



Учреждение образования  
«Международный государственный  
экологический институт  
имени А. Д. Сахарова»  
Белорусского государственного университета

**КУРС ОБЗОРНЫХ ЛЕКЦИЙ  
ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ  
«МЕДИЦИНСКАЯ ЭКОЛОГИЯ»**



Учреждение образования  
«Международный государственный экологический  
институт имени А. Д. Сахарова»  
Белорусского государственного университета

**КУРС ОБЗОРНЫХ ЛЕКЦИЙ  
ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ  
«МЕДИЦИНСКАЯ ЭКОЛОГИЯ»**

4-е издание,  
дополненное и переработанное

Минск  
«ИВЦ Минфина»  
2017

УДК 577.391  
ББК 28.071.53.6  
К 93

Авторы:

доктор медицинских наук, профессор *А. Н. Батян*;  
кандидат биологических наук, доцент *В. Д. Свирид*;  
кандидаты биологических наук *Т. И. Житкевич*,  
*Ю. В. Малиновская*, *И. В. Пухтеева*

Рецензенты:

кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой общей  
гигиены БГМУ *Н. Л. Бацукова*;  
доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой иммунологии  
МГЭИ им. А. Д. Сахарова *М. М. Зафранская*

**Курс** обзорных лекций по специальности «Медицинская экология» / А. Н. Батян [и др.]. – Минск : ИВЦ Минфина, 2017. – 110 с.

ISBN 978-985-7168-35-4.

В пособие включено шесть самостоятельных разделов, каждый из которых содержит базовые лекции по спецкурсам кафедры. Материалы изложены тезисно и базируются на достижениях современной науки в области экологии, биологии и медицины. Представлены темы по вопросам последствий воздействия на организм физических и химических факторов, ответные реакции организма на их действие, а также проблемам реабилитации населения после экологических катастроф.

Предназначается студентам специальности «Медицинская экология» для подготовки к Государственному экзамену, всем интересующимся вопросами радиобиологии, экологической и радиационной медицины.

УДК 577.391  
ББК 28.071.53.6

ISBN 978-985-7168-35-4

© Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова БГУ, 2017

## СОДЕРЖАНИЕ

МОЛЕКУЛЯРНАЯ И КЛЕТочНАЯ РАДИОБИОЛОГИЯ С ОСНОВАМИ РАДИАЦИОННОЙ ГИГИЕНЫ.....	5
<i>Лекция 1.</i> Радиационная гигиена как наука. Гигиеническая регламентация облучения человека .....	5
<i>Лекция 2.</i> Гигиена труда при работе с источниками ионизирующих излучений .....	8
<i>Лекция 3.</i> Интерфазная гибель высокорадночувствительных клеток организма.....	11
<i>Лекция 4.</i> Биология клеточного цикла при действии ионизирующего излучения.....	13
<i>Лекция 5.</i> Репродуктивная гибель клеток .....	14
РАДИАЦИОННАЯ БИОХИМИЯ .....	18
<i>Лекция 6.</i> Свободные радикалы в организме человека .....	18
<i>Лекция 7.</i> Радиационно-химические изменения основных макромолекул (белков, липидов, нуклеиновых кислот) .....	21
<i>Лекция 8.</i> Антиоксидантная система человека (классификация, функции, характеристика отдельных антиоксидантов) .....	24
ТОКСИКОЛОГИЯ .....	28
<i>Лекция 9.</i> Понятие о специфическом и неспецифическом действии вредных веществ. Основные проявления токсического действия. Зависимость между дозой токсиканта, временем его воздействия и возникающим эффектом .....	28
<i>Лекция 10.</i> Понятие о промышленных (производственных) ядах и отравлениях. Острые и хронические отравления. Пороговое токсическое действие .....	29
<i>Лекция 11.</i> Понятие о хронических интоксикациях при интермиттирующих воздействиях. Характеристика кумуляции привыкания. Значение материальной и функциональной кумуляции вредных веществ. Привыкание как фаза хронической интоксикации .....	31
<i>Лекция 12.</i> Связь токсического эффекта с биологическими особенностями организма .....	33
<i>Лекция 13.</i> Общие закономерности поступления, транспорта, распределения и выделения токсикантов из организма.....	35
<i>Лекция 14.</i> Прогнозирование воздействия химических загрязнителей на организм человека .....	38
<i>Лекция 15.</i> Разновидности токсикоманий. Основные принципы лечения .....	40
<i>Лекция 16.</i> Общая характеристика наркоманий. Психическая и физическая зависимость. Наркотизм .....	43
<i>Лекция 17.</i> Алкоголизм – одна из форм токсикоманий.....	45

МОЛЕКУЛЯРНАЯ МЕДИЦИНА .....	49
<i>Лекция 18.</i> Технология рекомбинантной ДНК, получение рекомбинантного инсулина .....	49
<i>Лекция 19.</i> Молекулярные основы аутосомно-доминантных заболеваний. Понятие пенетрантности и экспрессивности. Примеры болезней, ассоциированных с повреждением генов, кодирующих рецептор, структурный белок, болезни приобретения функций .....	53
<i>Лекция 20.</i> Аутосомно-рецессивные заболевания. Правила наследования. Молекулярная основа заболеваний, связанных с нарушением функции транспортных белков, ферментов репарации ДНК, при нарушении обмена веществ .....	56
<i>Лекция 21.</i> X-сцепленные рецессивные заболевания. Основные правила наследования, молекулярные основы .....	60
<i>Лекция 22.</i> Моногенные болезни с неклассическим типом наследования. Болезни экспансии, митохондриальные болезни, мозаизм .....	62
<i>Лекция 23.</i> Понятие о молекулярных механизмах полигенных мультифакторных заболеваний .....	66
<i>Лекция 24.</i> Генная терапия, лечение инфекционных заболеваний, диагностика. Фармакогенетика, типы осложнений лекарственной терапии .....	76
ФИЗИОЛОГИЯ АДАПТАЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ .....	82
<i>Лекция 25.</i> Определение и классификация физиологических адаптаций. Генотипическая и фенотипическая адаптация .....	82
<i>Лекция 26.</i> Общий механизм и основные стадии индивидуальной адаптации. Срочная и долговременная адаптации .....	84
<i>Лекция 27.</i> Сложные формы физиологических адаптаций. Основные черты высших адаптационных реакций .....	86
<i>Лекция 28.</i> Закономерности деадаптации .....	89
<i>Лекция 29.</i> Физиологическая и патологическая деадаптация .....	91
<i>Лекция 30.</i> Определение и механизмы развития стресса .....	94
ОСНОВЫ БИОДОЗИМЕТРИИ .....	98
<i>Лекция 31.</i> Понятие биологической дозиметрии. Классификация методов. Отличие биологической и физической дозиметрии .....	98
<i>Лекция 32.</i> Классический цитогенетический анализ как основной метод биологической дозиметрии .....	99
<i>Лекция 33.</i> Оценка индивидуальной радиочувствительности с помощью микроядерного теста .....	101
ЛИТЕРАТУРА .....	104
ВОПРОСЫ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ К ГОСУДАРСТВЕННОМУ ЭКЗАМЕНУ .....	108

# МОЛЕКУЛЯРНАЯ И КЛЕТОЧНАЯ РАДИОБИОЛОГИЯ С ОСНОВАМИ РАДИАЦИОННОЙ ГИГИЕНЫ

## *Лекция 1. Радиационная гигиена как наука.* **Гигиеническая регламентация облучения человека**

*Радиационная гигиена* – наука, изучающая условия, виды и последствия воздействия ионизирующих излучений на человека и разрабатывающая мероприятия, направленные на охрану его здоровья. Это комплексная наука, основанная на ряде фундаментальных дисциплин: ядерной физике, радиохимии, радиобиологии. Как самостоятельная гигиеническая наука она получила развитие в начале 40-х годов прошлого века, формирование как предмета научного исследования и преподавания было закончено в 1960 г.

Радиационная гигиена включает *дозиметрическое* (изучение источников и уровней облучения) и *радиобиологическое* (изучение в эксперименте и с помощью эпидемиологических исследований эффектов и последствий воздействия излучения на здоровье) направления, *теорию и методологию гигиенического регламентирования уровней допустимого облучения и санитарно-организационное направление*, разрабатывающее конкретные меры противорадиационной защиты. Третье и четвертое направление иногда объединяют: обоснование и разработка санитарно-гигиенических регламентов и защиты.

Радиационная гигиена делится на *РГ труда*, которая изучает условия труда и разрабатывает защитные и профилактические мероприятия при работе с ИИИ, и *коммунальную РГ*, освещающую проблемы радиационной безопасности населения.

Особенность радиационной гигиены – выделение по признаку изучения действующего фактора (ИИ). Это обусловлено особой значимостью и большим разнообразием источников, видов и путей воздействия различных излучений и нуклидов на человека, высокой специфичностью действия, большой сложностью проблемы.

В основе критериев радиационной безопасности лежат сведения о биологическом действии радиационных факторов. Главной организацией, представляющей рекомендации по обеспечению защиты населения и персонала от ионизирующей радиации, является Международная комиссия по радиологической защите (МКРЗ).

В Республике Беларусь в настоящее время действуют нормы радиационной безопасности (НРБ-2000), утвержденные Минздравом в 2000 г. Они применяются для обеспечения безопасности человека во всех условиях воздействия ионизирующего излучения искусственного или природного происхождения.

Требования и нормативы, установленные Нормами, являются обязательными для всех юридических лиц, в результате деятельности которых возможно облучение людей, а также для местных распорядительных и исполнительных органов, граждан Республики Беларусь, иностранных граждан и лиц без гражданства, проживающих на территории Беларуси.

Главной **целью** радиационной безопасности является охрана здоровья населения, включая персонал, от вредного воздействия ионизирующего излучения путем соблюдения основных принципов и норм радиационной безопасности без необоснованных ограничений полезной деятельности при использовании излучения в различных областях хозяйства, в науке и медицине. Для обеспечения радиационной безопасности необходимо руководствоваться следующими основными **принципами**:

- непревышение допустимых пределов индивидуальных доз облучения человека от всех источников излучения (*принцип нормирования*);
- запрещение всех видов деятельности по использованию источников излучения, при которых полученная для человека и общества польза не превышает риск возможного вреда, причиненного дополнительным облучением (*принцип обоснования*);
- поддержание на возможно низком и достижимом уровне с учетом экономических и социальных факторов индивидуальных доз облучения и числа облучаемых лиц при использовании любого источника излучения.

Ответственность за соблюдение Норм устанавливается в соответствии с Законами Республики Беларусь «О санитарно-эпидемическом благополучии населения», «О радиационной безопасности населения».

Устанавливаются следующие **категории облучаемых лиц**:

- персонал (физические лица, работающие с источниками излучения или находящиеся по условиям работы в зоне их воздействия);
- все население, включая лиц из персонала, вне сферы и условий их производственной деятельности.

Для категорий облучаемых лиц устанавливаются три класса **нормативов**:

- основные пределы доз (ПД);
- допустимые уровни воздействия: например, пределы годового поступления (ПП);
- контрольные уровни (дозы, уровни, активности, плотности потоков и др.).

**Предел дозы (ПД)** – величина годовой эффективной или эквивалентной дозы облучения, которая не должна превышать в условиях нормальной работы. Соблюдение предела годовой дозы предотвращает

возникновение детерминированных эффектов, а вероятность стохастических эффектов сохраняется при этом на приемлемом уровне.

**Предел годового поступления** (ПГП) – допустимый уровень поступления данного радионуклида в организм в течение года, который приводит к облучению условного человека ожидаемой дозой, равной соответствующему пределу годовой дозы.

**Контрольный уровень** – значение контролируемой величины, устанавливаемое для оперативного радиационного контроля, с целью закрепления достигнутого уровня радиационной безопасности, обеспечения дальнейшего снижения облучения персонала и населения, радиоактивного загрязнения окружающей среды.

Эффективная доза для персонала не должна превышать 20 мЗв в год в среднем за любые последовательные 5 лет, но не более 50 мЗв в год, а для населения – 1 мЗв в год в среднем за любые последовательные 5 лет, но не более 5 мЗв в год.

Дополнительные ограничения вводятся для женщин в возрасте до 45 лет, для студентов и учащихся старше 16 лет, проходящих профессиональное обучение с использованием источников излучения. Беременных переводят на работу, не связанную с источниками ионизирующего излучения.

*Планируемое облучение персонала* выше установленных пределов доз при ликвидации или предотвращении аварии может быть разрешено только в случае необходимости спасения людей и (или) предотвращения их облучения. Допускается для мужчин старше 30 лет лишь при их добровольном письменном согласии после информирования о возможных дозах облучения и риске для здоровья.

Радиационная безопасность населения достигается путем ограничения воздействия всех основных видов облучения. Облучение населения техногенными источниками излучения ограничивается путем обеспечения сохранности источников излучения, контроля технологических процессов и ограничения выброса радионуклидов в окружающую среду, а также другими мероприятиями на стадии проектирования, эксплуатации и прекращения использования источников излучения.

Принципы контроля и ограничения радиационных воздействий в медицине основаны на получении необходимой и полезной диагностической информации или терапевтического эффекта при минимально возможных уровнях облучения. При этом не устанавливаются пределы доз, но используются принципы обоснования назначения радиологических медицинских процедур и оптимизации мер защиты пациентов. При проведении профилактических медицинских рентгенологических исследований и научных исследований практически здоровых лиц годовая эффективная доза облучения этих лиц не должна превышать 1 мЗв.



В случае возникновения аварии должны быть приняты практические меры для восстановления контроля над источником излучения и сведения к минимуму доз облучения, количества облученных лиц, радиоактивного загрязнения окружающей среды, экономических и социальных потерь, вызванных радиоактивным загрязнением.

## **Лекция 2. Гигиена труда при работе с источниками ионизирующих излучений**

Главный документ в этой области – «Основные санитарные правила обеспечения радиационной безопасности» (в настоящее время – ОСП-2002).

По воздействию на человека все источники излучения можно разделить на две группы:

1. **Закрытые источники** – рентгеновские установки, ускорители, реакторы, закрытые радиоактивные препараты. Человек подвергается облучению только во время нахождения в опасной зоне вблизи самих источников.

2. **Открытые источники** – радиоактивные вещества, распределенные в среде (например, в почве, воде, воздухе) или находящиеся на поверхности предметов, с которыми соприкасается человек. Действие этих источников связано с попаданием радиоактивных веществ внутрь организма и не может быть прекращено с удалением человека из опасной зоны.

Задача защиты от ионизирующих излучений заключается в применении специальных устройств и оборудования, снижающих уровень излучения на месте нахождения персонала до предельно допустимой дозы.

Закрытые источники излучения относятся к невозстанавливаемым промышленным изделиям, непрерывно расходующим свой ресурс, и не подлежат ремонту. После окончания назначенного срока службы или при нарушении условий эксплуатации использование источника или его хранение должно быть прекращено.

По характеру действия источники могут быть условно разделены на две группы:

– источники излучения непрерывного действия (установки различного назначения, нейтронные,  $\beta$ - и  $\gamma$ -излучатели);

– источники, генерирующие излучение периодически (рентгеновские аппараты и ускорители заряженных частиц).

Основные принципы радиационной безопасности при работе с закрытыми источниками вытекают из законов распространения ИИ и характера его взаимодействия с веществом:

– уменьшение мощности источников до минимальных величин (*защита количеством*): не имеет широкого применения, так как огра-

ничен требованиями технологического процесса; уменьшение активности увеличивает срок облучения;

– сокращение времени работы с источниками (*защита временем*): сокращая срок работы, можно в значительной степени уменьшить дозы облучения;

– увеличение расстояния от источников до работающих (*защита расстоянием*). Обеспечивается достаточным удалением работающих от излучателя. При работе с источниками малой активности используются простые инструменты (например, пинцет). Для источников большей активности рекомендуются манипуляторы сложного устройства, иногда управляемые с большого расстояния;

– экранирование ИИ материалами, поглощающими излучение (*защита экранами*). Для изготовления экранов применяют различные материалы (свинец, уран, просвинцованное стекло, железо, бетон, вода, для  $\beta$ -излучений – оргстекло, пластмасса, алюминий), толщина определяется мощностью излучения.

При использовании открытых источников возможно попадание радионуклидов в окружающую среду. При этом может иметь место не только внешнее, но и дополнительное внутреннее облучение персонала.

Все объекты, которые представляют опасность загрязнения радионуклидами, можно разделить на две группы:

I группа – лаборатории, учреждения и предприятия, где использование открытых источников предусмотрено технологией производства (медучреждения, лаборатории сельскохозяйственного и промышленного профиля и т. д.).

II группа – радионуклиды в открытом виде образуются как неизбежные или побочные нежелательные продукты технологического процесса (рудники, АЭС, экспериментальные реакторы, мощные ускорители).

Все формы открытых источников по степени потенциальной опасности внутреннего переоблучения подразделяют на три класса, в зависимости от группы радиационной опасности и активности на рабочем месте. Чем выше класс выполняемых работ (1 – самый высокий), тем жестче гигиенические требования.

Основные принципы защиты при работе с открытыми источниками:

– *соблюдение принципов защиты при работе с источниками облучения в закрытом виде;*

– *герметизация производственного оборудования* для изоляции процессов, которые могут явиться источниками поступления радионуклидов в окружающую среду;

– *планировка помещений* предполагает максимальную изоляцию работ с радионуклидами от других помещений и участков с иным функциональным назначением;

– *оптимизация санитарно-технических устройств и оборудования* предполагает устройство специальных систем вентиляции и канализации, отделку помещений специальными материалами и покрытиями;

– *использование средств индивидуальной защиты*, в которых важное место занимают средства индивидуальной защиты, предназначенные для защиты органов дыхания и кожного покрова. Использование средств индивидуальной защиты определяется классом проводимых работ;

– *санитарно-бытовые устройства*, предусматривают такие устройства, как умывальные, душевые обычного типа, санитарные пропускники и санитарные шлюзы (для 1 и 2 класса) в зависимости от класса выполняемых работ и числа работающих с открытыми источниками;

– *правила личной гигиены*, направленные на предупреждение попадания радионуклидов на спецодежду и кожный покров при работе с открытыми источниками, требуют выполнения радиационной асептики. В рабочей зоне запрещено курение, хранение продуктов, косметики, домашней одежды и др. предметов. При загрязнении кожного покрова требуется своевременная санитарная обработка. После выполнения работ обязателен дозиметрический контроль;

– *очистка от радиоактивных загрязнений поверхности строительных конструкций, аппаратуры и средств индивидуальной защиты*, если при высоком уровне загрязнения обработка не дает эффекта, производится демонтаж приборов и оборудования, смена средств индивидуальной защиты, их переработка и захоронение.

*Гигиена труда при использовании ИИИИ в медицине.* В целом система безопасности строится на реализации основных принципов защиты. Радиационная безопасность пациентов и населения должна быть обеспечена при всех видах медицинского облучения путем достижения максимальной пользы от рентгенорадиологических процедур и всесторонней минимизации радиационного ущерба при безусловном превосходстве пользы для облучаемых над вредом. С целью обеспечения радиационной безопасности персонала и населения разработана система мероприятий, отраженная в санитарно-гигиенических нормах. В них установлены нормы площади кабинетов, рекомендации по размещению оборудования, требования к средствам защиты, допустимые мощности излучения. Постоянно проводится санитарно-дозиметрический контроль.

*Радиационный контроль* при работе с источниками ИИ осуществляется служба радиационной безопасности предприятия, ведомственная служба и органы государственного санитарного надзора. Он может быть плановым (проверка соответствия обстановки требованиями НРБ и ОСП) или специальным (при изменении технологии или аварийных ситуациях). Также проводится *медицинский* (предупреждение приема на работу лиц с противопоказаниями и обнаружение признаков радиа-

ционного поражения у персонала) и *санитарно-дозиметрический* (надзор за выполнением требований законодательных документов и радиоактивностью окружающей среды) контроль.

### **Лекция 3. Интерфазная гибель высокорadioчувствительных клеток организма**

**Интерфазная гибель** клеток не связана с процессом клеточного деления и предшествует вступлению клетки в митоз, поэтому ее называют *немитотической* или *гибелью в отсутствие деления (апоптозом)*. Гибель клеток происходит через несколько часов или в первые сутки после облучения. При очень высоких дозах радиации интерфазная гибель наступает сразу же, «под лучом».

Классификация основных форм интерфазной гибели клеток (предложена Гольдштейном и Окадой в 1969 г.):

1. Гибель некоторых видов неделящихся или ограниченно делящихся клеток после облучения (малые лимфоциты, тимоциты, ооциты, эмбриональные клетки и др.). Гибель происходит в первые часы после облучения в дозах 0,1–4,0 Гр, то есть интерфазная гибель высокорadioчувствительных клеток.

2. Интерфазная гибель неделящихся или медленно делящихся клеток взрослого организма (гепатоциты, миоциты, нейроны и др.). Этот вид ИГ наступает при дозах 10–100 Гр, то есть интерфазная гибель радиоустойчивых клеток.

3. Интерфазная гибель (10–20 Гр) делящихся клеток в культуре.

Методы оценки интерфазной гибели радиочувствительных лимфоидных клеток:

- 1) окраска специфическими красителями;
- 2) подсчет пикнотических ядер и безядерных клеток;
- 3) определение поглощения изотопов хрома-51;
- 4) определение уровня поглощения кислорода;
- 5) цитофлуориметрические, биохимические, электрофорез и др.

Модификация ИГ клеток:

- 1) кислородный эффект – увеличение ИГ;
- 2) изменение pH и снижение температуры – задержка ИГ;
- 3) дыхательные яды (цианиды), НАД, ингибиторы синтеза белка (тетрациклин), ингибиторы синтеза РНК – торможение ИГ;
- 4) радиопротекторы.

*Молекулярные механизмы ИГ высокорadioчувствительных клеток.* Основные изменения происходят в геноме и мембранах. В ядре появляются одно- и двунитевые разрывы ДНК, внутри- и межмолекулярные сшивки. В мембранах активируется перекисное окисление ли-

пидов (ПОЛ), фосфолипазный гидролиз, в следствие этого происходит изменение физико-химического состояния мембран, которое вызывает нарушение их функций.

Результатом этих нарушений является изменение ионного состава цитоплазмы, активация фосфорилирующих и гидролитических ферментов, биохимические изменения в белках, нуклеозидов. Эти процессы вызывают каспазный каскад, который разрушает жизненно важные белки и фрагментирует ДНК. В дальнейшем происходит уплотнение хроматина, его фрагментация и распад на апоптозные тельца (везикулы), которые поглощаются макрофагами.

В популяции клеток биологические эффекты могут возникать в клетках, которые не подверглись облучению. Эти клетки получили название bystander клетки. Bystander effect: то есть для повреждения клеток не обязательно прямое попадание. В необлученных клетках наблюдается экспрессия генов, репарация ДНК, аберрации хромосом, мутации, гибель клеток.

Современные данные свидетельствуют о том, что облучение само усиливает межклеточные коммуникации. Итак, можно предположить, что индивидуальные облученные клетки нельзя рассматривать как изолированные функциональные единицы, а ткани целиком реагируют на облучение. В случае гамма или рентгеновского воздействия, когда облучаются все клетки, общая биологическая реакция будет отражать комбинацию прямого и байстандер эффектов. Такое явление может влиять на характер кривой доза-реакция в случаях низкоуровневого облучения [Little, 2006].

Имеются данные об активации окислительного метаболизма в байстандер-клетках [Little, 2003]. Были использованы различные методы, включая исследования по ингибированию путей метаболизма, участвующих в окислительном стрессе, трансфекцию с использованием соответствующих генно-инженерных методов для стимуляции синтеза антиоксидантов и измерения активных форм кислорода в байстандер-клетках. Инкубирование с супероксиддисмутазой (SOD) подавляет байстандер-эффект и вызывает распад активных форм кислорода.

Среда от потомков облученных клеток вызывает апоптоз у необлученных клеток: быстрый вход кальция, потерю мембранного потенциала, возрастание активных форм кислорода. Эффект не зависит от дозы. Сигнал передается от облученных клеток и их потомков.

#### **Лекция 4. Биология клеточного цикла при действии ионизирующего излучения**

Наиболее универсальная реакция клетки на воздействие ионизирующих излучений – временная задержка деления или радиационный блок митозов. Длительность его зависит от дозы: на каждый грей дозы клетка отвечает задержкой митоза на 1 ч. Проявляется этот эффект независимо от того, выживет ли клетка в дальнейшем. Причем с увеличением дозы облучения увеличивается не число реагирующих клеток, а время задержки деления каждой облученной клетки. Эта реакция имеет огромное приспособительное значение: увеличивается длительность интерфазы, оттягивается вступление клетки в митоз, создаются благоприятные условия для нормальной работы системы репарации.

**Сверочные точки клеточного цикла.** В ходе цикла клетка претерпевает несколько дискретных переходов, осуществляемых в норме благодаря регуляторным механизмам в строгом порядке и в точное время. Переход клетки из одной стадии в другую не может произойти, если не завершились все процессы, свойственные предшествующей стадии цикла. Для этого существуют механизмы позитивного и обратного контроля, причем последние играют роль преобладающих. Они образуют регуляторные цепи с функцией надзирающего (контрольного) механизма, который отслеживает завершение критических явлений цикла и разрешает клетке последующие переходы.

*Различают два вида таких регуляторных цепей – внутренние и внешние.*

Внутренние механизмы действуют в каждой клетке, поддерживая последовательность событий.

Внешние механизмы являются индуцируемыми и проявляются только тогда, когда возникает какой-либо дефект, требующий устранения.

Оба механизма могут использовать те же компоненты, которые обеспечивают блок клеточного цикла. Таким образом, сверочные точки цикла являются регуляторными путями, которые контролируют порядок и время перехода клетки из одной фазы в другую и гарантируют, что такие критические явления, как репликация ДНК и расхождение хромосом, завершатся с высокой точностью. Они отвечают на повреждение остановкой клеточного цикла, чтобы обеспечить время для репарации и индукции генов, ускоряющих репарацию. Утрата сверочных точек приводит к снижению репродуктивного соответствия одноклеточных организмов, а в многоклеточных организмах – к нестабильности генома, неконтролируемой пролиферации и является частью процесса превращения нормальных клеток в раковые.

**G1- и G2-блоки.** Радиационно-индуцируемые задержки, обусловленные активацией сверочных точек клеточного цикла в G1-, S- и G2-

периодах, обнаружены в 1980 г. Блокирование клеток на переходе из G1-периода в S страхует клетки от синтеза ДНК в субоптимальных условиях, в частности, при структурно-неполноценной ДНК-матрице.

Остановка движения клеток по циклу в G1-периоде в ответ на повреждение ДНК происходит как минимум в две стадии. На первой стадии быстрая p53-независимая инициация G1-блока опосредуется протеолизом циклина D1, на второй, более медленной, G1-блок поддерживается стабилизацией белка p53.

Выход клеток из G2-периода и вступление в митоз контролируется эволюционно-консервативной киназой CDC2, активатором которой служит циклин B1, последний накапливается во время G2-M и исчезает в конце митоза.

По современным представлениям, G2-блок клеточного цикла в результате повреждения ДНК представляет собой внешний процесс, при помощи которого пути проведения сигнала повреждения замыкаются на механизм клеточного цикла и направлены на устранение возникшего дефекта. Молекулярные механизмы регуляции белком и геном p53, используемые в сверочной точке G2 идентичны тем, которые участвуют в сверочной точке G1.

Воздействие на клетки ионизирующей радиации в более низких дозах приводит к преобладанию G1-блока. Более высокие дозы вызывают накопление в клетках в G2, p53 контролирует сверочную точку G2 путем ингибирования транскрипционной поддержки содержания циклина B1 и циклин B1-промоторной активности.

*Контроль в сверочной точке веретена.* Кроме эффектов опухолевого супрессорного белка p53 в G1/S и G2/M в сверочных точках клеточного цикла при различных стрессовых ситуациях отмечена его активация, когда повреждение проявляется в митотическом веретене. Первоначально повреждение веретена активирует p53-независимую сверочную точку, которая функционирует при переходе из метафазы в анафазу и предохраняет клетки от прохождения через митоз до завершения образования веретена. Клетки обычно уклоняются от этого блока (процесс, обозначаемый термином «митотическое выскальзывание» – mitotic slippage), и возникает aberrантный митоз, при котором сестринские хроматиды не могут разделиться должным образом. После периода отсрочки p53 реагирует на этот дефект установлением G1-подобной задержки роста с интактным ядром, содержащим 4N ДНК, но без перехода клеток к делению.

### ***Лекция 5. Репродуктивная гибель клеток***

Большая часть облученных клеток проходит митоз и делится. Однако сразу же после первого деления появляются погибшие клетки. Еще больше клеток гибнет после второго, третьего и т. д. митозов. Описан-

ный тип гибели неразрывно связан с процессом митоза. Его особенность в том, что облученные клетки в течение определенного промежутка времени сохраняют метаболическую активность, но не продуцируют жизнеспособное потомство, которое было бы в состоянии делиться далее. До первого постлучевого митоза погибшие клетки не появляются – процессы митоза как бы выявляют летальные повреждения, вызванные облучением. Это репродуктивная гибель клеток.

*Количественные характеристики гибели облученных клеток.* При исследовании зависимости доли погибших клеток от величины дозы облучения выяснили, что различные одноклеточные объекты гибнут при самых малых дозах облучения, с ростом дозы увеличивается число погибших клеток, однако при любой как угодно большой дозе некоторое число клеток сохраняет жизнеспособность.

С ростом дозы облучения увеличивалась не столько степень проявления эффекта (глубина поражения клетки), сколько доля пораженных, то есть число клеток в облученной популяции, реагирующих данным образом на облучение.

Количественный метод определения выживаемости клеток млекопитающих после облучения впервые был разработан в 1956 г. Паком и Маркусом для культуры клеток *HeLa* (рис. 1).

