tight and fertile collaboration with Prof. Eugene Krasavin and Prof. Alexei Y. Rozanov and their groups.

In short, we have established (1,2,3,4) that reactions of formamide (NH_2COH) in the presence of catalysts of both terrestrial and meteoritic origin yield, in plausible and variegated conditions, a large panel of precursors of (pre)genetic and (pre)metabolic interest. Formamide chemistry potentially satisfies all of the steps from the very initial precursors to RNA. Water chemistry enters the scene later, in RNA non-enzymatic synthesis and recombination.

In particular, as for meteorites-catalyzed syntheses, we have reported a novel role of meteorites in a plausible origin of life scenario: that of heterogeneous catalysts for prebiotic synthetic processes. As a simulation model system, we analyzed the reactivity of meteorites with formamide NH_2COH . Twelve specimens, representative of the major classes of meteorites, have been studied. The interest resides in that each meteorite is in itself a complex system, embodying a differently composite catalytic apparatus. When reacted with NH_2COH each meteorite catalyzes the synthesis of numerous organic compounds, among which: nucleobases, carboxylic acids, aminoacids and condensing agents. Different chemical pathways are identified, the yields are high for a prebiotic process and the products come in rich and composite panels. Meteorites are catalysts more efficient than some of their individual mineralogical components, highlighting the presence of a synergistic effect. Most of the members of extant biopolymers and metabolic cycles are produced simply by heating together NH_2COH and powdered meteorites. In origin-of-life perspectives, meteorites thus become not only carriers of organic compounds formed or gathered during their permanence in space, but acquire the role of potential chemical reactors upon arrival on Earth.

This work has been extended to radiation studies: liquid formamide has been irradiated by high-energy proton beams in the presence of powdered meteorites and the products of the catalyzed resulting syntheses were analyzed by mass spectrometry. Relative to the controls (no radiation, or no formamide, or no catalyst) an extremely rich, variegated and prebiotically relevant panel of compounds was observed. The meteorites tested were representative of the four major classes: iron, stony iron, chondrites and achondrites. The products obtained were aminoacids, carboxylic acids, nucleobases, sugars and most notably four nucleosides: cytidine, uridine, adenosine, and thymidine. In accordance with theoretical studies, the detection of HCN oligomers suggests the occurrence of mechanisms based on the generation of radical cyanide species ($\text{CN}^\cdot$) for the synthesis of nucleobases. Given that many of the compounds obtained are key components of extant organisms, these observations contribute to outline plausible exogenous high energy-based prebiotic scenarios and their possible boundary conditions indicating that the formamide-based scenario is perhaps the most powerful concurrent hypothesis for the origin of life on our planet besides the traditional HCN-based concept.

We have previously reported (5) that cyclic nucleotides may form in prebiotic conditions, and have shown (6,7,8) that two of them (3',5' cyclic GMP and 3',5' cyclic AMP) may spontaneously polymerize to RNA in the absence of any enzyme. Recently we have observed that also 3',5' cyclic CMP undergoes non-enzymatic di- and tri-merization at 20°C in dry both upon short-time proton irradiation or upon long times heat treatment. The same is observed for the 3',5' cyclic GMP. The reaction consists of stacking of the cyclic monomers followed by polymerization by serial transphosphorylations among stacked monomers. The reaction of 3',5' cyclic CMP has low efficiency and the oligomers formed are short.

Nevertheless it is shown that, in addition to purines, also pyrimidines may have taken part in the spontaneous generation of RNA in plausible prebiotic conditions as well as in an extraterrestrial context. Polymerization of naturally occurring 3',5' cyclic nucleotides supports the possibility that the origin of extant genetic nucleic acids might have followed a straight path since its very beginning, starting from non-elaborately preactivated monomeric compounds and simple reactions.

Summarizing; along the path leading from the 1-carbon atom compound formamide to short RNA molecules all the steps may be obtained in non-enzymatic prebiotic conditions.

