

Познавательный журнал для хороших людей

НАУКА

из первых рук

www.scfn.ru

1⁽⁵⁵⁾
● 2014

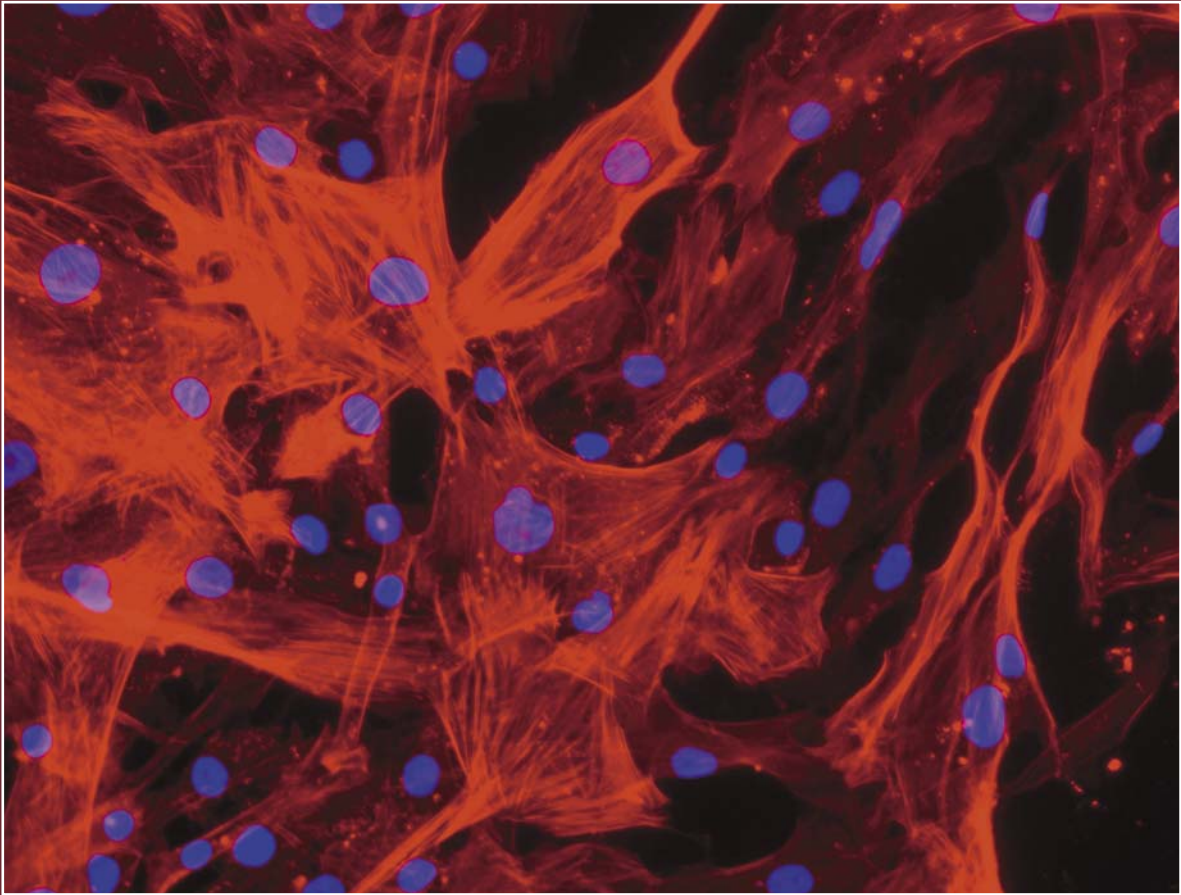
СОН
«ПРОМЫВАЕТ»
МОЗГИ

КОМПЛЕМЕНТАРНЫЕ
ЗДОРОВЬЮ

ЗАРАЖАЙ
И ВЛАСТВУЙ

МАТЕРИНСКАЯ
ДЕПРЕССИЯ

*Попасть
в ДЕСЯТКУ*



Клетки гладкой мускулатуры, выделенные из кардиальных эксплантов человека. Иммунофлуоресцентное окрашивание антителами к специфическим маркерам. Фото А. И. Шевченко, И. С. Захаровой

Симпозиум «Новейшие методы клеточных технологий в медицине», 2—6 сентября 2014 г., Новосибирск, Академгородок

Работы последних лет в области клеточной биологии и клеточных технологий заложили основу нового этапа развития клеточной биологии и медицины, и эти работы по праву можно считать революционными. Клеточные технологии являются одним из основных и наиболее динамично развивающихся направлений современной биомедицины и имеют огромный потенциал применения в фармакологии, токсикологии и трансплантологии. При помощи новых клеточных технологий стало возможным подойти к решению ряда, казалось бы, неразрешимых задач клинической медицины, таких как лечение онкопатологии, последствий инсультов и инфарктов, хронических заболеваний нервной системы (болезни Альцгеймера и Паркинсона), сахарного диабета, и других широко распространенных и социально значимых болезней человека.

Новые клеточные технологии позволяют создать более совершенные линии стволовых и индуцированных плюрипотентных клеток, клонировать индивидуальные стволовые клетки человека и исследовать их поведение (in vitro и в организме модельных животных), комплексно используя современные методы клеточной и молекулярной биологии, цитогенетики и иммунологии. Сопоставляя биологические свойства стволовых клеток человека и различных млекопитающих, сегодня можно выбрать адекватную модель для оценки эффективности и безопасности действия применяемых стволовых клеток на организм. Моделируя на животных различные патологические синдромы (инфаркты миокарда, травмы спинного или головного мозга, болезни Альцгеймера или Паркинсона, сахарный диабет и др.), можно провести доклиническое испытание стволовых клеток, т. е. объективно оценить их терапевтический эффект. Настоящая революция в создании моделей заболеваний произошла с появлением технологий получения, культивирования и направленной дифференцировки плюрипотентных клеток человека



Информационный сайт симпозиума:
<http://celltech2014.niboch.nsc.ru>

На первой странице обложки:

Нейроны и их длинные окончания (аксоны) трансгенной лабораторной мыши, созданной с использованием технологии BrainBow, «раскрашены» различной комбинацией флуоресцирующих белков.

На задней странице обложки:

Пирамидальные нейроны (главные возбуждающие мозговые клетки) в гиппокампе, характерной формы и с длинными разветвленными отростками (дендритами) окрашены в свой уникальный цвет.

Credit: Livet, Weissman, Sanes, and Lichtman, Harvard University

1. 2014
научно-популярный журнал



НАУКА

из первых рук



В НОМЕРЕ:

С помощью олигонуклеотидов – биологически активных веществ, направленных непосредственно на гены-мишени, можно подавлять в клетках размножение бактерий и вирусов, а также рост опухолей

Послеродовая депрессия, от которой страдает почти каждая пятая молодая мать, вызвана сбоями в работе нейрохимических систем мозга, в том числе нарушениями секреции «гормона удовольствия» дофамина

В ходе экспедиций на труднодоступный Баргузинский хребет в Прибайкалье иркутские географы исследовали уникальные ледники, само существование которых до недавних пор подвергалось сомнению

Познавательный журнал
для хороших людей

Редакционная коллегия

главный редактор
акад. Н. Л. Добрецов

заместитель главного редактора
чл.-кор. В. И. Бухтияров

заместитель главного редактора
акад. В. В. Власов

заместитель главного редактора
чл.-кор. Н. В. Полосьмак

заместитель главного редактора
акад. В. Ф. Шабанов

ответственный секретарь
Л. М. Панфилова

акад. И. В. Бычков

акад. М. А. Грачев

акад. А. П. Деревянко

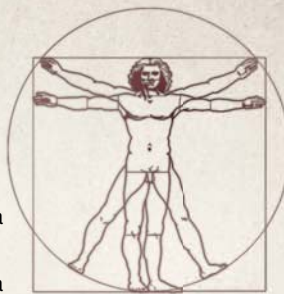
чл.-кор. А. В. Латышев

к. ф.-м. н. Н. Г. Никулин

акад. Н. П. Похиленко

д. ф.-м. н. М. П. Федорук

акад. М. И. Эпов



«Естественное желание хороших
людей – добывать знание»

Леонардо да Винчи

Периодический научно-популярный журнал

Издается с января 2004 года

Периодичность: 6 номеров в год

Учредители:

Сибирское отделение Российской
академии наук (СО РАН)

Институт физики полупроводников
им. А. В. Ржанова СО РАН

Институт археологии и этнографии
СО РАН

Лимнологический институт СО РАН

Институт геологии и минералогии
им. В. С. Соболева СО РАН

Институт химической биологии
и фундаментальной медицины СО РАН

Институт нефтегазовой геологии
и геофизики им. А. А. Трофимука СО РАН

ООО «ИНФОЛИО»

Издатель: ООО «ИНФОЛИО»

Адрес редакции и издателя:
630090, Новосибирск,
ул. Золотодолинская, 11
Тел.: +7 (383) 330-27-22, 330-21-77
Факс: +7 (383) 330-26-67
e-mail: zakaz@infolio-press.ru
e-mail: editor@infolio-press.ru

www.ScienceFirstHand.ru

Журнал зарегистрирован
в Федеральной службе по надзору
в сфере связи, информационных
технологий и массовых коммуникаций
(Роскомнадзор)

Свидетельство ПИ № ФС77-37577
от 25 сентября 2009 г.