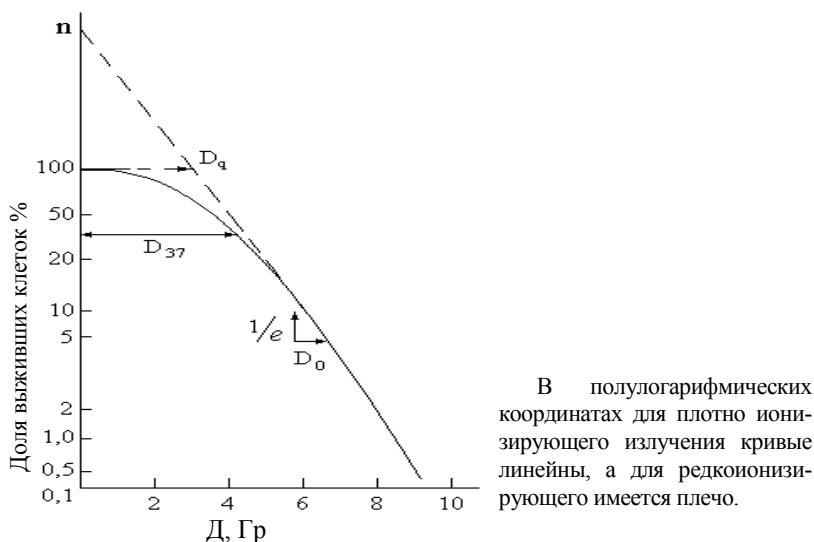


Рис. 1. Дозовая кривая выживаемости клеток

Лишь в ограниченном числе случаев зависимость доли выживших клеток от величины дозы облучения описывается простой одноударной кривой.



При облучении клеток редко наблюдаются экспоненциальные дозные кривые. Значительно чаще в эксперименте получают кривые «доза–эффект».

$n$  – экстраполяционное число, определяемое как значение ординаты в месте ее пересечения экстраполированным прямолинейным участком кривой выживаемости, определяет исходную радиочувствительность и вычисляется как приращение дозы, снижающей выживаемость в  $e$  раз на прямолинейном участке кривой;  $D_0$  «доза–эффект».  $D_q$  «квазипороговая доза» – соответствует отрезку, отсекаемому от перпендикуляра, проведенного из точки 100 %-ной выживаемости на оси ординат, продолжением линейного участка кривой выживаемости.

Величины  $D_{37}, D_0, n, D_q$  характеризуют радиочувствительность клетки и ее способность восстанавливать радиационное поражение.

**Модификация репродуктивной гибели.** Радиочувствительность быстродействующих клеток удается модифицировать за счет воздействий, изменяющих плоидность, продолжительность отдельных стадий жизненного цикла, характер внутриклеточного метаболизма. Кроме того, репродуктивная гибель зависит от физических параметров среды: температуры, состава атмосферы, присутствия в облучаемой системе ряда химических агентов, степени замещения нуклеотидов ДНК на бромированные аналоги.

**Факторы, способные изменять степень начального радиационного поражения клетки.** Установлено, что в присутствии кислорода увеличивается выход одонитевых разрывов ДНК и эффективность летального поражения клеток. Другой модифицирующий агент – бромдезоксигуанидин – включается в состав ДНК вместо тимидина. При этом увеличивается число одонитевых разрывов.

Цистеамин и цистеин увеличивают устойчивость клеток к радиации и снижают выход одно- и двунитевых разрывов в ДНК.

**Факторы, изменяющие процессы восстановления.** При увеличении плоидности клетки повышается ее устойчивость к излучению и способность восстанавливать повреждения генетического аппарата. Напротив, с ростом ЛПЭ излучения в 2–3 раза увеличивается эффективность лучевого поражения клеток и снижается их способность к восстановлению, вероятно, за счет появления труднорепарируемых повреждений.

Целый ряд химических агентов, влияющих на восстановление клетками радиационных повреждений, модифицируют радиочувствительность (актиномицин Д, циклогексимид, стрептовитагин А и др.).

**Факторы, изменяющие распределение клеточной популяции по возрасту.** На разных стадиях клеточного цикла клетки обладают неодинаковой радиочувствительностью. Для большинства клеток наиболее радиочувствительны стадии – поздняя G<sub>2</sub>, M и поздняя G<sub>1</sub>. На стадиях

поздняя S и ранняя G1 клетки наиболее устойчивы к облучению. Некоторые воздействия изменяют продолжительность отдельных стадий клеточного цикла и, таким образом, модифицируют радиочувствительность популяции клеток.

Относительная значимость хромосомных aberrаций в репродуктивной гибели может быть оценена исследованием скорости элиминации aberrантных клеток в следующих за радиационным воздействием клеточных делениях.

Предполагают, что в основе нарушения способности клетки к делению лежит возникновение хотя бы одной двухударной асимметричной хромосомной перестройки (типа дицентриков и центрических колец). Каждое первичное повреждение хромосом (двойной разрыв ДНК) является эффектом одного попадания, то есть прохождением одной ионизирующей частицы через сечение хромосомы, а среднее число повреждений на клетку пропорционально дозе облучения. Репарация первичных повреждений хромосом происходит независимо друг от друга по экспоненциальному закону. Взаимодействия между повреждениями осуществляются согласно обменной гипотезе Ривелла, при этом допускается свободное перемещение хромосом по ядру. Таким образом, при облучении редкоионизирующим излучением первичные повреждения возникают равномерно внутри ядра на нитях интерфазных хромосом. Вследствие перемещения хроматиновых нитей в ядре возможно взаимодействие отдаленных друг от друга первичных повреждений, которые устраняются в пострадиационном периоде (репарация) или приводят к образованию асимметричных обменов, то есть фиксируются.

Существует предположение, что после облучения выживут лишь те клетки, в которых не произошло ни одного асимметричного обмена хромосом. Таким образом, выживаемость будет определяться средним числом обменов на клетку.

## РАДИАЦИОННАЯ БИОХИМИЯ

### Лекция 6. Свободные радикалы в организме человека

В лекции рассматриваются определения, характерные реакции, дается краткая характеристика отдельных радикалов и активных форм кислорода.

**Свободные радикалы (СР)** – это электрически нейтральные атомы или молекулы, имеющие непарный электрон на внешней электронной оболочке. Они являются весьма реакционно-способными, так как имеют тенденцию спаривать этот электрон с аналогичным электроном в другом свободном радикале, либо удалять его из атома путем электронного излучения. Следовательно, СР могут быть как окислителями (акцепторами), так и восстановителями (донорами).

Стационарная концентрация СР в клетках всегда очень мала. СР участвуют в нормальном функционировании живых клеток и тканей, а также в развитии некоторых патологических состояний. Образуются свободные радикалы и при действии ионизирующего излучения. В присутствии в среде кислорода выход СР увеличивается. Образующиеся формы называют активными формами кислорода (АФК). К ним относят гидроксильный ( $\text{OH}^\bullet$ ), ( $\text{O}^{\bullet 2}$ ), гидропероксильный ( $\text{HO}_2^\bullet$ ), пероксильный ( $\text{ROO}^\bullet$ ) и алкоксильный ( $\text{RO}^\bullet$ ) радикалы, а также молекулы синглетного кислорода ( $^1\text{O}_2$ ), атомарного водорода ( $\text{H}^\bullet$ ), перекиси водорода  $\text{H}_2\text{O}_2$ , пероксинитрит-иона ( $\text{ONOO}^-$ ), монооксида ( $\text{NO}^\bullet$ ), озона ( $\text{O}_3$ ), гипохлорноватистой кислоты ( $\text{HOCl}$ ) и др.

СР могут взаимодействовать между собой, а также с белками, липидами и нуклеиновыми кислотами. Наблюдаемая при этом химическая модификация приводит к изменению структуры этих макромолекул, их формы и биохимических свойств, появлению точковых мутаций, к инактивации ферментов, разрушению биологических мембран и онкогенезу.

#### Некоторые характерные реакции радикалов:

1. Димеризация:  $\text{A}^\bullet + \text{B}^\bullet \rightarrow \text{A-B}$  (обратимая реакция, или гомолитическое расщепление).
2. Расщепление – реакция, при которой радикалы расщепляются, давая в результате устойчивую молекулу и новый радикал:  $\text{AB}^\bullet \rightarrow \text{A} + \text{B}^\bullet$ .
3. Присоединение к двойной связи:  $\text{A}^\bullet + >\text{C}=\text{C}< \rightarrow >\text{C}-\text{C}^\bullet<$ .
4. Перенос атома водорода:  $\text{A}^\bullet + \text{R-H} \rightarrow \text{A-H} + \text{R}^\bullet$ .
5. Перенос неспаренного электрона:  $\text{A} + \text{B} \rightarrow \text{A}^{+\bullet} + \text{B}^{\bullet -}$ .

#### Характеристика отдельных активных форм кислорода

**Супероксид ( $\text{O}^{\bullet 2}$ )** образуется при присоединении к кислороду дополнительного электрона.

### *Источники $O_2^{\cdot-}$ в организме:*

- митохондриальная и микросомальная электротранспортная цепь – прямой перенос электронов на кислород;
- ксантиноксидаза и другие флавопротеиноксидазы;
- автоокисление гидрохинонов, катехоламинов, тиолов;
- нейтрофилы;
- окисление гемоглобина:  $\text{гем-Fe}_2^+ - O_2 - \text{гем-Fe}_3^+ + O_2^-$  (метгемоглобин);
- ионизирующее излучение.

Приблизительно 1–3 % всего потребляемого кислорода превращается в  $O_2^{\cdot-}$

### *Основные свойства:*

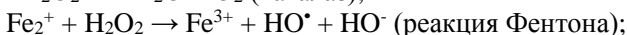
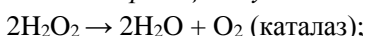
- отрицательно заряженный ион;
- короткоживущий, при физиологическом рН порядка миллисекунд;
- физиологическая концентрация  $10^{-11}$ – $10^{-10}$  М;
- невысоко реактивен (несмотря на название «супер»);
- способность проникать через мембраны ставится под сомнение.

**Перекись водорода ( $H_2O_2$ )** – образуется в результате дисмутации  $O_2^{\cdot-}$  (спонтанно или с помощью супероксиддисмутазы); при активации ксантиноксидазы, глюкозооксидазы и других оксидаз; при активации респираторного взрыва фагоцитирующих клеток, при усиленной деятельности митохондриальной и микросомальной деятельности ЭТЦ.

### *Основные свойства:*

- слабый окислитель;
- легко проникает через мембраны при отсутствии восстановителей (через аквапоры);
- токсичен для большинства клеток  $>100$  мкМ;
- время полураспада при  $37^\circ\text{C}$  – 10–100 с;
- физиологическая концентрация в организме –  $10^{-9}$ – $10^{-7}$  М, однако считают, что в различных клетках организма может быть и более.

### *Основные реакции с участием $H_2O_2$ :*



**Гидроксил радикал ( $OH^{\cdot}$ )** образуется при воздействии ионизирующего и УФ излучения.

### *Основные свойства:*

- физиологическая концентрация в организме  $10^{-14}$  М;
- высокореактивен;
- короткоживущий, время полураспада при  $t = 37^\circ\text{C}$  –  $10^{-9}$  с;
- длина прохождения в биологической ткани – 100 нм;

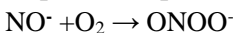
- характер повреждающего действия зависит от локализации радикала;
- взаимодействие с биологическими молекулами дает образование менее реакционно-способных вторичных радикалов, способных к диффузии и продолжению цепной реакции за счет взаимодействия с новыми молекулами.

**Монооксид азота (NO<sup>•</sup>)** образуется с помощью фермента NO-синтетазы.

*Основные свойства:*

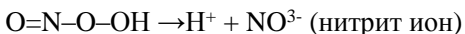
- радикал;
- относительно долгоживущий радикал при отсутствии кислорода (секунды);
- физиологическая концентрация в организме  $10^{-8}$  M;
- проникает через мембраны;
- используется организмом как сигнальная молекула. Выполняет различные функции в зависимости от системы, то есть медиатор, вазодиллятор, бактерицидное действие.

**Пероксинитрит-ион (ONOO<sup>-</sup>)** образуется в результате реакции:



*Основные свойства:*

- намного быстрее, чем NO взаимодействует с гемом;
- физиологическое значение – регуляция NO и супероксида;
- с другой стороны, ONOO<sup>-</sup> очень токсичен, когда он получает протон водорода (ONOOH), то может вызвать повреждение клеточных структур, стабилен в щелочной среде;
- при физиологических pH время полураспада – 1 сек.



**Гипохлорноватистая кислота (HOCl)** образуется в нейтрофилах при участии фермента миелопероксидазы:  $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Cl}^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{HOCl} + \text{H}_2\text{O}$ .

*Основные свойства:*

- слабая кислота, pK = 7,5;
- мощный двухэлектронный окислитель;
- может образовывать гидроксильные радикалы в присутствии ионов железа и супероксида:  $\text{HOCl} + \text{O}_2^{\bullet -} \rightarrow \text{HO}^{\bullet} + \text{O}_2 + \text{Cl}^-$ .

**Озон (O<sub>3</sub>)** –трехатомный газ, не являющийся свободным с радикалом, но мощный окислитель. Важный щит для предохранения от солнечной радиации. Хлорфторгалогены (содержащиеся в аэрозоле) разлагают его с образованием радикала Cl<sup>•</sup>:  $\text{Cl}^{\bullet} + \text{O}_3 \rightarrow \text{ClO} + \text{O}_2$ .

**Синглетный кислород (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)** образуется в результате реакции фотосенсибилизированного окисления биологических субстратов и неферментативной дисмутации супероксидных радикалов в присутствии ионов металлов переменной валентности.

*Основные свойства:*

- время полураспада при  $t = 37\text{ }^\circ\text{C} - 10^{-6}\text{ с}$ ;
- в отличие от супероксидрадикала обладает высокой химической активностью по отношению к полиненасыщенным жирным кислотам, ароматическим аминокислотам и азотистым основаниям;
- типичная реакция – взаимодействие с двойной связью, с образованием диоксиэтанов, и в дальнейшем гидроперекисей.

### **Лекция 7. Радиационно-химические изменения основных макромолекул (белков, липидов, нуклеиновых кислот)**

Повреждающее действие СР и АФК сводится к инициации перекисного окисления липидов, окисления белков и ДНК.

**Перекисное окисление липидов (ПОЛ).** Под ПОЛ понимают свободно-радикальное окисление полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) в биологических системах. ПОЛ является одним из основных процессов повреждения биологических мембран при действии радиационного фактора и многих патологических состояниях.

Процесс ПОЛ протекает в три стадии: инициация, продолжение и обрыв. Инициирование первой цепочки последовательного окисления ПНЖК мембранных липидов происходит в результате взаимодействия кислоты со СР, способными отщепить атом водорода от метиленовой группы ( $-\text{CH}_2-$ ). Инициировать ПОЛ могут  $\text{HO}^\cdot$ ,  $\text{HO}_2^\cdot$ ,  $\text{RO}^\cdot$  и  $\text{RO}_2^\cdot$ .

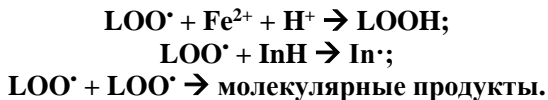
Инициирование цепной реакции начинается с того, что в липидный слой мембран или липопротеинов внедряется свободный радикал (гидроксильный радикал), способный проникать в толщу гидрофобного липидного слоя и вступать в химическое взаимодействие с ПНЖК (LH), входящими в состав биологических мембран и липопротеинов плазмы крови. При этом образуются липидные радикалы ( $\text{L}^\cdot$ ):  $\text{HO}^\cdot + \text{LH} \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{L}^\cdot$ .

Липидные радикалы в присутствии в среде кислорода образуют пероксидные радикалы ( $\text{LOO}^\cdot$ ):  $\text{L}^\cdot + \text{O}_2 \rightarrow \text{LOO}^\cdot$ .

Далее  $\text{LOO}^\cdot$ -радикал атакует одну из соседних молекул фосфолипидов с образованием гидроперекиси липида ( $\text{LOOH}$ ) и липидного радикала ( $\text{L}^\cdot$ ):  $\text{LOO}^\cdot + \text{LH} \rightarrow \text{LOOH} + \text{L}^\cdot$ .

Чередование двух последних реакций представляет собой цепную реакцию перекисного окисления липидов. Существенное ускорение ПОЛ наблюдается в присутствии ионов двухвалентного железа. В этом случае происходит разветвление цепей в результате взаимодействия  $\text{Fe}^{2+}$  с гидроперекисями липидов:  $\text{Fe}^{2+} + \text{LOOH} \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{HO}^\cdot + \text{LO}^\cdot$ .

В биологических мембранах цепи могут состоять из десятка и более звеньев. Но в конце концов цепь обрывается в результате взаимодействия свободных радикалов с антиоксидантами (InH), ионами металлов переменной валентности (например,  $\text{Fe}^{2+}$ ) или друг с другом:



Обнаружено, что процессы ПОЛ ингибируются  $\text{NO}\cdot$ . В результате взаимодействия  $\text{NO}\cdot$  и  $\text{LOO}\cdot$  происходит образование органического нитрита  $\text{LONO}_2$ , последний подвергается гидролизу.

Наиболее важными изменениями в мембранных структурах при ПОЛ являются окисление тиоловых соединений, увеличение проницаемости мембраны для ионов кальция и уменьшение стабильности липидного слоя мембраны, что может привести к электрическому пробоею мембраны собственным мембранным потенциалом. Электрический пробой приводит к полной потере мембраной ее барьерных функций. Кроме того, продукты ПОЛ (4-гидроксиалкенали, МДА и др.) являются мутагенными и цитотоксичными.

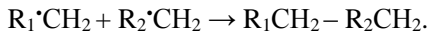
**Радиационно-химические изменения белков** связывают с повреждением аминокислот, входящих в их состав. При прямом действии ионизирующего излучения из молекулы белка выбивается электрон, далее происходит перенос неспаренного электрона вдоль полипептидной цепи за счет переброски соседних электронов до тех пор, пока не достигнет участка с повышенными электрон-донорными свойствами. В этом месте в боковых цепях аминокислот и возникают свободные радикалы (отрыва водорода от C–H– связей) белков.

При косвенном действии ионизирующего излучения на белки основным радикалом, вызывающим их окислительные модификации, является  $\text{HO}\cdot$  и гидратированный электрон ( $e_{\text{aq}}^-$ ). Они атакуют, в первую очередь, остатки ароматических (триптофан), серосодержащих (цистеин и метионин, содержат SH-группы) аминокислот и приводят к образованию углеродцентрированных радикалов ( $-\text{CH}_2-\text{O}\cdot \rightarrow -\cdot\text{CH}-\text{OH}$ ) и разрыву двойных связей. Углеродцентрированные радикалы могут образовываться в результате вторичных реакций алкоксильных ( $\text{RO}\cdot$ ) (1), пероксильных ( $\text{ROO}\cdot$ ) (2), азотцентрированных радикалов ( $-\text{CH}_2-\cdot\text{NH}$ ) (3) или в результате декарбоксилирования карбоксильной группы (4):



В присутствии кислорода углеродцентрированные радикалы вступают в реакции образования пероксильных радикалов ( $\text{R}\cdot + \text{O}_2 \rightarrow \text{ROO}\cdot$ ), которые в результате цепи последовательных реакций, могут приводить к образованию гидропероксидов, алкоксильных радикалов и гидроксильных белковых производных (или спиртов). Кроме того, углеродцент-

рированные радикалы могут вступать в реакции друг с другом, образуя межбелковые связи:



Все эти события приводят к разрывам водородных, гидрофобных, дисульфидных связей в полипептидной цепи, модификации аминокислот, образованию сшивок и агрегатов между пептидными цепями, конформационным изменениям вторичной и третичной структур белка. Следовательно, изменяется их конформация, лабильность, устойчивость к температуре, гидрофильность, что проявляется в изменении биологически существенных свойств белков – энзиматическая активность, способность к аллостерическим преобразованиям, узнавание белковых молекул в реакциях иммунитета, самосборка в надмолекулярные структуры, рецепторные свойства белка в реакциях переноса и взаимодействия белков с нуклеиновыми кислотами и др.

В зависимости от аминокислотного состава белка, его первичной и вторичной структуры, состояния на момент облучения, наличия или отсутствия кислорода, pH, присутствия посторонних веществ, перечисленные изменения будут возникать в различных местах молекулы с различной вероятностью проявления.

**Радиационно-химическая модификация нуклеиновых кислот.** Около 1–7 % поглощенной дозы приходится на ядерную ДНК. Механизм повреждения сходен с повреждением белков: выбивание электрона, миграция дефектного участка по полинуклеотидной цепи до участка с повышенными электрон–донорными свойствами. Такое место (чаще всего) участок локализации азотистых оснований тимина или цитозина, где и образуется свободные радикалы этих оснований. При косвенном действии ионизирующего излучения образование свободных радикалов НК происходит при взаимодействии с такими продуктами радиолиза воды, как  $HO\cdot$  и  $^1O_2$ . В реакциях с  $HO\cdot$  в ДНК индуцируется образование повреждения всех четырех оснований и дезоксирибозы. Например, под действием  $HO\cdot$  радикала  $NH_2$  группа в азотистых основаниях заменяется на гидроксильную и гуанин превращается в ксантин, аденин – в гипоксантин, цитозин – в урацил, что приводит к замене кодирующей информации. При взаимодействии пиримидиновых оснований с кислородом образуются пероксидные радикалы разного вида, которые вступают в дальнейшие реакции с биомолекулами. Гуанин также может превратиться в 7,8-дигидро-8-оксогуанин, с образованием которого связывают индукцию мутагенеза, канцерогенеза и ускорение процессов старения. В отсутствие кислорода  $HO\cdot$  вызывает одноцепочечные разрывы молекулы ДНК, сопровождающиеся высвобождением оснований и формированием модифицированных сахаров. Могут возникать и двунитевые разрывы. Кроме того, образуются сшивки ДНК-ДНК, ДНК-белок.



В силу схожего построения молекул РНК с ДНК, здесь возможны также разрывы цепи (однонитевые), модификация и отщепление оснований. Нарушение вторичной структуры тРНК скажется на ее функциях, но не будет иметь серьезных последствий для клетки ввиду наличия множества идентичных молекул и возможности замены поврежденных молекул нативными.

### **Лекция 8. Антиоксидантная система человека (классификация, функции, характеристика отдельных антиоксидантов)**

Организм человека обладает многоуровневой системой защиты от повреждающего действия окислителей. Существуют различные классификации компонентов антиоксидантной системы (АОС). По молекулярному строению в составе АОС выделяют ферменты и органические соединения, не обладающие ферментативной активностью. По отношению к действию в водной или липидной фазе восстановители делят на полярные и неполярные (или водо- и жирорастворимые). По локализации действия относительно клеточных структур компоненты АОС разделяют на мембранные, внутриклеточные и внеклеточные.

АОС представлена ферментами (супероксиддисмутазой (СОД), каталазой, глутатион-пероксидазой, глутатионредуктазой, глутатион-S-трансферазой, церулоплазмином и др.), фитонутриентами (витаминами Е, А, С, К, Р, полифенолами, селеном и др.), секвестрантами металлов (трансферритином, гемопексином и др.), а также такими антиоксидантами, как билирубин, биливердин, таурин, убихинол (коэнзим Q<sub>10</sub>), некоторыми гормонами (тироксин, кортикостероиды, эстрогены), серосодержащими аминокислотами (цистеин, цистин, глутатион). Отдельные элементы АОС в клетке действуют комплексно, часто усиливая эффекты друг друга.

**Основные функции** антиоксидантов – способность тормозить, уменьшать интенсивность свободнорадикального окисления (СРО) и нейтрализовывать свободные радикалы (СР) путем обмена своего атома водорода (в большинстве случаев) на кислород СР (табл.).

Таблица – Основные ферментативные и неферментативные компоненты антиоксидантной системы

<i>Антиоксиданты</i>		<i>Локализация</i>	<i>Функция</i>
<i>Ферменты и белки</i>			
СОД:	Cu/Zn-СОД Mn-СОД Fe-СОД	Эритроциты, цитоплазма Митохондрии Плазма крови	Тушение O <sub>2</sub> <sup>-</sup>
Каталаза		Пероксисомы	Тушение H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Глутатионпероксидаза		Цитоплазма, митохондрии	Деградация H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> и перекисей липидов
Ферритин		Цитоплазма	Хелатор Fe <sup>2+</sup>
Церулоплазмин		Внеклеточная жидкость	Хелатор Cu <sup>2+</sup> , окисление Fe <sup>2+</sup> , тушение O <sub>2</sub> <sup>-</sup>
Альбумин		Внеклеточная жидкость	Хелатор Cu <sup>2+</sup> , тушение OH <sup>·</sup> , LOO <sup>·</sup> , HOCl
<i>Низкомолекулярные соединения</i>			
Витамин Е		Биомембраны	Тушение OH <sup>·</sup> , LOO <sup>·</sup> , HOCl (связывает жирорастворимые свободные радикалы)
Убихинол		Биомембраны	Тушение OH <sup>·</sup> , LOO <sup>·</sup> , HOCl
Каротиноид		Биомембраны	Тушение OH <sup>·</sup> , LOO <sup>·</sup> , HOCl, <sup>1</sup> O <sub>2</sub> (связывает жирорастворимые СР)
Витамин С		Цитоплазма	Тушение OH <sup>·</sup> , O <sub>2</sub> <sup>-</sup> (связывает водорастворимые СР)
Глутатион		Цитоплазма, митохондрии	Тушение OH <sup>·</sup> , O <sub>2</sub> <sup>-</sup>
Мочевая кислота		Кровь	Связывает водорастворимые СР
Билирубин		Кровь	Предотвращение ПОЛ

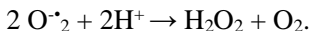
### Характеристика отдельных компонентов АОС

**Супероксидсмутаза (СОД)** клеток высших животных и человека представляет собой димер (32 кДа), содержащий один атом меди и один атом цинка, обозначается как Cu,Zn-СОД. Считается, что атом меди обеспечивает каталитическую активность фермента, а атом цинка придает ему стабильность. Cu,Zn-СОД у человека и животных – преимущественно внутриклеточный фермент (цитозоль, межмембранное пространство митохондрий). Только небольшие количества фермента присутствуют в плазме крови, цереброспинальной или синовиальной жидкостях.

Кроме Cu,Zn-СОД, существует супероксиддисмутаза, содержащая ион марганца (Mn-СОД). Mn-СОД обнаружена как у прокариот, так у эукариот. У высших животных Mn-СОД присутствует в цитозольной

фракции печени и матриксе митохондрий. Кроме того, описана железосодержащая форма СОД (Fe-СОД), которая имеется у прокариот и содержится в растительных клетках.

СОД катализирует реакцию образования перекиси водорода из супероксидного радикала ( $O_2^{\cdot -}$ ). Скорость этой реакции более чем в 10 000 раз выше по сравнению с тем, как это происходит при спонтанной дисмутации  $O_2^{\cdot -}$  в физиологических условиях. При этом в отличие от спонтанной дисмутации  $O_2^{\cdot -}$  образуется перекись водорода и триплетный кислород:



СОД, тормозя процесс избыточной генерации супероксидного радикала, осуществляет защитное действие и выступает в качестве природного мембрано- и цитопротектора.

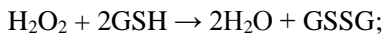
**Каталаза** – тетрамер гемопротейн, присутствующий во всех аэробных клетках. Функция каталазы сводится к разрушению токсической перекиси водорода, образующейся в ходе различных окислительных процессов в организме, на воду и молекулярный кислород:  $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$ , а также окисляет в присутствии перекиси водорода низкомолекулярные спирты и нитриты.

У эукариот она локализована преимущественно в пероксисомах, где находятся перекись генерирующие ферменты – глюкозооксидаза, уратоксидаза, флавопротеиндегидрогеназа. Каталаза содержится в печени, почках, мышцах, головном мозге, костном мозге, эритроцитах, легких, сердечной мышце, спинномозговой жидкости, ее активность также определяется в моче. Наибольшая активность каталазы у человека отмечается в печени и эритроцитах. Меньше ее активность в мозгу, скелетных мышцах, поджелудочной железе, легких.

**Глутатионпероксидаза (ГПО)** – трипептид глутатион, содержащий глутаминовую кислоту, цистеин и глицин. У млекопитающих ГПО содержится практически во всех органах. Особенно велика активность в печени, почках, тканях глаза, эритроцитах, сердце. Наибольшая активность отмечается в печени. Обнаружено присутствие ГПО в кишечнике человека. Активность этого фермента изменяется под влиянием факторов окружающей среды, режима питания и содержания в пище селена. Добавление селена к пище приводит к повышению активности ГПО. Так как имеется селенсодержащая (ГПО), в которой в цистеине атом серы замещен атомом селена.

Считается, что ГПО в отличие от каталазы, катализирует разложение как  $H_2O_2$ , так и гидроперекисей жирных кислот, перекисей белкового и нуклеинового происхождения, перекисей холестерина, стероидов, витамина К, простагландинов. Разложение перекисей протекает с участием глутатиона, который выступает в качестве донора водорода. Две молеку-

лы восстановленной формы глутатиона (GSH) при окислении образуют глутатион-дисульфид (GSSG) – окисленную форму глутатиона:



Восстановление глутатион-дисульфида происходит с помощью глутатионредуктазы:  $\text{GSSG} + \text{НАДФН} + \text{H}^+ \rightarrow 2\text{GSH} + \text{НАДФ}^+$ .

Наряду с этим, восстановленный глутатион может вступать в прямые реакции с  $\text{HO}^\bullet$ ,  $\text{ONOO}^\bullet$ ,  $\text{NO}_3^\bullet$  и другими окислителями, выступая в роли антиоксиданта:  $\text{R}^\bullet + \text{GSH} \rightarrow \text{RH} + \text{GS}^\bullet$ ;  $\text{GS}^\bullet + \text{GS}^\bullet \rightarrow \text{GSSG}$ .