The source of energy explored has been mostly be thermal. However, the proton irradiation experiments performed in Dubna have shown the great efficiency of this possibly prebiotic source of energy, both in formamide-based syntheses and in proto-RNA polymerizations.

1. Saladino R., Crestini C., Pino S., Costanzo G., Di Mauro E. Formamide and the origin of life. // *Physics of Life Reviews* (2012) 9, 84-04
2. Saladino R., Botta G., Pino S., Costanzo G. and Di Mauro E. Genetics first or metabolism first? The formamide clue. // *Chemical Society Review* (2012) 41, 5526–5565
3. Saladino R., Botta G., Delfino M. and Di Mauro E. Meteorites as Catalysts for Prebiotic Chemistry. // *Chemistry - A European Journal* Vol.19, Issue 50, 2013, 16916–16922
4. Saladino R., Carota E., Botta G., Kapralov M., Timoshenko G.N., Rozanov AY., Krasavin E., Di Mauro E. Meteorite-catalyzed syntheses of nucleosides and of other prebiotic compounds from formamide under proton irradiation. // *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015, 112(21):E2746-55.
5. Costanzo G, Saladino R, Crestini C, Ciciriello F, Di Mauro E. Nucleoside phosphorylation by phosphate minerals. *J Biol Chem*. 2007, 282:16729-35.
6. Costanzo G., Pino S., Ciciriello F., Di Mauro E. Generation of long RNA chains in water. // *J Biol Chem*. 2009, 284(48):33206-16.
7. Costanzo G., Saladino R., Botta G., Giorgi A., Scipioni A., Pino S., Di Mauro E. Generation of RNA molecules by a base-catalysed click-like reaction. // *Chembiochem*. 2012, 13:999-1008.
8. Šponer J.E., Šponer J., Giorgi A., Di Mauro E., Pino S., Costanzo G. Untemplated nonenzymatic polymerization of 3',5'cGMP: a plausible route to 3',5'-linked oligonucleotides in primordia. // *J Phys Chem B*. 2015, 119:2979-89.

EVIDENCE FOR EXTRATERRESTRIAL LIFE AND SEARCH FOR COSMIC DUST

Marina V. Frontasyeva and Richard B. Hoover

Sector of Neutron Activation Analysis and Applied Research, Division of Nuclear Physics,
Frank Laboratory of Neutron Physics, Joint Institute for Nuclear Research,
Dubna, Moscow Region, Russian Federation
e-mails: marina@nf.jinr.ru, pavlov@nf.jinr.ru

*Astrobiology Laboratory, Athens State Univ., Athens, Alabama USA
Buckingham Centre for Astrobiology, Univ. of Buckingham, Buckingham, UK
e-mails: richardbhoover@icloud.com, entigonia@aol.com

Astrobiology is the study of the origin, distribution and evolution of life on Earth and in the Universe. Meteorites, Cosmic Dust Particles and returned samples from the moon and comets represent messengers from space that may answer the most fundamental question of Astrobiology: Is Life restricted to planet Earth or more widely distributed throughout the Cosmos?

A new theme initiated in 2013 at the Joint Institute for Nuclear Research is devoted to the application of nuclear physics methods to the study of Cosmic Matter on Earth and in Space. Epithermal Neutron Activation Analysis (ENAA) of samples in question has been carried out at the IBR-2 reactor of the Frank Laboratory of Neutron Physics of JINR in Dubna to:

- search for iridium in Aralaganwila/Polonnaruwa stones;
- obtain quantitative data for trace and rare earth elements (REE) in diverse meteorites;
- investigate nodules from the Gulf of Bothnia, abyssal clay and micronodules from the North Pacific Ocean;
- search for cosmic dust particles in moss and peat-bog cores as natural planchettes.