ISSN 1810-3960

Тираж 1000 экз.

Отпечатано в типографии
ООО «ИД „Вояж“» (Новосибирск)

Дата выхода в свет 19.05.2014

Свободная цена

Перепечатка материалов только
с письменного разрешения редакции

© Сибирское отделение РАН, 2014

© ООО «ИНФОЛИО», 2014

© Институт физики полупроводников
им. А. В. Ржанова СО РАН

© Институт археологии и этнографии
СО РАН

© Лимнологический институт СО РАН

© Институт геологии и минералогии
им. В. С. Соболева СО РАН

© Институт химической биологии
и фундаментальной медицины СО РАН

© Институт нефтегазовой геологии
и геофизики им. А. А. Трофимука СО РАН

Дорогие друзья!

Открытие материальных основ наследственности и изменчивости организмов в середине XX в. предопределило поистине революционное развитие биологии и медицины в последующие десятилетия: ученые получили возможность не только модифицировать уже существующую жизнь, но и в прямом смысле создавать новую.

Достижения в молекулярной биологии, генной инженерии и биомедицине вызвали огромный общественный резонанс, поскольку в отличие от успехов в теоретической физике они напрямую затрагивали жизненные интересы каждого человека. Особую актуальность эти научные направления приобрели в новом веке в связи с быстрым ростом населения планеты и увеличением продолжительности жизни на фоне ухудшения экологических условий среды. Недаром, по недавним опросам ВЦИОМа, 44% россиян посчитали именно медицину наиболее интересной областью научного знания.

Зеркалом современных приоритетов может служить список выдающихся достижений года, который традиционно составляют эксперты «Science», – одного из самых авторитетных научных журналов в мире. Из десяти лучших работ 2013 г. восемь относятся к наукам о жизни, причем большинство из них имеет безусловную биомедицинскую направленность. Иммуноterapia рака, искусственные органы, выращенные «в пробирке», клонирование человеческого эмбриона, возможность «редактирования» мутантных генов непосредственно в живых клетках, переоценка значимости «микробного» органа человека – все эти открытия могут радикально улучшить здоровье, продолжительность и качество жизни.

Судя по опубликованным в новом выпуске журнала комментариям, сибирские исследователи тоже активно работают в этих актуальных научных областях. Например, в Новосибирске уже подготовлены к клиническим испытаниям клеточные вакцины на основе иммунных клеток, направленные против нескольких видов злокачественных опухолей, в том числе рака груди. Технологии «редактирования» генома активно используются для создания клеточных моделей нейродегенеративных и сердечно-сосудистых заболеваний человека, необходимых для поиска новых способов лекарственной и генной терапии. Заметные успехи достигнуты и в работе со стволовыми клетками, в которых видят будущее регенеративной медицины: разработаны технологии создания хрящевой ткани из стволовых клеток, получаемых из собственных соматических клеток пациента, а также тканеинженерных трансплантатов кровеносных сосудов.

Отметим, что в свое время именно Сибирь стала «колыбелью» принципиально нового направления в молекулярной биологии и фармакологии, связанного с созданием биологически активных веществ, направленных на генетические мишени – ДНК и РНК. Идею, которую реализовала в начале 1960-х гг. группа химиков и биологов под руководством Д. Г. Кнорре, состояла в использовании олигонуклеотидов – фрагментов нуклеиновых кислот, способных специфически связываться с комплементар-



ными им нуклеотидными цепочками. С помощью таких «антисмысловых» препаратов оказалось возможным не только распознавать и блокировать «ненужные» гены, принадлежащие вирусам, бактериям или опухолевым клеткам, но и вносить в генетические программы «правильные» точечные мутации.

В наши дни разработкой и синтезом олигонуклеотидов и их модифицированных аналогов занимается большой исследовательский и индустриальный сектор экономики. Созданные на их основе противовирусные и противовоспалительные препараты проходят клинические испытания, а некоторые уже используются в медицинской практике, в том числе «на родине» антисмысловых технологий ведутся разработки препаратов, эффективно блокирующих гены, отвечающие за лекарственную устойчивость раковых клеток и бактериальных патогенов.

Этот новый виток в развитии антисмысловых технологий был инициирован взрывным развитием новых исследовательских методов, которые совершенно преобразили и такие традиционные области, как география и геология, позволяя «держат руку на пульсе» труднодоступных и опасных природных макрообъектов. Так, с помощью дистанционных средств наблюдения иркутским геологам удалось предвзительно получить точные цифровые модели рельефа уникальных ледников Прибайкалья, открытых затем в ходе наземных экспедиций. А с помощью данных сейсмической томографии сибирские исследователи планируют заглянуть внутрь камчатского вулкана Горелый, чтобы получить сведения о функционировании магматической системы и оценить возможность ее активизации в будущем.

Еще в первой половине прошлого века академик В. И. Вернадский полемизировал с мнением, что «естественные науки подняли силу человека, дали ему какую-то неведомую мощь». По его мнению, «они, скорее, низвели природу до человека, дали возможность предугадывать <...> что по должном расследовании она будет того же порядка, как и природа человека». И сегодня мы можем согласиться со словами великого естествоиспытателя, уточнив только, что современная наука невообразимо расширила как границы окружающего мира, так и понимание человеческой природы.

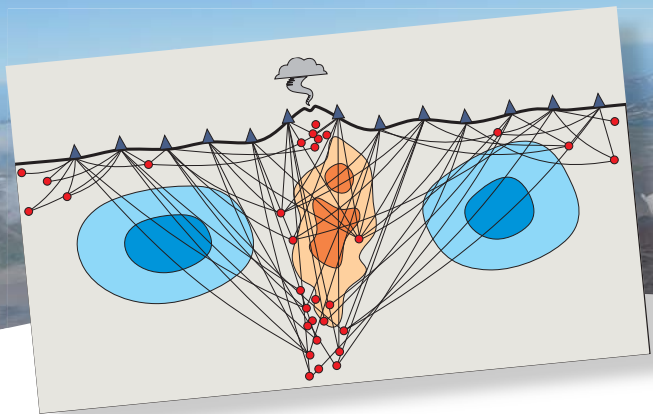
Академик Н. Л. Добрецов,
главный редактор

Редакционный совет

акад. Л. И. Афтанас
чл.-кор. Б. В. Базаров
чл.-кор. Е. Г. Бережко
акад. В. В. Болдырев
акад. А. Г. Дегерменджи
д. м. н. М. И. Душкин
проф. Э. Краузе (Германия)
акад. Н. А. Колчанов
акад. А. Э. Конторович
акад. М. И. Кузьмин
акад. Г. Н. Кулипанов
д. ф.-м. н. С. С. Кутателадзе
проф. Я. Липковски (Польша)
акад. Н. З. Ляхов
акад. Б. Г. Михайленко
акад. В. И. Молодин
д. б. н. М. П. Мошкин
чл.-кор. С. В. Нетесов
д. х. н. А. К. Петров
проф. В. Сойфер (США)
чл.-кор. А. М. Федотов
д. ф.-м. н. М. В. Фокин
д. т. н. А. М. Харитонов
акад. А. М. Шалагин
акад. В. К. Шумный
д. и. н. А. Х. Элерт

