

Экологическая генетика.

Лекция 4.

Биологические факторы мутагенеза.

Экологическая генетика.

Лекция 5.

Генетическая ТОКСИКОЛОГИЯ.

Структура экологической генетики

Генетические подходы	Синэкология	Аутэкология
Генетический контроль признаков (наследственность)	Эколого-генетические модели	Генетика устойчивости к факторам среды
Влияние различных факторов на генетические процессы (изменчивость)	Биологические факторы изменчивости (мутагенеза)	Генетическая токсикология

-
- ❑ Биологические генетически активные факторы представляют особый интерес, поскольку их существование указывает на генетическую активность синэкологических отношений.
 - ❑ Способны модифицировать действие радиации и химических мутагенов.
-

Биологически активные факторы мутагенеза:

- ❑ 1. Старение
 - ❑ 2. Иммунные конфликты в организме
 - ❑ 3. Нейроэндокринные конфликты
 - ❑ 4. Факторы инфекционной природы
 - ❑ 5. ДНК
 - ❑ 6. Метаболиты жизнедеятельности микроорганизмов, растений, животных
-

1. Возраст и мутагенез

1935 г. М.С.Навашин, Е.Н.Герасимова

Резкое увеличение числа клеток с цитогенетическими изменениями у проростков **старых** семян.

Формулировка положения о **мутационном процессе как физиологическом явлении** и необходимости поиска основных факторов мутационного процесса внутри организма.

«Соматическая мутационная теория» (основное положение)

С возрастом в соматических клетках организмов увеличивается число генетических нарушений.

Генетически дефектные клетки не способны выполнять возложенные на них функции и накопление такого рода клеток приводит к разнообразным патофизиологическим изменениям, наблюдаемым при старении.

Возрастные изменения в лимфоцитах крови

Человек – увеличение числа клеток с нарушениями в числе хромосом

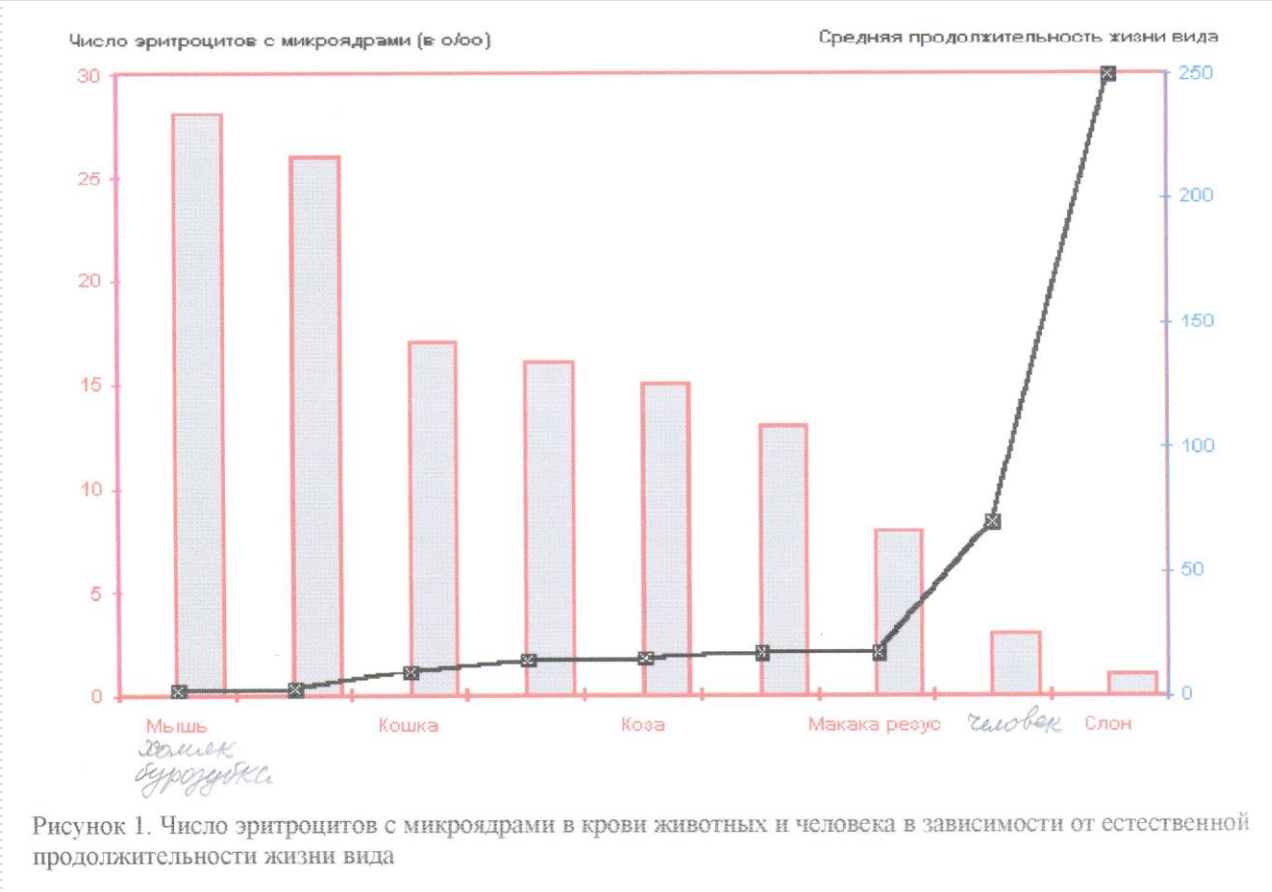
Аналогичные нарушения в клетках ЖИВОТНЫХ:

мышь

куры

амфибии и др. позвоночные животные

Фактор продолжительности жизни – частота эритроцитов с микроядрами



Внутривидовая изменчивость продолжительности жизни

1950 г. Город Эймс штата Айова (США) в университете были получены карликовые мыши. Вес взрослой карликовой мыши составляет 3-5 г. Их продолжительность жизни в два раза выше, чем у обычных мышей. Мыши-гиганты (выведены методом генной инженерии) не доживают и до одного года.

Возможный механизм

Маленький рост связан с низкой выработкой ростового гормона. У гигантов в крови наблюдается повышенный уровень свободных радикалов, гораздо чаще появляются активные формы кислорода, которые вызывают окисление липидного компонента мембран и ядерных структур клетки. Мутагенез.

Продолжительность жизни и дефекты работы систем репарации

☐ Преждевременное старение или **прогерия**:

- у детей синдром Гетчинсона-Гилфорда (в литературе описано около 70 случаев)
 - у взрослых болезнь Вернера
-

Симптоматика (синдром Гетчинсона-Гилфорда и синдром Вернера)



Клиника детского синдрома:

- ❑ Имеется поражение эндокринных желез;
 - ❑ Отмечается слабая способность к восстановлению однонитевых разрывов в молекуле ДНК;
 - ❑ Склеротические изменения в различных органах;
 - ❑ Продолжительность жизни от 7 до 27 лет;
-

Клиника взрослого синдрома:

- ☐ Сниженная способность к репарации молекул ДНК;
 - ☐ Раннее появление катаракты;
 - ☐ Подкожная кальцификация;
 - ☐ Преждевременное поседение;
 - ☐ Преждевременный атеросклероз;
 - ☐ Сахарный диабет;
 - ☐ Повышенная частота злокачественных опухолей;
 - ☐ Выраженная хромосомная нестабильность.
-

Причины старения (правило Хейфлика)

- ❑ Вне организма фибробласты эмбриона человека могут совершить от 40 до 60 делений, после чего начинается старение и гибель.
 - ❑ Клетки взрослого человека делятся гораздо меньше.
 - ❑ Число делений клеток в культуре у больных прогерией не более 9-11.
 - ❑ У короткоживущей мыши фибробласты эмбриона делятся 14-28 раз.
-

Результат культивирования клеток.

- Постепенное накопление в клетках культуры большого числа генетически дефектных клеток. Через 20-30 делений в культуре 50% клеток имеют разнообразные генетические дефекты.
 - Культура клеток HeLa имеет хромосомный набор существенно отличающийся от нормального хромосомного набора человека.
-

2. Нейроэндокринная система и мутагенез

□ 1940 – 1946 гг.

**Физиологическая
(паранекротическая) гипотеза
мутационного процесса –**

существует организменный контроль спонтанного мутационного процесса: нервная, гормональная, иммунная и другие системы организма могут изменять процессы мутагенеза в клетках данного организма.