The ENAA provide quantitative information concerning the element composition of these terrestrial and extraterrestrial samples with high sensitivity and precision. It has been revealed that the exotic, fossil-rich Aralaganwila/Polonnaruwa stones are enriched in iridium, heavy metals, REEs and Th and U providing additional evidence that they are extraterrestrial in origin. Field Emission Scanning Electron Microscope (FESEM) images of indigenous microfossils in the Aralaganwila stones and other meteorites are presented. Unusual microstructures in lunar and cosmic dust particles and meteorites are demonstrated along with Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy (EDS) measurements and ENAA data of a variety of these interesting terrestrial and extraterrestrial materials.

Keywords: Epithermal Neutron Activation Analysis, Field Emission Scanning Electron Microscopy, Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy, meteorites, cosmic dust, abyssal nodules, moss, peat-bog.

Keywords: automation of neutron activation analysis, monitoring of atmospheric deposition of heavy metals and radionuclides, monitoring aquatic ecosystem, bionanotechnology, medicinal plants, cosmic dust, microscopy, radioecology

Reference

M.V. Frontasyeva. Neutron activation analysis for the Life Sciences. A review. "Physics of Particles and Nuclei", 2011, Vol. 42, No. 2, p. 332-378. <http://www.springerlink.com/content/f836723234434m27/>

MICROFOSSILS IN CARBONACEOUS METEORITES: EVIDENCE FOR EXTRATERRESTRIAL LIFE

Richard B. Hoover

Astrobiology Laboratory, Athens State Univ., Athens, Alabama USA
Buckingham Centre for Astrobiology, Univ. of Buckingham, Buckingham, UK

The primary thesis of this report is that Field Emission Scanning Electron Microscopy studies conducted since 1996 have image a diversity of microbial remains embedded in the interior rock matrix of many different carbonaceous meteorites. Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS) spot analysis and 2D X-ray maps of elemental composition of the biological remains and associated rock matrix make it possible to distinguish indigenous microfossils from recent bio-contaminants. Nitrogen is present as inorganic N_2 molecules in the Earth's atmosphere. During nitrogen fixation, the nitrogenase enzymes of heterocystous cyanobacteria and other diazotrophs breaks the strong di-nitrogen N_2 triple-bond and produces the ammonium (NH_4^+), nitrate (NO_3^-) or nitrite (NO_2^-) organic nitrogen molecules that can be used by living cells to construct amino acids, proteins, DNA and other life-critical biomolecules. After death, denitrification breaks up the biomolecules and the inorganic N_2 gas slowly returns to the atmosphere. The nitrogen content of living and long dead (Holocene or Pleistocene) cells is typically 2% to 20% atomic, which is easily detected by EDS. However, the nitrogen content of ancient fossils is almost always $<0.5\%$ and below the EDS detection limit. This report provides images and EDS data for microfossils of prokaryotic and eukaryotic organisms embedded in the interiors of freshly fractured carbonaceous meteorite rock matrix.

The Orgueil CI1 Carbonaceous Meteorite

The Orgueil fireball was witnessed on May 14, 1864 and black stones collected around the village of Orgueil (Tarn-et-Garonne) in southern France [1]. Later studies found these stones to contained carbon and water [2], diagenetic breakdown products of chlorophyll (porphyrins, pristane and phytane) [3, 4], extraterrestrial amino acids [5], coccoidal forms⁶ and rods with electron-dense solid bodies in "chain of pearls" alignment like magnetosomes now known in magnetotactic bacteria [7] and filamentous algae (cyanobacteria) with apical cells [8]. Independent Scanning Electron Microscopy studies in Russia (Academician Alexei Rozanov) and the United States (Hoover) published In 1997, reported discovery of microfossils embedded in carbonaceous meteorites [9, 10]. Subsequently collaborative studies provided evidence of a great diversity of astonishingly well preserved remains of large filamentous cyanobacteria in Orgueil and many other carbonaceous meteorites [11-15]. Images and EDS measurements for several of the indigenous and recognizable remains of filamentous cyanobacteria and an acritarch embedded in the Orgueil meteorite are provided in **Fig. 1**. EDS measurements of Nitrogen, C/O ratios and other elements provides a powerful tool for distinguishing indigenous microfossils from modern bio-contaminants [16]. All of these biomorphic microstructures have $N < 0.5\%$ atomic and therefore are considered to be indigenous microfossils rather than post-arrival microbiological contaminants. The Orgueil stones contain extraterrestrial amino acids and extraterrestrial water and microfossils found embedded in the meteorite rock matrix are considered to be indigenous therefore to provide conclusive evidence for the existence of extraterrestrial life.

