

ПРИРОДА

№ 4, 2001 г.

Чернобыль и проблемы радиобиологии

Шевченко В.А.

Как оценивать генетический риск облучения

© “Природа”

Использование и распространение этого материала
в коммерческих целях
возможно лишь с разрешения редакции



Сетевая образовательная библиотека “VIVOS VOCO!”
(грант РФФИ 00-07-90172)

vivovoco.nns.ru
vivovoco.rsl.ru
www.ibmh.msk.su/vivovoco

Как оценивать генетический риск облучения

В.А.Шевченко

Мировое научное сообщество уже в течение нескольких десятилетий занимается изучением генетических последствий облучения человека ионизирующей радиацией. Обширные материалы по естественному и индуцированному мутагенезу, различные теоретические разработки объединяет Научный комитет ООН по действию атомной радиации (НКДАР ООН). Периодически, каждые пять лет, эксперты НКДАР составляют прогнозы генетического риска. Изменились ли сегодня наши представления о естественной и индуцированной изменчивости? В этой статье мы попытаемся ответить на этот вопрос.

Спонтанный мутагенез

Оценка генетического риска от действия ионизирующего излучения включает два главных вопроса: анализ естественного (спонтанного) мутагенеза и количественное измерение эффектов радиации. Начнем со спонтанного мутагенеза. Ведь только зная его уровень, можно рассчитать возможные последствия радиационного воздействия.

Мутации в любом из генов человека либо отклонения в структуре хромосом приводят к тем

© В.А.Шевченко



Владимир Андреевич Шевченко, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией радиационной генетики Института общей генетики им.Н.И.Вавилова РАН, эксперт от России Научного комитета ООН по действию атомной радиации. Основные научные интересы связаны с экологической и радиационной генетикой.

или иным изменениям в его фенотипе, степень которых зависит от важности вовлеченных в мутагенез генов, масштабов нарушения и характера наследования возникших мутаций.

Рассмотрим классификацию генетических изменений человека с точки зрения фенотипов, т.е. генетических болезней. Учитывая механизмы их возникновения и характер наследования, их подразделяют на менделевские, хромосомные, мультифакториальные, генетические болезни соматических клеток и болезни генетической несовместимости матери и плода.

Большинство специалистов считает, что геном человека на-

считывает от 50 тыс. до 100 тыс. генов. Благодаря успехам международной программы «Геном человека» и интенсивному изучению наследственных болезней в клиниках к январю 2000 г. было установлено 11062 менделевские наследственные болезни [1]. В отношении многих из них изучена локализация мутантных генов и проведен молекулярный анализ их продуктов. Для более чем 6980 генов с хорошо известной функцией найдены специфические сайты расположения в хромосомах человека. С другой стороны, в определенных участках хромосом картировано более 1100 клинических болезней.

Взаимосвязь между мутация-



Число известных менделирующих локусов, которые контролируют наследственные заболевания человека. Гистограмма построена по данным каталогов В.А.Маккьюсика.

ми и менделевскими болезнями часто описывают простой концепцией: одна мутация — одна болезнь. Хотя эта концепция нашла подтверждение при описании многих менделевских болезней, такая взаимосвязь наблюдается далеко не всегда. При анализе аллельных вариантов 767 генов человека обнаружено, что 658 генов ассоциированы с какой-либо одной клинической болезнью, 71 — с двумя, 30 — с тремя, 5 — с четырьмя и по одному гену — с пятью, шестью и семью болезнями.

Такие генетические явления, как мозаицизм, геномный импринтинг и экспансия аллелей,

вносят дополнительные сложности в фенотипическую реализацию генных мутаций. Например, при мозаицизме у одного и того же индивидуума присутствуют нормальные и мутантные клетки (это относится как к соматическим, так и к зародышевым клеткам). Если мозаицизм в зародышевых клетках затрагивает доминантную болезнь, она может не проявиться у данного индивидуума, но для потомков, унаследовавших мутантный ген, ее риск сохраняется.

О существовании тех или иных генов мы узнаем, когда есть возможность изучить их мутации. Обычно спонтанная час-

тота мутаций отдельных генов у человека составляет 10^{-4} — 10^{-6} на гамету за поколение, причем она зависит от возраста родителей, особенно мужчин.