# ТОКСИКОЛОГИЯ

## **Лекция 9. Понятие о специфическом и неспецифическом действии вредных веществ. Основные проявления токсического действия. Зависимость между дозой токсиканта, временем его воздействия и возникающим эффектом**

**Вредное вещество** – это вещество, которое при контакте с организмом человека в случае нарушений требований безопасности может вызвать производственные травмы, профессиональные заболевания или отклонения в состоянии здоровья, обнаруживаемые современными методами, или в состоянии работы, в отдаленные сроки жизни настоящего или последующих поколений.

Действие токсикантов может быть общим (резорбтивным) или местным.

**Общее действие** вредного вещества вызывается в результате всасывания токсиканта в кровь. При этом нередко наблюдается относительная избирательность (специфичность), выражающаяся в преимущественном поражении определенных органов и систем (например, при отравлении бензолом преимущественно поражается кроветворная система).

При **местном действии** вредного вещества преобладает поражение ткани в месте соприкосновения с токсикантом (раздражение, воспаление, ожог). Чаще всего оно наблюдается при попадании на кожу или слизистые паров или растворов кислот или щелочей. Местное действие сопровождается и общими явлениями вследствие всасывания продуктов распада тканей из-за рефлекторных реакций в результате раздражения нервных окончаний.

Токсический эффект в значительной мере определяется количеством поступившего в организм яда. Для ряда веществ важны также длительность и прерывистость/непрерывность воздействия. При поступлении вещества через желудочно-кишечный тракт или внутривенно (эксперимент) количество вещества в организме (дозу) принято рассчитывать на единицу массы тела. При поступлении токсических веществ ингаляционно уровень содержания определяется концентрацией токсиканта в воздухе, длительностью действия, физико-химическими свойствами вещества, от которых зависит скорость его всасывания в кровь, растворимость в крови и тканях, быстрота превращения и выведения вещества. Весьма важно изучение ранних функциональных и патоморфологических изменений в зависимости от количества поступившего в организм вещества. Последнее определяет так называемые действующие (токсические, эффективные) дозы и концентрации, которые вызывают признаки интоксикации, а также пороговые и недействующие величины.

Действие токсикантов может привести к специфическим отравлениям (острым, хроническим) и к неспецифическим, отрицательным последствиям:

- подавлению иммунитета, снижению сопротивляемости организма;
- аллергическим заболеваниями (бронхиальная астма, экзема);
- отдаленным последствиям (влияние на генеративную функцию, эмбриотоксический, тератогенный, канцерогенный эффекты).

**Мутагенное действие** связывают с негативным влиянием токсиканта на хромосомный аппарат клетки, **гонадотоксическое** – с отрицательным влиянием на генеративную функцию. **Эмбриотоксическое** и **тератогенное** действие токсиканта выражается в его патологическом влиянии на плод или зародыш соответственно (рождение ребенка с множественными уродствами – анацефалией, недоразвитием ряда органов и т. д.).

### **Лекция 10. Понятие о промышленных (производственных) ядах и отравлениях. Острые и хронические отравления. Пороговое токсическое действие**

**Яды** – вещества, попадая в организм в небольших количествах, вступают в нем в химическое или физико-химическое взаимодействие с тканями и при определенных условиях вызывают нарушения здоровья.

Ядовитые свойства могут обнаруживать все вещества, но ядами являются лишь проявляющие свое вредное воздействие в обычных условиях в относительно небольших количествах.

**Промышленные яды** – вещества, которые влияют на человека в условиях трудовой деятельности и вызывают снижение работоспособности или нарушение здоровья (профессиональные или производственные отравления).

Производственные яды представлены сырьевыми (бензол, анилин), промежуточными (двуокись серы) или конечными продуктами производства (серная кислота). Ими также могут быть примеси, вспомогательные вещества, отходы или побочные продукта производства. Например, мышьяк в виде случайной примеси к кислоте или металлу способен образовывать очень ядовитый газ – мышьяковистый водород.

Токсическое действие ядов проявляется в отравлениях, которые могут быть: острыми, подострыми и хроническими.

**Острые отравления** характеризуются:

- кратковременностью действия яда;
- поступлением яда в организм в относительно больших количествах (при высокой концентрации вещества в воздухе, при ошибочном приеме внутрь, при сильном загрязнении кожных покровов);

- яркими клиническими проявлениями в момент действия яда или через относительно небольшой (несколько часов) промежуток времени (латентный период).

В развитии **острого отравления** выделяют фазы неспецифических (головная боль, слабость, тошнота) и специфических проявлений (например, отек легких при отравлении окислами азота).

**Хроническое отравление** возникает постепенно при длительном действии яда, проникающего в организм в относительно небольших количествах.

При остром и хроническом отравлениях одним и тем же веществом могут поражаться различные органы-мишени (например, при остром отравлении бензолом в основном страдает нервная система и наблюдается наркотическое действие, а при хроническом отравлении этим же веществом поражается система кроветворения).

При низкой концентрации яда в воздухе проявления хронической интоксикации часто носят скрытый характер и, как правило, неспецифичны.

**Подострые формы** отравлений вредными веществами сходны по условиям возникновения и проявления с острыми, но развиваются медленнее и имеют более затяжное течение.

**Пороговая доза** – количество поступившего в организм вещества, когда проявление действия токсиканта находится на грани физиологических изменений и патологических явлений. Ниже их располагаются недействующие величины, выше – действующие.

Определение порогов острого и хронического действия позволяет установить **зоны** острого и хронического действия и на основании всех изученных характеристик подойти к обоснованию ПДК токсиканта в воздухе.

В токсикологии приняты следующие **критерии пороговости**:

- изменения в организмах экспериментальных животных статистически достоверно отличаются от контрольных, выходя за пределы физиологических колебаний показателя;

- изменения в организме есть, но носят скрытый характер, что выявляется с помощью функциональных проб;

- изменения в организме являются нерезкими, находятся в пределах физиологических колебаний, но стойко сохраняются.

Критерии могут рассматриваться отдельно или сочетаться.

**Лекция 11. Понятие о хронических интоксикациях при интермиттирующих воздействиях. Характеристика кумуляции привыкания. Значение материальной и функциональной кумуляции вредных веществ. Привыкание как фаза хронической интоксикации**

Токсический эффект зависит не только от дозы и концентрации вещества. Важную роль играют также время и периодичность. В отношении многих веществ, поступающих в организм через дыхательные пути, установлено, что сила токсического действия (W) находится в прямой зависимости от концентрации (C) и времени (T) воздействия:

$$W = C \times T.$$

Эта закономерность в большинстве случаев отражает зависимость «доза–эффект», так как чем больше концентрация яда в воздухе и продолжительнее время действия, тем больше вещества поступает в организм. Для некоторых ядов (фосген, сероводород) токсический эффект существенно зависит от фактора времени. Это так называемые **хроно-контрационные яды**. К ним относятся токсиканты, нарушающие обмен веществ, блокирующие ферментные системы, и вещества, медленно насыщающие организм (ароматические углеводороды). Другая группа – **концентрационные яды** – вещества, при воздействии которых токсический эффект от времени почти не зависит (цианистый водород, летучие наркотики). Эффект определяется лишь концентрацией вещества.

При ингаляционном поступлении яда в организм его концентрация в воздухе сильно колеблется и иногда снижается до нуля. Основная причина этого на производстве – чередование различных стадий технологий (заполнение емкостей, подогрев, рост давления), при которых изменяются количество и условия выделения ядов.

Различают несколько типов воздействия ядов на человека:

1. **Непрерывное** – концентрация яда в воздухе остается постоянной.
2. **Интермиттирующее** – периодическое действие яда, когда его концентрация в воздухе колеблется волнообразно.
3. **Прерывистое** – частный случай интермиттирующего действия, когда периоды вдыхания яда чередуются с вдыханием чистого воздуха.

Как установлено в отношении многих ядов (окислы азота, СО) интермиттирующее действие дает более выраженный токсический эффект, чем непрерывное. Это может быть обусловлено нарушением быстрого привыкания при колебании концентрации яда в артериальной крови.

**Хронические интоксикации** имеют своей причиной поступление в организм небольших количеств яда, которые могут вызывать развитие патологических явлений лишь при условии длительного воздействия, иногда продолжающегося несколько лет. Нехарактерная симптоматика,



вялое течение заболевания часто затрудняют своевременное ее распознавание. Зачастую без подробного описания и хорошего анамнеза невозможно установить хроническую интоксикацию.

Яды, вызывающие хронические отравления, могут кумулироваться.

**Виды кумуляции:**

1) **прямая (материальная)** – накопление в организме токсических веществ;

2) **функциональная** – накопление вредных влияний токсикантов на организм.

Преобладающее большинство промышленных ядов может обуславливать обе формы интоксикаций (острую и хроническую), но некоторые яды (например, свинец, марганец) способны приводить лишь к хроническим отравлениям. Одно и то же вещество может по-разному действовать на организм в зависимости от пути проникновения, дозы, агрегатного состояния. Например, пары ртути при ингаляционном проникновении приводят к выраженным проявлениям ртутной интоксикации, а однократное ее введение в жидком состоянии может пройти без видимых последствий.

Отмечается стадийность в реакции организма на действие ядов:

- 1) первичная реакция;
- 2) период неспецифических проявлений;
- 3) период компенсации;
- 4) декомпенсация.

**Адаптация (привыкание)** – в большинстве случаев не является истинной, так как имеются скрытые поражения, выявляющиеся при воздействии неблагоприятных факторов. Таким образом, выделяют состояние **истинной адаптации** (когда усиливаются процессы обезвреживания яда, но нет перенапряжения принимающих участие в этом процессе биохимических и биофизических систем) и состояние **компенсации** (отличия от нормы есть, но они не носят явного характера и могут быть обнаружены при проведении каких-либо нагрузок). Избирательное (селективное) влияние яда обусловлено свойствами самого вещества и функциональными особенностями организма. Селективность может зависеть от степени сродства веществ к определенным тканям организма, специфики обменных процессов, проницаемости клеток и т. д. Признавая возможность преимущественного поражения некоторых систем и органов, следует иметь в виду, что возникающие в них изменения могут повлечь за собой соответствующую реакцию организма в целом. Таким образом, большинство ядов обладает политропным, а не монотропным действием.

## **Лекция 12. Связь токсического эффекта с биологическими особенностями организма**

Токсическое действие различных веществ – результат взаимодействия организма, яда и окружающей среды. Оно зависит от вида организма и его индивидуальной чувствительности, пола, возраста, от химической структуры и физических свойств яда, количества попавшего в организм токсиканта, длительности и характера поступления.

**Видовые различия** чувствительности к ядам обусловлены родством или различием течения органных процессов, степенью сложности и дифференцировки нервной системы, механизмом регуляции физиологических процессов, продолжительностью жизни, массой тела, особенностями строения кожных покровов и т. д. Знание видовых различий важно, так как при исследовании действия яда на организм человека и разработке гигиенических нормативов используются эксперименты на животных. Экстраполяция данных на человека возможна при наличии общности превращений яда в данном организме животного и человека.

**Пол** также влияет на направленность и выраженность токсического действия. Это влияние может проявляться в отношении специфических признаков поражения и общего действия. Отмечается повышенная чувствительность женщин к некоторым ядам, например к бензолу. Во время беременности опасность отравления значительно возрастает, отмечается более тяжелое течение отравления. Некоторые яды обладают большой избирательностью в отношении поражения мужских гонад.

Влияние **возраста** неоднозначно. Есть яды более токсичные для молодых и наоборот. Организм подростков в 2–3 раза более чувствителен к ядам, чем организм взрослого (в том числе к никотину и алкоголю).

Развитие отравления и его исход в определенной мере зависят от **физиологического состояния** организма. Например, мышечная напряженность при активной физической работе обуславливает определенный сдвиг в обмене веществ, увеличивается потребление кислорода, что неблагоприятно отражается на течении интоксикации, особенно вызванной ядами, действие которых сопряжено с развитием гипоксии. Если токсическому действию предшествовало переутомление или перенапряжение ЦНС, чувствительность к вредным веществам наркотического действия может увеличиваться. Ослабление сопротивляемости многим ядам отмечается у людей с заболеваниями почек и печени (нарушаются процессы дезинтоксикации и выведения). Повышается восприимчивость к воздействию специфических токсических ингредиентов при поражении органов дыхания и кроветворения, расстройствах обмена веществ. При тяжелой физической работе усиливаются процессы дыхания и кроветворения, что способствует более быстрому про-

никновению яда в организм и обуславливает проявления локального действия токсиканта, например, парезы и параличи при отравлении свинцом чаще развиваются на руке, принимающей более активное участие в трудовом процессе.

**Индивидуальная чувствительность** к действию яда выражена довольно значительно и зависит от особенностей течения обменных процессов у разных лиц (так называемая **биохимическая индивидуальность**), а также от функциональной активности разных физиологических систем.

В обезвреживании ядов принимает участие большая группа ферментов дезинтоксикации, влияющих на метаболизм ядов. Их активность различна у разных людей. О важности различий функциональной активности физиологических систем свидетельствует следующий пример: выведение из организма пылевых частиц, задержанных на слизистой оболочке, пропорционально активности мерцательного эпителия и железистых клеток.

Индивидуальная чувствительность к ядам сильно зависит от здоровья человека. Например, лица с заболеваниями крови более чувствительны к ядам, действующим на процессы кроветворения, а лица с нарушениями ЦНС – к нейротропным ядам. Снижению сопротивляемости организма способствуют хронические инфекции, туберкулез, беременность, климакс.

Факторы окружающей среды, влияющие на степень проявления токсического эффекта:

1. **Температура.** Токсичность ядов в определенном температурном режиме является наименьшей, усиливаясь как при ее увеличении, так и при снижении. Главная причина этого – изменение физиологического состояния организма (нарушение терморегуляции, потеря воды при активном потоотделении, ускорение обмена веществ, учащение дыхания и т. д., что усиливает поступление яда в организм). Расширение сосудов увеличивает скорость всасывания токсикантов, в этом же направлении влияет и увеличение потоотделения. Высокая температура может способствовать увеличению концентрации яда, влияя на его летучесть. Усиление токсического действия при увеличении температуры отмечено для многих ядов: наркотиков, паров ртути, хлорофоса, окислов азота и углерода, паров бензина.

2. **Влажность** также может увеличить опасность отравления, особенно раздражающими газами. Причина – усиление процессов гидролиза, задержка газов на поверхности слизистой оболочки, изменение агрегатного состояния ядов. Растворение газов и образование мелких капелек кислотных или щелочных растворов способствует увеличению раздражающего действия.

3. **Давление. Увеличение давления** (при работе в кессоне, барокамере) усиливает токсическое действие по двум причинам: из-за увеличения поступления яда вследствие роста парциального давления газов и паров в альвеолярном воздухе и ускорения перехода их в кровь, а также из-за изменения многих физиологических факторов. **Снижение давления** (на высокогорных рудниках, у летчиков) тоже обуславливает изменение многих физиологических показателей, что способствует усилению токсического эффекта. При снижении давления до 500–600 мм. рт. ст. токсическое действие СО увеличивается за счет того, что влияние яда совпадает с отрицательными последствиями гипоксии.

4. **Ультрафиолет.** При сочетанном действии яда и УФ-излучения (в случае транспортных рабочих) ультрафиолет влияет на процессы взаимодействия газов в смеси и способствуют образованию смога. При УФ-облучении возможна сенсibilизация организма к действию яда (например, развитие фотодерматита при попадании на кожу пековой пыли).

5. Есть данные об увеличении действия ядов при одновременном воздействии шума и вибрации по причине изменения физиологического состояния ЦНС и сердечно-сосудистой системы.

### **Лекция 13. Общие закономерности поступления, транспорта, распределения и выделения токсикантов из организма**

Значительная часть токсикантов, особенно на производстве, поступает в организм **ингаляционно**. Этому способствует большая площадь поверхности легочной ткани, быстрота поступления в кровь и отсутствие дополнительных барьеров. Играет роль и повышенная легочная вентиляция при физической работе. Быстрота поступления вещества сильно зависит и от его растворимости, что определяет скорость перехода из альвеолярного воздуха в кровь. Последняя, в соответствии с законом диффузии газов, зависит от величины коэффициента распределения (К):

$$K = \frac{\text{Концентрация яда в артериальной крови}}{\text{Концентрация яда в альвеолярном воздухе}}$$

Чем значительнее концентрация яда в альвеолярном воздухе и больше его растворимость, тем быстрее растет его концентрация в крови.

Некоторые соединения, попав в артериальную кровь легких, быстро транспортируются к другим органам и тканям – это **быстрореагирующие вещества**. Скорость насыщения ими ткани зависит от скорости их метаболизма в организме. Быстро реагирующие вещества претерпевают распад уже на поверхности слизистых оболочек и всасываются в кровь в виде продуктов превращения. Чем больше их растворимость, тем лучше они всасываются в верхних дыхательных путях.

**Медленно реагирующие вещества** постепенно переходят из артериальной крови в ткань. Некоторое время их концентрация в артериальной крови оказывается выше, чем в венозной. По мере насыщения ткани эта величина сглаживается и концентрация вещества в выдыхаемом и вдыхаемом воздухе уравнивается.

**Кожный путь поступления токсикантов.** В данном случае учитывают не только загрязнение кожи растворами и пылью токсикантов, но и наличие токсических газов и паров в воздухе, так как кожа участвует в акте дыхания. Токсические пары и газы способны растворяться в поту и жировой прослойке с последующим всасыванием с поверхности кожи в кровь и лимфу. Особое значение кожный путь проникновения имеет для жирорастворимых токсикантов (ароматические амины, бензол, анилин, эфиры). Проникновение ядов через кожу зависит не только от их растворимости в липоидах, но и в воде. Последнее определяет возможность поступления яда в кровь. Способность проникновения через кожу учитывается при установлении ПДК токсикантов в воздухе.

**Проникновение токсикантов через желудочно-кишечный тракт (ЖКТ)** происходит вследствие задержки токсических веществ на слизистой носоглотки и верхних дыхательных путей. Токсиканты частично удаляются со слизью при чихании и кашле, но часто заглатываются и поступают в ЖКТ. Еще одна причина – несоблюдение правил личной гигиены. Особенности данного пути проникновения:

1. Поступление токсикантов в ЖКТ может способствовать увеличению их растворимости в кислой среде желудка (нерастворимый сульфат свинца превращается в растворимый хлорид свинца) или в щелочной среде кишечника.

2. Всасываясь, токсические вещества по системе воротной вены поступают в печень, являющуюся в этом случае одновременно и местом детоксикации, и объектом действия яда.

**Транспортировка ядов (на примере сильнодействующих ядовитых веществ).** Осуществляется между плазмой и форменными элементами крови, между сосудистой стенкой и биохимическими структурами. **Основные механизмы транспорта:**

- 1) фильтрация;
- 2) диффузия;
- 3) активный транспорт;
- 4) пиноцитоз.

**Судьба ядов в организме.** В крови и тканях происходит физико-химическое взаимодействие яда с клеточными мембранами, белками и другими компонентами клеток и межтканевой среды. Биологической целью этих процессов является обезвреживание яда различными путями

ми, например, с помощью изменения химической его структуры. Основные направления биотрансформации токсикантов:

- 1) окисление;
- 2) восстановление (наиболее характерно для веществ с кетогруппами);
- 3) гидроксилирование;
- 4) метилирование;
- 5) конъюгация (образование растворимых в воде и хорошо выводимых почками конъюгатов с глюкуроновой кислотой, глицином, цистеином);
- 6) гидролиз (особенно важен для веществ с эфирной связью);
- 7) образование роданистых соединений из синильной кислоты и циангидридов и т. д.

Важная роль в обезвреживании ядов принадлежит их депонированию и выведению.

**Депонирование** – это накопление яда в тех или иных органах, что временно снижает концентрацию циркулирующего в крови яда. К примеру, тяжелые металлы часто откладываются в костях, печени, почках, некоторые – в нервной ткани. Это неполноценный метод обезвреживания, так как яды способны переходить из депо обратно в кровь, приводя к обострению хронического отравления. Этот переход может усилиться при сильных эмоциональных переживаниях, приеме алкоголя, болезни.

**Выведение** ядов из организма осуществляется через почки, ЖКТ, легкие, кожу, с секретами желез. Пути выведения зависят от физико-химических свойств яда и путей его превращений в организме. Ароматические соединения обычно выводятся частично в неизменном виде через легкие и частично в измененном – через ЖКТ и почки. Кожный путь выведения имеет меньшее значение в данном случае. Некоторые яды могут содержаться в грудном молоке (свинец, кобальт). Скорость выведения максимальна в первые дни и недели после поступления, а в дальнейшем она замедляется. Для характеристики скорости выведения пользуются величиной **периода полувыведения** – время, за которое выводится половина поступившего в организм вещества. Зная пути выведения, можно выявить токсические вещества в экскрементах, что необходимо для диагностики хронических отравлений (особенно свинцом или ртутью).

Процессы обезвреживания ядов можно усилить с помощью некоторых физиотерапевтических процедур, организации питания, введения лекарственных препаратов.

Попав в организм, яды могут оказать местное, рефлекторное и общерезорбтивное действие. Распределение ядов в организме определяется двумя основными факторами:

- 1) интенсивностью кровоснабжения;
- 2) сорбционной емкостью ткани.

Накопление яда в ткани не означает, что именно эта ткань является мишенью его действия. Яд может накапливаться в одном месте, а к значительным повреждениям приводить в другом.

#### **Лекция 14. Прогнозирование воздействия химических загрязнителей на организм человека**

Основой прогнозирования воздействия химических загрязнителей на организм человека является выяснение биологической активности данного вещества.

Если это вещество промышленного производства, то всю необходимую информацию может предоставить непосредственно фирма-производитель. Инструкция по использованию содержит данные о физико-химических свойствах вещества, его стабильности и реакционной способности, ПДК на рабочем месте, возможностях использования и хранения, мероприятиях по технике безопасности (например, в случае возгорания), указываются также мероприятия по оказанию первой медицинской помощи при отравлении этим веществом, возможные средства защиты и т. д.

Если известна структурная формула исследуемого химического загрязнителя, то прогнозирование его воздействия на организм следует начинать с поиска данного токсиканта или его аналога в существующей классификации веществ по биологической активности.

Для прогнозирования воздействия на организм человека ранее неизвестного химического загрязнителя проводится так называемый биологический скрининг с целью выявления возможных наркотических, антисептических, бактерицидных, канцерогенных, инсектицидных и других свойств исследуемого токсиканта.

Биологический скрининг предполагает выяснение:

- проникающей способности вещества, путей поступления его в организм (ингаляционно, через кожу, алиментарно);
- механизмов выведения вещества из организма (через почки, ЖКТ, легкие, кожу, железы);
- способности вещества накапливаться в организме, его возможной тропности к той или иной ткани, органу;
- возможного действия вещества, исходя из его химической структуры.

Примером такой зависимости «структура–свойства» могут служить бензол и его производные. Сам бензол является сильным ядом, вызывающим острые и хронические отравления. Монопроизводные бензола

(фенол, анилин) проявляют токсические свойства в меньшей степени, бензойная кислота не токсична (содержится в бруснике), а ее соль (натрия бензоат) является общеизвестным отхаркивающим средством. Бифункциональные производные бензола (парацетамол, салициловая кислота) проявляют жаропонижающие, бактерицидные, антигрибковые свойства, пара-аминобензойная кислота (дизамещенное производное бензола) является известным противотуберкулезным препаратом.

**Примеры зависимости свойств веществ от их химической структуры:**

1. Введение галогена в алифатический углеводород способствует появлению наркотических свойств (хлороформ применяют для местного наркоза, трихлорэтан – мощное наркотическое средство).

2. Введение двойной связи в алкильные соединения сопряжено:

- с увеличением способности к окислительным и радикальным процессам (ПОЛ);

- с усилением наркотического действия соединений (этилхлорид → трихлорэтилен ацетилен).

3. Замыкание алканов в кольцо с образованием циклоalkanов может привести к возникновению ряда биологических эффектов (например, при образовании из необладающего биологической активностью пентана его циклического производного – циклопентана – возможна стимуляция роста растений).

4. Алкилирование ароматических соединений лежит в основе синтеза лекарственных средств, взрывчатых веществ, красителей. Алкильные производные бензола легко окисляются, что способствует его выведению из организма. Например, более низкая токсичность толуола, по сравнению с бензолом, объясняется легкостью его (толуола) окисления *in vivo* в бензойную кислоту.

5. Многоядерные конденсированные углеводороды имеют относительно несимметричную ароматическую структуру  $\pi$ -электронных связей, что обеспечивает им возможность быстрого окисления и присоединения электрофилов. Многие из этих веществ являются канцерогенами (бензпирен табачного дыма, метилхолантрен, образующийся из холестерина), действие которых объясняется возможностью либо модифицировать, либо интеркалировать молекулы ДНК.

6. Введение ОН-группы:

- в алканы приводит к появлению наркотических свойств (этиловый спирт → бутиловый, амиловый спирты (сивушные масла));

- в ароматические соединения уменьшает токсичность, приводит к появлению антисептических свойств (фенолы, нафтол);

- введение нескольких гидроксильных групп усиливает антисептические свойства и повышает окислительно-восстановительные (хинон ↔



дроксихинон используется при проявке фотографий, в организме участвует в переносе электронов);

- ОН-группы в соединениях с большой электронной плотностью могут использоваться как «ловушки радикалов», так как легко образуют радикал с низким энергетическим порогом.

7. Введение сульфогруппы приводит к усилению окислительно-восстановительного потенциала соединения из-за способности образовывать и разрушать дисульфидные связи.

8. Введение аминогруппы в алкан усиливает его кислотно-основные свойства, склонность к образованию солей; в ароматических системах введение данной функциональной группы зачастую способствует превращению соединения в нейротропный или гематотропный яд.

9. Эпоксисоединения, или вещества, способные образовывать эпоксидные циклы, являются сильными канцерогенами, так как способны модифицировать молекулу ДНК.

10. Альдегидная группа способствует появлению наркотических и антисептических свойств (муравьиный альдегид – формалин).

### ***Лекция 15. Разновидности токсикоманий.*** **Основные принципы лечения**

Существует несколько групп веществ, вызывающих болезненное пристрастие:

1. **Снотворные.** Со временем злоупотребляющий снотворными начинает принимать их как успокаивающее средство в любое время суток, постоянно увеличивая дозу. Картина опьянения: эйфория и общее соматическое благополучие (сходно с действием алкоголя). При остром отравлении стадия опьянения быстро сменяется оглушенностью, сонливостью, вплоть до комы. Систематическое употребление больших доз барбитуратов может за 1–3 года привести к выраженной деградации. Барбитуровая абстиненция развивается на следующие сутки после прекращения приема и характеризуется раздражительно-мрачным настроением, тревожностью, кишечными коликами, болями по ходу нервных стволов, атаксией, тремором рук. На 4–5 дня возможны судорожные припадки. Быстро проявляются психические изменения: настроение лабильно, сужается круг интересов, ухудшается память на текущие события, а затем и на отдаленные, происходит утрата профессиональных навыков, могут развиваться острые психопатические состояния, делириозный синдром с галлюцинациями (зрительными и слуховыми, часто угрожающего характера). Делирий обычно двухстадийный: фаза беспокойного сна и фаза заключительного сна (2–3 суток). Реже возникают тревожные галлюцинозы без помрачения сознания (до 3 недель). Течение болезни не-

благоприятное, ремиссия кратковременна, возможно улучшение после прекращения приема. При вскрытии головного мозга обнаруживают точечные кровоизлияния, дегенеративные нарушения, некрозы.

2. **Антипаркинсонические. Циклодоловая токсикомания (ЦТ)** – циклодол является наиболее часто применяемым средством снятия паркинсонических расстройств, вызванных, например, нейролептиками. ЦТ относят к политоксикоманиям, так как она связана с приемом целого ряда токсических и наркотических веществ (гашиш, барбитураты, алкоголь, димедрол). На первом этапе развития заболевания желаемый эйфорический эффект наступает через 20–30 мин появляются чувство подъема, физической легкости, невесомости, отрешенности от окружающего мира, зрительные галлюцинации **приятного характера** и **необычного содержания**, приятные кожные и телесные ощущения. Наличие галлюцинаций и иллюзий не нарушает ориентировку в окружающем мире. Различают четыре фазы циклодолового опьянения: эйфорическая, оглушенности, галлюцинозная, фаза выхода из состояния опьянения. Постепенно эпизодический прием циклодола переходит в систематический, что через 3–6 месяцев приводит к возникновению психической зависимости, полезное действие прекращается, толерантность увеличивается; через год развивается выраженная физическая зависимость. Характерными чертами, сопутствующими заболеванию, являются: яркий румянец, яркие губы на фоне бледного лица, диспепсические расстройства, тревожность, тремор. Абстинентный синдром развивается через 1–2 недели после прекращения приема. Нормализация возможна лишь через 1,5–2 месяца. Характерны нарушение памяти и органическая деменция. Из острых психопатических состояний возможен циклодоловый делирий, который может развиваться без психической и физической зависимости при передозировке препарата и сопровождается наплывом зрительных галлюцинаций, помрачением сознания, бредом преследования, психомоторным возбуждением с агрессивными тенденциями, что делает больного опасным для окружающих.

3. **Транквилизаторы (седуксен, элениум, тазепам, феназепам, рудател)**. Заболевание возникает при злоупотреблении препаратами. Опьянение характеризуется возникновением чувства умиротворения, расслабленности, жизненные проблемы как бы уходят. При длительном употреблении возникает физическая зависимость, сопровождающаяся тремором, потливостью, тахикардией, беспокойством, чувством страха, **упорной бессонницей**. Абстинентный синдром течет относительно легко, без мучительных физических и психических расстройств. В связи с этим, влечение не носит компульсивный характер, и не наблюдается нарушений поведения, связанных с добыванием препарата. Сама

по себе эта форма токсикоманий встречается редко, чаще сопряжена с другими видами токсикоманий (циклодоловой).