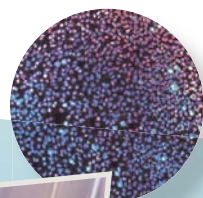
Над номером работали

Л. Беляева
А. Владимирова
С. Коротаев
Л. Овчинникова
Л. Панфилова
М. Перепечаева
Е. Сычева
А. Харкевич



Среди наиболее перспективных эффективных и **БЕЗОПАСНЫХ** средств **ТЕРАПИИ РАКА** – лечебные клеточные **ВАКЦИНЫ**, созданные на основе иммунных клеток самого пациента. **С. 6**

Роль «**ГАЛАКТИЧЕСКОГО УСКОРИТЕЛЯ**», разгоняющего космические лучи до **СВЕРХВЫСОКИХ** скоростей, играют оболочки взорвавшихся **СВЕРХНОВЫХ ЗВЕЗД**. **С. 24**



.01

НОВОСТИ НАУКИ

- 6 **В. А. Козлов**
Иммунотерапия рака, или как обучить иммунитет команде «фас!»
- 10 **С. П. Медведев**
Как отредактировать наследственность
- 14 **М. П. Мошкин**
Кристалльно прозрачная мысль
- 16 **Е. А. Васькова, Е. В. Дементьева**
Клонировать эмбрион человека помог... кофеин
- 19 **А. И. Шевченко, И. С. Захарова**
Органы «из пробирки»
- 24 **В. Е. Блинов**
Галактический ускоритель
- 30 **К. В. Даниленко**
Сон «промывает» мозги
- 32 **В. В. Власов**
Микробный «орган» человека
- 34 **М. П. Мошкин**
Незримый кукловод
- 36 **С. В. Нетесов**
Вакцина от РСВ-инфекции

Около **1—2%** массы человеческого тела составляют сообщество **МИКРОБОВ-СОЖИТЕЛЕЙ**: по его составу, как по отпечаткам пальца, можно идентифицировать конкретного человека. **С. 32**

Патогенный штамм бактерии **ВОЛЬБАХИИ** – внутриклеточного симбионта насекомых, может использоваться как «**БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОРУЖИЕ**» против **ШЕСТИНОГИХ** переносчиков опасных заболеваний человека. **С. 60**

.02

ЧЕЛОВЕК

- 38 **В. В. Власов, Д. В. Пышный, М. А. Зенкова, П. Е. Воробьев**
Комплементарные здоровью. Прошлое, настоящее и будущее антисмысловых технологий
- 50 **В. А. Дубынин, К. К. Танаева**
Материнская депрессия: когда счастье не в радость

.03

ГИПОТЕЗЫ И ФАКТЫ

- 60 **М. В. Жукова, А. А. Струнов, Д. А. Малькеева, Е. В. Киселева**
Заражай и властвуй!

.04

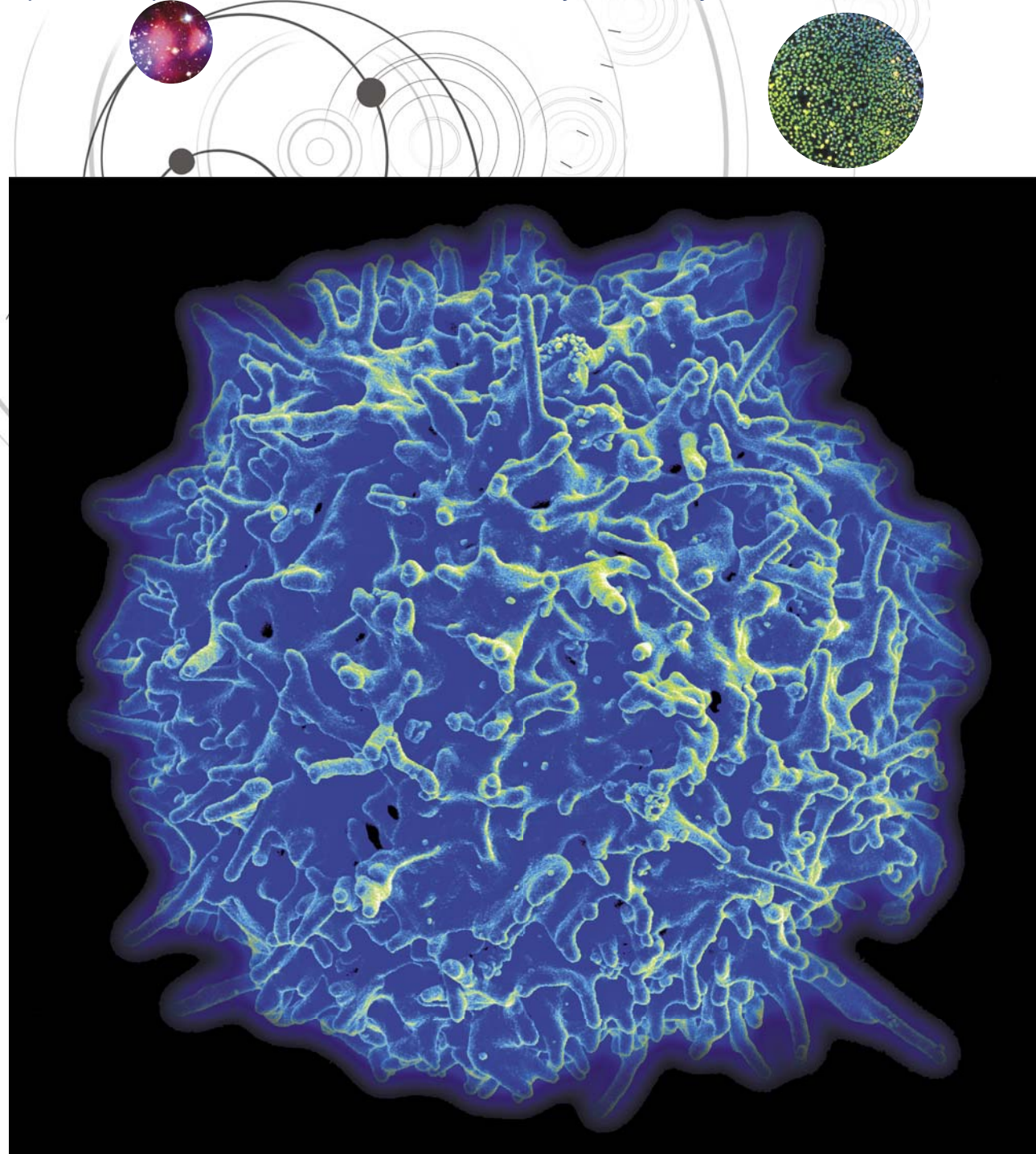
ЭНЦИКЛОПЕДИЯ ЭКСПЕДИЦИЙ

- 70 **А. Д. Китов**
Урёл-Амутис и Акули – «новые» ледники Прибайкалья
- 84 **И. Ю. Кулаков**
Сейсмический «пульс» вулкана. Экспедиция на вулкан Горелый



ПОПАСТЬ

Журнал «Science» публикует в декабре список из десяти научных прорывов ушедшего года. Авторитетные отечественные ученые, уже традиционно, комментируют на страницах нашего журнала эти достижения, одновременно знакомя читателей с работами российских исследователей в актуальных научных областях



В ДЕСЯТКУ

Иммунотерапия рака, или как обучить иммунитет команде «фас!»

Главным научным прорывом прошлого года журнал «Science» закономерно посчитал результаты клинических испытаний, подтвердившие эффективность метода иммунотерапии для лечения рака. Иммунные вакцины на основе специфических антител к опухолям сегодня активно разрабатываются и успешно внедряются в медицинскую практику по крайней мере пятью фармацевтическими компаниями. Примером таких препаратов служит ипилимумаб, синтетический аналог белков иммунной системы – моноклональных антител, предназначенный для лечения меланомы, одного из наиболее агрессивных видов рака. Благодаря таким препаратам обреченные ранее пациенты обретают надежду на продление срока жизни и улучшение ее качества



КОЗЛОВ Владимир Александрович – академик РАН, профессор, доктор медицинских наук, директор Института клинической иммунологии СО РАМН (Новосибирск) и заведующий лабораторией клинической иммунопатологии этого института. Автор и соавтор свыше 1200 научных работ и 48 патентов

В конце прошлого века американские футурологи от науки предсказывали, что 2007 г. станет годом победы над раком. Как мы знаем, эти прогнозы не сбылись – по крайней мере, полной победы добиться пока не удалось. Однако «бои местного значения» выигрываются все чаще. И последние достижения онкоиммунологии уже определили основную стратегическую линию борьбы с раком, которая должна увенчаться успехом. Все исследования в этом направлении базируются на главенствующей роли иммунной системы в борьбе с опухолевой клеткой, которую ведет сам организм.