Согласно результатам молекулярно-генетических исследований, менделевские болезни возникают вследствие точковых или протяженных мутаций, а также микроделеций [2]. Различия между этими изменениями связаны с размерами затронутых фрагментов молекулы ДНК (табл.1).

После обширных исследований А.Чейзела [3] особое внимание привлекают так называемые мультифакториальные болезни, которые имеют генетическую компоненту, но не подчиняются менделевскому наследованию. Такие болезни рассматривают как результат взаимодействия большого числа факторов генетической природы и окружающей среды. К ним относят коронарные болезни сердца, гипертонию, астму, диабет, большую часть раков и др. Широкое распространение мультифакториальных болезней — причина высокой заболеваемости и смертности населения.

Большинство мультифакториальных болезней не сводятся к клиническим проявлениям дефектов одиночных генов, но среди родственников больных они встречаются чаще, чем в общей популяции. Правда, и в группах риска заболеваемость родствен-

Таблица 1

Молекулярная природа мутаций, приводящих к менделевским болезням

Категория болезней	Число менделевских болезней, связанных с мутациями:			Всего
	точковыми (А)	точковыми и протяженными (В)	протяженными и микроделеционными синдромами	
Аутосомные доминантные	73	18	25	116
Сцепленные с X-хромосомой	16	24	8	48
Итого	89 (54%)	42 (26%)	33 (20%)	164
Аутосомные рецессивные	111	27	7	145
Всего	200 (65%)	69 (22%)	40 (13%)	309

А — замены основания; В — преимущественно делеции ДНК.

Таблица 2

Оценка радиационного риска методом удваивающей дозы (1 Зв на поколение)

Класс болезней	Естественная частота на 1 млн новорожденных	Эффект воздействия на поколение		
		I	II	равновесный уровень
Аутосомные доминантные и сцепленные с X-хромосомой	10 000	1500	1300	10 000
Аутосомные рецессивные	2500	5	5	1500
Хромосомные:		240	96	400
вследствие структурных аномалий	400	*	*	*
вследствие изменения числа хромосом	3400	*	*	*
Врожденные аномалии	60 000	*	*	*
Другие мультифакториальные болезни	600 000	*	*	*
Рано проявляющиеся доминантные мутации	*	*	*	*
Наследуемые раки	*	*	*	*
Общий оцениваемый риск		1700	1400	12 000

ников и особенности самой болезни в разных семьях различны.

С учетом эпидемиологической классификации и возможного проявления мультифакториальных болезней их можно разделить на врожденные аномалии и хронические. Врожденные аномалии представляют собой структурные дефекты у новорожденных (анэнцефалия, мышечно-скелетные аномалии, расщепленное нёбо или губа), присутствие которых есть конечный результат дисморфогенеза. В случае изолированных врожденных аномалий можно проследить путь от какой-то одной локальной ошибки (мутации) в морфогенезе до наблюдаемого эффекта. Если во время внутриутробного развития ребенка возникают две или более морфогенетические ошибки, говорят о множественных врожденных аномалиях. Сравнение врожденных аномалий в Венгрии и Западной Канаде (Британской Колумбии) показывает, что общие частоты их проявления составляют 6—7%, а 2—3% приводят к весьма серьезным дефектам или к летальному исходу. У родственников, носителей этой болезни, частоты врожденных аномалий выше, чем в целом для популяции.

Хронические мультифакториальные болезни (диабет, коронарные болезни, эпилепсия, астма, псориаз и др.), как и врожденные аномалии, не подчиняются менделевским законам насле-

дования. Базис таких болезней — генетически восприимчивые индивидуумы, у которых та или иная патология зависит от действия иных генов, диеты, физической активности, влияния различных факторов среды и др.

Исследования, проведенные в Венгрии, показали, что хронические мультифакториальные болезни (всего около 30) в популяции составляют 65%, включая все возрастные группы. Эти результаты хорошо совпадают с данными, полученными в других странах. Отдельные индивидуумы имеют две и более таких болезней, причем большинство из них дают о себе знать в среднем возрасте.