4. **Антигистаминные препараты (димедрол, пипафен).** Препараты также обладают успокаивающим действием, нашли очень широкое применение в медицине. Клиническая картина аналогична таковой при приеме транквилизаторов. Отличительными симптомами являются головная боль, тошнота, сухость во рту. Последствия и прогноз хуже.

5. **Анальгетики (анальгин, амидопирин, фенацетин).** Особенностью препаратов является их доступность и способность вызвать эйфорический эффект. При опьянении улучшается настроение, повышается двигательная активность, характерны дурашливость, многословность. Максимальной токсичностью обладает фенацетин. Психические последствия: лабильность, капризность, опустошенность, асоциальное поведение. Состояние абстиненции протекает с выраженными психомоторными расстройствами (тревога, нарушение сна, гиперестезия, головная боль, диспепсические расстройства, судорожные припадки). Систематический прием приводит к возникновению соматических заболеваний: гиперхромной анемии, интерстициальному нефриту, пиелонефриту, «фенацетиновой циррозной почке», сыпи. Среди неврологических расстройств наиболее распространены тремор, неуверенная походка, нарушение речи, похудание, снижение аппетита, злобное выражение лица, зеленовато-серый оттенок кожи. Течение и прогноз неблагоприятные.

6. **Стимуляторы (сиднофен, чай, кофе).** Заболевание имеет общие черты с употреблением наркотиков амфетаминового ряда, эфедроновой наркоманией, но протекает мягче и не приводит к таким тяжелым последствиям. В результате острой интоксикации возникают эйфория, бодрость, прилив сил, ясность мышления, стремление к деятельности. При постоянном употреблении растет толерантность (до 200–300 таблеток кофеина в день), наступает истощение, исчезает эйфория, прием препарата лишь поддерживает удовлетворительное самочувствие, больной вынужден прекратить прием, в результате чего он теряет трудоспособность. Абстиненция характеризуется чувством усталости, разбитости, сонливости, вялости, бессонницей, суицидальными намерениями. **Чифиризм** – хроническая интоксикация концентрированным чаем.

7. **Летучие ароматические вещества.** Токсикомании, связанные с употреблением данных веществ, превратились в 50–70-е годы XX в. в острую социальную проблему. Этот вид токсикоманий наиболее распространен среди детей 10–14 лет и подростков, значительную часть из них составляют дети с нарушением психического развития. Используются легко доступные средства бытовой химии – нитрокрашки, растворители, клеи, пятновыводители. Способ употребления – вдыхание паров в полиэтиленовом пакете, что может вызвать тяжелое отравление,

асфиксию, головную боль, тошноту, головокружение, сухость во рту. Ингаляции повторяются до достижения желаемого результата (5–7 раз в течение суток). Клиника: яркие, часто *управляемые* галлюцинации, галлюцинаторные переживания сценopodobного характера, образы естественны, некоторые больные описывают *ощущения от поглаживания этих объектов*. Возможны слуховые галлюцинации, чувство парения, проваливания. Они могут носить устрашающий характер. Часто возникают императивные галлюцинации – основная причина суицидов и агрессивных состояний. Делирий длится 2–3 дня. Стойкая психическая зависимость в данной группе токсикоманий развивается за несколько недель. Выраженной абстиненции нет. Через несколько месяцев проявляется интеллектуально-мнестический дефект, судорожный синдром, воспалительные заболевания верхних дыхательных путей, верхних отделов ЖКТ, гепатиты, миокардиодистрофия.

**Принципы лечения:**

- прекращение приема препарата;
- снятие абстинентного синдрома;
- дезинтоксикация;
- поддержание жизненно важных функций;
- психотерапия;
- социальная помощь.

Особыми формами токсикоманий являются алкоголизм и табакокурение.

**Лекция 16. Общая характеристика наркоманий.  
Психическая и физическая зависимость. Наркотизм**

*Наркомании* – группа заболеваний, проявляющихся влечением к постоянному приему в возрастающих дозах наркотических лекарственных и нелекарственных средств вследствие стойкой психической и физической зависимости, с развитием абстинентного синдрома при прекращении их приема. Наркомания – разновидность токсикоманий, обусловленная злоупотреблением веществами или лекарственными средствами, признанными наркотическими в законодательном порядке. Термины «*наркотическое вещество*» или *наркотическое лекарственное средство*» применяют по отношению к тем ядовитым веществам, которые способны вызывать эйфорическое, успокаивающее, снотворное, болеутоляющее, возбуждающее действие. Несмотря на определенные различия, все виды наркоманий имеют общие закономерности в возникновении, развитии, течении и исходах.

*Психическая зависимость* выражается в форме навязчивого влечения. Повышенное влечение появляется в активности, инициативе

больного, направленной на создание необходимой ситуации для употребления вещества.

**Физическая зависимость** определяется физическим характером потребности, непреодолимостью влечения, носящего в этом случае компульсивный характер. Главное при этом уже не получить удовольствие, а испытать чувство физического комфорта, облегчить состояние.

Один из основных побуждающих мотивов – желание повторить полученное субъективно приятное чувство, возникающее при введении наркотика. Любой наркоман испытывает осознанное или неосознанное желание, сильную потребность изменить свое эмоциональное и физическое состояние, самочувствие. Для любого человека естественным является желание испытать положительные эмоции, чувство удовлетворения, но удовлетворение этого желания обычно сопряжено с рядом прилагаемых для этого усилий, выполнением значительного объема работы для достижения цели. Наркотик как бы дает все эти положительные эмоции и ощущения без усилий. К факторам, способствующим развитию наркомании относят:

- слабость воли;
- переживание чувства неполноценности;
- неумение строить отношения, общаться.

Психическая зависимость может возникнуть уже после однократного приема наркотика.

Стадии развития наркомании:

1) начальная (неврозоподобная, неврастеническая) – характеризуется увеличением толерантности к препарату;

2) наркоманическая – добавляются физическая зависимость и абстинентный синдром.

Согласно определению ВОЗ, «физическая зависимость – это адаптивное состояние, проявляющееся интенсивными физическими расстройствами при прекращении введения вещества. Наркотик «вплетается» в обмен веществ». Состояние наркотического опьянения характеризуется чувством эйфории или апатии, возникновением галлюцинации. Психозы могут носить острый, преходящий или затяжной характер.

Случаи эпизодического умеренного приема ряда веществ наркотического или стимулирующего действия называют **наркотизмом** или периодической наркотизацией. Согласно ВОЗ, человек считается наркоманом в случае соблюдения одного из условий:

- частого приема наркотических веществ (вследствие периодического или постоянного состояния интоксикации может принести вред не только себе, но и окружающим);
- постоянного увеличения дозы препарата для достижения желаемого результата (вследствие роста толерантности);

- выраженной психической и/или физической зависимости от вводимого вещества;

- непреодолимого влечения к приему вещества, вынуждающего добиваться его (препарата) приобретения любыми средствами.

При периодической наркотизации эти признаки отсутствуют или выражены в незначительной степени.

### ***Лекция 17. Алкоголизм – одна из форм токсикоманий***

***Алкоголизм*** – одна из форм токсикоманий, характеризуется пристрастием к употреблению веществ, содержащих этиловый спирт, развитием психической и физической зависимости, абстинентного синдрома, деградации личности.

Он является важным фактором преждевременной смертности, особенно среди мужчин (несчастные случаи, отравления, травмы, автокатастрофы). Ему принадлежит первое место в структуре смертности ***трудоспособного*** населения (каждый второй мужчина и каждая третья женщина). Алкоголизм – основа множества преступлений (90 % из них – тяжкие). Кроме того, это один из факторов, отягчающих течение других заболеваний.

Относительно употребления алкоголя выделяют следующие группы населения:

0 – не употребляют;

1 – не чаще одного раза в месяц в малых количествах;

2 – умеренно употребляющие (не чаще 1-го раза в неделю по определенным поводам до 200 г крепких спиртных напитков);

3 – злоупотребляющие:

- без признаков алкоголизма;

- с начальными признаками алкоголизма;

- с выраженными признаками алкоголизма (физическая зависимость).

#### ***Основные причины алкоголизма:***

1) социальные – низкий уровень жизни, стрессы, перегрузки;

2) биологические – наследственность;

3) психические – особенности личности, неспособность к адаптации и противостоянию стрессу (при систематическом употреблении алкоголя у человека растет чувствительность к стрессу, то есть без спиртного организм не сопротивляется совсем).

#### ***Общая схема:***

1) начальный этап – до 15 лет, неблагоприятный климат в семье;

2) определяющий – 16–19 лет, обычаи окружения, ***самовыражение***;

3) этап «особого положения» – 20–25 лет, установка на привычное употребление, основной фактор – экономическая самостоятельность и бесконтрольность;

4) установка на пьянство – после 25 лет, конфликты в семье, низкий культурный уровень, большой достаток, профессиональное пьянство, не целенаправленность досуга.

**Основные симптомы и синдромы:**

1) синдром наркоманической зависимости – патологическое влечение, утрата самоконтроля, абстинентные явления;

2) синдром измененной реактивности – совокупность признаков изменений реактивности организма к определенному веществу (изменение толерантности, характера опьянения и формы пьянства, утрата защитной реакции организма в ответ на алкогольную интоксикацию). **Толерантность** определяется максимальной дозой алкоголя, не вызывающей выраженной абстиненции;

3) изменение личности; понятие «личность» включает в себя устойчивую совокупность социально значимых особенностей, делающих человека не похожим на других. Алкоголизм настолько изменяет человека, что больные становятся носителями общих характерологических черт.

**Стадии:**

1) компенсированная, начальная, неврастеническая – психическая зависимость, потеря количественного контроля, рост толерантности, нарушение памяти, ряд психосоматических расстройств; до 30 лет; продолжительность 1–6 лет;

2) наркоманическая – количественное увеличение описанных выше симптомов, влечение к алкоголю компульсивное с чертами физической зависимости, формируется абстинентный синдром, толерантность достигает максимума, наблюдаются **псевдозапой** – ежедневное пьянство от нескольких недель до нескольких месяцев, на фоне абстинентного синдрома возникают алкогольные психозы, чаще в возрасте 25–35 лет, продолжительность – 5–10 лет;

3) терминальная, декомпенсированная, энцефалопатическая – снижение толерантности, уменьшается психическая зависимость на фоне роста физической зависимости, усиливается деградация личности, происходит нарушение функций всех органов и систем, появляются **истинные запои** – характеризуются цикличностью.

**Общетоксическое действие алкоголя:**

1) мембраноразрушающее – спирт влияет на состояние липидного бислоя мембраны, нарушая ее проницаемость;

2) патогенное действие продуктов метаболизма спирта – проникают через ГЭБ и оказывают психостимулирующее и галлюцинаторное действие;

3) изменение метаболизма: 1 – изменение жирового обмена – активация липогенеза и синтеза холестерина, что значительно увеличивает

ет риск атеросклероза и повреждений печени; 2 – ингибируется цикл Кребса и глюконеогенез; 3 – нарушается синтез белков.

Механизм действия алкоголя полностью не выяснен. Считается, что алкогольная зависимость возникает из-за изменения соотношения ряда химических соединений в мозге. В частности, снижается концентрация серотонина и морфиноподобных веществ, что является основой абстинентного синдрома, вызывая глубокие повреждения лимбической системы и нарушая проведение нервного импульса.

***Действие алкоголя на системы организма:***

1) ЦНС – выделяют 2 фазы действия алкоголя:

а) возбуждение (эйфория, прилив сил, снижение самокритичности, нарушается метаболизм в нейронах коры, снижается концентрация серотонина на фоне роста содержания адренолина, норадренолина, дофамина);

б) угнетение.

2) периферическая нервная система – судороги, онемение, паралич отдельных групп мышц (нарушение доступа кислорода к нейронам и их гибель);

3) сердечно-сосудистая система – поражение миокарда, гипертрофия сердца, кардиомиопатия, нарушения сердечного ритма, ИБС, гипертоническая болезнь;

4) дыхательная система – стимуляция внешнего дыхания на первых стадиях алкоголизма сменяется развитием хронических заболеваний (бронхиты и т. д.);

5) ЖКТ – различные патологии в результате негативного действия алкоголя на слизистую – гастриты, язва, цирроз печени;

б) выделительная система – пагубное влияние на эпителий мочевыводящих путей и почки;

7) иммунная система – нарушение лимфогенеза, иммунодефициты;

8) репродуктивная система – угнетение половой функции (импотенция, ранний климакс);

9) беременность – тератогенный эффект. Выделяют:

а) токсическое действие на половые клетки;

б) негативное влияние на плод,

в) алкогольная интоксикация младенца при вскармливании грудью.

***Синдром алкогольного плода*** – синдром, сопутствующий развитию плода алкоголиков:

- задержка роста плода;
- общесоматическая ослабленность;
- задержка умственного развития;
- микроцефалия;
- мышечная гипотония;
- цирроз печени;



- множественные аномалии.

***Как правило, у детей алкоголиков отмечают:***

- астенизацию;
- нарушение функции сна;
- частые инфекционные и аллергические заболевания;
- гипердинамический синдром (двигательная расторможенность).

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ МЕДИЦИНА

### *Лекция 18. Технология рекомбинантной ДНК, получение рекомбинантного инсулина*

Рекомбинантная ДНК – это заново возникшая комбинация молекул ДНК, которая ранее не существовала в природе. Термин «**рекомбинантная ДНК**» принято использовать только когда речь идет об искусственно соединенных друг с другом молекулах ДНК, полученных из разных источников.

**Основу метода рекомбинантной ДНК составляют следующие действия:**

1. Выделение и очистка ДНК из клеток и тканей.
2. Обработка ДНК ферментами, называемыми эндонуклеазами рестрикции или рестриктазами. Эти ферменты катализируют специфическое расщепление двухцепочечной молекулы ДНК на фрагменты.
3. Соединение фрагментов ДНК, образованных после рестрикции, с векторами. **Вектор, несущий встроенный фрагмент ДНК, является рекомбинантной ДНК.**
4. Перенос рекомбинантной молекулы ДНК в клетки хозяина. Внутри клеток хозяина происходит репликация векторной молекулы ДНК и образуются десятки ее копий – клонов.
5. В процессе деления клеток хозяина рекомбинантные молекулы ДНК, находящиеся внутри клеток, передаются дочерним клеткам, образуя новую клеточную популяцию, несущую копии рекомбинантной молекулы ДНК.
6. Выделение, очистка и анализ клонированной ДНК.
7. Транскрипция клонированной ДНК, трансляция мРНК, получение и очистка белкового продукта и его использование в коммерческих и научных целях.

**Векторы – это кольцевые молекулы ДНК, обладающие следующими свойствами:**

1. Способны к репликации и, следовательно, к удвоению встроенного в них фрагмента ДНК.
2. Имеют в своей структуре определенные сайты рестрикции, их может быть несколько, по одному для каждой рестриктазы. По этим сайтам вектор расщепляется и смешивается с изучаемым фрагментом ДНК, обработанным той же рестриктазой.
3. Имеют в своей структуре определенный маркер – ген, отсутствующий в клетке хозяина. В дальнейшем это позволяет отличать клетки хозяина, содержащие вектор, и его не содержащие (часто это гены устойчивости к антибиотикам).
4. Легко извлекаются из клетки хозяина.

Как правило, в качестве векторов используются конструкции, созданные на основе плазмид и бактериофагов (вирусы бактерий). Все они встречаются в природе в клетках прокариот (клетка-хозяин) и в них реплицируются. Таким образом, главный инструмент клонирования – это двухкомпонентная система, состоящая из вектора и хозяина.

**Плазмидные векторы** созданы на основе внехромосомной кольцевой молекулы ДНК. Вектор имеет сайт *ori* (участок начала репликации), селективные маркеры (как правило, гены устойчивости к антибиотикам), а также сайты рестрикции. Рестриктаза разрезает плазмиду по сайту рестрикции с образованием линейной ДНК, которую смешивают *in vitro* с клонируемой чужеродной ДНК, обработанной той же рестриктазой. Отжиг и лигирование приводят к образованию вектора, содержащего чужеродный фрагмент ДНК, размер которого составляет не более **10 т. п. н.**

**Фаговые векторы** – модифицированные штаммы бактериального вируса  $\lambda$ . Фаг  $\lambda$  содержит линейную двухцепочечную ДНК, упакованную в головку фага, размером 45 т. п. н. Между правым и левым плечами фага (по 15 т. п. н.) располагается фрагмент ДНК, несущественный для его жизнедеятельности (15 т. п. н.). ДНК фага и чужеродный фрагмент ДНК режут одной рестриктазой, затем плечи фага и клонируемый фрагмент смешивают *in vitro*, отжигают и лигируют стыки цепей. В результате центральный, несущественный для развития фага, участок ДНК фага заменяется чужеродным фрагментом ДНК, который не превышает **20 т. п. н.**

**Космидные векторы** созданы искусственно в результате комбинации плазмид и фага  $\lambda$ . Космида имеет сайт *ori*, селективный маркер и сайты рестрикции для вставки и клонирования фрагментов ДНК. Кроме этого, космиды имеют *cos*-сайт, происходящий из фага  $\lambda$ . Размер космид – 5 т. п. н. В нее можно встроить фрагмент чужеродной ДНК размером до **40 т. п. н.**, при этом общая длина молекулы достигает 45 т. п. н., что позволяет ей упаковаться в фаговую частицу.

**Механизмы передачи генетической информации у бактерий и бактериофагов (генетическая рекомбинация).** Генетическая рекомбинация – это перераспределение генетического материала (ДНК), приводящее к возникновению новых комбинаций генов. Рекомбинация может происходить путем обмена клеточными ядрами, целыми молекулами ДНК или частями молекул.

В то время как процессы репликации и репарации ДНК обеспечивают воспроизведение и сохранение генетического материала, рекомбинация приводит к генетической изменчивости. Генетическая рекомбинация получила развитие у всех живых организмов – от эукариот до вирусов.

**1. Конъюгация** – передача генетической информации только в одном направлении от одной бактериальной клетки в другую при прямом

межклеточном контакте. Способность бактерии стать донором связана с наличием в ней фактора F. Он состоит из кольцевой двухцепочечной плазмидной молекулы ДНК, содержит большое количество генов. Во время конъюгации одна из цепей плазмиды надрезается эндонуклеазой и перемещается через образовавшийся цитоплазматический мостик в другую клетку, где синтезируется комплементарная цепь. В результате обе клетки несут F-фактор. **Перенесенный F-фактор является внехромосомной кольцевой двухцепочечной плазмидой и в хромосому не встраивается.** Передается устойчивость к антибиотикам и лекарственным веществам.

**2. Трансформация** – передача небольших фрагментов ДНК (плазмиды) из внешней среды. Трансформация включает 2 этапа: 1) внедрение фрагментов ДНК в клетку-реципиент, 2) рекомбинация между этой ДНК и гомологичными генами реципиента.

Внехромосомная ДНК может попасть только в компетентные клетки, несущие на своей поверхности рецепторные сайты. После поступления в клетку двухцепочечного фрагмента ДНК одна из нитей разрушается нуклеазами, оставшаяся нить рекомбинирует с гомологичным участком хромосомы реципиента, замещенный участок бактериальной хромосомы деградирует. **После интеграции чужеродной ДНК в бактериальный геном хромосома несет одну исходную цепь и одну чужую. Такая структура называется гетеродуплексом.** При репликации одна дочерняя клетка будет иметь исходный ген, другая – чужеродный, то есть одна клетка будет трансформированной, другая – нетрансформированной.

Таким способом в бактериальные клетки интегрируют R-плазмиды, несущие гены устойчивости к антибиотикам ампициллину, тетрациклину, стрептомицину, сульфониламидам, канамицину и хлорамфениколу. Если генов устойчивости несколько, тогда плазмиды придают бактериям множественную устойчивость к лекарственным препаратам.

**3. Трансфекция** – заражение бактериальной клетки вирусной ДНК. После проникновения фагового вектора в бактериальную клетку происходит ее инфицирование – молекула фаговой ДНК замыкается в кольцо, что является обязательным условием репликации, места спаривания называются *cos*-сайтами. В процессе репликации у кольцевой молекулы ДНК фага образуются длинные линейные ответвления (конкатемеры), состоящие из нескольких фаговых геномов, разделенных *cos*-сайтами. Впоследствии конкатемер разрезается по *cos*-сайтам с образованием многочисленных зрелых фаговых частиц. Частицы упаковываются в головки, при этом происходит лизис бактериальных клеток, зрелые фаги выходят наружу и инфицируют новые бактериальные клетки, затем размножение фага продолжается. **ДНК фага не встраивается в геном бактериальной клетки.**

**4. Трансдукция** – процесс переноса бактериальной ДНК из одной клетки в другую бактериофагом. **В результате проникновения вирусной ДНК в бактериальную клетку может происходить встраивание вирусной ДНК в бактериальную хромосому (стадия лизогении).** При этом лизиса клеток и выхода из них фаговых частиц не происходит. При определенных условиях (химические факторы, УФ) вирусная ДНК вырезается из бактериальной хромосомы, начинает автономно реплицироваться, образуются фаговые частицы, бактерия лизируется. Фаги при вырезании из бактериальной хромосомы могут случайно «захватить» и запаковать в свой капсид бактериальные гены, находящиеся по соседству с вирусной ДНК. При инфицировании другой бактериальной клетки этот фаг передает ей фрагмент бактериальной ДНК.

**Получение рекомбинантного инсулина.** Техника рекомбинантной ДНК применяется для получения гомогенных, биологически активных соединений, широко используемых в медицине: антикоагулянты, VIII фактор крови, эритропоэтин, ростовые факторы, соматостатин, инсулин, интерлейкины, интерферон, энкефалины, эндорфины.

Для получения бактериального **инсулина** не используют природный ген, поскольку он кодирует препроинсулин и содержит интроны. Поэтому последовательность ДНК воссоздают по аминокислотной последовательности инсулина, при этом синтезируют отдельно А и В цепи. На 5-конце каждой последовательности ДНК располагают кодон метионина для того, чтобы обеспечить отделение инсулина от прокариотических последовательностей фермента  $\beta$ -галактозидазы.

Для синтеза одной молекулы инсулина создаются 2 плазмидных вектора – в один встраивают ген А цепи рядом с геном бактериального фермента  $\beta$ -галактозидазы, во второй вектор встраивают цепь В, рядом с геном бактериального фермента  $\beta$ -галактозидазы. Между геном инсулина и  $\beta$ -галактозидазы встраивают последовательность, кодирующую аминокислоту метионин. Вектора помещают в разные клетки *E. coli*.

Бактериальные клетки растут на среде с галактозой, которая индуцирует синтез  $\beta$ -галактозидазы. Плазмиды реплицируются и синтезируется иРНК. Ее трансляция приводит к образованию химерного белка, состоящего из цепи  $\beta$ -галактозидазы, соединенной через остаток метионина с А или В цепями инсулина. Бактерии лизируют, затем с помощью бромциана, разрушающего метионин, А и В цепи отделяют от  $\beta$ -галактозидазы.

Затем проводят очистку и объединение цепей дисульфидными связями, в результате чего образуется инсулин. Он не содержит белков *E. coli*, эндотоксинов и пирогенных веществ, по физиологическим свойствам не отличается от инсулина из поджелудочной железы человека и проявляет полную биологическую активность.

**Лекция 19. Молекулярные основы  
аутосомно-доминантных заболеваний. Понятие пенетрантности  
и экспрессивности. Примеры болезней, ассоциированных  
с повреждением генов, кодирующих рецептор,  
структурный белок, болезни приобретения функций**

Аутосомно-доминантный тип наследования характеризуется тем, что для развития болезни достаточно унаследовать мутантный аллель от одного из родителей.

Основными характеристиками болезней данного типа являются:

1. Болезнь встречается в каждом поколении родословной – передача болезней по вертикали.

2. Если один из родителей является носителем мутации, каждый ребенок имеет один шанс из двух заболеть.

3. Если родители не являются носителями мутации, а у ребенка мутация имеется, то пациент обязан своим заболеванием новой мутации, произошедшей в яйцеклетке или сперме родителей. Множество новых мутаций происходит в половых клетках относительно пожилого отца.

Клиническая картина у носителей мутации может характеризоваться **различной пенетрантностью** (частотой и вероятностью проявления гена), **экспрессивностью** (степенью выраженности) проявления и **сроками** проявления болезни.

**Пенетрантность** – это статистическое понятие, отражающее долю индивидов, у которых фенотипически проявляются генотипические признаки, в том числе и мутации. Если пациенты имеют в геноме мутации, которые не проявляются фенотипически, это состояние описывается как снижение пенетрантности. При пенетрантности равной 50 % характерные черты, определенные мутацией, проявляются только у 50 % тех, кто несет мутантный ген. Неполная пенетрантность наблюдается при полипозе кишечника, ретинобластоме. Высокая пенетрантность – у больных хореей Гентингтона, синдромом Марфана, полная пенетрантность – при нейрофиброматозе.

Если характерная черта видна у всех индивидов, несущих мутантный ген, но проявляется по-разному у разных индивидов, следует говорить о **различной экспрессивности**. Доминантно наследуемые состояния характеризуются полиморфизмом клинических проявлений не только в разных семьях, но и среди членов одной семьи. Например, нейрофиброматоз у больных в одной семье может иметь проявления от множественных типов рака и деформации скелета до единичных бурых пятен на коже.

Особенностью ряда доминантных болезней является их **позднее проявление**. Иногда тяжелое доминантное заболевание проявляется только во время или после репродуктивного периода. Высокая вариаци-

бельность сроков начала заболевания наблюдается даже в пределах одной семьи. Примером может служить хоря Гентингтона, которая проявляется к 38–40 годам.

Наиболее часто в клинической практике встречаются следующие генные болезни с ауtosомно-доминантным типом наследования: нейрофиброматоз 1 типа (болезнь Реклингхаузена), синдромы Марфана, Элерса-Данло, ахондроплазия, несовершенный остеогенез, миотоническая дистрофия, хоря Гентингтона.

При ауtosомных доминантных заболеваниях большинство мутаций **приводит к уменьшению продукта гена (белка) или возникновению неактивного или дефектного белка.**

**1. Заболевания, обусловленные дефектами клеточных рецепторов и их лигандов и приводящие к нарушению обмена липидов – гиперлиппротеинемии (гиперхолестеринемии).** Заболевание связано с мутацией генов, кодирующих рецептор ЛПНП. Болезнь характеризуется нарушением обмена липидов, тесно связанного с патогенезом атеросклероза и ишемической болезнью сердца.

Частота встречаемости гетерозигот с мутацией в одной копии гена составляет 1:100–500. Они имеют с рождения в 2 раза повышенный уровень холестерина в плазме крови. У гомозигот, имеющих мутации в обоих генах, уровень холестерина превышает норму в 6 раз, эта форма встречается с частотой 1:250 000.

Клиническая картина полной гомозиготной формы семейной гиперхолестеринемии характеризуется появлением ксантом на коже и сухожилиях, липоидной дугой роговицы, необычайно высоким содержанием холестерина (превышение нормы в 5–6 раз), в период полового созревания формируется атероматозное поражение устья аорты, сужение (стеноз) венечных артерий сердца, что проявляется систолическим шумом в аорте. Клинически развивается типичная картина ишемической болезни сердца. До применения современных методов лечения больные с семейной гиперхолестеринемией внезапно умирали в возрасте до 30 лет в связи с острой коронарной недостаточностью.

Гетерозиготная форма семейной гиперхолестеринемии часто остается невыясненной до взрослого состояния, пока не разовьется сердечно-сосудистая недостаточность. К 50 годам у 50 % мужчин с гетерозиготной формой семейной гиперхолестеринемии развивается ишемическая болезнь сердца (на 20 лет раньше, чем у остальных людей). У женщин первые признаки болезни появляются на 10 лет раньше, чем у мужчин.

Причины развития гиперхолестеринемии:

1. Избыточный синтез холестерина.
2. Нарушение транспорта липидов в клетки вследствие угнетения синтеза или нарушения функции липопротеиновых рецепторов, входящих в состав транспортных систем.

3. Низкий уровень в крови аполипопротеинов – лигандов липопротеиновых рецепторов.

Аполипопротеины участвуют в доставке холестерина от мест его синтеза или всасывания к клеткам-мишеням (гепатоцитам, клеткам периферических тканей) благодаря тому, что на них (мишенях) имеются специфические структуры – апо В и Е рецепторы, чувствительные к данным аполипопротеинам. Апо Е участвует в транспорте экзогенного холестерина, поставляемого с пищей, и в удалении эндогенного холестерина из клеток и тканей, в том числе из артерий. Апо Е синтезируется почти во всех органах и тканях. Структурные аномалии апо Е нарушают рецепторное узнавание липопротеинов, что вызывает развитие гиперлипидемии. У больных рано развивается атеросклероз, ИБС с поражением периферических сосудов.

## **2. Заболевания, обусловленные нарушением синтеза или структуры ключевых структурных белков – синдромы Марфана и Элерса-Данло.**

Мутации генов, контролирующих синтез коллагена и фибриллина, приводят к нарушению свойств волокнистой соединительной ткани. Поскольку соединительная ткань – основа всех органов и тканей, то и нарушения, вызванные этими мутациями, затрагивают различные системы организма. Это определяет разнообразную клиническую картину (фенотип) при этих наследственных болезнях: нарушение строения сосудистой стенки (особенно аорты), подвывих хрусталика, пролапс митрального клапана, гиперрастяжимость кожи, гиперподвижность суставов и др.

**Синдром Марфана** – наследственная доминантная болезнь соединительной ткани, развивается вследствие мутации в генах фибриллина.

Частота встречаемости синдрома составляет 1:10 000–15 000. Вероятность рождения больного ребенка повышается с увеличением возраста отца, особенно после 35 лет.

Выявлено несколько типов мутаций (в основном миссенс), приводящих к нарушению синтеза и структуры белка фибриллина. При взаимодействии мутантного белка с нормальным происходит нарушение структуры микрофибрилл.