Как известно, в процессе индивидуального развития организма в органах и тканях постоянно возникают десятки и сотни раковых клеток, однако обычно иммунная система с ее клеточными составляющими (Т- и В-лимфоцитами, макрофагами и дендритными клетками) с ними успешно справляется. Согласно одному из главных положений онкоиммунологии, причиной развития опухоли служит падение функциональной активности иммунной системы в результате действия на организм каких-либо физических или химических факторов или достаточно сильных стрессовых воздействий.

Нужно добавить, что процесс старения сам по себе сопровождается постепенным снижением уровня функционирования иммунной системы, частота же возникновения опухолей, соответственно, при этом возрастает. Недаром среди врачей существует мнение, что рак – это заболевание пожилых и старых людей. Хотя сейчас имеется много свидетельств того, что рак «помолодел», но это уже другая проблема.

Ключевые слова: иммунитет, стволовые клетки, профилактическая вакцина от рака.

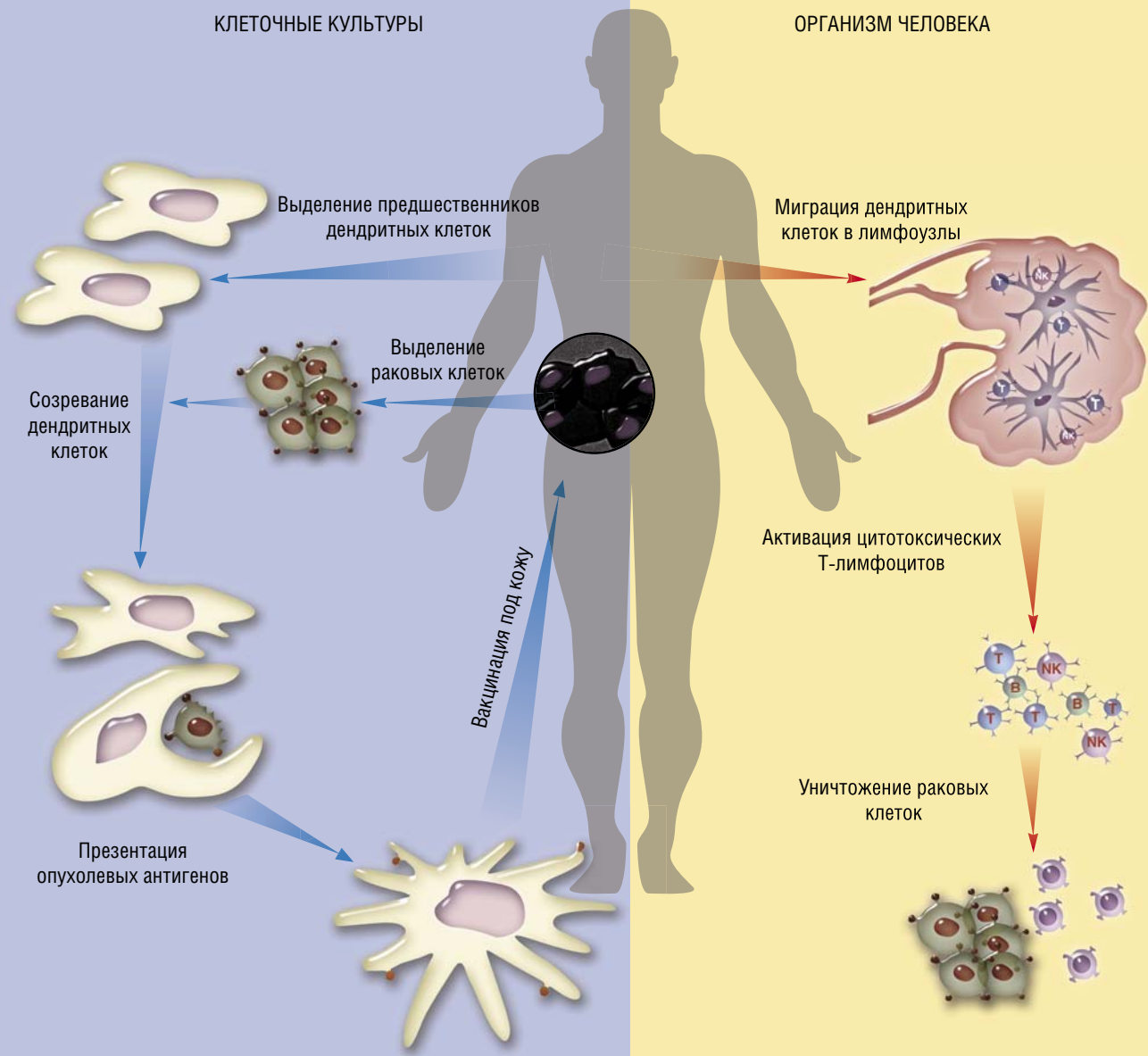
Key words: Immunity, stem cells, immunoprophylactic cancer vaccine

Слева – человеческий Т-лимфоцит – одна из важнейших составляющих нового иммунного оружия против раковых клеток.

Растровая микроскопия.

Credit: National Institute of Allergy and Infectious Diseases, USA

© В.А. Козлов, 2014



Создание клеточных вакцин для иммунотерапии рака для конкретного больного включает в себя ряд этапов. Например, для создания вакцины на основе дендритных иммунных клеток сначала из крови пациента с помощью специальных методов выделяют клетки-предшественники, которые затем выращивают в культуре. К созревающим дендритным клеткам добавляют структуры опухоли-мишени, полученные генно-инженерным методом, либо «обломки» опухоли самого пациента. Незрелая клетка-предшественник захватывает и трансформирует опухолевые структуры, превращаясь в конце концов в зрелую дендритную клетку, несущую на поверхности сигнальные структуры опухоли. Это и есть клеточная вакцина. После введения ее в организм дендритные клетки перемещаются в лимфоузлы, где активируют цитотоксические Т-лимфоциты. Последние, перемещаясь с током крови по всему организму, находят и уничтожают клетки опухоли, несущие сигнальные признаки

Главная задача терапевтических вакцин, которые вводят пациенту не для профилактики, а для лечения уже имеющегося заболевания, – обучить иммунную систему распознавать и уничтожать врага. Метод иммунотерапии рака предполагает натравливание иммунной системы организма на свои же злокачественно перерожденные клетки, которые начинают генетически меняться и бесконтрольно делиться, угрожая всему организму

С другой стороны, раковая клетка – далеко не пассивный наблюдатель своего убийства: она может активно и успешно сопротивляться, оказывая мощное негативное влияние на противоопухолевую активность клеток иммунной системы.

Дело в том, что эта система буквально «нафарширована» особыми регуляторными клетками (клетками-супрессорами): известно около двадцати разных клеточных популяций и субпопуляций. Функция этих клеток заключается в подавлении активно работающих клеток иммунной системы. Эта функция очень важна, так как она модулирует иммунный ответ, который не должен превышать уровень, необходимый для борьбы с патогенным агентом, одновременно защищая собственные здоровые клетки организма от нападения на них иммунных клеток и, соответственно, от возникновения аутоиммунных заболеваний.

Опухолевая клетка обращает такое положение вещей в свою пользу. Она продуцирует ряд регуляторных молекул, которые активируют клетки-супрессоры, а они, в свою очередь, подавляют функцию иммунных клеток-убийц, нацеленных на опухоли.

Раковая клетка может действовать на иммунную систему и напрямую – через определенные рецепторы на лимфоцитах (поверхностный рецептор CTLA-4 у лимфоцитов и «рецептор смерти» PD-1 – у В-лимфоцитов), которые в норме активируются раковыми антигенами. Именно такие лимфоциты становятся способными «охотиться» на раковые клетки и уничтожать их. Но если с рецепторами лимфоцитов будут связываться продуцируемые опухолью особые молекулы-агонисты («имитаторы»), то размножение лимфоцитов-убийц приостановится.