В целом естественная изменчивость человека по всем категориям болезней достаточно высока — 70% различных генетических отклонений от нормы в течение 70 лет, принятых условно за среднюю продолжительность жизни человека. Другими словами, более чем 70% людей в течение жизни имеют хотя бы одно генетически обусловленное отклонение, сокращающее жизнь либо мешающее нормальной работоспособности. По данным, полученным в Канаде, США и Венгрии, рассчитана обобщенная естественная изменчивость человека (табл.2) [4]. Эксперты НКДАР прогнозируют ее дальнейший рост, поскольку некоторые типы генетической изменчивости человека пока количест-

венно не учитываются, но безусловно имеют высокую мутационную компоненту. При подготовке новых оценок радиационного риска человека, которые будут рассмотрены в этом году, эксперты столкнулись с рядом проблем, вызванных в основном стремительным прогрессом в молекулярной генетике.

Методы оценки генетического риска

Для прогноза генетических эффектов после облучения в первом поколении используют два метода: удваивающей дозы и прямой. Первый базируется на определении дозы, вызывающей такой же генетический эффект, как при естественном мутагенезе (и, значит, удваивает эффект). При применении этого метода надо иметь в виду, что спонтанный мутагенез в популяциях человека — это исторически сложившийся стационарный процесс, зависящий от естественного уровня радиации и скорости мутационного отбора — фактора, который в значительной мере определяет естественную изменчивость человека.

При длительном хроническом облучении мутагенез становится стационарным лишь через семь—десять поколений после начала облучения. В этом случае радиационно индуцированный мутагенез составит дополнитель-

ную к естественной изменчивости человека компоненту, величина которой будет зависеть от дозы. При удваивающей дозе уровни индуцированного мутагенеза и естественной компоненты сравниваются и общая интенсивность мутагенеза удваивается. По оценке экспертов НКДАР ООН, удваивающая доза для человека при хроническом облучении малыми дозами равна 1 Зв на поколение. В первом поколении отмечается приблизительно десятая часть мутаций, отвечающих стационарному уровню, достигаемому через семь—десять поколений.

В 1988 г. оценки генетических эффектов в первом поколении проводились без учета всех категорий генетической отягощенности человека. Принимались во внимание только аутосомные доминантные, сцепленные с X-хромосомой, рецессивные и хромосомные болезни. По этим оценкам их суммарная частота не превышала 17 случаев на 1 млн новорожденных при дозе 10 мЗв. Нетрудно подсчитать, что болезней, по которым тогда оценивался риск при облучении человека, всего 2.4% от известных в настоящее время. Это значит, риск в отношении врожденных аномалий и мультифакториальных болезней (а их 97.6% среди наследственной отягощенности человека) не учитывался. Конечно, тогда не было единого мнения об адекватности использования удваивающей дозы в 1 Зв по отношению к мультифакториальным болезням и тем более о величине мутационной компоненты, какую надо использовать для расчетов.

Оценивать радиационный риск можно и с помощью прямого метода, определяя частоты индуцированных мутаций отдельных генов и аббераций хромосом. Например, зная частоту мутаций отдельных генов в расчете на 10 мЗв и число структурных генов, можно оценить суммарную частоту появления генных мутаций при той или иной дозе. Расчеты, сделанные в 1988 г. по данным

прямого метода, дали такую же величину риска, как и метод удваивающей дозы. Несмотря на кажущуюся простоту подхода, прямой метод оценки не менее сложен, чем метод удваивающей дозы, поскольку также ограничен недостаточным знанием структуры генома человека и неточностями при определении частоты индуцированных мутаций. Некоторый застой в развитии прямых методов оценки риска за последние годы предопределил выбор специалистов, готовящих доклады НКДАР 2001 г., в пользу метода удваивающей дозы.

Генетические последствия

Стремительный прогресс в изучении спонтанных наследственных болезней у человека, анализ их молекулярной природы и особенностей фенотипического проявления в различных условиях позволили по-новому подойти к оценке радиационного риска. До 1972 г. основной моделью для такого прогноза служила модель человек—мышь (соотношение спонтанной изменчивости человека и частоты индуцированных мутаций у мыши). На протяжении свыше 20 лет (до 1994 г.) в расчетах генетического риска использовали частоту спонтанных и индуцированных мутаций у мышей (модель мышь—мышь). При помощи разработанных НКДАР ООН методов экстраполяции, основанных на применении ряда установленных эмпирических коэффициентов пересчета, по данным, полученным в экспериментах на мышах, рассчитывали риск для человека.