Для заболевания характерны нарушения в скелете (арахнодактилия, высокий рост, длинные конечности, деформация позвоночника, передней стенки грудной клетки, ненормальная подвижность суставов), подвывих хрусталика, миопия, отслойка сетчатки, нарушение строения сосудистой стенки (особенно аорты), пролапс митрального клапана.

Фибриллин встречается в двух формах, кодируемых различными генами FBN1 и FBN2, локализованными в хромосомах 15q24 и 5q3. Повреждение гена FBN2 вызывает развитие одной из форм арахнодактилии,



характеризующейся аномальным развитием скелета (одним из признаков заболевания являются аномально длинные и тонкие пальцы).

Мутации гена *FBN1* приводят к развитию синдрома Марфана. Болезнь затрагивает многие системы организма и имеет разнообразные проявления: от легких форм, трудно отличимых от нормы, до инвалидирующего течения.

**Синдром Элерса-Данло** – наследственная болезнь соединительной ткани, вызвана мутациями в разных генах коллагена, в результате нарушается синтез и структура коллагена.

Молекула коллагена состоит из трех цепей и имеет сложную пространственную организацию. К нарушению структуры белка и потере его функциональных свойств может привести мутация в одной из цепей. Волокна коллагена при этом приобретают неправильную форму и располагаются беспорядочно, что приводит к патологии костной и соединительной ткани. При заболевании отмечается гиперрастяжимость кожи, повышенная подвижность суставов, отклонения в развитии скелета.

### ***Лекция 20. Аутосомно-рецессивные заболевания.***

#### **Правила наследования. Молекулярная основа заболеваний, связанных с нарушением функции транспортных белков, ферментов репарации ДНК, при нарушении обмена веществ**

Аутосомно-рецессивные заболевания проявляются только в гомозиготном состоянии. Гетерозиготы фенотипически (клинически) не отличаются от здоровых лиц с двумя нормальными аллелями.

Аутосомно-рецессивные болезни характеризуются следующими свойствами:

1. Начало болезни проявляется в ранние периоды жизни.
2. Родители обычно клинически нормальны.
3. Если больны оба супруга, все дети больны.
4. В браке больного со здоровым рождаются нормальные дети (если здоровый не гетерозиготен).
5. Оба пола поражаются одинаково.

Браки, в которых оба родителя гетерозиготны, встречаются наиболее часто. Риск появления гомозиготного, а значит, больного ребенка составляет 25 %.

При рецессивных заболеваниях экспрессивность проявления признаков более однородная, чем при доминантных заболеваниях, и практически отсутствует неполная пенетрантность.

Наиболее типичными болезнями с аутосомно-рецессивным типом наследования являются муковисцидоз, фенилкетонурия, галактоземия, болезнь Коновалова–Вильсона, мукополисахаридозы.

### **1. Заболевания, вызванные мутациями генов, кодирующих транспортные белки.**

**Кистозный фиброз, муковисцедоз.** Частота возникновения заболевания – 1:2500 новорожденных. При этом заболевании нарушается транспорт хлоридов через мембрану эпителиальных клеток. В норме регуляция осуществляется белком кистофиброзным трансмембранным регулятором (CFRT). Мутации в этом гене ведут к снижению синтеза транспортного белка или к качественным изменениям мембранных каналов для хлоридов. Нарушение транспорта ионов натрия и хлора ведет к формированию густой слизи в бронхах или в экзокринной части поджелудочной железы. В результате развивается системный патологический процесс, включающий прогрессирующее поражение дыхательных путей, недостаточность секреторной функции поджелудочной железы, нарушение переваривания пищи, стерильность у мужчин. При сохранности 10 % активности CFRT болезнь не проявляется.

### **2. Заболевания, вызванные мутациями в генах хроматин-белкового комплекса.**

**Пигментная ксеродерма.** Проявление болезни – повышенная чувствительность к УФ. Патология обусловлена неспособностью клеток к репарации повреждений ДНК, вызванных УФ-излучением, при мутации генов, кодирующих ферменты репарации ДНК.

В результате развивается эритема (аномальное покраснение кожи или слизистой оболочки, вызванное притоком крови к капиллярам), особенно на лице, с последующей атрофией и телеангиэктазиями («сосудистые звездочки»). Наконец, развивается рак кожи, который при отсутствии лечения может привести к летальному исходу. Болезнь проявляется поражением многих органов: у 40 % пациентов это печень, у 34 % – неврологические заболевания, у 10 % – эндокринные нарушения, у 12 % – нейропсихологические нарушения. Рак кожи у пациентов с пигментным дерматозом к 40 годам встречается в 1000 раз чаще, чем в остальной популяции.

### **3. Заболевания, возникающие при нарушении обмена веществ:**

- обмена углеводов (3а);
- обмена аминокислот (3б);
- лизосомного переваривания (болезни накопления) (3с) в результате нарушения;
- обмена углеводов (3с1);
- обмена липидов (3с2).

**3а** – заболевания, возникающие при нарушении обмена углеводов.

**Галактоземия.** Наследственная непереносимость галактозы встречается по разным данным с частотой от 1:15 000–100 000, частота гетерозиготных носителей 1:268.

При нормальном метаболизме лактоза, содержащаяся в молочных продуктах, под действием фермента лактазы, расщепляется, образуя галактозу, а затем, благодаря ферменту галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы (ГФУТ) – в глюкозу. При галактоземии ГФУТ отсутствует, что приводит к накоплению токсического галактозо-1-фосфата в различных тканях. В основе патогенеза заболевания лежит токсическое действие галактозы и галактозо-1-фосфата на мозг, печень, почки, кишечник. Оно проявляется в подавлении бактерицидной активности лейкоцитов и развитии септических процессов в организме. В печени, почках, головном мозге происходит нарушение обмена глюкозы. Кроме того, галактоза метаболизируется до галактиола, который приводит к разрыву волокон хрусталика и развитию катаракты.

Симптомами заболевания являются: желтуха новорожденных, рвота и понос, приводящие к обезвоживанию организма, постепенное развитие умственной отсталости, увеличение печени и селезенки, общая дистрофия, катаракта.

Без лечения больные погибают в первые месяцы жизни от сопутствующих инфекций и печеночной недостаточности. У выживших развивается катаракта и умственная отсталость. Раннее лечение диетой (исключение лактозы) обеспечивает нормальное развитие детей.

**3б** – заболевания, возникающие при нарушении обмена аминокислот. **Фенилкетонурия** встречается с частотой 1:6000–10 000, развивается при дефекте фермента фенилаланингидроксилазы. При заболевании аминокислота фенилаланин не превращается в тирозин, а накапливается в сыворотке крови в больших количествах в виде фенилпировиноградной (ФПВК) кислоты, которая выделяется с мочой и потом, вследствие чего от больных исходит мышиный запах. Дети с фенилкетонурией рождаются здоровыми, но в первые же недели жизни у них развиваются клинические проявления болезни. ФПВК является нейротропным ядом, в результате чего у больного повышаются возбудимость, тонус мышц, развиваются гиперрефлексия, тремор, судорожные эпилептиформные припадки. Позже присоединяются нарушения высшей нервной деятельности, умственная отсталость, микроцефалия. У больных наблюдается слабая пигментация вследствие нарушения синтеза меланина. Эффективным методом лечения является диетотерапия – исключение из пищи продуктов, содержащих фенилаланин.

**3с1** – заболевания, возникающие при нарушении лизосомного переваривания в результате нарушения обмена углеводов. **Мукополисахаридозы** – большая группа наследственных болезней соединительной ткани, обусловленных нарушением метаболизма гликозамингликанов (ГАГ) в лизосомах. При недостатке лизосомных ферментов, участвующих

щих в расщеплении ГАГ, последние накапливаются в органах и тканях, способствуя нарушению функций многих систем организма.

Заболевания проявляются, как правило, к 2–3-летнему возрасту, когда количество нерасщепленного субстрата в лизосомах достигает критического уровня. **При болезни Гурлера** признаки болезни отмечаются уже на первом году жизни, к двум годам они явно выражены – грубые черты лица, шумное дыхание ртом из-за аденоидов и пороков развития лица, прогрессирует отставание в росте, формируется неправильное телосложение и деформация скелета, развивается ограничение подвижности в суставах верхних, а затем нижних конечностей. Поражение соединительной ткани проявляется в пупочных и паховых грыжах, нарушении работы сердца. Нарушения со стороны глаз – помутнение роговицы, врожденная глаукома. Наблюдается снижение слуха. С возрастом усиливается умственная отсталость вплоть до идиотии, неврологические расстройства – параличи, нарушение координации движений. Больные погибают в возрасте до 10 лет.

**3с2** – заболевания, возникающие при нарушении лизосомного переваривания в результате нарушения обмена липидов. **Сфинголипидозы** – болезни, вызванные отсутствием лизосомных ферментов, обеспечивающих процессы распада сфинголипидов. Сфинголипиды являются важнейшим структурным компонентом мембраны клеток, в частности миелиновых оболочек нервных волокон, поэтому при нарушении их обмена поражается большинство жизненно важных органов, в том числе серое и белое вещество головного мозга.

При заболеваниях наблюдается выраженный клинический полиморфизм, касающийся как времени начала, так и тяжести течения болезни. Эти болезни характеризуются прогрессирующими умственными и двигательными расстройствами вследствие изменений в головном мозге. Наблюдается поражение костей, паренхиматозных органов (печень, селезенка, почки), кожи и сетчатки глаза.

**Болезнь Тей–Сакса** возникает вследствие недостаточной активности фермента гексозаминидазы А, который в лизосомах катализирует метаболизм жирных кислот ганглиозидов. Эти липиды накапливаются в мозге и препятствуют течению нормальных биологических процессов.

Болезнь Тей–Сакса классифицируется в зависимости от времени возникновения неврологических симптомов. **Детская форма** – на протяжении первых шести месяцев после рождения дети развиваются нормально. Позднее, когда нервные клетки накапливают ганглиозиды, наблюдается прогрессирующее ухудшение умственных и физических способностей больного, ребенок слепнет, развивается глухота, нарушается процесс глотания, атрофируются мышцы, наступает паралич. Смерть наступает в возрасте до 4 лет.

**Подростковая форма** – проявляется у детей в возрасте от 2 до 10 лет. Появляются трудности в обучении (когнитивные расстройства), речь затруднена, нарушается координация движений, походка становится шаткой, повышается тонус мышц, затруднено глотание. Смерть наступает в возрасте от 5 до 15 лет.

**Взрослая форма** – возникает в возрасте от 20 до 30 лет. Характеризуется прогрессирующим ухудшением неврологических функций, нарушением координации движений. Симптомы сходны с подростковой формой, добавляются психические расстройства, в частности, шизофрения. Данная форма болезни не летальна.

### ***Лекция 21. X-сцепленные рецессивные заболевания.***

#### **Основные правила наследования, молекулярные основы**

При редко встречающихся болезнях этого типа наследования женщины практически всегда гетерозиготны, то есть фенотипически нормальны (здоровы) и являются носительницами. Больными бывают, как правило, мужчины.

1. Больные мужчины передают патологический аллель всем своим дочерям и никому из сыновей.

2. Все фенотипически нормальные дочери больных мужчин являются носительницами.

3. В браке женщины-носительницы и больного мужчины 50 % дочерей больны, 50 % носительницы, 50 % сыновей больны, 50 % сыновей здоровы.

4. Иногда гетерозиготные женщины могут быть больными в связи с гетерохроматизацией хромосомы с нормальным аллелем случайно во всех или почти во всех клетках.

К X-сцепленным хромосомным болезням относятся гемофилия А и В, дефицит глюкозо-6 фосфатдегидрогеназы, мышечная дистрофия Дюшенна–Беккера, синдром Леша–Нихема.

Как правило, у гетерозиготных женщин заболевание не так выражено, как у мужчин, у которых X-сцепленное заболевание проявляется полностью. Это связано с наличием у женщин нормально функционирующих клеток, продуцирующих полноценные белки, правда, в меньшем количестве, чем у здоровых. Дефицит фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) – заболевание, в результате которого при приеме пациентом некоторых лекарств, обладающих окислительными свойствами (сульфаниламиды) и растительных продуктов (конские бобы) происходит гемолиз эритроцитов. Г-6-ФДГ является ключевым ферментом прямого аэробного окисления фосфорилированной глюкозы (глюкозо-6-фосфат) до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  (гексозомонофосфатный

шунт метаболизма глюкозы). Этот процесс сопровождается накоплением важного кофермента НАДФ-Н. НАДФ-Н необходим для поддержания в восстановленном состоянии глутатиона. Глутатион, присутствующий в эритроцитах, нейтрализует агенты, которые окисляют гемоглобин или компоненты мембраны эритроцита. Если нарушаются процессы восстановления глутатиона, то в эритроцитах накапливаются кислородные радикалы, приводящие к преципитации гемоглобина, повреждению и преждевременному разрушению мембраны эритроцитов и к гемолизу эритроцитов.

При сохранении даже 10 % активности фермента Г-6-ФДГ болезнь фенотипически не проявляется.

«**Негроидная**» форма характеризуется нормальной продукцией фермента, который, однако, быстро разрушается. Гемолизу подвергаются «старые» эритроциты (старше 55 дней). Острый гемолиз происходит при первом применении лекарств, затем процесс становится хроническим и слабовыраженным.

«**Средиземноморская**» форма характеризуется наличием фермента со сниженной активностью, поэтому гемолизу подвергаются и старые и молодые эритроциты. Болезнь протекает остро независимо от периода применения лекарств.

Одним из растительных продуктов, вызывающих гемолиз эритроцитов, являются конские бобы (*Vicia faba*) и заболевание часто называют фабизмом. Токсическим веществом бобов являются продукты гидролиза бета-гликозидов (вицин и конвицин), обладающие окислительными свойствами в 10–20 раз превосходящим таковые аскорбиновой кислоты.

Носители данной мутации должны с осторожностью применять лекарства, а также растительные пищевые продукты – конские бобы, крыжовник, красную смородину.

**Гемофилия А** – тяжелое заболевание, обусловленное дефектом VIII фактора свертывания крови, важнейшего звена в системе свертывания крови. Встречается с частотой 1:2500 новорожденных мальчиков. Ген (F8C, НЕМА) расположен на длинном плече X-хромосомы (*Xq28*), продукт гена – фактор VIII образует комплекс с фактором Виллебранда (VWF), который защищает белок от протеолитического гемолиза и регулирует его активность.

Заболевание обычно распознается на 2–3 году жизни, а в тяжелых случаях – при рождении (кровотечения из пупочного канатика, внутрикожные кровоизлияния). Для него свойственны множественные гематомы. Преобладают кровоизлияния в крупные суставы конечностей (коленные, локтевые, голеностопные), подкожные, внутри- и межмышечные гематомы, кровотечения при травмах и хирургических вмешательствах, наличие крови в моче. Кровоизлияния в полость суставов

приводят к их тугоподвижности из-за остеоартрозов (развитие соединительной ткани в суставах).

**Гемофилия В** обусловлена снижением активности IX фактора свертываемости крови, важного компонента средней фазы свертывания крови. Встречается в 10 раз реже, чем гемофилия типа А. Ген (F9 НЕМВ) картирован *Xq27*.

Клинические проявления сходны с таковыми при гемофилии А.

**Лекция 22. Моногенные болезни  
с неклассическим типом наследования. Болезни экспансии,  
митохондриальные болезни, мозаизм**

Моногенные болезни с неклассическим типом наследования подразделяются на несколько категорий:

- болезни, вызванные мутациями, представляющими собой повтор триплетных нуклеотидов (болезни экспансии);
- болезни, вызванные мутациями в генах митохондрий;
- болезни, связанные с геномным импринтингом (инактивация одной из копий родительских генов);
- болезни, ассоциированные с гонадальным мозаизмом (мутации происходят постзиготно во время раннего развития эмбриона).

***Болезни, вызванные мутациями, представляющими собой повтор триплетных нуклеотидов (болезни экспансии)***

Некоторые области хромосом в клетках, полученных от отдельных индивидов, не окрашивались специальными красителями. Оказалось, что при культивировании клеток в отсутствие некоторых компонентов (фолиевая кислота и др.) в этих районах часто происходили хромосомные разрывы, которые называли сайтами ломкости. Была обнаружена корреляция между наличием определенного сайта ломкости и некоторыми заболеваниями, включая распространенную форму умственной отсталости (синдром Мартина–Белла) и некоторых видов рака.

**Синдром ломкой (фрагильной) X-хромосомы – Синдром Мартина–Белла** характеризуется умеренной или глубокой умственной отсталостью и рядом пороков физического развития (узкое лицо, большие оттопыренные ушные раковины, выпуклый лоб, выступающие челюсти). Большинство пациентов социально адаптированы и способны выполнять несложную физическую работу. Частота встречаемости – 1:2000–5000 новорожденных. Больных мальчиков в 2–3 раза больше, чем больных девочек, мальчики болеют тяжелее. Эта болезнь как источник умственной отсталости занимает 2 место в мире после синдрома Дауна.

Длительное время считалось, что синдром наследуется по X-сцепленному рецессивному типу. Однако в родословных отмечались случаи тяже-

ло протекающей болезни у женщин и легко протекающей – у мужчин, следовательно, данное заболевание не укладывается в строгие рамки X-сцепленного рецессивного наследования.

Помимо определенного комплекса клинических аномалий синдром сопровождается характерной цитогенетической картиной: ломкостью в дистальной части длинного плеча X-хромосомы, что внешне напоминает «спутник» длинного плеча.

В сайте ломкости X-хромосомы локализован ген FMR-1 (familia mental retardation), который содержит многократно повторяющийся тринуклеотид CGG в регуляторной области, примыкающей к кодирующей последовательности на 5-конце. У здоровых людей число повторов колеблется от 6 до 54, а у «носителей» синдрома – от 55 до 200. У больных число повторов превышает 200.

При большом числе повторов (больше 200) происходит метилирование последовательностей самого повтора и смежных с ним сайтов, в том числе и промоторной части гена, что приводит к его инактивации и подавлению транскрипции. В норме ген FMR-1 кодирует РНК-связывающий белок, который участвует в метаболизме мРНК. Белок обнаружен во многих тканях, в том числе в головном мозге. Мутация гена ведет к нарушению трансляции белка, необходимого для жизнедеятельности нейронов, отсюда и его проявления.

Индивиды, несущие 6–54 повтора передают их своим потомкам, как и носители из группы риска, то есть имеющие 55–200 повторов, что увеличивает численность повторов у потомков.

Увеличение числа повторов из поколения в поколение называется **антиципацией (парадокс Шермана)** и приводит к тому, что проявление болезни в последующих поколениях тяжелее, чем в предыдущих.

Точные механизмы тринуклеотидной экспансии неясны, но известно несколько факторов, влияющих на нестабильность таких повторов. Оказалось, что увеличение повторов свыше 200 у больного ребенка происходит при передаче гена от матери-носительницы, но не от отца.

Основные правила наследования заболевания:

1. Носители – мужчины клинически и цитогенетически могут быть здоровыми. Мутация передается через дочерей (фенотипически нормальных) внукам носителей.

2. У половины женщин-носителей имеются признаки болезни – умственная отсталость

**Болезнь Гентингтона** аутосомно-доминантное заболевание, связанное с прогрессирующими моторными повреждениями, снижением умственных способностей, эмоциональной нестабильностью. Симптомы развиваются в зрелом возрасте.



Для болезни характерно поражение передних отделов и коры головного мозга, потеря нейронов, особенно в базальных ганглиях. Нервные клетки погибают в течение нескольких десятков лет, при этом усиливаются нарушения в интеллектуальной и эмоциональной сферах, судороги и неконтролируемые движения, затем наступает смерть.

Заболевание развивается в результате мутации гена, расположенного в 4 хромосоме, сущность мутации – увеличение повторов тринуклеотида CAG в кодирующей последовательности гена. В норме продукт гена (белок) имеет на N-конце 6–35 повторов, мутантный – 35–100 повторов. Было установлено, мутантный белок является токсичным для нейронов, что приводит к болезни.

Болезнь Гентингтона является примером доминантной летальной мутации. У гетерозигот по мутантному аллелю это заболевание развивается в зрелом возрасте (после 40 лет), поэтому больные успевают оставить потомство. Половина потомков может унаследовать летальный аллель, который передается последующим поколениям.

***Заболевания, связанные с мутациями митохондриальных генов.*** Главной особенностью наследования болезней, вызванных мутациями митохондриальных генов, является то, что они передаются только по материнской линии. Каждая яйцеклетка содержит до 25 000 митохондрий. Спермии не имеют митохондрий, поскольку при созревании мужских половых клеток цитоплазма элиминируется.

Для митохондриальной наследственности характерны следующие признаки:

1. Болезнь передается только от матери.
2. Больны и девочки, и мальчики.
3. Больные отцы не передают болезнь ни дочерям, ни сыновьям.

Генные мутации в митохондриальной ДНК (мтДНК) обнаружены при атрофии зрительного нерва Вебера, митохондриальных миопатиях, доброкачественной опухоли (онкоцитоме), при прогрессирующих офтальмоплегиях (паралич глазных мышц, косоглазие).

Болезни, вызванные мутациями в митохондриальных генах, ассоциированы с нарушениями в респираторной цепи. Респираторные цепи состоят более чем из 70 различных белков, которые формируют 5 ферментных комплексов, расположенных на внутренней мембране митохондрий. 13 белков из 70 синтезируются непосредственно в митохондриях на основе мтДНК.

Белки, входящие в состав этих комплексов, кодируются как ядерной, так и митохондриальной ДНК, поэтому митохондриальные болезни могут возникать благодаря генетическим дефектам как в ядерном, так и в митохондриальном геномах.

Скорость мутаций в мтДНК в 10 раз больше, чем в геномной. Это происходит вследствие того, что мтДНК кольцевая, не имеет интронов, не защищена гистонами, не имеет эффективного механизма репарации, чувствительна к радикалам, возникающим в процессе окислительного фосфорилирования. МтДНК наследуется по материнской линии, поэтому не рекомбинирует и мутации накапливаются с возрастом матери.

Мутации в генах митохондрий приводят к поражению тех органов и систем, функции которых зависят от окислительного фосфорилирования: центральная нервная система, скелетные и сердечная мышцы, печень, почки.

Патогенетические точечные мутации найдены в каждом типе мтДНК: при мутации в участке мтДНК, кодирующей транспортную РНК, возникают энцефаломиелопатии, кодирующих рибосомальную РНК – спонтанная и антибиотикассоциированная сенсневральная глухота (паралич слухового нерва), в участках, кодирующих митохондриальные белки – оптические нейропатии.

Клинические проявления митохондриальных заболеваний могут быть подразделены на 4 группы: неврологические, сердечно-сосудистые, эндокринные, желудочно-кишечные.

**Неврологические проявления** отмечены как в центральной, так и в периферической нервной системе. К ним относятся нейропатии, атаксия – нарушение равновесия при стоянии (миссенс мутация в гене АТФ-азы), слабоумие, периферическая, оптические нейропатии (нарушения функции зрительного нерва от сетчатки до головного мозга), миопатия (поражение наружных мышц глаз), сосудистая головная боль.

**Сердечно-сосудистые нарушения** – кардиомиопатия (нарушения функции сердечной мышцы)

**Эндокринные нарушения** проявляются в виде сахарного диабета 2-го типа.

**Желудочно-кишечные нарушения** встречаются в псевдообструкции кишечника, гепатопатии, потере веса.

**Системные болезни** – дегенерация сетчатки, гломерулопатия (диффузное воспаление почек с преимущественным поражением клубочков), панцитопения (снижение содержания трех основных элементов крови – эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов), депрессии.

**Мозаизм.** Любые мутации могут возникать на ранних стадиях дробления зиготы в одной из клеток и тогда индивид будет **мозаичен** по данному гену. В одних клетках у него будет действовать нормальный аллель, а в других – мутантный или патологический. Если мутация доминантная, она будет проявляться в соответствующих клетках и, очевидно, приведет к развитию болезни в менее тяжелой форме. В зависимости от времени появления мутации будет проявляться мозаизм сома-

тических или половых клеток. **Различают мозаицизм хромосомальный, мозаицизм соматических клеток и мозаицизм половых клеток.**

Клинические проявления **соматического мозаицизма** зависят от того, в каких клетках и когда возникла мутация. Соматические мутации, возникающие на ранних этапах развития эмбриона, будут приводить к болезням более общего характера, чем мутации, возникающие на поздних стадиях. Соматический мозаицизм доказан для 30 болезней в том числе нейрофиброматоз 1 типа, миотоническая дистрофия, миодистрофия Дюшенна, при злокачественных заболеваниях (колоректальный рак и рак предстательной железы).

Половая дифференцировка эмбриона начинается к 7 неделе развития. После этого срока возможно появление мутаций, в результате которых развивается **мозаицизм половых клеток**. Мозаичными могут быть от нескольких процентов до половины половых клеток. По причине возникновения мозаицизма половых клеток у генетически нормальных родителей могут рождаться дети с X-сцепленными (мышечная дистрофия Дюшенна, гемофилия А и В) или доминантными болезнями (нейрофиброматоз 1 и 2 типа, склероз).

При нарушении течения митоза могут сформироваться особи, имеющие разное содержание половых хромосом в разных клетках хромосомного мозаицизма. У человека могут быть разные случаи мозаицизма: XX/XXX, XY/XXY, XO/XXX, XO/XXY и др. Если процент мозаичных клеток велик, возможны морфофизиологические проявления.

### **Лекция 23. Понятие о молекулярных механизмах полигенных мультифакторных заболеваний**

Мультифакторные заболевания возникают при **комбинированном воздействии факторов окружающей среды и одного или более мутантных генов**. Генетический компонент проявляется в дозозависимым эффекте – чем большее количество врожденных дефектных генов, тем большее количество синдромов может возникнуть.

Наряду с генетической предрасположенностью, мультифакторные заболевания индуцируются факторами внешней среды, к которым относятся стрессы, особенности питания, условия проживания, уровень физической нагрузки, возраст, инфекционные заболевания и др. Как правило, такие болезни корректируются изменением экологической обстановки, лечением, сменой образа жизни.

К полигенным мультифакторным заболеваниям относятся атеросклероз, сахарный диабет, ожирение, гипертензия, коронарная болезнь сердца, артриты, рак различной локализации.

## Атеросклероз

Осложнения **атеросклероза (А)** – инфаркт миокарда и мозговой инсульт занимают соответственно первое и второе места среди заболеваний, приводящих к смертельному исходу.

А – распространенное хроническое заболевание. Оно характеризуется возникновением в стенках артерий очагов липидной инфильтрации и разрастанием соединительной ткани с образованием фиброзных бляшек. Бляшки сужают просвет и нарушают физиологические функции пораженных артерий, что приводит к органным и (или) общим расстройствам кровообращения.

**Среди причин, способствующих** развитию атеросклероза, выступают на первый план **социально-экономические, урбанизационные факторы**: низкая физическая активность, состояние хронического стресса, характер питания.

**Генетическая предрасположенность к А** доказана наличием морфологическими изменениями на стенках крупных артерий у лиц подросткового и молодого возраста, схожими с атеросклеротическими процессами у взрослых больных А.

К генетически детерминированным факторам относят:

– пол – начало атеросклеротического процесса у женщин происходит на 10–15 лет позже, чем у мужчин. Это обусловлено гормональным фоном, более выраженной коронарной коллатеральной сетью сосудов, менее тонкой интимой артериальных сосудов, особенностью гистохимического строения стенок аорты и коронарных сосудов;

– особенность телосложения (конституция) – чаще и раньше (примерно на 20 лет) ИБС развивается у лиц с гиперстеническим типом (пикническим) телосложения (средний рост, склонность к полноте, слабо выражена мышечная система, полное лицо, короткая толстая шея, руки и ноги полные). Тип телосложения обусловлен высоким уровнем ХС в крови, особенностями липидного и углеводного обмена:

- определенное строение коронарных сосудов и аорты;
- нарушения в свертывающей системе (склонность к гиперкоагуляции);
- артериальная гипертензия;
- сахарный диабет 2 типа;
- нарушения липидного обмена в виде повышения уровней холестерина, липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), снижения уровня липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), нарушения строения и функционирования рецепторного аппарата ЛПНП.

Прямое отношение к развитию А имеют основные фракции липидов, которые циркулируют в крови – холестерин, триглицериды, фосфолипиды.

Поскольку липиды крови являются гидрофобными соединениями, нерастворимыми в воде и плазме крови, они могут переноситься с током крови только в составе белково-липидных комплексов – липопротеинов (ЛП). Внутри липопротеиновой частицы находится жировая капля (ядро), содержащая триглицериды и холестерин. Жировая капля окружена оболочкой из фосфолипидов и белков. Белки, входящие в состав липопротеина, называются аполипипропротеинами (апобелками). Различают несколько классов апопротеинов (апоА, апоВ, апоС – до апоG).

**Функции апобелков:**

- осуществляют транспорт липидов;
- являются лигандами клеточных рецепторов на клетках-мишенях для липопротеинов;
- некоторые из аполипипропротеинов являются регуляторами активности ферментов липидного обмена.

Липопротеины различают по размеру, удельному весу – плотности, подвижности при электрофорезе, содержанию в них холестерина, триглицеридов, составу апопротеинов.

**Липопротеины низкой плотности** являются основным атерогенным классом ЛП. Они синтезируются в печени и являются источником ХС (до 70 % общего ХС плазмы крови). Физиологическая роль ЛПНП заключается в транспорте холестерина его потребителям – надпочечникам и другим эндокринным органам, ЦНС, печени. В состав ЛПНП входит единственный апобелок В-100, который распознается с рецепторами клеток периферических тканей и ими захватывается.