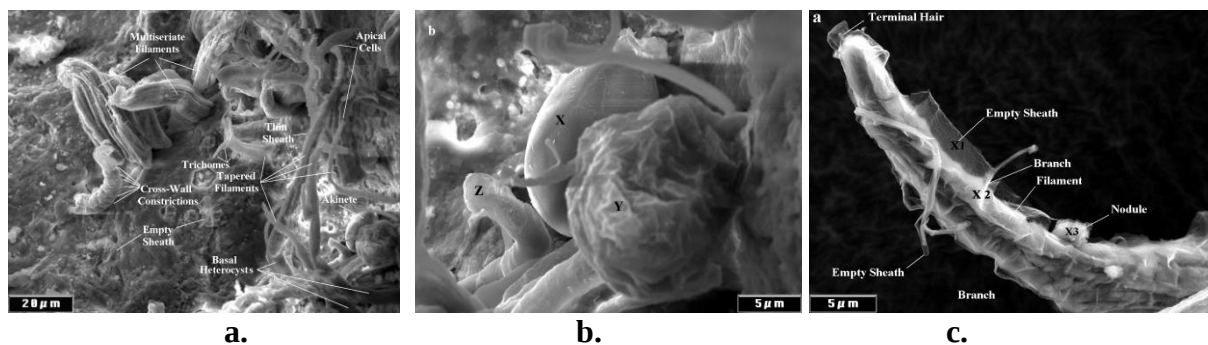
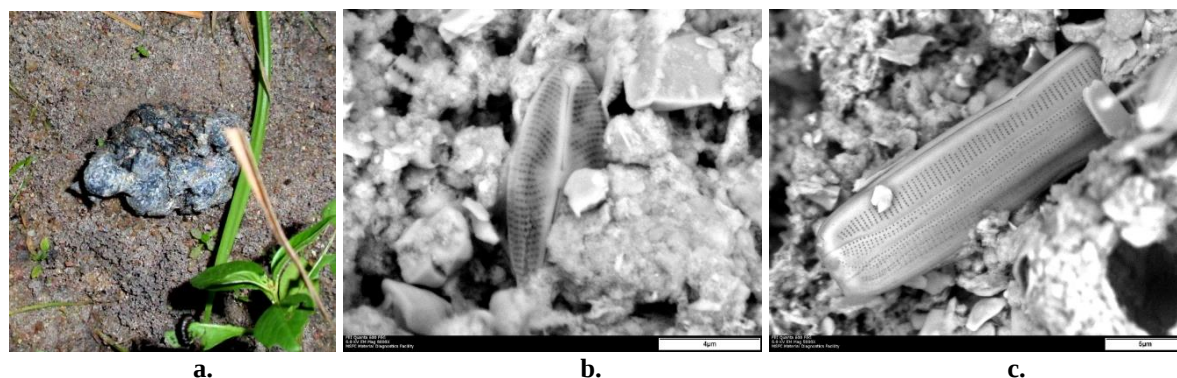


Figure 1. Hitachi FESEM (1000X) image of **a.** thin mat of diverse tapered epilithic filaments, sheaths with basal heterocysts embedded in Orgueil matrix, **b.** FESEM image (4,000X) of filament with apical cell, ellipsoidal **X** akinete and wrinkled **Y** acritarch; **c.** cyanobacterial filament (8 μm base tapering to 3 μm at apex) with terminal hair, and laminated sheath with V-false and true-branching. EDS shows sheath highly carbonized (82 % C) and filament interior permineralized with magnesium sulfate. *Orgueil* Courtesy: P. Sipiera, DuPont Collection, PSF, Chicago