Керкис Юлий Яковлевич (1907-1977) Лобашев Михаил Ефимович (1907-1971)



Стрессирование животных и мутагенез (Керкис Ю.Я., Новосибирск)

- Стрессирование крыс резким звуковым сигналом повышает их чувствительность к мутагенному действию ионизирующей радиацией.
 - Склонные к эпилептическим припадкам животные более чувствительны к мутагенному действию радиации и химических веществ.
-

Метод исследования роли нервной системы в мутагенезе

- Денервация – перерезка нервов
 - а).печени и селезенки у животных индуцирует увеличение числа полиплоидных клеток;
 - б).костного мозга у кошек увеличивает количество клеток со структурными нарушениями хромосом и нарушения митоза;
 - в).семенника увеличивает число сперматогониев с полиплоидным набором хромосом, а также с дегенеративными формами сперматозоидов;
 - г).глаза возрастает число цитогенетически измененных клеток.

Возбудимость нервной системы и мутагенез

Исследовали влияние однократного эмоционально-болевого стрессорного воздействия (электрический ток и свет) на уровень хромосомных aberrаций в клетках костного мозга крыс 4 линий, селектированных по возбудимости нервной системы (Дюжикова и др., 1996)

Результаты:

Краткосрочное стрессирование приводит к возрастанию уровня хромосомных нарушений, оцениваемого по общему числу клеток с аберрациями у высоко-возбудимых крыс линии с низким поро-гом возбудимости, тогда как при дли-тельном стрессировании исследуемый показатель не отличается от контро-льных значений.

Результаты:

У низковозбудимых крыс с высоким порогом возбудимости уровень ХА при длительном стрессировании возрастает.

Т.о., влияние разных по длительности видов стрессорного воздействия на уровень ХА оказывается неодинаковым для животных с разным уровнем возбудимости нервной системы.

Механизм действия стресса на хромосомный аппарат

Механизм связан с системой свободно-радикального окисления, опосредованного нейрогуморальной системой.

Через 1 час после краткосрочного стрессирования наиболее выраженное повышение уровня кортикостерона в плазме крови наблюдали у крыс только линий НП, что указывает на более высокую стресс-реактивность этих линий. После длительного стрессирования стойкие изменения со стороны гормональной системы наблюдали только у крыс линии ВП.

Вывод из работы:

Выявленные различия по частоте ХА у крыс исследуемых линий к короткому и длительному стрессу соотносятся с происходящими при этом нейроэндо-кринными сдвигами и связаны с особенностями функционального состояния нервной системы, детерминируемой генетически.

Адреналэктомия – удаление надпочечников

- ❑ Стрессирование крыс резким звуковым сигналом приводит к выделению большого количества адреналина
 - ❑ Введение крысам адреналина повышает способность мутагенных факторов индуцировать цитогенетические нарушения
 - ❑ Удаление надпочечников (синтез адреналина) у крыс снижает последствия радиационного мутагенеза
-

Действие гормонов

- ❑ Введение в культуру клеток человека половых гормонов индуцирует хромосомные нарушения.
- ❑ Длительные инъекции прогестерона (желтое тело яичника, кора надпочечников, семенные пузырьки, плацента) увеличивает в половых клетках хромосомные аномалии.
- ❑ Мутагенное действие дезоксикортикостерона, эстрадиола, эстриола и др. гормонов (тироксин вызывает полиплоидизацию клеток печени у мышей и крыс)

3. Иммунизет и мутагенез

При иммунных конфликтах в организме человека и животных наблюдается нестабильность генома.

Аутоиммунные заболевания

(ревматоидный артрит, *системная красная волчанка*) – поражение соединительной ткани. В крови больных обнаруживаются антитела к собственной ДНК, разнообразные поражения ядер клеток различных органов.