Вот здесь и нужны высокоспецифические субстанции, которые не должны допускать развития сценария, благоприятного для опухоли. Такими субстанциями являются белки-антитела к рецепторам лимфоцитов CTLA-4 и PD-1. Соединяясь с этими рецепторами, антитела перекрывают доступ к ним опухолевых молекул-агонистов. В результате пролиферация лимфоцитов не блокируется, и они могут спокойно размножаться и увеличивать свою численность до количества, необходимого для расправы над опухолью. И, конечно, суммарная терапевтическая эффективность обоих антител будет выше, чем каждого в отдельности.

Принцип создания подобных *антительных вакцин* довольно прост: точно таким же способом создавал более века тому назад свои специфические вакцины против микробов и вирусов великий Пастер. Однако для разработки соответствующей противораковой терапии понадобились годы, которые ушли на изучение сложнейших молекулярных механизмов, лежащих в основе взаимодействия различных биомолекул в процессе роста опухоли.

Первая антительная вакцина «ипилимуаб», предназначенная для лечения меланомы, появилась на рынке еще в марте 2011 г. К осени 2013 г. уже 1,8 тыс. больных меланомой принимали препарат, и для четверти из них зафиксирована 3-летняя выживаемость. Клинические исследования анти-PD-1 терапии стартовали в 2012 г. Положительная динамика наблюдается у 20–25% пациентов с меланомой, раком почек и легких. В июне 2013 г. исследователи из Йельского университета сообщили, что совместное применение ипилимуаба и анти-PD-1 привело к глубокой и быстрой регрессии опухоли у почти трети пациентов с меланомой

Следующий уровень иммунной противораковой терапии связан с так называемыми *клеточными вакцинами*, появившимися в последние годы. В этих вакцинах вместо антител «работают» иммунные клетки.

Технология создания клеточных вакцин родилась также благодаря успехам в области теоретической и экспериментальной иммунологии, где были получены фундаментальные знания о кооперативных взаимодействиях клеток, участвующих в любом иммунном ответе. В результате появилась возможность выделять отдельные популяции клеток иммунной системы, накапливать их в необходимом количестве вне организма и «настраивать» на работу против носителя определенного антигена, включая клетку конкретной опухоли.

Если такие «дрессированные» клетки ввести обратно в организм, они будут убивать клетки той опухоли, с которыми их «познакомили» в условиях «пробирки». Пул таких клеток и называют клеточной вакциной. Для их получения в настоящее время используют практически все клетки иммунной системы.

В Институте клинической иммунологии СО РАМН (Новосибирск) в течение многих лет работают над созданием клеточных вакцин на основе дендритных клеток, которые направлены против нескольких видов злокачественных опухолей, включая рак груди. Эти вакцины уже готовы к клиническим испытаниям. Подобными исследованиями в нашей стране занимаются также в научно-исследовательских институтах Москвы и Санкт-Петербурга.

Хотя вся эта работа ведется в русле мировых тенденций, отечественные ученые, в частности сибирские, испытывают недостаток финансирования, что отражается на масштабе исследований. При этом имеются все основания для создания в Новосибирске на базе НИИКИ СО РАМН Центра клеточной иммунотерапии, который сделал бы доступными для жителей города и области самые современные методы терапии раковых заболеваний.



МЕДВЕДЕВ Сергей Петрович – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Института цитологии и генетики СО РАН и Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск), ведущий научный сотрудник Новосибирского научно-исследовательского института патологии кровообращения им. академика Е. Н. Мешалкина. Автор и соавтор 14 научных работ

Ключевые слова: геном человека, геномная инженерия, система CRISPR/Cas, генные мутации, клеточные модели наследственных заболеваний человека.

Key words: human genome, genomic engineering, CRISPR/Cas system, gene mutations, cell-based model of human hereditary diseases

Как отредактировать наследственность

Второе место в десятке научных прорывов 2013 г., по версии журнала «Science», занял метод редактирования геномов под названием CRISPR/Cas, позволяющий манипулировать хромосомной ДНК прямо в живых клетках. Система CRISPR/Cas состоит из компонентов адаптивной иммунной системы бактерий, адаптированных для работы в клетках высших организмов (эукариот), включая человека. С ее помощью можно не только изучать тяжелые, в том числе наследственные, заболевания, но и создавать модели для разработки новых способов их лекарственной и генной терапии

Еще с начала прошлого века ученые пытались понять принципы наследования признаков, хранения, воспроизведения и передачи генетической информации. И их усилия не пропали даром: постепенно были выяснены роль и функции в этих процессах основных «молекул жизни» – ДНК, РНК и белков. Раскрытие материальных основ наследственности и изменчивости организмов по праву было признано одним из важнейших научных достижений человечества XX в.

Наконец, благодаря усилиям тысяч ученых, были разработаны методы манипуляции с молекулами нуклеиновых кислот – носителей наследственной информации. Были открыты *эндонуклеазы рестрикции* (группа ферментов, катализирующих реакцию гидролиза нуклеиновых кислот) и разработаны методы клонирования ДНК. Все эти открытия привели к формированию новой науки – *генетической инженерии*.

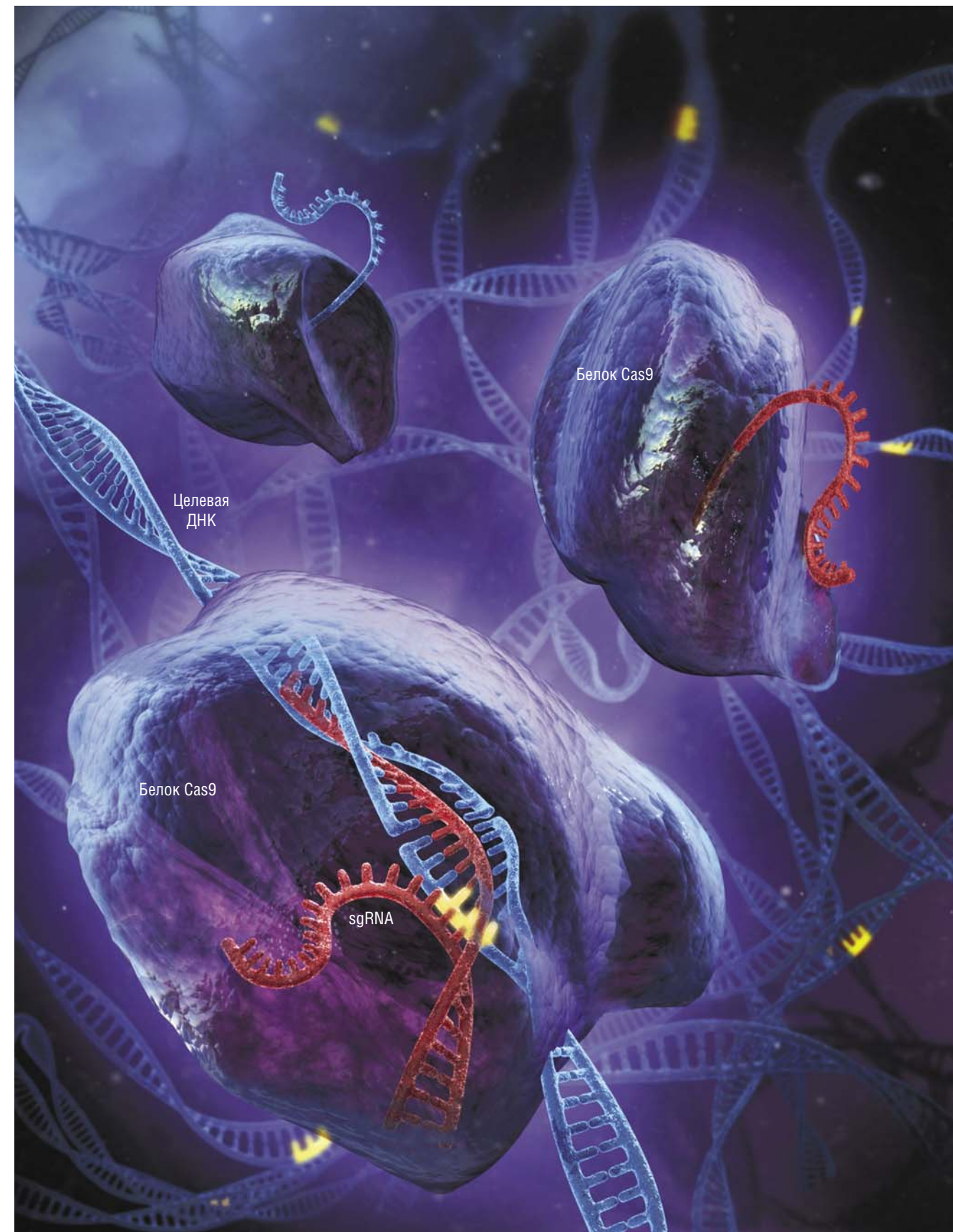
Рубеж между прошлым и нынешним веком был отмечен еще одним важнейшим событием – завершением международного проекта «Геном человека», основной целью которого была расшифровка (определение нуклеотидной последовательности) ДНК всего генома человека. Критики этого проекта утверждали, что его осуществление – пустая трата огромных денежных и людских ресурсов, которая породит больше вопросов, чем ответов. Однако если сейчас трезво взглянуть на результаты этого проекта, то станет очевидно, что он внес неоценимый вклад в развитие современной, в том числе персонализированной, медицины.