Indigenous Microfossils in the Polonnaruwa Stones

On December 29, 2012, a bright green fireball disintegrated over Polonnaruwa, Sri Lanka and many low density (0.6 g/cm^3), black stones were recovered immediately after the observed fall from rice paddys. Polonnaruwa stones have unusual physico-chemical properties unlike any known terrestrial rocks or meteorites and they are not yet grouped. Polished thin sections prepared at the Paleontological Institute (RAS) revealed highly porous stones and crystals with small grains of other minerals within them (poikilitic textures often seen in igneous rocks). They mainly have isotropic silica-rich plagioclase-like host minerals often enclosing subangular or subrounded grains of other minerals. Wallis *et al.* [17] reported Ilmenite, fractured shocked grains of Olivine (Fayalite), Quartz polymorphs (Cristobalite and Stishovite) and Iridium levels of 1-7 ppm (10^4 times crustal rocks). Exotic minerals formed by high temperature and pressure impacts such as Maskelynite and Wadsleyite were found. Maskelynite is a clear glassy pseudomorph of Plagioclase formed without melting at the extreme shock pressures (20-30 GPa) [17]. It was identified by FTIR Spectroscopy at Cardiff by detection of bands at 778 cm^{-1} and 796 cm^{-1} that matched IR spectra of Maskelynite in Shergotty meteorite. Independent laser fluorination Triple Oxygen Isotope measurements (Table 1) by Prof. Pack in Germany and Prof. Nakamura in Japan (2 runs) show anomalous extraterrestrial oxygen isotopes with $\delta^{17}\text{O}$ values far below the Terrestrial Fractionation Line (similar to values of CK and HED meteorites). FESEM studies at NASA/MSFC,²⁰ PIN and Cardiff University showed the Polonnaruwa stones contain embedded diatoms and carbonized, nitrogen-poor, microfossils of acritarchs and hystrichospheres (**Fig. 2**).