Метаболизм ЛПНП сопровождается образованием активных форм кислорода и усиленным окислением и модификацией ЛПНП. Модифицированные ЛПНП воспринимаются организмом как чужеродные элементы. Они захватываются активированными макрофагами, проникают в субэндотелиальное пространство артерий, стимулируют развитие воспалительного процесса и формирование атеросклеротических бляшек. При этом усиливается синтез макрофагами провоспалительных цитокинов. Макрофаги с ЛПНП превращаются в пенистые клетки, которые подвергаются апоптозу. При этом в сосудистой стенке истончается и разрывается фиброзная пластинка, что приводит к образованию тромба, который частично или полностью закрывает просвет сосуда. При тромбозе коронарных сосудов развиваются стенокардия или инфаркт миокарда, при тромбозе сонных артерий – ишемический мозговой инсульт, при тромбозе периферических артерий – перемежающаяся

хромота (боли в икроножных мышцах, уменьшающиеся или прекращающиеся при остановке) или гангрена.

**Липопротеины высокой плотности** имеют наименьший из всех ЛП размер, синтезируются в печени и в меньшей степени в тонком кишечнике, включают фосфолипиды, ХС, апо А, С, Е. ЛПВП по сравнению с ЛПНП имеют меньше ХС, но больше фосфолипидов и белка. Основная функция ЛПВП заключается в удалении избытка ХС из артериальной стенки, тканей и органов, перевод его в другие формы или транспортировка в печень, где в составе желчи через кишечник он выводится из организма. Поэтому чем выше уровень ЛПВП в крови и чем больше в ЛПВП холестерина, тем меньше вероятность развития А.

Установлена важная роль в патогенезе атеросклероза апопротеинов. Доказано, что **апопротеин В**, содержащийся в ЛПНП, повышает атерогенные свойства крови, **апопротеин А**, входящий в состав ЛПВН – увеличивает антиатерогенность ЛПВП.

Таким образом, повышение уровня ЛПНП, увеличение содержания в них ХС, с одной стороны, и понижение концентрации ЛПВП и содержания в них ХС, с другой, создают условия для формирования атеросклеротических бляшек и прогрессирования А, ИБС, ишемической болезни мозга.

Вместе с тем, очень низкое содержание ХС в организме чревато неблагоприятными последствиями. Оказалось, что чем выше содержание ХС, тем ниже смертность от злокачественных новообразований. Однако при очень высоком уровне ХС смертность снова начинает расти. Оптимальный уровень ХС в организме находится в пределах 5,51–6,06 ммоль/л, по другим данным – 5,2–5,72 ммоль/л. Ниже и выше указанных значений смертность возрастает: выше – от сердечно-сосудистых заболеваний, ниже – от злокачественных. В последнее время нормой считается уровень ХС от 5 ммоль/л и ниже.

Выделяют ряд **наследственных гиперлипидемий**: I, II А, III, IV типов. Они характеризуются различным соотношением содержания ХС, его фракций и ТГ.

**I тип гиперлипидемий** характеризуется нарушением лизиса **хиломикрон** в результате отсутствия или дефицита липопротеинлипазы, или генетического дефекта апопротеинов. В результате ХМ не захватываются клетками-мишенями и остаются в крови (аутосомно-рецессивный тип наследования). Частота встречаемости – 1:10 000.

**ГЛП II А типа** (аутосомно-рецессивный тип наследования) возникает из-за замедления распада **ЛПНП** и вследствие этого – затруднения элиминации из них ХС. Причиной данного нарушения является патология рецепторного аппарата ЛПНП. Проявляется повышением уровня ЛПНП и ХС, появлением ксантом, преждевременным развитием ИБС

и А. Установлено несколько разновидностей мутации гена, кодирующего белок, являющийся рецептором для ЛПНП на клетках-мишенях:

- нулевые аллели, когда на клетках-мишенях полностью отсутствует рецептор к ЛПНП;
- синтезируется рецептор с пониженной способностью связывать ЛПНП;
- синтезируется быстро разрушающийся белок;
- образуется дефектный рецептор, в результате затрудняется поступление ЛПНП внутрь клетки.

Кроме аномалий рецептора к ЛПНП, обнаружена мутация апобелка В, входящего в состав ЛПНП (лиганд для рецептора на клетках-мишенях). Такой ЛПНП с дефектным апо-белком В неспособен связываться с рецептором, в результате чего развивается гиперхолестеринемия. В общей популяции встречаются гомозиготные (1:1 000 000) и гетерозиготные (1:200–500). Клинически у гетерозигот отмечается умеренная гиперхолестеринемия, увеличение фракции ЛПНП, ИБС в 35–45 лет. Наиболее тяжелая гомозиготная форма протекает с выраженной гиперхолестеринемией, повышением ЛПНП, отложением липидов в коже, сухожилиях, роговице, развитием ИБС до 20 лет. Уровень ХС и ЛПНП уже в пупочной вене новорожденного выше нормы, сыворотка прозрачна, уровень ТГ – в норме.

**Семейная гиперлипидемия III типа** характеризуется аутосомно-рецессивным или доминантным типом наследования, наличием в плазме повышенного уровня ЛПОНП вследствие замедленного распада аномальных липопротеинов низкой плотности. Дефект вызван мутацией апопротеинов В и Е. Частым спутником заболевания являются ожирение, сахарный диабет, подагра. Заболевание проявляется в подростковом возрасте и сопровождается ксантомами в области ягодиц, в складках суставов, ладоней.

**Семейная гипертриглицеридемия IV типа.** Это гетерозиготная форма, характеризуется аутосомно-доминантным типом наследования и довольно высокой частотой встречаемости – 1:100, гомозиготы не обнаружены. У больных отмечается высокое содержание ТГ. Сопровождается ожирением и инсулинрезистентностью, ранним А, ксантоматозом, панкреатитом, артериальной гипертензией, а в последующем – сахарным диабетом 2 типа.

Таким образом, гиперлипидемии I типа обусловлены хиломикронемией, II типа – увеличением концентрации ЛПНП, III типа – увеличением содержания ЛПОНП, IV типа – отмечены триглицеридемии.

Для описанных моногенных форм ГЛП характерно:

- раннее начало;
- сочетание с ожирением, гиперинсулинизмом;

- клинические проявления в виде ксантоматозов;
- отягощенная наследственность по раннему развитию А.

## **Сахарный диабет**

Сахарный диабет – клинический синдром хронической гипергликемии и глюкозурии, обусловленный абсолютной или относительной инсулиновой недостаточностью, приводящий к нарушению обмена веществ, поражению сосудов (различные ангиопатии), нейропатии и патологическим изменениям в различных органах и тканях.

Сахарный диабет распространен во всех странах мира и по данным ВОЗ в мире насчитывается более 150 млн больных диабетом. В промышленно развитых странах Америки и Европы распространенность сахарного диабета составляет 5–6 % и имеет тенденцию к дальнейшему повышению, особенно в возрастных группах старше 40 лет. В России зарегистрировано 2 млн больных диабетом, хотя истинное количество больных диабетом в России достигает 6–8 млн человек.

Наиболее часто встречается сахарный диабет 2 типов:

1. Инсулинзависимый сахарный диабет (ИЗД 1 типа).
2. Инсулиннезависимый сахарный диабет (ИНЗД 2 типа).

**Инсулинзависимый диабет** (ИЗД, I тип) характеризуется острым началом, инсулинопенией, склонностью к частому развитию кетоацидоза. Чаще диабет I типа встречается у детей и подростков, ранее употреблявшееся название «юношеский диабет», однако заболеть могут люди любого возраста. Жизнь больных, страдающих этим типом диабета, зависит от экзогенного введения инсулина, в отсутствие которого быстро развивается кетоацидотическая кома.

Установлено, что недостаточность секреции инсулина является одним из факторов, необходимым для развития диабета. Однако механизм инсулиновой недостаточности при ИЗД и ИНЗД различен. При ИЗД масса и размеры поджелудочной железы меньше, чем у лиц, не больных диабетом или страдающих ИНЗД. Количество и объем островков у больных диабетом I типа, а также количество инсулина, вырабатываемого поджелудочной железой, у этих больных снижено по сравнению с нормой и составляет менее 10 % от их количества у здоровых лиц.

Диабет I типа, в зависимости от механизма развития, можно подразделить на два подтипа: аутоиммунный и вирусиндуцируемый.

**Аутоиммунный диабет** характеризуется нарушением структуры и функций, а также количества островковых клеток поджелудочной железы. Антитела к  $\beta$ -клеткам обнаруживаются до появления клинических признаков диабета и поддерживаются на высоком уровне в течение нескольких лет после начала диабета.



Другие эндокринные аутоиммунные заболевания у диабетиков встречаются в 4–5 раз чаще по сравнению с лицами без диабета. Диабет часто сочетается с аутоиммунным тиреоидитом, диффузным токсическим зобом и др., обнаруживаются антитела к щитовидной железе, надпочечникам и др. У больных наблюдается явление инсулита (воспаление островков – активный иммунный процесс).

Развивается в любом возрасте, чаще у женщин.

Для **вирусиндуцированного диабета** характерно лишь кратковременное образование антител к антигенам островков поджелудочной железы, которые, как правило, исчезают в течение года, однако у них часто образуются антитела к экзогенному инсулину.

Этот тип диабета не сочетается с аутоиммунными поражениями других эндокринных органов, развивается в более молодом возрасте (не старше 30 лет), чем аутоиммунный тип, и одинаково часто встречается как у мужчин, так и у женщин.

У человека в патогенезе ИЗД определенная роль отводится вирусу Коксаки В3 и В4, реовирусу 3-го типа, вирусу паротита, цитомегаловирусу и вирусу врожденной краснухи. Роль вирусной инфекции в патогенезе диабета, вероятно, сводится к тому, что вирусы первично инициируют повреждение  $\beta$ -клеток поджелудочной железы, а именно их мембраны, которая при этом изменяет свои антигенные свойства, благодаря чему активируются аутоиммунные механизмы, вызывая повреждение  $\beta$ -клеток и инсулиновую недостаточность.

Определяющим условием в развитии диабета в таких случаях является генетическая предрасположенность ткани островкового аппарата к повреждению, вызываемому вирусной инфекцией. Как правило, между вирусным заболеванием и началом диабета проходит определенный срок.

Вирусповреждающему действию предшествует повреждение мембраны  $\beta$ -клеток различными химическими веществами в незначительных концентрациях. У лиц с нарушенными репаративными процессами субпороговые концентрации токсических веществ облегчают последующее влияние вирусной инфекции на инициирование аутоиммунных механизмов развития заболевания.

В последние годы показано наличие еще одной – **медленно прогрессирующей** – формы СД I типа, которая характеризуется медленным развитием инсулиновой недостаточности. Больные, страдающие этой формой, в течение 1–3 лет могут соблюдать диету и применять пероральные сахароснижающие препараты, что позволяет компенсировать нарушение углеводного обмена. Однако в последующем возникает резистентность к этим препаратам и для компенсации нарушения углеводного обмена больных переводят на инсулинотерапию. У таких больных в течение всего заболевания в сыворотке крови выявляются

антитела к антигенам островков поджелудочной железы и отмечается прогрессивное снижение секреции инсулина.

Таким образом, независимо от инициирующих факторов и начальных механизмов диабета (вирусиндуцированный, аутоиммунный или медленно прогрессирующий), на последующих этапах в островках поджелудочной железы наблюдается деструкция и прогрессирующее уменьшение количества  $\beta$ -клеток вплоть до полного их исчезновения и развития абсолютной инсулиновой недостаточности.

**Генетическая предрасположенность.** Наследование ИЗД связано с группой генов, которые определяют предрасположенность  $\beta$ -клеток поджелудочной железы к повреждению и обеспечивают рецессивный тип наследования:

(1) Гены главного комплекса гистосовместимости (МНС или HLA). МНС – это группа генов и кодируемых ими белков наружной мембраны клеток. Они играют важнейшую роль в распознавании чужеродных для организма антигенов и в развитии иммунного ответа. Сами белки обладают выраженными антигенными свойствами. Антигены комплекса кодируются группой тесно сцепленных генов 6-й хромосомы.

Здесь обнаружено 5 локусов: A, B, C, D и DR. Антигены локусов A, B и C обнаруживаются во всех клетках организма, содержащих ядра, антигены локуса D и DR выявляются в клетках, способных образовать антитела, то есть в В-лимфоцитах и макрофагах.

У больных ИЗД часто выявляются два антигена HLA в локусе B: B8 и B15. Одновременное их наличие увеличивает риск заболевания в 8–9 раз по сравнению с лицами, не имеющими указанных антигенов.

В локусе D обнаружены антигены Dw3, Dwg3, Dw4 и Dwg4, которые также присутствуют у больных ИЗД.

(2) Ген инсулина и ген NO-синтазы, располагающиеся рядом на 11 хромосоме.

(3) Ген, кодирующий тяжелую цепь иммуноглобулинов (14-я хромосома).

(4) Ген  $\nu$ -цепи Т-клеточного рецептора (7-я хромосома).

(5) Гены группы крови Кидд (18-я хромосома).

**Инсулиннезависимый диабет (ИНЗД, II тип)** протекает с минимальными обменными нарушениями, характерными для диабета. Как правило, больные обходятся без экзогенного инсулина и для компенсации углеводного обмена требуются диетотерапия или пероральные препараты, снижающие уровень сахара.

Внешним фактором, способствующим реализации наследственной предрасположенности к этому типу диабета, является переизбыток, приводящее к развитию ожирения, которое наблюдается у 80–90 % боль-

ных, страдающих ИНЗД. При снижении массы тела уровень глюкозы в крови снижается и улучшается ее утилизация.

ИНЗД, как и ИЗД, имеет генетическую основу, которая проявляется более отчетливо (значительная частота семейных форм диабета), чем при ИЗД, и характеризуется ауtosомно-доминантным типом наследования.

При ИНЗД поджелудочная железа и ее островковый аппарат практически не отличаются от таковых у лиц соответствующего возраста без нарушения углеводного обмена. Островки менее компактны, выявляется дольчатость железы вследствие развития фиброзной ткани, может быть незначительное снижение числа  $\beta$ -клеток. Признаком функциональной недостаточности  $\beta$ -клеток при ИНЗД является уменьшение размера ядер клеток, комплекса Гольджи и эндоплазматической сети, Эти изменения в разной степени обнаруживаются в поджелудочной железе лиц пожилого возраста при отсутствии нарушения углеводного обмена.

СД 2 типа, как правило, развивается постепенно и в клиническом течении сахарного диабета можно выделить несколько стадий. Первой из них является **нарушение толерантности к глюкозе (НТГ)**, латентный или скрытый сахарный диабет, который может не обнаруживаться в течение ряда лет. НТГ проявляется в снижении утилизации глюкозы в тканях организма, не имеет клинических проявлений и определяется только при проведении пробы на толерантность к глюкозе.

Изменения утилизации глюкозы могут быть связаны:

- с возрастом (после 50 лет наблюдается повышение гликемии на 10 мг% в каждое десятилетие);
- степенью физической активности (физические нагрузки повышают чувствительность тканей к инсулину);
- характером питания (повышенное потребление рафинированных углеводов и низкое потребление клетчатки способствует нарушению углеводного обмена);
- ожирением (оно предшествует нарушению углеводного обмена);
- характером распределения жира (абдоминальное, центральное ожирение считается фактором риска развития НТГ и СД 2 типа).

НТГ является нестабильным состоянием – может нормализоваться. Лица с НТГ не являются больными диабетом, однако отмечена их предрасположенность к атеросклеротическим изменениям сосудов, высокая распространенность среди них сердечно-сосудистых заболеваний – ИБС и смертность от нее в 12 раз выше, чем у лиц с нормальной толерантностью к глюкозе.

Важнейшим эндокринным дефектом при СД 2 типа является **инсулинрезистентность (ИР)**. Это снижение чувствительности периферических тканей организма к эндогенному и экзогенному инсулину.

При ИР для достижения нормального биологического эффекта инсулина (состояние нормогликемии) требуются значительно более высокие дозы гормона. В норме поджелудочная железа вырабатывает 30–45 ЕД инсулина в сутки. По состоянию инсулинрезистентности требуется 100–200 ЕД инсулина в сутки.

**Инсулинрезистентность может развиваться на различных уровнях:**

1. Перецепторный уровень Нарушение образования инсулина – угнетение секреции инсулина, образование инсулина с нарушенной молекулярной структурой или нарушение процессов конверсии проинсулина в инсулин. Проинсулин обладает незначительной сахароснижающей активностью (приблизительно 5–10 % по сравнению с инсулином). Снижается количество глюкозного транспортера (ГЛЮТ-2), который является единственным транспортером глюкозы в  $\beta$ -клетках. В условиях хронической гипергликемии снижается секреторный ответ  $\beta$ -клеток на стимуляцию повышенным уровнем глюкозы в крови. Подобные нарушения функции  $\beta$ -клеток характерны для обоих типов диабета.

2. Рецепторный уровень. Нарушение передачи гормонального сигнала от инсулина в клетки, потребляющие глюкозу (клетки периферических тканей, скелетной мускулатуры, миокарда, жировые клетки, гепатоциты) в результате уменьшения на клетках количества рецепторов к инсулину или снижения их аффинности (чувствительности к инсулину).

3. Пострецепторный уровень. Нарушение утилизации глюкозы – подавление транспорта глюкозы через мембрану клеток-мишеней вследствие нарушения функции внутриклеточных транспортеров глюкозы (GLUT-4), которые доставляют глюкозу от клеточной мембраны внутрь клетки. В норме активация глюкозных транспортеров происходит при фосфорилировании инсулиновых рецепторов на клетках периферических тканей. При гипергликемии происходит не фосфорилирование инсулинового рецептора, а его гликозилирование, в результате нарушаются функции глюкозных транспортеров, что приводит к нарушению снабжения глюкозой периферических тканей.

В норме глюкоза проникает внутрь клетки с помощью глюкозных транспортеров. В клетке она превращается в глюкозо-6-фосфат при участии фермента гексокиназы. Глюкозо-6-фосфат используется для образования гликогена, то есть запасаемой формы углеводов в печени и мышцах, и в системе гликолиза, то есть образования запасаемой энергии в форме АТФ и НАДФ.

При гипергликемии увеличивается включение глюкозы во фруктозо-6-фосфат и уменьшается доступ глюкозы в систему гликолиза и образование гликогена.

Таким образом, развитие диабета II типа обусловлено инсулинорезистентностью (снижение чувствительности тканей к инсулину) и нарушением функции  $\beta$ -клеток.

Причины ИР при СД 2 типа двухкомпонентны: приобретенные и генетические.

**К приобретенным** относятся: возраст, избыточный вес и особенности распределения жира, повышенное артериальное давление, нарушение липидного обмена, общее физическое состояние и тренированность организма, курение, ишемическая болезнь

**Генетическая предрасположенность к ИР:** в настоящее время обнаружено более 50 генов, мутации которых могут приводить в развитию болезни. Гены контролируют метаболизм инсулина, структуру и синтез инсулинового рецептора на клетках-мишенях, углеводный, липидный обмен, водно-электролитный гомеостаз, артериальное давление, иммунные реакции. К диабету могут приводить мутации митохондриальной ДНК, кодирующей ферменты окислительного фосфорилирования.

## **Лекция 24. Генная терапия,**

### **лечение инфекционных заболеваний, диагностика.**

#### **Фармакогенетика, типы осложнений лекарственной терапии**

*Генная терапия* – это отрасль молекулярной медицины, основанная на введении в клетку генетического материала с целью исправления генных дефектов, придания клеткам функций, прежде им не свойственных или предотвращения заболеваний, вызываемых генными мутациями.

В роли фармацевтического препарата при генной терапии выступают клонированный ген или искусственно синтезированные молекулы РНК или ДНК.

Перенос генов в соматические клетки называется **соматической генной терапией**. В настоящее время единственными клетками человека, которые можно использовать для переноса генов, являются клетки крови, костного мозга и фибробласты. Только эти клетки можно извлечь из организма, вырастить в культуре, перенести в них нужный ген и снова ввести пациенту.

Гены в клетки человека могут вводиться с помощью нескольких методов. Векторные системы доставки терапевтических генов сконструированы разнообразные на основе ретровирусов, аденовирусов, аденоассоциированных вирусов, вируса простого герпеса, существуют химические методы для облегчения проникновения генов через клеточные мембраны (с использованием фосфата кальция), а также методы слияния клеток с искусственными липидными пузырьками (липосомами), содержащими клонированные последовательности ДНК.

**Подходы в генной терапии можно разделить на две категории: генная терапия *in vivo* и *ex vivo*.**

В настоящее время наиболее перспективным способом доставки генетического материала является перенос с использованием мышиных ретровирусов, созданных на основе мышиного лейкоза Молони.

**Генная терапия *in vivo* включает следующие этапы:**

- получение клеток (клетки крови, фибробласты) от больного;
- перенос в изолированные клетки нужного гена (в результате совместного культивирования клеток больного с ретровирусом);
- наращивание генетически «исправленных» клеток;
- тестирование клеток на наличие экспрессии трансформированного гена;
- инфузия клеток пациенту.

Применение метода генной терапии при X-сцепленной форме комбинированного иммунодефицита дало положительный результат.

**Методы, основанные на передаче генетической информации клеткам костного мозга, относят к категории «генной терапии *ex vivo*».**

Основным способом данной категории генной терапии является генная инженерия полипотентных стволовых клеток с последующей их инфузией или трансплантацией пациенту для замещения утраченного типа клеток или генного продукта.

Примером генной терапии *ex vivo* является использование мышиного ретровируса при экспериментальной попытке лечения синдрома Леша–Нихана, X-сцепленной недостаточности фермента гипоксантингуанин – фосфорибозилтрансферазы (ГФРТ). Фермент катализирует присоединение свободных пуриновых оснований (гуанина и гипоксантина) к нуклеотидам. Дефект фермента обнаруживается во многих тканях, в том числе печени, лейкоцитах, мозге.

Генная терапия *ex vivo* включает следующие этапы:

- извлечение стволовых кроветворных клеток (СКК) из костного мозга мышей с дефектом гена ГФРТ;
- перенос в изолированные СКК нормального гена ГФРТ (при культивировании СКК в присутствии клеточной линии, содержащей ретровирус с мышиным геном ГФРТ);
- летальное рентгеновское облучение мышши-реципиента (собственные СКК гибнут);
- введение летально облученной мышши культивированных клеток со встроенным геном фермента ГФРТ.

Введенные СКК восстанавливают жизнедеятельность летально облученной мышши. При исследовании ДНК этих животных обнаружилось,

что имплантированные клетки прижились, геном функционирует и в организме содержится достаточное количество фермента ГФРТ.

В настоящее время усилия ученых сосредоточены на создании новых направлений, поскольку векторы первого поколения, созданные на основе вируса Молони и аденовируса, имеют ряд недостатков:

1. Включение вирусного генома с клонированным геном в геном клетки-хозяина происходит только в том случае, когда ДНК в клетке реплицируется. Вследствие этого во многих дифференцированных типах тканей человека мало подходящих клеток-мишеней.

2. Большинство вирусов могут вызвать иммунный ответ хозяина.

3. Включение вирусного генома в хромосому хозяина может инактивировать жизненно важный ген или вызвать его мутацию.

4. Геном ретровируса способен переносить включенные в него последовательности длиной не более 8 тыс. п. н., в то время как размер многих генов человека даже без интронов значительно больше.

5. Ретровирусы могут привести к злокачественной трансформации клеток хозяина.

В настоящее время в целом определились основные группы заболеваний, в отношении которых активно развивается генная терапия и проводятся клинические испытания.

Это опухолевые заболевания (более 60 % проводимых клинических испытаний), моногенные наследственные заболевания (12 %), патология сердечно-сосудистой системы (8 %). Около 6 % исследований проводятся в области инфекционных болезней, в том числе СПИДа, гепатита В.

#### **Генная терапия при лечении инфекционных заболеваний.**

В настоящее время генная терапия рассматривается как альтернативный способ лечения широкого круга инфекционных заболеваний, часто не поддающихся стандартному клиническому лечению. В подобных случаях предусматривается введение генетического материала, созданного с целью специфически блокировать или ингибировать экспрессию гена-мишени или действие продуктов этого гена, что приведет к подавлению репродукции инфекционного агента (внутриклеточное действие).

Одним из подходов является использование **антисмысловых олигонуклеотидов (антисенсов)**, которые могут блокировать комплементарные участки РНК или ДНК.

Они могут связываться с матричной цепью кодирующего гена, образуя тройную спираль и предотвращая транскрипцию. Связываясь со специфическими участками матричной РНК, они могут блокировать трансляцию. При этом образуется двухспиральная структура, которая не способна транслироваться на рибосомах, в результате чего происходит блокирование продукции специфического белка.

**Рибозимы** – это антисмысловые фрагменты РНК, обладающие каталитической активностью, благодаря чему они не только специфически взаимодействуют с мишенью при комплементарном связывании, но и гидролизуют ее, за счет чего эффективность рибозимов увеличивается в 2 раза по сравнению с антисенсами.

Использование рибозимов в терапии ВИЧ уже прошло стадию доклинических испытаний. На культуре периферических лимфоцитов показано ингибирование экспрессии генов вируса и инактивация вирусной РНК, внедренной в геном хозяина. Возможность ингибирования транскрипции РНК вируса показана и при папилломовирусной инфекции.

Внеклеточный уровень борьбы с инфекцией обеспечивают **ДНК-вакцины**. Иммунизация организма живыми или убитыми вакцинами может быть в ряде случаев неэффективна или опасна для здоровья пациента, поскольку возможно сохранение жизнеспособности микроорганизмов. При определенных условиях (ослаблении защитных сил хозяина) бактерии могут начать размножаться, вернуться их вирулентность, что вызовет заболевание.

В связи с этим особое значение приобретают новые методы иммунизации, которые способны активировать защитные силы организма и не оказывать побочного действия.

**ДНК-вакцина** представляет собой чистую ДНК, кодирующую нуклеопротеин вируса или бактерии и заключенную в плазмиду. Вакцинация проводится при помощи внутримышечной инъекции, и плазида существует в организме в течение всей жизни.

Помимо ингибирования репликации вируса, защита организма возможна путем избирательного уничтожения инфицированных клеток за счет включения **суицидных генов**, которые прямо или опосредованно вызывают гибель клетки при ее экспрессии. Суицидные гены создаются с использованием генно-инженерных технологий. Они кодируют токсические белки, уничтожающие клетки только в том случае, если эти клетки инфицированы патогеном.

Примером суицидной генотерапии является инфицирование клеток вирусом герпеса. В основе этой технологии лежит различная чувствительность препарата ацикловир в отношении инфицированных и неинфицированных вирусом клеток. Ацикловир проникает в нормальные клетки, не проявляя по отношению к ним токсичности. Клетка, инфицированная вирусом герпеса, содержит очень высокий уровень тимидин-киназы, так как ген, кодирующий этот фермент, находится в геноме вируса и очень активно экспрессируется при его репликации.

Именно поэтому ацикловир, попадая в инфицированную клетку, мгновенно фосфорилируется тимидин-киназой и ингибирует синтез не только вирусной ДНК, но и ДНК инфицированной клетки, приводя к ее



гибели. Таким образом, любая клетка, содержащая ген тимидинкоазазы, будет обладать повышенной чувствительностью к действию ацикловира.

**Генная диагностика.** Диагностика специфических наследственных заболеваний человека на генетическом уровне дает ответ на вопрос, входят ли обследуемые индивидуумы или их потомки в группу повышенного генетического риска. ДНК-анализ можно использовать для выявления носителей генов наследственных заболеваний, а также для пренатальной и пресимптоматической диагностики серьезных генетических нарушений.

В генной диагностике часто используют метод гибридизационных ДНК- и РНК-зондов. В основе метода лежит гибридизация нуклеиновых кислот – специфическое взаимодействие двух комплементарных сегментов разных молекул ДНК или ДНК и РНК, после которого проводится детекция гибридных молекул зонд/мишень. Возможно использование нерадиоактивных систем детекции (например, хемилюминесцентный метод) или регистрация ПЦР-продуктов методом гель-электрофореза.

Кроме того, широкое применение в генной диагностике находит метод анализа полиморфизма длины рестриционных фрагментов, основанный на способности ферментов рестриктаз разрезать молекулу ДНК в местах с определенной последовательностью нуклеотидов (сайты рестрикции). В случае точечных мутаций могут исчезать существующие или появляться новые сайты рестрикции; полиморфизм длины фрагментов рестрикции детектируется методом электрофореза.

**Фармакогенетика изучает значение наследственности в реакции организма на лекарства.**

Существуют различные осложнения лекарственной терапии:

1) повышенная чувствительность индивида к лекарству, как это бывает в случаях передозировки лекарств, хотя больному назначена доза, соответствующая его полу и возрасту;

2) полная толерантность больного к лекарству, даже несмотря на увеличение дозы;

3) парадоксальные реакции на лекарства, включающие совсем другие типы осложнений, чем это следовало бы ожидать, исходя из механизмов действия лекарства.

**Повышенная чувствительность индивида к лекарству.** У некоторых больных при применении стандартных доз изониазида (лечение туберкулеза) наблюдались токсические эффекты, соответствующие его многократной передозировке. Патологическая реакция на препарат вызвана генетическим полиморфизмом гена, кодирующего фермент N-ацилтрансферазу. Токсический эффект препарата обусловлен замедленным его выведением из организма больных вследствие нарушения в печени активности фермента, который ацетирует изониазид, что предшествует его выведению из организма. При регулярном поступле-

нии изониазида и замедленном выведении происходило его накопление до токсической дозы. При нормальной активности фермента N-ацетилтрансферазы изониазид выводится из организма в течение 2 часов, а если фермент аномальный, то препарат ацетируется и выводится из организма медленно, в течение 6 часов. Побочные реакции, связанные с накоплением изониазида до токсической дозы, проявляются в поражении периферических нервов.

**Полная толерантность больного к лекарству.** При Д-резистентном рахите (гипофосфатемия) у некоторых больных применение витамина Д не дает лечебного эффекта. Болезнь характеризуется выраженными рахитическими деформациями костей, Х и О-образными искривлениями конечностей, задержкой физического развития и низким ростом, поздним появлением зубов и ранним их разрушением. Заболевание обусловлено наследственным нарушением обмена фосфора, уменьшением его реабсорбции в почечных канальцах, усиленным выведением с мочой и снижением его содержания в организме. Отсутствие фосфора нарушает отложение кальция в костях.