Активность клеток-киллеров

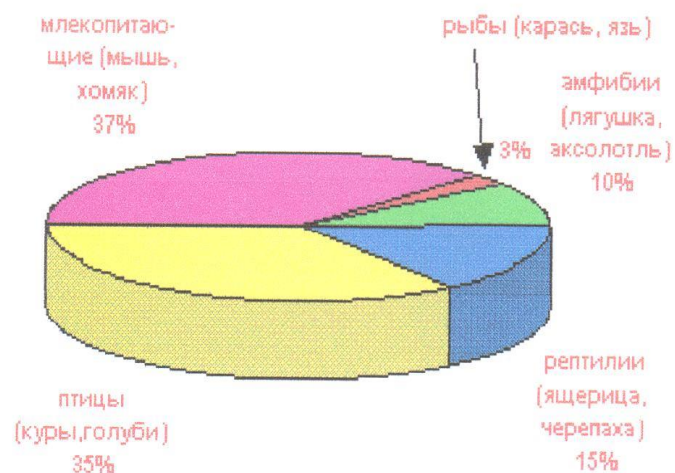


Рисунок 2. Активность естественных клеток - киллеров по устранению генетически дефектных клеток у различных видов позвоночных животных

Иммунологические конфликты и мутагенез (Керкис Ю.Я.)

При аллогенной трансплантации кожных лоскутов у мышей, различающихся по H2-локусу тканевой совместимости частота клеток костного мозга с ХА повышается с 4-5% в контроле до 12-15% у опытных животных.

После отторжения чужеродной ткани частота ХА снижается и к 20-у дню достигает контрольного уровня.

Аллергии

Здоровые – частота ХА 1,2% (0 – 2%)

Аллергики – частота ХА 10,7% (4 – 22%)

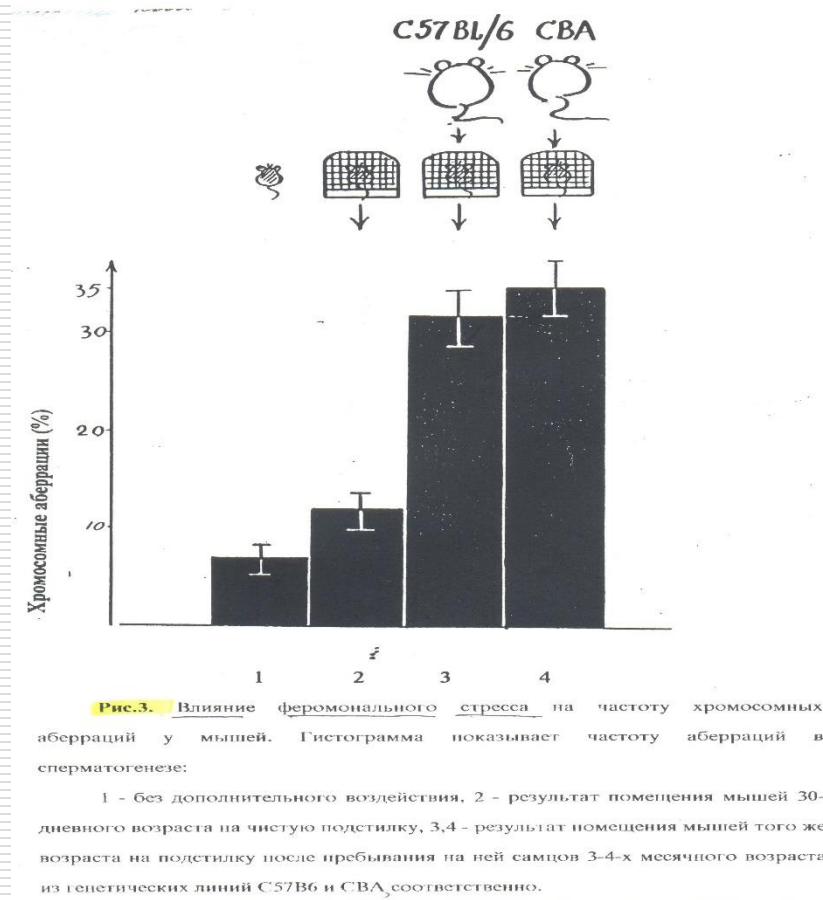
Мутагенный эффект вызывают самые разные аллергены (первичный стресс и ремиссии), максимальный мутагенный эффект отмечается в состоянии анафилактического шока.

М.Е.Лобашев, Л.А.Алексеевич,
Р.И.Цапыгина, Г.Г.Полянская

Цикл работ по изучению роли
нейро-эндокринной системы в
мутационном процессе.

Селекция кур по различиям типов
нервной системы приводит к
различиям в радиационно
индуцированной мута-бильности
хромосом в соматических клетках.

Феромональный стресс у мышей.