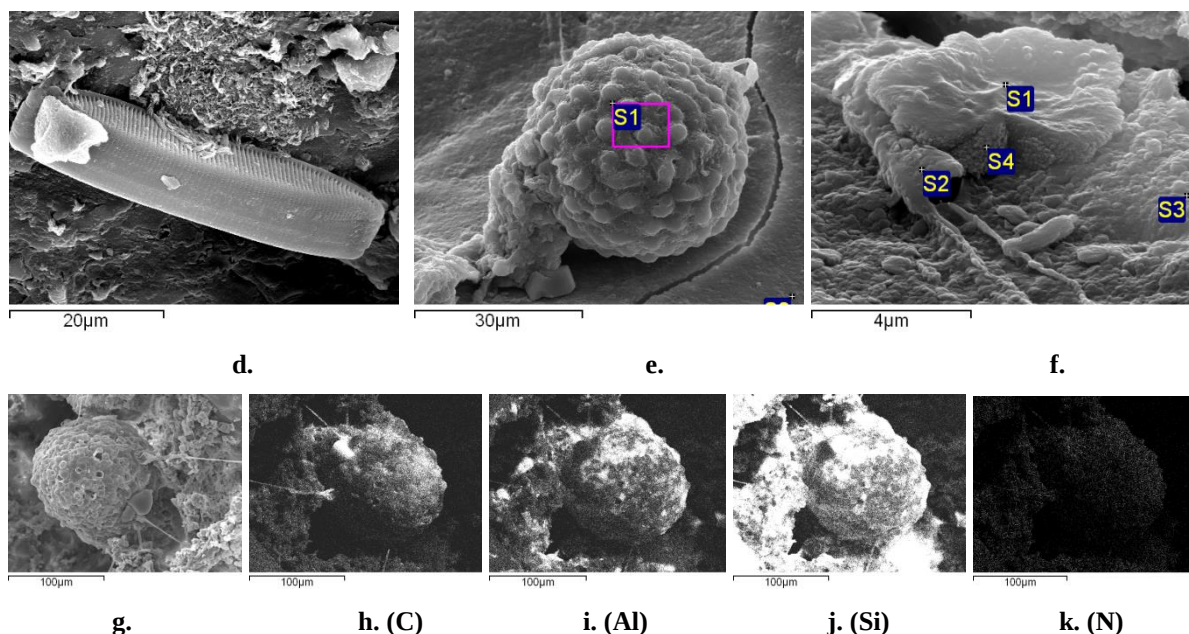


Fig. 2. Polonnaruwa stone with fusion crust **a.** found *in-situ* in Aralaganwila Paddy field by Hoover on Jan. 29, 2013. **b.** FESEM images of raphid pennate diatom (*Navicula reinhardti*); **c.** complete frustule in girdle view of unidentified pennate and **d.** araphid marine pennate (cf. *Ardissonea robusta*); **e.** & **f.** Si-O-Al-Mg Rich; N-Poor Unidentified Eukaryotes **g.** Hystrichosphere with long spines and 2D X-ray maps show great abundance of **h.** Carbon; **i.** Aluminum; **j.** Silicon; and **k.** deficiency of Nitrogen **Image Credits:** **a.-c.** Richard B. Hoover & G. Jerman; **d.-k.** R. B. Hoover, N. Miyake, N.. C. Wickramasinghe & Jamie Wallis

TABLE 1 - Triple Oxygen Isotope Data for Polonnaruwa Stones

Measurement	$\delta^{18}\text{O}$	$\delta^{17}\text{O}$	$\delta^{17}\text{O}$
Prof. Andreas Pack, Univ. of Göttingen	17.816	8.978	-0.335
Prof. Eizo Nakamura Okayama, University - 1	20.84	10.60	-0.328
Prof. Eizo Nakamura Okayama, University - 2	20.75	10.59	-0.296

References

1. *Daubrée A.* Note sur les meteorites tombées le 14 Mai aux environs d'Orgueil (Tarn-et-Garonne). // Compt. Rend. Acad. Sci., Paris 58, pp. 984-986. (1864).
2. *Cloëz S.* Analyse chimique de la pierre météorique d'Orgueil. Note de M. S. Cloëz présentée par M. Daubrée. // Compt. Rend. Acad. Sci., Paris 59, pp. 37-40 (1864).
3. *Nagy B.* Carbonaceous Meteorites. // Elsevier Scientific Publishing Co., New York, pp. 1-747 (1975).
4. *Kissin Y.V.* Hydrocarbon components in carbonaceous meteorites. // Geochim. Cosmochim. Acta 67,1723-1735 (2003).
5. *Ehrenfreund P., Glavin D.P., Botta O., Cooper G. and Bada J.* Extraterrestrial amino acids in Orgueil and Ivuna: Tracing the parent body of CI type carbonaceous chondrites. // PNAS., 98, 2138-2141 (2001).
6. *Claus G. and Nagy B.* A Microbiological Examination of Some Carbonaceous Chondrites. // Nature, 192, 594-596 (1961).
7. *Tan W.C. and VanLandingham S.L.* Electron Microscopy of Biological-like Structures in the Orgueil Carbonaceous Meteorite. // Geophys. Jour. Roy. Astr. Soc. 12, pp. 237-241 (1967).
8. *Palik P.* Further life-forms in the Orgueil meteorite. // Nature **194**, 1065 (1962).
9. *Zhmur S.I., Rozanov A.Yu., Gorlenko V.M.* Lithified Remnants of Microorganisms in Carbonaceous Chondrites. // Geochemistry International, 35, 58-60 (1997).