Предполагается, что причина заболевания заключается в уменьшении чувствительности канальцев к витамину Д, что вызывает вторичную гиперфункцию паращитовидных желез и увеличенный распад фосфатов.

**Парадоксальные реакции на лекарства.** При злокачественной гипертермии (ЗГ) применение ингаляционного наркоза (фторотан, этиловый эфир и др.) и мышечных релаксантов (сукцинилдихолин) приводит к резкому повышению температура тела (до 44 °С), тахикардии, гипоксии, ацидозу, гиперкалиемии, гиперкальциемии. Около 60 % больных умирают от остановки сердца при наркозе.

ЗГ является наследуемым синдромом и представляет состояние острого гиперметаболизма скелетной мускулатуры с повышенным потреблением кислорода, накоплением лактата и продукцией большого количества  $\text{CO}_2$  и тепла.

В миоцитах нарушается функция кальциевых каналов, и содержание кальция в цитоплазме увеличивается до 8 раз по сравнению с нормой. Внутриклеточный кальций активирует актин-миозиновый комплекс, в результате повышается мышечный тонус, длительное сокращение мышц приводит к повышению потребления энергии, увеличению потребления кислорода и образования  $\text{CO}_2$  и тепла.

Истощение аэробного пути получения энергии запускает анаэробный гликолиз, который сопровождается накоплением лактата и вызывает метаболический ацидоз. Развивается отек мышечной ткани, повреждение мембраны миоцита, увеличивается содержание калия, кальция. Резкие метаболические и электролитные нарушения приводят к угнетению сердечно-сосудистой системы, отеку головного мозга и другим органным расстройствам.

## ФИЗИОЛОГИЯ АДАПТАЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ

### Лекция 25. Определение и классификация физиологических адаптаций.

#### Генотипическая и фенотипическая адаптация

**Адаптация** (лат. *adaptatio* – приспособление) – приспособление организма к изменяющимся условиям существования в окружающей среде. Адаптация проявляется возникновением приспособительных форм поведения при переменах обстановки. Основой этого приспособления служат изменения, возникающие на всех уровнях: молекулярном, субклеточном, клеточном, органном и системном. Все это приводит к повышению устойчивости организма к колебаниям внешней температуры, влажности, атмосферного давления, а также к воздействию множества других изменений окружающей среды. Общим и необходимым звеном любых долговременных приспособительных реакций организма, приводящим к развитию адаптации, является усиление синтеза нуклеиновых кислот и специфических белков, вызывающее долговременную перестройку структуры и функции клеток, органов, тканей и систем, участвующих в данных приспособительных реакциях.

В понятие «адаптация» часто вкладывается различный смысл. В связи с этим специальная комиссия Международного союза физиологических наук, созданная для составления словаря терминов по физиологии, предложила следующие определения.

**Адаптация** – изменение, которое снижает физиологическое напряжение, вызванное стрессорной составляющей всей окружающей среды. Это изменение может происходить в пределах жизни организма (*фенотипическая адаптация*) или быть результатом генетического отбора видов или подвидов (*генотипическая адаптация*).

**Акклимация** – физиологическое изменение в пределах времени жизни организма, которое снижает напряжение, вызванное стрессорными сдвигами отдельных климатических факторов в условиях эксперимента.

**Акклиматизация** – физиологическое изменение в пределах жизни организма, которое снижает напряжение, вызванное стрессорными сдвигами в естественном климате (например, сезонными или географическими).

Акклиматизация и акклимация являются **фенотипическими адаптациями** к климатическим компонентам окружающей среды. Не существует отчетливых терминов, которые относятся к генотипическим адаптациям к климату или отдельным компонентам климата. Все такие

генетически закрепленные свойства видов или подвидов охватываются общим термином **генотипическая адаптация**.

Термин адаптация применяется и в более узком смысле. Им обозначают понижение чувствительности рецепторов к постоянно действующему адекватному раздражителю. Такая адаптация возникает вследствие изменения функционального состояния самих рецепторов, а также центральных отделов соответствующего анализатора.

Термином адаптация обозначается, с одной стороны, процессы наследственной изменчивости, возникновение мутаций и их последующее закрепление путем естественного отбора. Этот вид адаптации называется **генотипической, или эволюционной адаптацией**. В основе генотипической адаптации лежат изменения генетического материала, выражающиеся в модификации последовательности оснований в молекуле ДНК. В соответствии с этим продолжительность генотипической адаптации, сопровождающейся приобретением новой генной информации и закреплением ее в процессе естественного отбора, распространяется на много поколений. Следствием этого вида адаптации являются новые адаптивные фенотипические признаки у вида, то есть наследственные характеристики животных, которые обеспечивают существование вида и популяции в целом в определенных условиях окружающей среды и изменяются в ходе эволюции на протяжении многих поколений.

С другой стороны, **фенотипическую или индивидуальную адаптацию** можно определить как развивающийся в ходе индивидуальной жизни процесс, в результате которого организм приобретает отсутствующую ранее устойчивость к определенному фактору внешней среды и, таким образом, получает возможность жить в условиях ранее не совместимых с жизнью, решать задачи, ранее неразрешимые. В последнее время развивается представление о том, что *адаптация* – это процесс приобретения устойчивости не только к факторам внешней среды, но и внутренней среды организма (например, компенсаторные изменения в организме в ответ на травму).

**Фенотипическую, или индивидуальную, адаптацию** можно наблюдать многократно в течение жизни отдельной особи. Каждый организм имеет сформированный геном, в который в течении жизни особи обычно не вводится дополнительная информация, обеспечивающая синтез новых для данного индивида видов молекул, причем аппарат транскрипции также не подвергается изменениям. При изучении характера реагирования разных линий одного и того же вида на действие экстремальных факторов среды установили, что фенотипические адаптационные реакции генетически детерминированы. Даже индивидуальные особенности эмоционального поведения глубоко связаны с общим генотипом (например, виды темперамента). В основе фенотипической адаптации ле-

жат такие физиологические, биохимические и структурные преобразования в организме, которые обеспечивают гомеостаз в новых условиях существования. Вовлечение генома в эти преобразования может выражаться в избирательной активации отдельных генов, что позволяет синтезировать новые макромолекулы в соответствии с имеющимся кодом.

### **Лекция 26. Общий механизм и основные стадии индивидуальной адаптации. Срочная и долговременная адаптации**

Нарушение гомеостаза, вызванное фактором внешней среды, или сигнал о том, что такое нарушение возможно в будущем, через высшие регуляторные механизмы активируют системы, ответственные за адаптацию. В результате возникают два явления: **во - первых**, мобилизация **функциональной системы**, специфически ответственной за адаптацию к данному фактору, и, **во-вторых**, неспецифический **стресс-синдром**. В дальнейшем система специфической адаптации осуществляет увеличенную функцию и доминирует в жизнедеятельности организма. На основе связи между функцией и генетическим аппаратом и при потенцирующем влиянии стресс-синдрома в клетках этой доминирующей системы формируется **системный структурный след**, который существенно повышает ее мощность. Развивается надежная и долговременная адаптация, которая устраняет первоначальные нарушения гомеостаза, делает излишним стресс-синдром.

Основой увеличения функциональных возможностей системы, ответственной за адаптацию, является при этом изменение соотношения клеточных структур, а именно: избирательное увеличение массы и мощности структур, ответственных за управление, ионном транспорте, энергообеспечение. Именно этот сдвиг обеспечивает не только большую мощность, но и экономичность ответственной за адаптацию системы, высокую реактивность ее звеньев к управляющим сигналам.

В ходе индивидуальной жизни организм сталкивается с целой гаммой различных факторов окружающей среды: в результате рассмотренного нами выше механизма формируется не один структурный след, а сложная совокупность системных структурных следов, которые формируют фенотип организма в соответствии с требованиями среды. При этом сформировавшийся однажды системный структурный след и адаптация к определенному фактору среды не постоянны. По мере изменений в среде меняется спектр адаптационных реакций организма. Это происходит через процесс деадаптации, в ходе которого путем снижения синтеза нуклеиновых кислот и белков и активации процесса деградации структур исчезают, стираются сложившиеся ранее системные структурные следы. Стресс-синдром, составляющий необходимое

начальное звено любой новой адаптации, за счет своего катаболического эффекта, одновременно потенцирует процесс деадаптации, то есть стирания старых, утративших свое биологическое значение системных структурных следов. Индивидуальная фенотипическая адаптация при всем своем разнообразии у высших животных характеризуется определенными общими чертами.

В развитии большинства адаптационных реакций выделяют два этапа: начальный этап **срочной**, но несовершенной адаптации и последующий этап совершенной, **долговременной** адаптации.

**Срочный этап адаптационной реакции** возникает непосредственно после начала действия раздражителя и, следовательно, может реализоваться лишь на основе готовых, ранее сформировавшихся физиологических механизмов. Например, проявлениями срочной адаптации являются бегство животного в ответ на боль, увеличение теплопродукции в ответ на холод, увеличение теплоотдачи в ответ на тепло, рост легочной вентиляции и минутного объема кровообращения в ответ на недостаток кислорода. Важнейшая черта этого этапа адаптации заключается в том, что деятельность организма протекает на пределе его физиологических возможностей -- при почти полной мобилизации функционального резерва и не в полной мере обеспечивает необходимый адаптационный эффект.

**Долговременный этап адаптации** возникает постепенно, в результате длительного или многократного действия на организм факторов среды. Он развивается на основе многократной реализации срочной адаптации и характеризуется тем, что в итоге постепенного количественного накопления каких-то изменений организм приобретает новое качество, то есть из неадаптированного превращается в адаптированный. Примером могут служить адаптация, обеспечивающая осуществление организмом ранее недостижимой по своей интенсивности физической работы, развитие устойчивости организма к значительной высотной гипоксии, которая ранее была несовместима с жизнью, развитие устойчивости к холоду, теплу.

Сопоставляя срочный и долговременный этапы адаптации можно заключить, что переход от срочного, во многом несовершенного этапа к долговременному является узловым моментом адаптационного процесса, так как именно этот переход делает возможной жизнь организма в новых условиях, расширяет сферу его обитания и свободу поведения в изменяющейся среде.

Механизмы указанного перехода следует рассматривать на основе принятого в физиологии представления, что реакции организма на факторы среды обеспечиваются не отдельными органами, а определенным образом организованными и соподчиненными между собой системами.

Данное представление многосторонне развивалось в трудах великих физиологов Декарта, Гарвея, И. М. Сеченова, И. Д. Павлова, А. А. Ухтомского, Н. Винера, П. К. Анохина, Г. Селье и др. П. К. Анохин обозначил в дальнейшем такие системы, как **функциональные системы** и подчеркнул, что поступающая в нервные центры на основе обратной связи информация о результате реакции о достигнутом адаптационном эффекте, является главным системообразующим, формирующим систему фактором.

П. К. Анохин дал следующее определение функциональной системы:

«Функциональная система – единица интеграции целостного организма, складывающаяся динамически для достижения любой его приспособительной деятельности и всегда на основе циклических взаимоотношений избирательно объединяющая специальные центрально-периферические образования».

Рассматривая переход срочной адаптации в долговременную в свете представления о функциональной системе, нетрудно заметить, что наличие готовой функциональной системы или ее образование само по себе еще не означает устойчивой, эффективной адаптации.

Для того, чтобы эта срочная, но несовершенная адаптация сменилась совершенной, долговременной необходимо длительное или многократное повторение действия фактора на организм, то есть длительная или многократная мобилизация функциональной системы, ответственной за адаптацию.

## ***Лекция 27. Сложные формы физиологических адаптаций.*** **Основные черты высших адаптационных реакций**

При действии на организм более сложных ситуаций окружающей среды (например, не встречающихся ранее раздражителей или ситуаций, возникающих в процессе обучения новым навыкам) в организме нет готовых функциональных систем, способных обеспечить соответствующую требованиям среды реакцию.

В данном случае, ответ организма обеспечивается генерализованной ориентировочной реакцией или периодом эмоционального поведения на фоне достаточно сильного стресса. В подобной ситуации некоторые из многочисленных двигательных реакций организма оказываются адекватными и получают подкрепление. Это становится началом образования в головном мозге новой функциональной системы, а именно системы временных связей, которая становится основой новых навыков и поведенческих реакций. Однако непосредственно после своего возникновения эта система обычно непрочна, она может быть стерта торможением, вызванным возникновением других поведенческих домини-

нант, периодически реализующихся в деятельности организма, или угашена повторным неподкреплением.

Для того чтобы сложилась устойчивая, гарантированная в будущем адаптация, необходимы время и некоторое количество повторений, то есть упрочение нового стереотипа. Наличие готовой функциональной системы при простых приспособительных реакциях и возникновение такой системы при сложных реакциях сами по себе не приводят к моментальному возникновению устойчивой адаптации, а являются основой начального, срочного, несовершенного этапа адаптации. Для перехода срочной адаптации в гарантированную долговременную адаптацию внутри возникшей функциональной системы должен реализоваться некий важный процесс, обеспечивающий фиксацию сложившихся адаптационных систем и увеличение их мощности до уровня, диктуемого средой. Этим процессом является активация синтеза нуклеиновых кислот и белков, возникающая в клетках, ответственных за адаптацию систем, обеспечивающая формирование там системного структурного следа.

Фенотипическая сигнальная адаптация, основу которой составляет формирование в течение индивидуального развития новых связей между центральными нервными структурами, превращается в генетически детерминированную адаптацию в виде врожденных связей между соответствующими центральными нервными структурами и соответствующими врожденными формами поведения. Таким путем в эволюционном масштабе реализуется упомянутое уже свойство адаптации – **экономичность**. Структурные следы, составляющие основу приспособления, развиваются как результат более или менее длительной физиологической деятельности, во время которой увеличенная функция клеток активирует их генетический аппарат. Более строго определение может быть дано следующим образом: *индивидуальная память живых систем представляет собой изменение, которое возникло вследствие физиологической деятельности, вызванной влиянием факторов внешней среды. Это изменение стойко сохраняется после прекращения самой деятельности и в высокой степени определяет будущие реакции организма на факторы внешней среды.*

Выделяют два основных уровня памяти: **донервный, или элементарный уровень памяти**, свойственный любой живой ткани и составляющий основу всех рассмотренных до сих пор системных структурных следов, и **высший уровень памяти**, составляющий основу высших адаптационных реакций, реализуемых головным мозгом.

Основное различие высшего и донервного уровней памяти состоит в том, что донервная память, о которой до сих пор шла речь, обеспечивает формирование и сохранение структурных следов таких воздействий, которые влияют на организм непосредственно – в той или иной



мере вторгаются в его гомеостаз; нервная память, напротив, обеспечивает формирование и сохранение следов воздействий, которые сами по себе индифферентны для организма и приобретают значение лишь в качестве сигналов биологически значимых факторов среды.

По существу, фиксированный в мозге памятный след, превращающий ранее индифферентный раздражитель в раздражитель, вызывающий сильные реакции, может быть ничем иным, как связью между центрами, возбуждающимися при действии индифферентного ранее раздражителя, и центрами, активность которых лежит в основе безусловной приспособительной деятельности организма.

Память, возникающая непосредственно за введением в мозг информации и легко «стираемая» электрошоком, получила название **кратковременной памяти**; память, формирующаяся через длительное время после введения информации и устойчивая к электрошоку, была обозначена как **долговременная**; наконец, процесс превращения кратковременной памяти в долговременную получил название **консолидации**.

В процессе формирования временной связи можно выделить по меньшей мере три стадии. Первая стадия – кратковременная память – характеризуется возникновением возбуждения; вторая стадия – сосуществование возбуждения и консолидации, развивающихся на основе активации синтеза нуклеиновых кислот и белков; третья стадия – долговременная память – характеризуется наличием стойкого структурного памятного следа при отсутствии процесса возбуждения.

В итоге можно констатировать, что динамика развития высших адаптационных реакций организма, основанных на памяти мозга, отличается от динамики развития более простых адаптационных реакций, основанных на донервной памяти, главным образом тем, что первая стадия образования условного рефлекса и более сложных адаптивных реакций всегда является **стадией поиска новой функциональной системы**, которая в дальнейшем фиксируется в образующемся системном структурном следе.

При относительно простых адаптационных реакциях у взрослых людей и животных в первой стадии процесса реализуются интенсивная гиперфункция и относительная функциональная недостаточность готовой функциональной системы, которая была генетически запрограммирована и сложилась в раннем онтогенезе. Полностью сознавая значение этого различия, можно вместе с тем указать ряд общих черт простых и более сложных адаптационных реакций организма.

1. Необходимым звеном формирования высших адаптационных реакций организма, как и всех прочих долговременных адаптационных реакций, является взаимосвязь между функцией и генетическим аппаратом клетки. Именно реализация этого механизма внутри нейронов обес-

печивает реорганизацию синаптических связей между ними и формирование многонейронных систем, составляющих основу памяти мозга.

2. Доказанное при относительно простых долговременных приспособительных реакциях организма положение, что при адаптации происходит изменение соотношения клеточных структур – избирательное увеличение массы и мощности структур, ответственных за восприятие управляющих сигналов, генерацию возбуждения и т. д., – с большей долей вероятности может играть роль в формировании системных структурных следов высших адаптационных реакций.

3. Стресс-синдром играет роль неспецифического, но необходимого звена как простых, так и высших адаптационных реакций. Роль его во всех случаях состоит в том, что данный синдром путем прямого действия гормонов и медиаторов и путем направленного перераспределения ресурсов потенцирует формирование системного структурного следа, составляющего основу специфической адаптации.

4. В развитии высших адаптационных реакций организма можно выделить четыре стадии, не тождественные, но во многом сходные с теми стадиями, которые реализуются при развитии других адаптационных реакций организма.

### ***Лекция 28. Закономерности деадаптации***

При исчезновении необходимости существования сложившейся адаптации, то есть при прекращении действия фактора, вызвавшего адаптацию, существует возможность развития обратного процесса – процесса деадаптации. **Деадаптация** – это процесс постепенного исчезновения адаптации к факторам после прекращения их действия. Установлено, что в это время происходит довольно быстрое исчезновение системного структурного следа, составляющего основу адаптации.

*Приведем несколько примеров.* После прекращения физических нагрузок уменьшается масса скелетных мышц, количество в них митохондрий, уменьшается масса легких и сердечной мышцы до исходного уровня. После прекращения действия гипоксии уменьшается масса правого желудочка сердца и постепенное исчезновение полицетимии.

Механизм данного явления состоит в том, что непосредственно после снижения нагрузки на любой из органов, образующих функциональную систему, ответственную за адаптацию, в нем происходит резкое падение синтеза РНК, уменьшение полисом и, как результат, снижение синтеза белка. Распад белковых молекул начинает преобладать над их синтезом и, как следствие, масса структур данного органа уменьшается.

При экспериментальной гипоксии, созданной в барокамере, у крыс обнаружили гипертрофию правого желудочка сердца, увеличение со-

держания РНК и активацию синтеза белка. В течение 1–1,5 месяцев эти параметры восстанавливались до контрольного уровня. После прекращения действия гипоксии происходит постепенное восстановление названных систем до исходного уровня. В процессе восстановления наблюдается разборка ставших излишними мембран саркоплазматического ретикулума, важную роль играют активация перекисного окисления липидов мембран и действие гидроперекисей на эти структуры.

Таким образом, из изложенного выше можно заключить, что *снижение интенсивности синтеза белка и активация механизмов деградации структур довольно быстро приводят к обратному развитию адаптационного следа.*

Кроме того, важную роль в ликвидации адаптивного структурного следа играет генетическая детерминированная нестойкость образующихся при адаптации белков к протеолитическим ферментам. Поясним на примере. Так, на начальных этапах адаптации в печени активируется синтез ферментов глюконеогенеза, обеспечивающих необходимое в экстремальной ситуации преобразование структурных ресурсов организма в энергетические. После того как экстремальная ситуация миновала, такое превращение становится излишним и, более того, мешает восстановлению утраченных структур и развитию репаративных процессов. Установлено, что активность одного из ферментов глюконеогенеза тирозинтрансферазы в начальный период действия фактора увеличивается в 10 раз, а затем быстро возвращается к исходному уровню. Фермент в печени представлен А-изозимами и К-изозимами. Эти изозимы кодированы в различных цистронах генома печеночной клетки. Установлено, что при действии стрессорного фактора общее увеличение синтезе тирозинтрансферазы происходит в основном только за счет увеличения синтеза ее А-изозима. А этот изозим, как выяснили, значительно менее устойчив к протеолитическим ферментам, чем К-изозим. Поэтому, происходит быстрое разрушение А-изозима и активность тирозинтрансферазы быстро возвращается к исходному уровню.

Таким образом, организм генетически детерминирует не только возможность образования структурных изменений, составляющих основу адаптации, но и своевременное обратное развитие этих изменений.

Суммируя изложенное выше следует выделить три основных типа молекулярных механизмов, ответственных за деадаптацию:

**1. Снижение синтеза РНК и белка.**

**2. Активация специализированных механизмов распада структур.**

**3. Генетически детерминированная нестойкость образовавшихся при адаптации структур к естественным механизмам деградации.**

Деадаптация является физиологическим процессом, а ее высокий темп – предпосылка формирования в организме новых долговременных адаптационных реакций. Однако следует иметь в виду, что организм высших животных эволюционно детерминирован на обитание в относительно постоянной среде, к которой он постепенно адаптируется. Поэтому темп деадаптации высок лишь относительно, по сравнению с исходным состоянием, но он ниже, чем темп развития адаптации. Это обстоятельство является основой накопления адаптационных изменений при периодических воздействиях среды, следы которых не исчезают полностью, и, суммируясь между собой, составляют основу постепенно формирующейся адаптации.

Важно подчеркнуть, что процесс исчезновения адаптационного структурного следа на заключительном этапе идет медленнее, чем вначале. Часто в скрытой форме адаптационные следы могут сохраняться весьма длительное время. Наиболее четко это явление выражено для высших долговременных адаптационных реакций, основанных на памяти мозга. Например «оживание» давно неиспользуемых навыков, «забытых» иностранных языков. Отмечена более высокая устойчивость адаптационных структурных следов, фиксированных в головном мозге, по сравнению со следами более простых адаптационных реакций. Например, в процессе деадаптации после полного прекращения физических нагрузок аэробная мощность организма и связанная с ней выносливость постепенно исчезают, а специальные навыки – умение осуществлять определенные упражнения – сохраняются довольно долго и нередко могут быть продемонстрированы уже детренированным человеком.

Таким образом, отметим три основных момента:

1. Обратное развитие адаптации, основанное на элементарной нервной памяти, происходит быстрее, чем обратное развитие высших адаптационных реакций, основанных на памяти мозга.
2. После длительной и устойчивой адаптации деадаптация развивается медленнее, чем после кратковременной.
3. Исчезновение системного структурного следа в различных звеньях системы, ответственной за адаптацию, происходит неодновременно – гетерохронно.

## ***Лекция 29. Физиологическая и патологическая деадаптация***

**Физиологическая деадаптация** – процесс исчезновения структурного следа адаптации и самой адаптации с возвратом к условной норме, соответствующей данному виду и периоду онтогенеза.

Все рассмотренные примеры – это физиологическая деадаптация.

Однако указанную выше деадаптацию следует отличать, например, от ситуаций, вызванных специальными условиями гипокинезии и невесомости.

Деадаптация, при которой процесс начинается в нормальном организме и ведет к значительному снижению массы и мощности ключевых структур клеток, снижению против нормы эффективности целых функциональных систем, называется **патологической деадаптацией**. Она является предпосылкой многих заболеваний.

Патологическая деадаптация развивается на основе тех же молекулярных механизмов, что и физиологическая адаптация, но количественно результат ее существенно снижает функциональные возможности органов и систем. Характерным примером может служить патологическая деадаптация к физическим нагрузкам, возникающая в результате длительной гипокинезии, которую мы рассмотрим ниже.

В соответствии с представлением о важной роли взаимосвязи функции и генетического аппарата в механизмах адаптации и деадаптации при гипокинезии наблюдается следующая последовательность событий. Снижение нагрузки на функциональную систему, ответственную за двигательные реакции организма, в частности на сердце и скелетные мышцы, снижает функцию клеток, образующих эту систему. В ответ на это активность различных транскриптонов генетического аппарата клеток уменьшается не в одинаковой степени. В большей степени снижается активность транскриптонов, кодирующих короткоживущие белки, и в результате развивается избирательная атрофия короткоживущих мембранных структур клеток, ответственных за рецепцию медиаторов и гормонов, ионный транспорт и энергообеспечение. Так как эти структуры составляют только небольшую часть клеточной массы, но являются необходимым звеном жизнедеятельности клетки, гипокинезия на начальной стадии развития характеризуется сравнительно небольшим снижением массы и резким падением функциональных возможностей сердца и скелетных мышц, то есть наблюдается сравнительно небольшая атрофия сердечной и скелетной мышц; резкое уменьшение массы сарколеммальных, саркоплазматических и в меньшей мере митохондриальных мембран в мышечных клетках; значительное снижение функциональных возможностей мышц. Следовательно, в основе патологической деадаптации лежит снижение мощности органов и систем за счет избирательной атрофии короткоживущих мембранных структур клеток.

Следует иметь в виду, что предпосылкой болезни может стать не только глубокая заведомо патологическая деадаптация. Могут быть ситуации, когда определенную роль в развитии патологических состояний приобретает процесс физиологической деадаптации. Ситуации такого рода могут наблюдаться, когда организм в течение всей жизни, адаптированный к определенному фактору или комплексу факторов, на позднем этапе онтогенеза меняет условия жизни и утрачивает системный структурный след, составляющий основу адаптации. При попытке вер-

нуться к прежним условиям жизни, то есть реализовать адаптацию, оказывается необходимым восстановить прежний системный структурный след путем активации синтеза нуклеиновых кислот и белков. Однако вследствие старения активность генетического аппарата дифференцированных клеток и, соответственно, способность обновления структур снижены. Организм не в состоянии построить все необходимые структуры и может развиваться патология.

Примером могут служить случаи хронической высотной болезни, которая развивается у пожилых горцев Перуанских Анд, когда они после пребывания на равнине возвращаются на высоту 4000 м. Было установлено, что первопричиной указанной патологии является «изнашивание» нейронов дыхательного центра, то есть частичная утрата этими нейронами способности синтезировать РНК и белки.

Таким образом, причиной ряда патологий является локальное изнашивание дифференцированных клеток, осуществляющих длительную гиперфункцию. Это наиболее вероятно, когда активация генетического аппарата, необходимая для восстановления структурного базиса адаптации, повторяется многократно и происходит в условиях старения. Поэтому в пожилом возрасте утрата долговременной адаптации, которая в будущем может оказаться необходимой, представляет наибольший риск.

Поддержание структурных следов необходимой в будущем адаптации путем небольших периодических нагрузок на ответственную функциональную систему является более экономным вариантом процесса, чем многократное повторение циклов деадаптации – реадаптации, так как каждый такой цикл имеет достаточно высокую структурную цену.

Итак, следует подчеркнуть основные рассмотренные моменты.

Процесс деадаптации является обратным процессом любой долговременной адаптации и составляет необходимую предпосылку формирования новых реакций организма и изменений всего фенотипа в соответствии с требованиями среды.

Процесс деадаптации обеспечивает редукцию системного структурного следа адаптации путем снижения синтеза нуклеиновых кислот и белков за счет молекулярных механизмов ускоренной деградации структур. При этом в большей мере атрофируются короткоживущие мембранные структуры.

Физиологическая адаптация – это процесс, обеспечивающий возврат организма к некоторой условной норме.

Прогрессирование процесса деадаптации ниже нормы приводит к избирательной атрофии ключевых клеточных структур, глубокому нарушению функции и может быть обозначен как патологическая деадаптация.

Деадаптация, как и адаптация, обладает только относительной биологической целесообразностью.

### **Лекция 30. Определение и механизмы развития стресса**

При действии экстремальных факторов организм стремится перейти в новое устойчивое состояние, изменяя характер сложившихся внутренних связей: нейроэндокринных, эндокринно-метаболических и др. Устойчивость нового состояния определяется системным характером изменений, обусловленных действием внешнего фактора. Это вытекает и из самого понятия «общий адаптационный синдром», предложенного Г. Селье. Он пишет: «Мы назвали этот синдром “общим”, потому что он вызывается лишь теми агентами, которые приводят к общему состоянию стресса (поскольку они воздействуют на большие участки тела), и в свою очередь вызывают генерализованное, то есть системное защитное явление. Мы назвали его “адаптационным” потому, что он способствует приобретению состояния привычки и поддерживает это состояние. Мы назвали его “синдромом”, потому что его отдельные проявления координированы и даже отчасти взаимозависимы».

**Стресс** – это способ достижения (приобретения) резистентности организма при действии на него повреждающего фактора.

**Стресс** – это совокупность неспецифических реакций организма в ответ на действие чрезвычайных раздражителей различной природы и характера, вызывающих «напряжение» функции органов и систем и обеспечивающих мобилизацию организма в целях его адаптации или поддержания гомеостаза.

Каково *биологическое* значение стресса? Он опосредуется через разные механизмы, в зависимости от сложности структурно-функциональной организации биосистемы. Одновременно стресс – это форма опережающего отражения действительности. С помощью определенной, эволюционно закрепившейся системы неспецифических реакций организм уходит от повреждающего эффекта раздражителя до того, как вызванные им изменения станут необратимыми. Таким образом, неспецифические реакции носят характер опережающих, что обеспечивает надежность адаптивного поведения биосистемы в быстро меняющихся условиях существования.