4. Биоритмы и мутагенез

Существует ритмичность основных физиологических процессов у всех живущих на Земле организмов.

Изменение суточного биоритма приводит к мутагенным эффектам и мутагенные факторы усиливают свой поражающий эффект в случае нарушений биологических ритмов.

Частота ХА в клетках костного мозга золотистого хомяка.

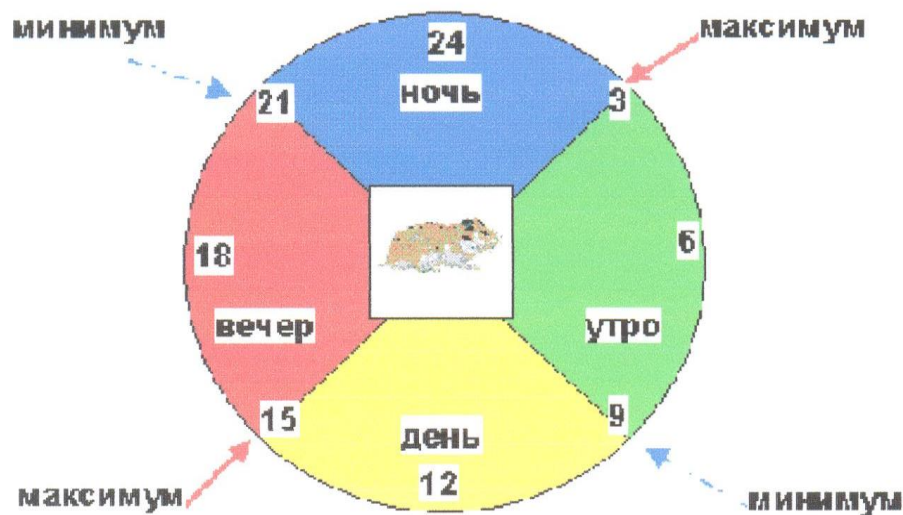


Рисунок 3. Чувствительность золотистого хомяка к мутагенному действию радиации в зависимости от времени суток

5. Инфекционный и ДНК-мутагенез

- Начало изучения биологических факторов инфекционного мутагенеза было положено работами С.М Гершензона в конце 30-х годов, когда был установлен мутагенный эффект ДНК и вирусов.
 - В анализ была взята ДНК из зубной железы теленка, добавляемая в питательную среду дрозофилы.
-

Гершензон Сергей Михайлович

1906 – 1998 гг.



Критерии мутагенного действия ДНК на дрозифилу

- ☐ Видимые рецессивные и доминантные мутации в X-хромосоме;
 - ☐ Видимые доминантные мутации в аутосомах;
 - ☐ Рецессивные летальные мутации в X-хромосоме.
-

Особенности мутагенного действия ДНК

- 1. Продленный мутагенный эффект (растянутость во времени) – многие мутанты появлялись в виде мозаичных особей, мутации возникали не только в F1, но и в F2 обработанных мух. Эффект охватывал десятки клеточных поколений. Такого длительного действия не описано ни для одного другого мутагена.
-

Возможный механизм:

- Мутагенное действие препаратов ДНК, вероятно, обязано отчасти тому, что фрагменты вводимых в организм молекул чужеродной ДНК включаются в хромосомы по типу транспозиций.

Есть данные, что известной мутагенностью обладает и РНК, а также, по меньшей мере, некоторые искусственно синтезированные полинуклеотиды.

Особенности мутагенного действия ДНК

- **2.** высоко избирательный характер действия ДНК – некоторые гены и участки хромосом мутировали особенно часто: частота мутаций некоторых генов возрастала на 2-3 порядка, а частота других генов не превышала спонтанный уровень или возрастала незначительно. Спектр мутаций, индуцированных ДНК у дрозофилы, сильно отличается от спектра спонтанных мутаций или мутаций, вызываемых другими мутагенами.
-