10. Hoover R.B. Meteorites, microfossils and exobiology. // Proc. SPIE, 3111, 115-136 (1997).
11. Hoover R.B., Rozanov A.Yu., Zhmur S.I. and Gorlenko V.M. Further evidence of microfossils in carbonaceous chondrites. // Proc. SPIE, 3441, 203-216 (1998).
12. Hoover, R. B. and Rozanov, A. Yu. Microfossils, Biominerals, and Chemical Biomarkers in Meteorites. // Proc. SPIE, 4939, 10-27 (2003).
13. Hoover R.B., Jerman G., Rozanov A.Yu. and Davies P.C.W. Biomarkers and Microfossils in the Murchison, Tagish Lake and Rainbow Meteorites. // Proc. SPIE, 4859, 15-31 (2003).
14. Hoover R.B., Rozanov A.Yu., Jerman G.A. and Coston J. Microfossils in CI and CO Carbonaceous Meteorites. // Proc SPIE, 5163, 7-23 (2004).
15. Hoover R.B. Fossils of Prokaryotic microorganisms in the Orgueil meteorite. // Proc. SPIE 6309-02 (2006).
16. Hoover R.B. Ratios of Biogenic Elements for Distinguishing Recent from Fossil Microorganisms. // Instruments, Methods, and Missions for Astrobiology X, Proc. SPIE 6694, 66940D, (2007).
17. Wallis J., Wickramasinghe N.C., Wallis D.H., Miyake N., Wallis, M.K., Hoover R.B., Samaranayake A., Wickramarathne K. and Oldroyd A. Physical, Chemical and Mineral Properties of the Polonnaruwa Stones. // Proc. SPIE 8865, 886507 (2013).
18. Rubin A.E. Maskelynite in Asteroidal, Lunar and Planetary Basaltic Meteorites: an Indicator of Shock Pressure during Impact Ejection from their Parent Bodies. // Icarus, 257, 221-229, (2015).
19. Hoover R. B., Wallis J., Wickramarathne K., Samaranayake A., Williams G., Jerman G., Wallis D.H. and Wickramasinghe N. C. The Polonnaruwa Meteorite: Oxygen Isotope, Crystalline and Biological Composition. // Jour. of Cosmology, 22, 2, 5 March, 2013
20. Hoover R.B., Wallis J., Wickramarathne K., Samaranayake A., Williams G., Jerman G., Wallis D.H., Wickramasinghe N.C. Fossilized Diatoms from Recent Falls in Sri Lanka. // Proc. SPIE 8865, 886506 (2013).

ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ ПРОИСХОЖДЕНИЯ И ЭВОЛЮЦИИ ВИРУСОВ

Зимин А.А.¹, Скобликов Н.Э.²

¹Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пущино на Оке, Московской области, Россия,

²Северо-Кавказский НИИ животноводства, Краснодар, Россия,

dr.zimin8@yandex.ru

Введение и предварительные замечания.

Вирусы являются очень большим биологическим разнообразием. Обычно рассматривают три основные теории происхождения вирусов.

1. Вирусы — потомки бактерий и других одноклеточных организмов, претерпевших дегенеративную (регрессивную) эволюцию.

2. Вирусы — потомки древних доклеточных форм жизни, перешедших к паразитическому способу существования.

3. Вирусы — дериваты (производные) клеточных генетических структур, ставших относительно автономными, но сохранивших зависимость от клеток.

К сожалению, нам не кажется, что какая-либо из этих гипотез приближает нас к пониманию вопроса на современном этапе развития науки. Поэтому рассмотрением этих гипотез мы не можем уделить внимания. Вопрос эволюции вирусов рассматривается обычно только для отдельных групп вирусов и редко изучается для всех групп вирусов вместе. Это адекватная реакция ученых и в первую очередь вирусологов на большое разнообразие этих форм жизни. Рассмотрение вопроса об эволюции и происхождении вирусов кажется не правильным в первую очередь с точки зрения самой постановки вопроса. Логичным и естественным кажется полифилиетичность происхождения, исключая какую-либо одну схему. Более того может показаться, что такой подход может исключить понятие о LUCA, но это не так. Смена круга хозяев неоднократно описана для фагов. На основе этого можно сделать вывод, что полифилиетичность происхождения разнообразия корпускулярных форм жизни ни сколько не мешает существованию понятия о LUCA.