Для человека, кроме биологического, важное значение приобретает и *медицинское* значение стресса. Сегодня в массовом масштабе человек все чаще сталкивается с различного рода стрессовыми, субэкстремальными и экстремальными факторами, механизмы и последствия действия которых на организм изучены недостаточно. Не вызывает сомнения одно: бурный научно-технический прогресс, урбанизация и акселерация

жизни, повышение уровня эмоциональной напряженности привели к росту психосоматической патологии, в том числе сердечно-сосудистых заболеваний, среди которых атеросклеротический кардиосклероз, склероз коронарных сосудов, инфаркт миокарда вышли на первое место. По данным ВОЗ в последние годы смертность мужчин в возрасте от 35 до 44 лет от ишемической болезни сердца возросла на 66 %. Болезни сердца и сосудов поражают людей также и молодого возраста.

В результате аварии на ЧАЭС для жителей нашей республики стал характерен синдром радиофобии. Это связано как с недостаточной информированностью населения, так и с низким общеобразовательным уровнем населения в вопросе действия радионуклидов на организм.

Здесь находит свое отражение повреждающее действие стресса. Однако стресс – это не только повреждение и болезни, но и важнейший инструмент тренировки и закалывания, то есть стресс может быть и источником здоровья.

Еще Г. Селье, создатель теории стресса, утверждал, что полное освобождение от стресса может быть только после смерти. В повседневной жизни человека он выделял два его типа: **эустресс** (греч. «эу» – хорощий) и **дистресс** (лат. «дис» – плохой).

Эустресс сочетается с желательным эффектом, дистресс – с нежелательным. Даже если стресс развивается на негативном эмоциональном фоне, он все равно способствует повышению сопротивляемости организма, тренирует его защитные механизмы. В этом и заключается положительная роль стресса, его важное социальное значение.

Г. Селье было постулировано, что в своем развитии общий адаптационный синдром (стресс) проходит следующие стадии: первая – реакция тревоги (alarm reaction), вторая – резистентность (stage of resistance), третья – истощение (stage of exhaustion). На первой стадии мобилизуются защитные силы организма, начинается процесс перестройки системы регуляции. В этот момент сопротивляемость организма снижается: если результат действия раздражителя выходит за пределы компенсации, то может наступить смерть. Основные признаки первой стадии – инкреция в кровь стероидных гормонов корковым слоем надпочечников, снижение в нем гормоносодержащих гранул, усиление гемоконцентрации, гипохлоремия, преобладание катаболических процессов в тканях. Если сила действия чрезвычайного раздражителя не превышает компенсаторных возможностей организма, то развивается вторая стадия – резистентности или адаптации. В этот период сопротивляемость организма повреждающему действию внешнего раздражителя повышается. Признаки, характерные для первой стадии, исчезают. В коре надпочечников вновь наблюдаются секреторные гранулы, гемодилуция, гиперхлоремия, преобладают анаболические процессы в тканях с тенденцией к восстанов-



лению массы тела. После длительного действия чрезвычайного раздражителя могут исчерпаться компенсаторные возможности и организм переходит в третью стадию – истощение. Вновь появляются признаки реакции тревоги, носящие уже необратимый характер. В коре надпочечников исчезают липиды, во всех органах начинают преобладать катаболические процессы, их масса уменьшается, в них развиваются атрофические и дегенеративные изменения. Специфическая и неспецифическая резистентность организма снижается и животные, как правило, погибают. Таким образом, интегральная цель развития общего адаптационного синдрома – повышение резистентности организма адекватно качественной и количественной характеристики раздражителя.

Наступлению адаптации к действию неблагоприятных факторов, как и развитию большинства патологических состояний, должна предшествовать стресс-реакция. Стресс-реакция может пройти бесследно, а может наступить адаптация или развиться патологический процесс.

Главным и наиболее характерным из симптомов стресс-реакции принято считать активацию функции ГГНС (гипоталамо-гипофиз-надпочечниковая системы) с усиленным выделением глюкокортикоидов и САС (симпато-адреналовой системы) с выбросом в кровь адреналина.

Общие проявления и последовательность событий при возникновении стресс-синдрома следующие. Вначале импульсы от коры больших полушарий головного мозга поступают в гипоталамус, который вызывает активацию симпатической и парасимпатической нервной системы. Возрастание тонуса симпатической нервной системы приводит к увеличению выделения норадреналина в области окончаний симпатических нервов. Импульсы по симпатическим нервам передаются также в мозговое вещество надпочечников, которые увеличивают отдачу в кровь адреналина и норадреналина. На следующем этапе гипофиз подвергается действию гипоталамуса, причем задняя доля гипофиза подвергается действию через нервные волокна, а передняя – через сосуды портальной системы. Увеличение секреции адреналина из мозгового вещества надпочечников также стимулирует переднюю долю гипофиза, которая выделяет ряд тропных гормонов, влияющих на железы внутренней секреции. Включение эндокринного компонента способствует длительному усилению активности многих, если не всех, систем организма. Далее схематически обычный ход возникновения стресс-реакции изображается следующим образом: гипоталамус – гипофиз – АКГГ – усиление активности секреции кортикостероидов.

Обобщая мнения большинства исследователей в этой области, можно заключить, что стресс представляет собой неспецифический компонент общей адаптационной реакции организма в ответ на действие факторов среды.

Стресс можно разделить на три разновидности: эмоциональный, физический, смешанный. Такое разделение правомочно и с биохимической точки зрения, так как накапливается все больше данных о том, что при эмоциональном стрессе значительно преобладают изменения функций САС (симпато-адреналовой системе) и катехоламинергических структур ЦНС, а при физическом – ГГНС (гипоталамо-гипофиз-надпочечниковая система) с гипертрофией надпочечников.

Безусловная заслуга Г. Селье состоит в том, что он первым сумел охарактеризовать наблюдаемые биологические эффекты воздействия различных раздражителей как сумму специфического и неспецифического компонентов общей адаптационной реакции организма. Соотношение специфического и неспецифического компонентов ответной реакции организма в известной мере может зависеть от природы и других характеристик действующего агента, но разделение на эти компоненты происходит только на уровне реакции целостного организма.

## ОСНОВЫ БИОДОЗИМЕТРИИ

### **Лекция 31. Понятие биологической дозиметрии. Классификация методов. Отличие биологической и физической дозиметрии**

Биологическая дозиметрия позволяет оценить в каждом конкретном случае аддитивный эффект всех форм радиационного воздействия с учетом физиологического статуса организма конкретного индивидуума на момент облучения.

Биодозиметрический подход уже изначально индивидуализирован, так как эффект радиационного воздействия опосредован специфическими характеристиками организма, включая индивидуальную радиочувствительность.

К настоящему моменту разработан целый спектр биодозиметрических методов:

1. Цитологические:

- количественная оценка клеточных популяций;
- изучение морфологии субклеточных структур.

2. Генетические (оценка состояния ядерной/внеядерной ДНК):

- цитогенетические;
- молекулярно-генетические.

3. Биохимические:

- оценка функциональной активности ферментов;
- анализ активных молекул.

4. Биофизические:

- количественная оценка стабильных радикалов;
- количественная оценка люминисценции клеточных популяций.

Принципиальное отличие биологической и физической дозиметрии:

– *физическая дозиметрия* исходит из характеристик облучения и (на основании моделей) дает усредненную популяционную дозу;

– *биологическая дозиметрия* основывается на анализе последствий (эффектов) радиационного воздействия в организме, то есть представляет собой интегральную оценку повреждающего действия радиационного фактора, условно выраженную в физических единицах.

Различный подход предполагает возможность разницы результатов физической и биологической дозиметрии для одного и того же индивидуума. В то же время на популяционном уровне результаты обоих методических подходов достаточно близки.

В медико-биологическом аспекте биодозиметрический подход имеет явные преимущества в сравнении с физической дозиметрией – возможность оценить биологический эффект радиации с учетом особенностей конкретного индивидуума на момент облучения, что особен-

но важно при определении адекватных методов лечения и прогностической оценки возможных последствий.

Следует подчеркнуть, что методы биологической индикации и биологической дозиметрии достаточно сложны и трудоемки. Это создает большие затруднения для использования их на популяционном уровне. В такой ситуации физическая дозиметрия явно более эффективна.

Таким образом, физическая и биологическая дозиметрии являются взаимодополняющими методическими подходами, обеспечивающими максимально достоверный результат при их комплексном использовании.

### ***Лекция 32. Классический цитогенетический анализ как основной метод биологической дозиметрии***

Несмотря на многообразие методов биоиндикации и/или биодозиметрии, общепризнанным и официально утвержденным ВОЗ (1985, 1986) и МАГАТЭ (1992) является только цитогенетический метод, основанный на учете специфических хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови.

На популяционном уровне цитогенетические биодозиметрические исследования могут обеспечить определение реальной коллективной дозы, а на индивидуальном – дать достоверную оценку повреждающего фактора (выразив ее в физических единицах), что является существенно важным при оценке и прогнозировании возможных отдаленных последствий радиационного воздействия.

Все хромосомные aberrации, возникающие в соматических клетках человека и регистрируемые на стадии метафазы, разделяются на две основные группы: aberrации хромосомного типа и aberrации хроматидного типа.

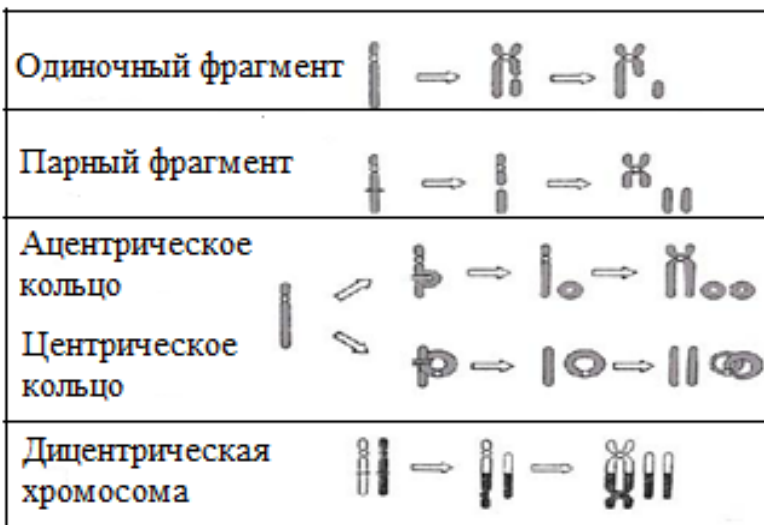
Отнесение той или иной aberrации к хромосомному или хроматидному типу зависит от того, на каком уровне (хромосомы или хроматиды) повреждена хромосома, вовлеченная в перестройку.

Aberrации хромосомного типа отражают повреждение хромосомы на пресинтетической стадии (G1-фаза) интерфазы клеточного цикла, когда хромосома реагирует как однитчатая структура. Aberrации хроматидного типа возникают при повреждении хромосомы на стадии ее двух нитей в фазе S и G2.

Нередко при действии мутагенов на стадии, когда хромосома представлена двумя нитями, появляются aberrации хромосомного типа, отражающие повреждения в идентичных локусах обоих хроматид хромосомы. В таких случаях говорят об изохроматидных разрывах или aberrациях. По своему происхождению они являются хроматидными aberrациями, морфологически не отличимыми от aberrаций хромосомного типа.

**Основные типы aberrаций хромосом, наблюдаемых в классическом цитогенетическом анализе, и механизмы их возникновения.**

Хроматидные aberrации чаще всего представлены одиночными фрагментами и весьма многообразными хроматидо-изохроматидными об-  
менами. При этом известную сложность составляет дифференциация между действительными фрагментами и гепами или пробелами (деспирализован-  
ными участками ДНК). Простейшим критерием идентификации оди-  
ночных фрагментов может служить наличие смещения предполагаемого  
фрагмента относительно основной оси хромосомы и/или относительно  
дистального конца неповрежденной хроматиды. В случае отсутствия  
смещения, если пробел превышает по размеру толщину хроматиды, то он  
рассматривается как одиночный фрагмент, в противном случае – как геп.



При проведении биодозиметрических цитогенетических исследований наибольший интерес представляют aberrации хромосомного типа, а именно, дицентрические и кольцевые хромосомы – маркёры радиационного воздействия. Указанные аномалии относятся к двуударным событиям, реализующимся на стадии конденсированных хромосом и, таким образом, не связаны со стадией синтеза ДНК.

Первостепенную роль при биодозиметрических исследованиях играет все же учет именно дицентрических и кольцевых хромосом, возникновение которых специфически сопряжено с воздействием радиации или очень небольшой группы радиомиметиков – весьма специфических веществ (например, противораковые препараты), контакт с которыми легко исключить при сборе радиационного анамнеза. При этом необхо-

димо учитывать наличие парных фрагментов (при их отсутствии в клетках первого митоза можно говорить о наличии указанных aberrаций в стволовой клетке, так как в процессе дифференциации вероятность потери фрагментов выше, чем центрических маркеров).

### **Лекция 33. Оценка индивидуальной радиочувствительности с помощью микроядерного теста**

Микроядра (МЯ) – это небольшие ДНК-содержащие тельца, существующие в клетке отдельно от основного ядра (ядер). Их возникновение связывают, как правило, с такими типами повреждения генома, как ацентрические фрагменты хромосом или целые хромосомы, отставшие в аналофаза митоза от веретена деления и не вошедшие в дочерние ядра.

Также на разных клеточных линиях было показано, что образование микроядра – это не всегда только постмитотическое событие. Например, МЯ могут образовываться в фазе синтеза ДНК из ядерных почек, а также, видимо, во всех тех случаях, когда клетка избавляется от избытка ДНК (избыточная амплификация, реверсия культур клеток опухоли путем экскреции онкогенов). Таким образом, микроядро – это свидетельство количественных изменений ДНК в живой клетке.

Для изучения степени влияния генотоксических факторов на организм млекопитающих в качестве тест-системы используют цитогенетические показатели лимфоцитов периферической крови. Подсчет микроядер в одноядерных лимфоцитах применяют как более быстрый и простой по сравнению с анализом хромосомных aberrаций. Их спонтанная частота и корреляция с дозой острого облучения лимфоцитов крови изучены в ряде лабораторий.

Зависимость числа микроядер от дозы облучения описывается линейно-квадратичной функцией. Достоверное отличие уровня микроядер от контрольного выявляется, начиная с дозы 0,25 Гр. При использовании микроядерного теста определяется неточность в определении дозы при величинах больших или равных 2 Гр, что связано главным образом с индивидуальными различиями в выходе индуцированных облучением микроядер. Малые дозы (0,25 Гр и меньше) не могут быть достоверно определены данным методом из-за индивидуальных различий в частоте спонтанных микроядер.

Основное ограничение микроядерного теста – невозможность отсеlectировать клетки, прошедшие митоз, от покоящихся клеток. Такая дифференциация клеток представляется существенно важной, так как позволяет избежать феномена «разведения» aberrантных клеток интактными.

Это противоречие было преодолено за счет использования цитохалазинового блока.

В современной постановке – с цитокинетическим блоком в присутствии цитохалазина В метод был разработан в середине 80-х годов прошлого века.

Цитохалазин В (ЦХВ) – один из наиболее токсичных представителей класса цитохалазинов, однако традиционно для культивирования клеток в условиях цитокинетического блока используется именно он. Биологические эффекты ЦХВ, как и эффекты всей группы этих соединений, обусловлены образованием ковалентной связи с быстро растущим концом актинового филамента, что практически полностью блокирует как дальнейший рост, так и деградацию филамента на этом конце нити. В результате возникает блок цитокинеза за счет разрушения образующегося фрагмопласта.

Пересчет частоты микроядер на биядерные клетки существенно повышает эффективность микроядерного теста, так как в этом случае учитываются только реально делящиеся клетки, прошедшие только один митоз.

При использовании этого метода для целей биологической дозиметрии необходимо учитывать тип радиации, мощность дозы и т. д. Используя в качестве источника облучения рентгеновские лучи (250 kV), показано, что выход микроядер определялся уравнением:

$$Y = 0,013 + 0,117D + 0,0087D^2,$$

где Y – выход микроядра/бинуклеарные клетки; D – доза (Гр).

При низких дозах радиации и использовании ЦХВ зависимость «доза–эффект» для микроядер имела линейный характер.

Основные критерии для подсчета микроядер :

- микроядра должны иметь структуру, сходную с основным ядром;
- микроядра должны быть по размеру меньше основного ядра – по размеру оно должно быть меньше одной трети основного ядра;
- микроядра должны иметь округлую форму и не накладываться на основное ядро;
- микроядра не должны обладать рефрактерностью;
- учет микроядер должен проводиться только в клетках с хорошо сохранившейся цитоплазмой.

Эффективность использования в радиобиологических исследованиях микроядерного теста с ЦХВ:

- синхронность;
- относительно долгий полупериод жизни клеток носителей (3 года), что, с учетом первой особенности, гарантирует достаточно долгое сохранение индуцированных микроядер;

– достаточно очень небольшого количества периферической крови (10–100 мкл), а пересестирование крови по всему организму обеспечивает возможность обнаружения биологических эффектов и при облучении только части тела.

Недостатки:

– при облучении части тела биологический эффект будет маскироваться за счет разведения пула облученных клеток необлученными;

– лимфоциты представляют собой гетерогенную популяцию, различные группы клеток которой по-разному реагируют на стимуляцию лектинами и на облучение;

– наиболее часто используемый лектин (ФГА) преимущественно стимулирует Т-клетки, пролиферативная активность которых в значительной степени зависит от статуса иммунной системы.



## ЛИТЕРАТУРА

### Молекулярная и клеточная радиобиология с основами радиационной гигиены

1. Гребенюк А. Н., Аксенова Н. В., Антушевич А. Е. Токсикология и медицинская защита: учебник / под ред. А. Н. Гребенюка. – СПб: Фолиант. – 2016. – 672 с.

2. Радиобиология: термины и понятия: энцикл. справ. / Г. Г. Верещако, А. М. Ходосовская; Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т радиобиологии. – Минск: Беларуская навука. – 2016. – 340 с.

3. Ролевич И. В. [и др.] Радиационная безопасность: учеб. пособие. В 2 ч. / И. В. Ролевич, Г. И. Морзак, Е. В. Зеленухо. – Минск: РИВШ, 2012 – 226 с.

4. Гребенюк А. Н., Стрелова О. Ю., Лезгза В. И., Степанова Е. Н. Основы радиобиологии и радиационной медицины: учеб. пособие. – СПб: ООО «Издательство ФОЛИАНТ», 2012. – 232 с.

5. Джойнер, М. С., О. Дж. ван дер Когель Основы клинической радиобиологии – Москва : Бином, 2013. – 600 с.

6. Архангельский В. И. [и др.] Радиационная гигиена. Практикум: учеб. пособие / В. И. Архангельский, В. Ф. Кириллов, И. П. Коренков. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2009.

7. Ильин Л. А., Кириллов В. Ф., Коренков И. П. Радиационная гигиена. – Москва : Медицина, 1999.

8. Нормы радиационной безопасности (НРБ-2000). Утверждены постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 25 января 2000 г. № 5 (Национальный реестр правовых актов РБ, 2000 г., № 35, 8/3037).

9. Основные санитарные правила обеспечения радиационной безопасности (ОСП-2002). Утверждены постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 22 февраля 2002 г. № 6 (Национальный реестр правовых актов РБ, 2002 г., № 35, 8/7859).

10. Санитарные правила и нормы «Гигиенические требования по ограничению облучения населения за счет природных источников ионизирующего излучения». Утверждены постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 1 апреля 2005 г. № 36.

11. Санитарные правила и нормы «Гигиенические требования к обеспечению радиационной безопасности при проведении лучевой терапии». Утверждены постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 22 ноября 2006 г. № 143.

## Радиационная биохимия

1. Гребенюк А. Н., Аксенова Н. В., Антушевич А. Е. Токсикология и медицинская защита: учебник / под ред. А. Н. Гребенюка. – СПб: Фолиант. – 2016. – 672 с.
2. Радиационная медицина: учебник / А. Н. Стожаров [и др.]; под ред. А. Н. Стожарова. – Минск: ИВЦ Минфина, 2010. – 208 с.
3. Гребенюк А. Н., Стрелова О. Ю., Легеза В. И., Степанова Е. Н. Основы радиобиологии и радиационной медицины: учеб. пособие. – СПб: ООО «Издательство ФОЛИАНТ», 2012. – 232 с.
4. Кудряшов Ю. Б., Рубин А. Б. Радиационная биофизика. Сверхнизкочастотные электромагнитные излучения: учебник. – Москва : Физматлит, 2014. – 220 с.
5. Лысенко Н. П., Пак В. В., Рогожкина Л. В., Кусурова З. Г. Радиобиология. – Москва : Лань, 2012. – 576 с.
6. Джойнер М. С. Основы клинической радиобиологии. – Москва : Бином, 2013. – 600 с.
7. Давыдов Ю. П. Основы радиохимии: учебное пособие / Ю. П. Давыдов. – Минск: Вышэйш. шк., 2014. – 317 с.
8. Бекман И. Н. Радиохимия. В 2 т. / И. Н. Бекман. – Москва : Из-во Юрайт, 2015. – 473 с.

## Молекулярная медицина

1. Молекулярная биология клетки: в 3-х т. Т. 3 / Б. Альбертс, А. Джонсон, Д. Льюис и др. – М. – Ижевск: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика».
2. Институт компьютерных исследований. – 2013. – 1028 стр.
3. Введение в молекулярную медицину / под ред. М. А. Пальцева. – Москва : ОАО «Издательство «Медицина», 2004. – 496 с.
4. Бочков Н. П. Клиническая генетика. – Москва : «ГЭОТАР-МЕД», 2002. – 448 с.
5. Сингер М., Берг П. Гены и геномы. – Москва : «Мир», 1998. – 373 с.
6. Молекулярная биология. С. Б. Бокуть, Н. В. Герасимович, А. А. Милютин. – Минск: Вышэйш. шк., 2005. – 463 с.
7. Бекши О.-Я. Л. Медицинская биология. – Минск: «Урожай», 2000.
8. Назаренко Г. И., Журавлев Ю. И., Рязанов В. В., Константинова М. В., Клейменова Е. Б. Прогнозирование риска развития ишемического инсульта на основе генетических [ApoE ( $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$ ,  $\epsilon 4$ ), ACE (I/D), MTHFR (677C>T)] и негенетических факторов с применением современных методов теории распознавания по прецедентам // Молекулярная медицина. – 2015 – № 1. – С. 55–60.

9. *Ильина Т. С.* Нитчатые бактериофаги и их роль в вирулентности и эволюции патогенных бактерий // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2015. – № 1. – С. 3–10.

### **Токсикология**

1. *Сафронов Г. А., Александров М. В.* Экстренная токсикология. – СПб.: Элби, 2012 – 129 с.

2. *Лужников Е. А., Суходолова Г. Н.* Педиатрическая клиническая токсикология. – Ростов-на-Дону: Феникс, 2013 – 256 с.

3. Гигиенические аспекты охраны окружающей среды: сборник методических материалов. – М., 1981. – 100 с.

4. Принципы и методы оценки токсичности химических веществ. Совместное издание Программы ООН по окружающей среде и ВОЗ. – Женева, 1981. – 312 с.

5. *Саноцкий И. В.* Основные понятия токсикологии // Методы определения токсичности и опасности химических веществ. – Москва, 1970. – С. 5–35.

6. *Смирнов М. И., Батян А. Н., Базылев В. Н.* Основы общей профилактической токсикологии и принципы эколого-гигиенической регламентации качества объектов окружающей среды: курс лекций. – Минск : МГЭУ им. А. Д. Сахарова, 2006. – 160 с.

7. *Батян А. Н., Фрумин Г. Т., Базылев В. Н.* Основы общей и экологической токсикологии. – СПб. : СпецЛит, 2009. – 352 с.

### **Физиология адаптационных процессов**

1. *Агаджанян Н. А., Барбараш Н. А., Белов А. Ф.* Нормальная физиология: учебник для студ. высш. мед. проф. образования / под ред. В. М. Смирнова. – Москва : Издательский центр «Академия», 2012.

2. *Кубарко А. И.* Нормальная физиология: учебник: в 2 ч. Ч. 2 / А. И. Кубарко, А. А. Семенович, В. А. Переверзев, Л. М. Лобанок, А. Н. Харламова, Д. А. Александров; под ред. А. И. Кубарко. – Минск: Вышэйш. шк., 2014.

3. Нормальная физиология: практикум / под ред. К. В. Судакова. – Москва : Мед. информ. агентство, 2008.

4. Физиология человека / под ред. Г. И. Косицкого. – Москва : Медицина, 1985. – 544 с.

5. Физиология адаптационных процессов / под ред. О. Г. Газенко – Москва : Наука, 1986. – 635 с.

6. Физиология терморегуляции / под ред. К. П. Иванова. – Москва : Наука, 1984. – 470 с.

7. *Филимонов В. И.* Руководство по общей и клинической физиологии. – Москва, 2002. – 958 с.

### **Основы биодозиметрии**

1. Биологические эффекты ионизирующего излучения у человека: учебное пособие: в 2-х ч. / С. Б. Мельнов, В. Н. Кипень, Н. Н. Тушин – Минск: «Парадокс», 2013 – 2 ч.

2. Радиационная цитогенетика: русско-английский словарь справочник / Э. А. Демина [и др.]; под ред. Н. А. Дружины. – К.: Здоровья, 2009. – 368 с.

3. Radiation biology: a handbook for teachers and students IAEA, Vienna, 2010 – 166 p.

4. *Мельнов С. Б.* Молекулярно-генетические эффекты экологического неблагополучия (возможности проточной цитофлуориметрии). – Минск : Белорусский комитет «Дзеці Чарнобыля», 2004. – 294 с.

5. *Мельнов С. Б.* Биологическая дозиметрия: теоретические и практические аспекты. – Минск : «Дети Чернобыля», 2002. – 192 с.

## **ВОПРОСЫ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ К ГОСУДАРСТВЕННОМУ ЭКЗАМЕНУ**

1. Радиационная гигиена как наука. Гигиеническая регламентация облучения человека.
2. Гигиена труда при работе с источниками ионизирующих излучений.
3. Интерфазная гибель высокорациочувствительных клеток организма.
4. Биология клеточного цикла при действии ионизирующего излучения.
5. Репродуктивная гибель клеток.
6. Свободные радикалы в организме человека.
7. Радиационно-химические изменения основных макромолекул (белков, липидов, нуклеиновых кислот).
8. Антиоксидантная система человека (классификация, функции, характеристика отдельных антиоксидантов).
9. Понятие о специфическом и неспецифическом действии вредных веществ. Основные проявления токсического действия. Зависимость между дозой токсиканта, временем его воздействия и возникающим эффектом.
10. Понятие о промышленных (производственных) ядах и отравлениях. Острые и хронические отравления. Пороговое токсическое действие.
11. Понятие о хронических интоксикациях при интермиттирующих воздействиях. Характеристика кумуляции привыкания. Значение материальной и функциональной кумуляции вредных веществ. Привыкание как фаза хронической интоксикации.
12. Связь токсического эффекта с биологическими особенностями организма.
13. Общие закономерности поступления, транспорта, распределения и выделения токсикантов из организма.
14. Прогнозирование воздействия химических загрязнителей на организм человека.
15. Разновидности токсикоманий. Основные принципы лечения.
16. Общая характеристика наркоманий. Психическая и физическая зависимость. Наркотизм.
17. Алкоголизм – одна из форм токсикоманий.
18. Технология рекомбинантной ДНК, получение рекомбинантного инсулина.
19. Молекулярные основы аутосомно-доминантных заболеваний. Понятие пенетрантности и экспрессивности. Примеры болезней, ассо-

цированных с повреждением генов, кодирующих рецептор, структурный белок, болезни приобретения функций.

20. Аутосомно-рецессивные заболевания. Правила наследования. Молекулярная основа заболеваний, связанных с нарушением функции транспортных белков, ферментов репарации ДНК, при нарушении обмена веществ.

21. Х-сцепленные рецессивные заболевания. Основные правила наследования, молекулярные основы.

22. Моногенные болезни с неклассическим типом наследования. Болезни экспансии, митохондриальные болезни, мозаизм.

23. Понятие о молекулярном механизме многогенных, мультифакторных заболеваний.

24. Генная терапия, лечение инфекционных заболеваний, диагностика. Фармакогенетика, типы осложнений лекарственной терапии.

25. Определение и классификация физиологических адаптаций. Генотипическая и фенотипическая адаптация

26. Общий механизм и основные стадии индивидуальной адаптации. Срочная и долговременная адаптации.

27. Сложные формы физиологических адаптаций. Основные черты высших адаптационных реакций.

28. Закономерности деадаптации.

29. Физиологическая и патологическая деадаптация.

30. Определение и механизмы развития стресса.

31. Понятие биологической дозиметрии. Классификация методов. Отличие биологической и физической дозиметрии.

32. Классический цитогенетический анализ как основной метод биологической дозиметрии.

33. Оценка индивидуальной радиочувствительности с помощью микроядерного теста.

Учебное издание

**Батян** Анатолий Николаевич,  
**Свирид** Василий Дмитриевич,  
**Житкевич** Татьяна Ивановна  
**Пухтеева** Ирина Викторовна  
**Малиновская** Юлия Викторовна

КУРС ОБЗОРНЫХ ЛЕКЦИЙ  
ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ  
«МЕДИЦИНСКАЯ ЭКОЛОГИЯ»

Учебно-методическое пособие

4-е издание,  
дополненное и переработанное

Редактор *Л. М. Корневская*  
Технический редактор *А. В. Красуцкая*  
Компьютерная верстка *Д. В. Головач*

Подписано в печать 06.07.2017. Формат 60×90 1/16.

Бумага офсетная. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 6,88. Уч.-изд. л. 5,96.

Тираж 100 экз. Заказ № 333.

Республиканское унитарное предприятие «Информационно-  
вычислительный центр Министерства финансов Республики Беларусь».  
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,  
распространителя печатных изданий

№ 1/161 от 27.01.2014, № 2/41 от 29.01.2014.

Ул. Кальварийская, 17, 220004, г. Минск.