Накопленный к настоящему времени обширный материал по спонтанному мутагенезу у человека привел к пересмотру этого подхода. Имеется еще несколько обстоятельств, затрудняющих экстраполяцию на человека оценок, полученных для мыши. Во-первых, скорости накопления спонтанных мутаций у мыши

и человека с возрастом значительно расходятся. Если частота спонтанных мутаций у потомков мыши не зависит от возраста самцов, то у мужчины она может увеличиться с возрастом в несколько раз. Во-вторых, у человека иногда выявляют мозаики (мутация не во всех клетках) и кластеры (мутация не у всех потомков), которые необходимо учитывать при анализе спонтанного мутагенеза. Выявить кластеры у людей удастся лишь при наблюдениях за большими семьями (больше трех детей). В экспериментах же на мышах, дающих большое потомство, обнаружить их гораздо легче. В докладах НКДАР ООН, базирующихся на модели мышь—мышь, кластеры в расчеты не включались. С другой стороны, при анализе частоты спонтанного мутагенеза у человека они всегда учитываются. Пока нет методик, позволяющих сравнивать вероятность появления кластеров у мыши и человека. Неясно также, как использовать данные по мышинным мозаикам и кластерам в оценках мутагенеза человека.

Таким образом, сегодня при оценке радиационного риска для человека наиболее перспективна модель человек—мышь. Для учета спонтанных мутаций у человека отобраны 26 доминантных болезней, связанных с аутосомными генами, которые включают 135 локусов. Средняя частота спонтанных мутаций оценивается в $(2.93 \pm 0.64) \cdot 10^{-6}$ на locus за поколение [3].

Общую частоту мутаций у мыши под воздействием ионизирующих излучений оценивают по рецессивным мутациям [2, 5], по биохимическим изменениям, которые вызываются мутациями в генах, кодирующих синтез белков и ферментов [6], а также по аутосомным доминантным мутациям (всего 72 локуса). Средняя частота мутирования в них при хроническом облучении низкими дозами — $(0.35 \pm 0.09) \cdot 10^{-5}$ на 1 Гр.

В соответствии с моделью человек—мышь величина удваива-

Таблица 3

Оценка радиационного риска человека с учетом корректирующего фактора при хроническом облучении 1 Зв на поколение

Класс болезней	Естественная частота на 1 млн новорожденных	Риск на 1 млн новорожденных поколения	
		I	II
Менделевские			
Аутосомные доминантные и сцепленные с X-хромосомой	16 500	750—1500	1300—2500.
Аутосомные рецессивные	7500	0	0
Хромосомные	4000	—	—
Мультифакториальные			
Хронические мультифакториальные	650 000	250—1200	250—1200
Врожденные аномалии	60 000	2000	2000
Всего	738 000	3000—4700	3550—5700
Общий риск на 1 Зв, % от естественной частоты мутирования			0.41—0.64

ющей дозы равна отношению частоты спонтанных мутаций у человека (в среднем для 135 локусов) к частоте индуцированных мутаций у мыши (средней по 72 локусам), т.е. 0.84 ± 0.31 Гр, что близко к 1 Гр. Таким образом, оценка удваивающей дозы в 1 Гр, которой НКДАР ООН придерживается уже несколько десятилетий, совпадает с оценкой, полученной на основе последних данных о молекулярной природе наследственных болезней у человека и обобщенной оценки частоты мутирования во многих локусах у мыши при воздействии ионизирующих излучений.

Величина, обратная удваивающей дозе, показывает относительный мутационный риск на единицу дозы. Для аутосомных рецессивных болезней такой риск считается незначительным, поскольку рецессивные мутации не приводят сразу к болезни. Для мультифакториальных болезней и для врожденных аномалий ситуация с оценкой риска намного сложнее, поскольку отсутствует прямая связь между мутациями и их фенотипическим проявлением (болезнями).

Еще в 1972 г. была предложена концепция мутационной компоненты [7], которую определили как функцию частоты мутаций, селекции, воздействия факторов среды и рекомбинации. В целом для мультифакториальных болезней эта компонента колеблет-

ся от 5 до 50%. Согласно современным оценкам, полученным с помощью компьютерного моделирования, в первых нескольких поколениях после хронического облучения родителя доля этой составляющей не превышает 2%, а для врожденных аномалий пока однозначно не определена.