В результате его реализации стало возможным раскрытие молекулярных механизмов тысяч наследственных заболеваний, развитие которых связано с конкретными *мутациями* – вариантами последовательности ДНК различных генов. Сегодня уже ни для кого не секрет, что и предрасположенность к возникновению многих тяжелых и распространенных болезней, таких как рак, сахарный диабет и гипертония, также определяется генетически. И проект «Геном человека», безусловно, создал основу для лучшего понимания подобных явлений.

При редактировании генома с помощью системы CRISPR/Cas9 маленькая «руководящая» молекула РНК (sgRNA) направляет белок-фермент Cas9 к целевой последовательности ДНК, комплементарно соединяясь с нужным участком (справа).

Credit: Prof. Feng Zhang, Broad Institute & Massachusetts Institute of Technology

© С. П. Медведев, 2014



Таким образом, к началу XXI в. человечество подошло с огромным багажом знаний о геноме человека и многих других организмов, а также с набором различных методов для его исследования. Казалось бы, чего еще желать? Конечно же, научиться легко и эффективно манипулировать геномами в живых клетках и организмах! Но не является ли это вполне естественное желание лишь очередным капризом ученых?

Все мы знаем, что такое хирургия. Очень упрощенно суть этого медицинского направления заключается в инструментальном удалении больного органа или его части. В случае же трансплантационной хирургии удаленный орган заменяют другим, здоровым. А теперь представьте себе, что аналогичную операцию можно провести на геноме: вырезать «большую» часть молекулы, содержащую мутацию, и заменить ее «здоровой»! Задача, безусловно, более чем актуальная и жизненно важная. Однако для ее решения необходимы соответствующие инструменты. Если хирург пользуется скальпелем или лазером, то для исследователя, который производит операцию на молекуле ДНК, требуются молекулы-инструменты, соответствующие ей по размерам и обладающие высокой точностью.

Одним из таких инструментов, позволяющим манипулировать ДНК в составе хромосом в живых клетках, стала система *CRISPR/Cas*. Справедливости ради нужно сказать, что подобные инструменты уже были разработаны ранее. Среди них – искусственные ферменты нуклеазы, содержащие специальные ДНК-связывающие домены («цинковые пальцы»); химерные нуклеазы *TALENs* – искусственные ферменты, способные связываться практически с любой последовательностью гена и изменять ее. Однако явными преимуществами системы *CRISPR/Cas* являются простота создания, легкость использования и высокая эффективность действия.

В основу *CRISPR/Cas* легла защитная система бактерий, своего рода приобретенный иммунитет, позволяющий им эффективно противостоять вирусам-бактериофагам.

Открытие иммунитета у бактерий началось с обнаружения в бактериальном геноме в 1980-х гг. странных участков ДНК, содержащих множественные одинаковые *палиндромные повторы* (повторяющиеся некодирующие нуклеотидные последовательности), разделенные неодинаковыми и притом уникальными для каждого штамма бактерий участками – *спейсерами*. Эти участки ДНК и были названы *CRISPR* или *CRISPR-кассета* (от *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats* – короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами).

Результатом *транскрипции* (считывания информации с *CRISPR-касеты*) оказываются короткие некодирующие РНК (*crRNA*), состоящие из спейсера и части палиндромного повторяющегося участка.

Для функционирования системы необходима еще одна некодирующая РНК – *tracrRNA*. В непосредственной близости от большинства *CRISPR* находятся также гены, кодирующие белки *Cas* – ферменты-нуклеазы, способные разрезать нить ДНК.

Для чего все эти молекулы нужны бактериям, выяснилось только около десяти лет назад, когда было сделано открытие, что нуклеотидная последовательность спейсеров в составе *CRISPR-касеты* у определенной бактерии комплементарна последовательностям геномов вирусов, которые поражают бактерии этого штамма. При поиске механизма данного явления выяснилось, что в случае проникновения вируса его ДНК может *рекомбинировать* (обмениваться участками) с нуклеотидной последовательностью *CRISPR-касеты*. В результате с последней могут нарабатываться *crRNA*, способные специфически распознавать ДНК именно этого конкретного вируса. В случае повторной вирусной инфекции *crRNA* в комплексе с *tracrRNA* и белками *Cas* начинает взаимодействовать с вирусной ДНК, что в итоге разрушает ее.

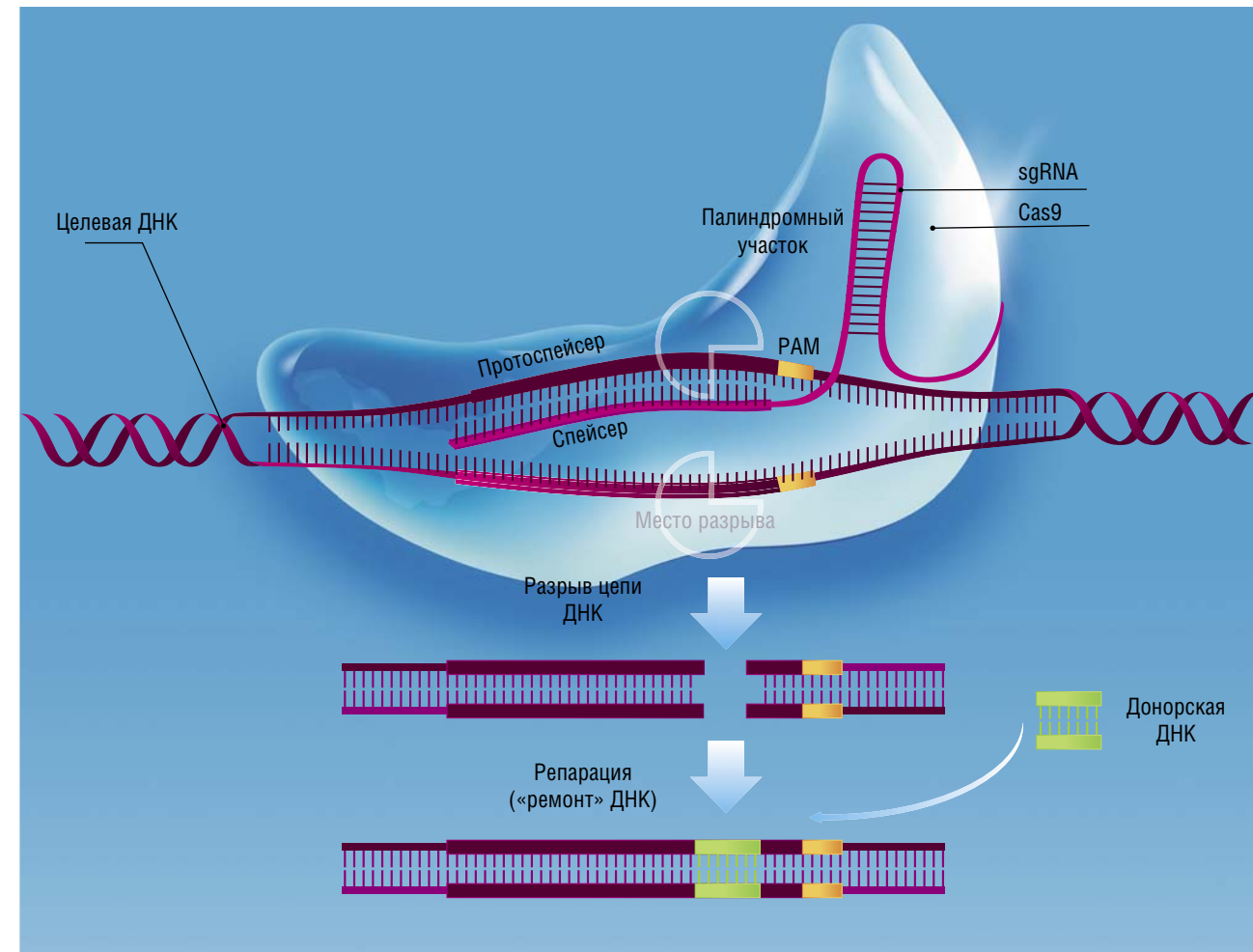
Таким образом, у бактерии формируется «иммунитет» к определенному вирусу, и ее потомки наследуют данное свойство. На основании подобной системы бактерии *Streptococcus pyogenes* были разработаны инструменты для модификации геномов эукариотических клеток высших организмов.