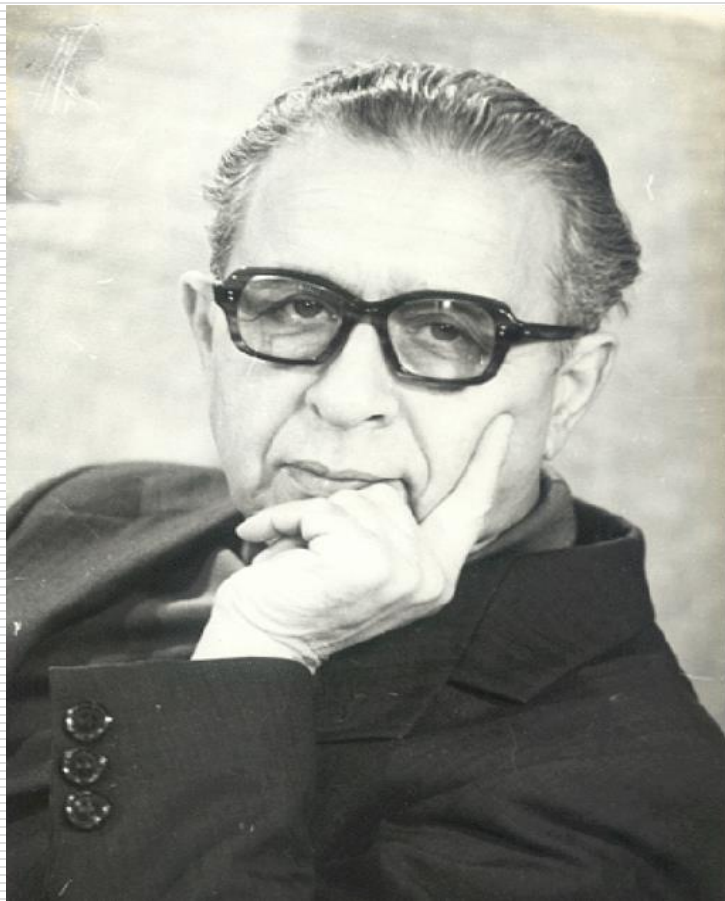
Особенности мутагенного действия ДНК

- **3.** ДНК индуцирует видимые и летальные мутации, однако они представлены только генными мутациями и микроделециями. Крупные перестройки хромосом полностью отсутствуют.
-

60-70 гг.

Мутагенность ДНК была показана для бактерий, сине-зеленых водорослей, грибов, высших растений, млекопитающих.

С.И.Алиханян, Т.С.Ильина (конец 50-х годов, СССР)



□ ЛИТЕРАТУРА

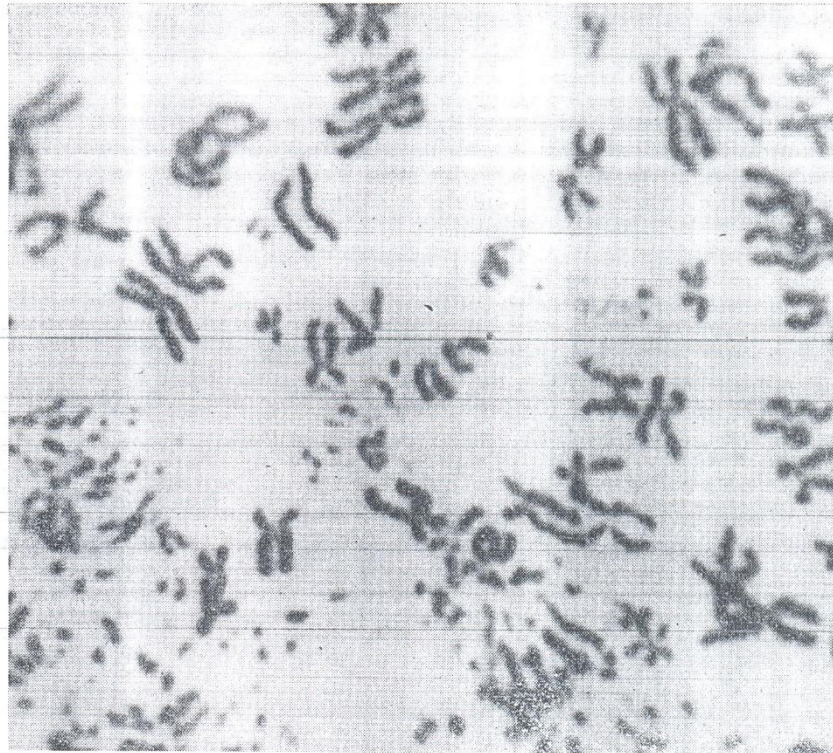
1. Алиханян С.И., Ильина Т.С.
Мутагенное действие актинофага // Доклады АН СССР. 1958. т.120. N 5. с. 1122-1125.