Казалось бы, зная величины относительного мутационного риска на единицу дозы и мутационной компоненты для различных классов болезней, легко рассчитать генетический риск на единицу дозы. Однако это не так. Имеется еще одно важное обстоятельство, не учитывавшееся ранее: молекулярно-генетические исследования последних лет показали, что спектры спонтанных и индуцированных изменений ДНК существенно различаются. Если при спонтанном мутагенезе 65% изменений ДНК относится к точковым мутациям (табл.1), то при радиационном в основном возникают микроделеции, причем протяженность участков ДНК, охваченных ими, может быть различной — от части одного гена до нескольких генов.

С 1972 и до 1993 г. специалисты придерживались гипотезы, предполагавшей одинаковый характер изменений, возникающих в ДНК при спонтанном и радиационном мутагенезе. Мы в своих оценках генетического риска также исходили из этой гипотезы [8]. На ней же базируется метод удва-

ивающей дозы, поэтому применять его для оценки генетического риска достаточно сложно. Для разрешения возникших трудностей предложено ввести еще один показатель, который рассчитывается отдельно для каждого класса мутаций (доминантных аутосомных, сцепленных с X-хромосомой, мультифакториальных и др.) с учетом их реализации в определенных болезнях.

Появилась новая концепция потенциальной способности восстановления с введением в расчеты корректирующего фактора [9]. При анализе микроделеционных синдромов у мыши и человека выяснилось, что мультилокусные мутации, вызванные микроделециями, не всегда выражены фенотипически; они наблюдаются у новорожденных детей только в небольшой части генов. Рассчитанные корректирующие факторы для аутосомных доминантных и сцепленных с X-хромосомой болезней человека варьируют в интервале 0.15—0.3, а для мультифакториальных — 0.02—0.09. На основе этих данных получена общая картина генетического риска облучения человека (табл.3).

По сравнению с оценками, принятыми НКДАР в 1982—1994 г. (табл.2), суммарная величина генетического риска стала больше. В первом поколении с учетом мультифакториальных болезней и врожденных анома-

лий (ранее не учитываемых) она увеличилась в 1.8—2.8 раза, во втором — в 2.5—4.0. Более высокий риск во втором поколении ожидается в основном за счет роста аутомомных доминантных и сцепленных с X-хромосомой болезней. Возможно, при хроническом облучении человека в третьем и последующих поколениях генетический риск увеличится в первую очередь из-за мультифакториальных болезней.

Важно отметить, что сторонники модели мышь—мышь, свыше 20 лет успешно применявшие ее для оценки генетического риска, отнюдь не считают, что их подход себя исчерпал. Они полагают, что основные трудности, возникшие в связи с использованием материалов по спонтанному мутагенезу у мышей для оценки риска облучения человека, можно преодолеть. Так, П.Б.Селби [10], базируясь на обширных данных по спонтанному и индуцированному мутагенезу в семи локусах мыши с учетом кластеров, оценил удваивающую дозу по модели мышь—мышь в 5 Гр. Оценка риска, рассчитанная на основе этих данных, оказа-

лась в пять раз ниже по сравнению с величиной, которая следует из модели человек—мышь.

Таким образом, к настоящему времени оценки генетического риска, использующие две указанные модели, существенно расходятся. Налицо концептуальный кризис, который в ближайшее время должен быть разрешен в научных дискуссиях. ■

Литература

1. *McKusick V.A.* Mendelian Inheritance in Man. Baltimore, 1994.
2. *Carter C.O.* // J. Med. Genet. 1977. V.14. P.316—320.
3. *Czeizel A.* // Acta Paediat Acad. Sci. Hungarica. 1978. №19. P.149—156.
4. Sources, Effects and Risk of Ionizing Radiation. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation, 1988. Report to the General Assembly. N.Y., 1988.
5. *Lyon M.F., Morris T.* // Mutat. Res. 1969. V.8. P.191—198.
6. *Neel J.V., Lewis S.E.* // Annu. Rev. Genet. 1990. V.24. P.327—362.
7. The Effects on Populations of Exposure to Low Levels of Ionizing Radiation. Committee on the Biological Effects of Ionizing Radiations (BEIR Report). United States Government printing Office, 1972.
8. *Shevchenko V.A.* Assessment of genetic risk from exposure of human population to radiation // Consequence of the Chernobyl Catastrophe: Human Health, 1996. V.1. P.46—61.
9. *Sankaranarayanan K.* // Радиационная биол. и радиоэкол. 2000. Т.40. №5. С.621—626.
10. *Selby P.B.* // Genetica. 1998. V.102—103. P.445—462.