Для этого генные инженеры создали специальные *векторы* (искусственные генетические конструкции), нуклеотидные последовательности которых кодировали *crRNA*, *tracrRNA* и белок *Cas9* (при этом *crRNA* и *tracrRNA* объединили в одну химерную молекулу – *sgRNA*). В определенный участок *sgRNA* поместили короткую последовательность – спейсер, которая может «опознавать» последовательность нужного гена.

Так была создана искусственная система *CRISPR/Cas*, которая на сегодня состоит из двух основных частей: некодирующей РНК (*sgRNA*) и нуклеазы *Cas9*. Использовать ее можно двояким образом. Так, после разрезания целевой молекулы ДНК в нужном месте этот разрыв затем можно «отремонтировать» путем негомологичного сшивания концов, в результате чего образуются небольшие *делеции* (выпадения) или *инсерции* (вставки) нуклеотидов. Таким образом можно «выключать» определенные гены и изучать их функции – этот подход уже прочно занял свое место в функциональной геномике.

Если же совместно с *CRISPR/Cas* в клетку поместить «донорную молекулу» ДНК, то при «ремонт» целевой молекулы в геном может встроиться новый фрагмент. Именно таким способом можно исправлять генные мутации в живых клетках.

В 2013 г. прошел шквал публикаций, посвященных применению системы *CRISPR/Cas* для редактирования



геномов высших организмов, от плодовой мушки и нематоды до мыши и человека. В этих исследованиях решались задачи создания модельных животных, несущих мутации в определенных генах, и клеточных моделей наследственных заболеваний человека, а также исправление этих генетических нарушений.

В настоящее время методы редактирования геномов, такие как *TALENs* и *CRISPR/Cas*, начинают выходить из академических лабораторий и внедряться в медицинскую индустрию. В конце 2013 г. группа ученых, в которую вошли пионеры в области изучения этих систем модификации генома, организовала инновационную фирму «Editas Medicine». Цель нового предприятия – развивать методы геномной инженерии и применять их для создания медицинских продуктов.

Безусловно, лидерами в создании и применении систем редактирования геномов являются ученые из США и Европы. Вдохновленный успехами коллег, коллектив лаборатории эпигенетики развития Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск) активно применяет технологии *TALENs* и *CRISPR/Cas* для создания на основе стволовых клеток человека клеточных моделей нейродегенеративных и сердечно-сосудистых болезней человека (болезни Альцгеймера, бокового амиотрофического склероза, болезни Хантингтона и т. д.). Ученые надеются, что эти работы помогут в поиске новых способов лекарственной и генной терапии тяжелых заболеваний.

Система *CRISPR/Cas* для редактирования генома, аналогична иммунной системе бактерий, направленной на вирусную ДНК. Система состоит из двух основных частей: некодирующей РНК (*sgRNA*) и белков-ферментов нуклеаз *CAS*. *sgRNA* с помощью *Cas*-белков присоединяется к протоспейсеру – комплементарному участку вирусной ДНК (либо, в случае искусственной системы, участку целевого гена эукариотической клетки). В месте посадки спейсера нуклеаза разрезает цепь ДНК. При репарации в место разреза возможно встроить любую донорную молекулу ДНК – таким образом можно исправлять генетические нарушения

Кристалльно прозрачная мысль

Фантастические идеи о создании человека-невидимки наконец-то стали находить себе реальное и строго научное воплощение. Почетное третье место в списке выдающихся научных открытий прошлого года по версии журнала «Science», заняла технология CLARITY (от англ. – ясность, прозрачность) или, как ее еще называют, технология «прозрачного мозга», разработанная в Стэнфордском университете (США). Этот метод позволяет не просто в деталях изучить строение мозга на уровне отдельных нейронов, но и исследовать всю совокупность нейронных связей в масштабе крупных мозговых фрагментов или даже целостного мозга. Не исключено, что уже в недалеком будущем с помощью подобной технологии можно будет изучать и другие органы и структуры, включая такие патологические, как опухоли, а также эмбрионы

Технология «прозрачного мозга» стала венцом современных подходов к изучению нервных процессов. Существующие на сегодня методы исследования организации нервной ткани предполагают либо ее препарирование с получением ряда последовательных микроскопических срезов, либо исследование мозга с помощью магнитно-резонансной томографии, который можно применять на живых организмах. Однако оба этих подхода не позволяют получить полное представление о коннектоме – сложной сети связей между нейронами: в первом случае проблема связана с трудностью реконструкции целостной картины на основе исследования маленьких тканевых фрагментов, во втором – с «низким разрешением» метода, не позволяющим исследовать работу отдельных нейронов.

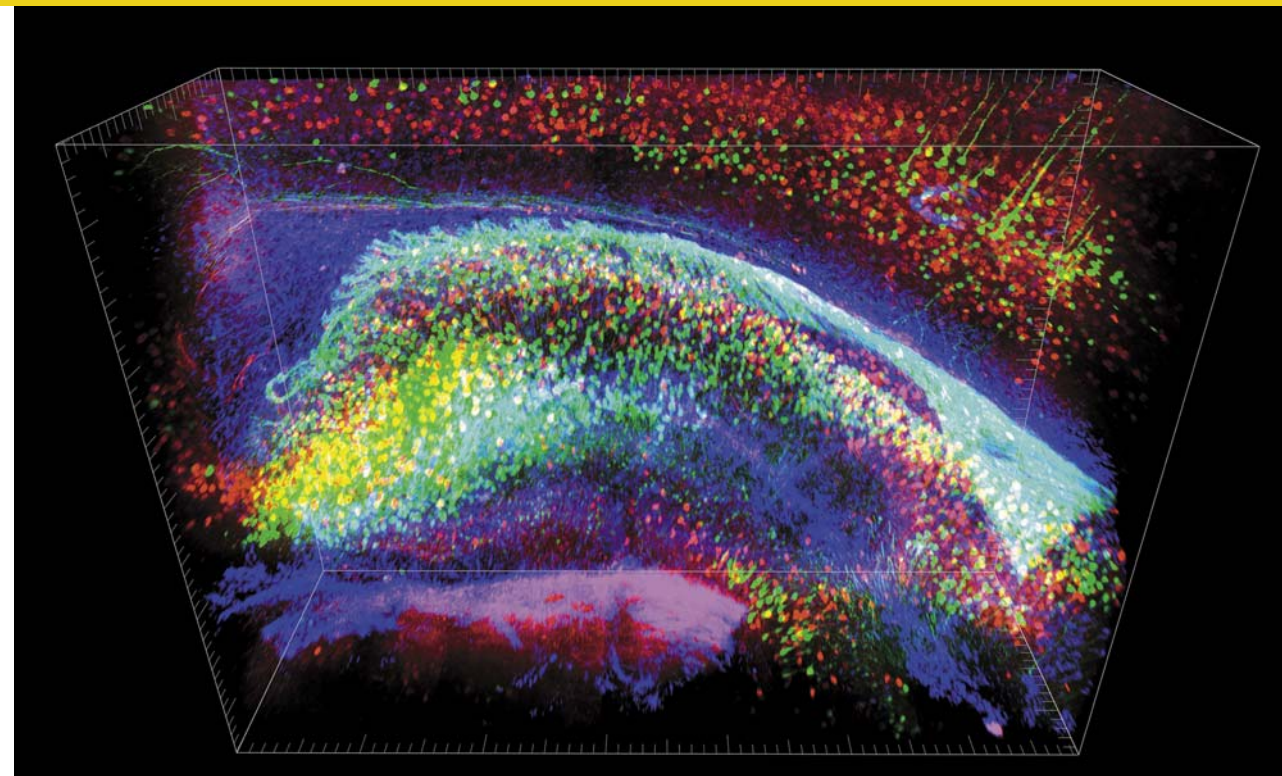


МОШКИН Михаил Павлович – доктор биологических наук, профессор, заведующий отделом генофондов экспериментальных животных, научный руководитель ЦКП «SPF-виварий» Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск). Автор и соавтор более 200 научных работ, в том числе 1 монографии