Основные методологические приемы (подходы).

Для разработки подходов к рассмотрению эволюции вирусов мы предлагаем рассмотреть ряд методологических приемов.

1. Разработка ряда классификаций вирусов и их совмещение для решения заданного вопроса. Назовем этот метод методом Микеланжело Б., так как в его основе будет выбор "куска мрамора" - создание и уточнение классификаций и создание самой "скульптуры" - схемы происхождения вирусов путем "отсечения ненужного". В этом подходе не нужно исключать даже экологическую классификацию. Она, не будучи филогенетической из-за изменения круга хозяев, тоже может помочь в вопросе разделения на таксономические группы.

2. Подход поиска параллелей в мире вирусов на основе методов сравнения последовательностей биополимеров. К сожалению, этот подход требует большого внимания к результатам межгеномного переноса у вирусов. Здесь опять применим подход с отсечением ненужного. Но, если в первом случае это возможно и в ручную, для работы с последовательностями необходимо создание баз данных элайментов на основе достоверных хитов, полученных с помощью BLASTn, BLASTp и Psi-BLAST (и других аналогичных инструментов). В дальнейшем необходим интеллектуальный инструмент, который отсечет ненужное. Минимизация этой работы могла бы быть

обеспечена выбором малого числа ключевых вирусов, ключевых вирусных белков или ключевых структур для первичного исследования.

3. Подход сродни второму. Назовем его подходом "чемпионата деревьев", вспоминая замечательную книгу о деревьях Менинжера "Удивительные деревья", назовем его методом Чемпионов Менинжера. Этот подход основан на построение большого числа деревьев по самым различным белкам и поиска корневых последовательностей из этих деревьев. Затем придется решать, как объединить находки. Может быть, в этом случае придется опереться на результаты первого подхода.

4. Этот подход мы бы назвали подходом Ч.Диккенса. Многочисленные романы Ч.Дикенса являются ремейками "Больших надежд". В этом подходе мы бы рассмотрели иерархию вирусов, и назвали бы сложные вирусы - сложными, более простые - простыми. При этом все это мы бы сделали на основе сопоставления самых различных параметров. Это подход кажется весьма привлекательным и одновременно ошибочным. Например, этот подход напоминает морфологическую систематику. А как мы знаем, недавно грифы переместились в группу аистообразных на основе анализа последовательностей. На основе иерархии вирусов может быть составлена и эволюция вирусов при использовании данных из подходов два и три. Этот подход очень обнадеживает, но нет никакой уверенности в его правильности. Одним из основных его пороков может быть то, что происхождение вирусов полифилитично, и вторым сопутствующим возражением является большое разнообразие форм.

Мы считаем, что методологических подходов может быть достаточно. В этой работе мы не приводим исследования подходов. Одним из путей решения обоих поставленных вопросов может быть совмещение результатов всех этих подходов (приемов исследования).

Основные замечания к исследованию подходов.

Перейдем к основным замечаниями, которые можно отнести ко всем подходам.

1. Надо всегда учитывать роль горизонтального переноса генов (ГПГ).

1.1. Вклад ГПГ от вируса к вирусу.

1.1. Вклад ГПГ от клетки к вирусу.

1.1. Вклад ГПГ от вируса к клетке и назад к вирусу.

То есть нельзя ограничиться простым вычитанием ГПГ от клетки к вирусу.

2. Надо определить место (время) происхождения первых вирусов в первичных событиях происхождения жизни.

3. Для работы с последовательностями надо опираться не на существующие последовательности, а на их меньшие по размеру предшественники. При этом надо учитывать и активный ГПГ в ранние периоды становления и эволюции различных форм жизни.

В докладе планируется исследовать некоторые из подходов и рассказать о первичных предварительных результатах.