С 1965 года началось активное изучение мутагенного эффекта ДНК- и РНК-содержащих вирусов у дрозофилы.

Мутагенность вирусов имеет много общего с мутагенным эффектом ДНК.

- ❑ Инфекционные для человека вирусы: кори, аденовируса, гриппа, скарлатины, оспы, ветряной оспы, эпидемического паротита и др.)
 - ❑ Непатогенные: ядерного полиэроза большой вощинной моли
 - ❑ Вирусные вакцины
 - ❑ Аттенуированные (ослабленные) вирусы
-

Пульверизация и множественная фрагментация хромосом в клетках человека.



10.7. Нарушения хромосомного аппарата, вызванные вирусом кори в клетках почек человека, культивируемых вне организма.

Видны эндоредупликация хромосом (деление их, не сопровождаемое расхождением к полюсам), фрагментация и пульверизация (распадение на мелкие кусочки) (микрофотография Бужневской).

Типы повреждений:

- Вирус ядерного полиэроза вызывает скрытые изменения генетического материала – сверхдлительные, реплицирующиеся потенциальные изменения, реализующиеся через несколько клеточных делений в виде хромосомных aberrаций.
- ДНК этого вируса индуцирует транслокации, характерные для химического и радиационного мутагенеза.
- Непатогенные вирусы индуцировали у дрозофилы и в культуре клеток грызунов генные мутации.

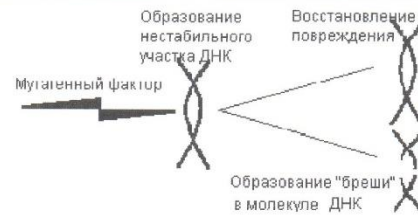
Специфичность поражения локусов хромосом:

- ❑ Вирус кори приводит к нарушениям преимущественно во 2 хромосоме.
- ❑ Вирус гриппа индуцирует нарушения в 6 и 9 хромосомах человека.

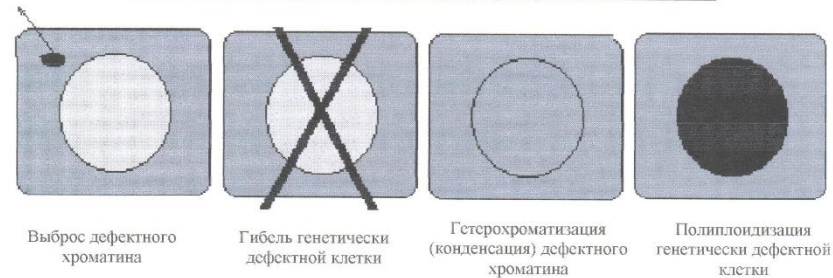
Нарушения локализуются в зонах повышенной ломкости хромосом и местах сосредоточения онкогенов, изменения функции которых ведут к раковым опухолям.

Рисунок 5. Гипотетические модели механизмов поддержания генетической стабильности клеток организма

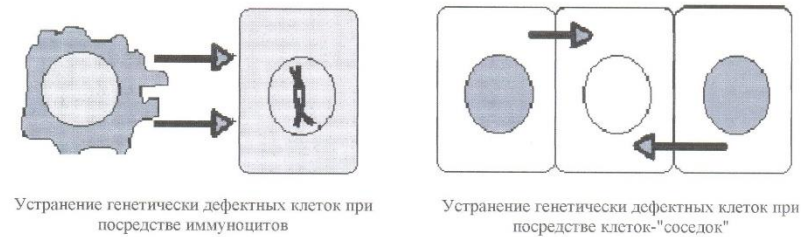
Поддержание стабильности генетических структур на молекулярном уровне за счет системы ДНК-репарации



Поддержание стабильности генетических структур на клеточном уровне



Поддержание стабильности генетических структур на уровне организма



Мутагены растительного происхождения

- ❑ Саговник (голосеменные) → циказин
 - ❑ Циказин = метилозоксиметанол - β - D-глюкозид в кишечнике млекопитающих и человека под действием микроорганизмов превращается в β - D-глюкозид и агликон (метилозоксиметанол) = N-метил-N' нитро-N-нитрозогуанидин (высокая мутагенная активность)
-