С помощью технологии CLARITY мозг этой лабораторной мыши удалось сделать прозрачным, удалив из клеточных мембран липиды, рассеивающие свет, и заполнив промежутки прозрачным гелем, формирующим прочную «сетку» (слева). В случае трансгенной мыши, нейроны которой продуцируют зеленые, красные и синие флуоресцентные белки, удалось получить поразительное детальное трехмерное структурное изображение гиппокампа, одного из отделов головного мозга (вверху справа).
Credit: Kwanghun Chung and Karl Deisseroth/Howard Hughes Medical Institute/Stanford University

Ключевые слова: исследования нервной ткани, CLARITY, флуоресцентные красители.
Key words: nerve tissue research, CLARITY, fluorescent dye

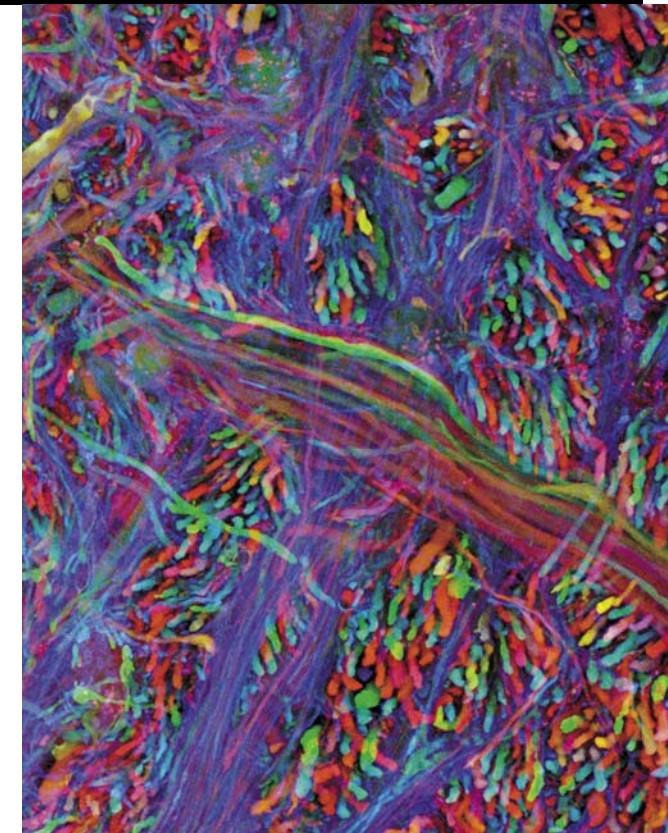
© М. П. Мошкин, 2014



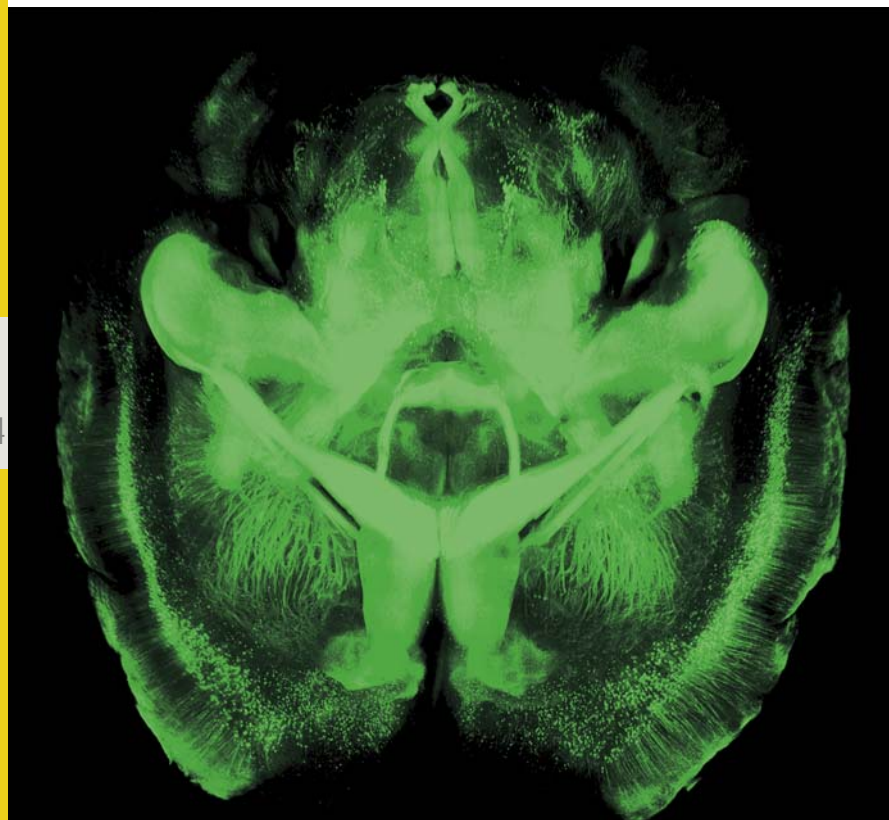
Принципиально новая технология исследования нервной ткани CLARITY основана на удалении из мозга непрозрачных липидов клеточных мембран и замещении их прозрачным гидрогелем. Для этого образец нервной ткани заполняется акриламидом, который при нагревании полимеризуется, образуя аналог клеточной мембраны, прочно удерживающий содержимое клетки после растворения липидов.

Новый метод уже успешно опробован на целом мозге лабораторных мышей, а также на небольшом (0,5 мм в ширину) фрагменте человеческого мозга, нейроны которого окружены более толстыми липидными мембранами, чем мышиные.

Многие нейрофизиологи убеждены, что именно коннектом определяет нашу личность, однако на человеке проводить подобные исследования проблематично. В этом смысле невероятные перспективы будет иметь совместное применение метода CLARITY и BrainBow – технологии получения трансгенных мышей, у которых нервные клетки запрограммированы производить определенные комбинации флуоресцентных белков в зависимости от типа нейронов. Поскольку при технологии «прозрачного мозга» потеря клеточных белков не превышает 8% (в пять раз меньше, чем при обычных методах), у исследователей появилась небывалая возможность для детального анализа нервных связей в мозге конкретной генетической линии мышей, выросших в заданных условиях внешней среды.



Нейроны и их длинные окончания (аксоны) трансгенной лабораторной мыши, созданной с использованием технологии BrainBow, «раскрашены» различной комбинацией флуоресцирующих белков.
Credit: Livet, Weissman, Sanes, and Lichtman, Harvard University



Клонировать эмбрион человека помог... кофеин

Стволовые клетки представляют собой уникальный инструмент для изучения патогенеза заболеваний человека, тестирования новых лекарств, а также могут быть использованы в области заместительной клеточной терапии. Особое место среди известных на сегодня типов стволовых клеток человека занимают эмбриональные стволовые клетки. Дело в том, что они обладают плюрипотентностью, т.е. способностью порождать клетки всех тканей организма, что делает их неисчерпаемым источником для использования в клеточных технологиях. Поэтому неудивительно, что четвертое место в десятке самых важных научных результатов 2013 г. журнал «Science» отдал исследованиям по выделению стволовых клеток из человеческого эмбриона, клонированного с помощью техники, которая применялась для создания знаменитой овечки Долли

Получению эмбриональных стволовых клеток человека и работе с ними всегда сопутствовали проблемы этического характера, связанные с гибелью эмбриона. Именно поэтому поиск альтернативных методов получения эмбриональных стволовых клеток – очень актуальная задача, которую на протяжении нескольких десятилетий пытались решить многие исследовательские группы по всему миру. Клонирование эмбриона – один из вариантов решения проблемы. При этом использовалась базовая методика переноса ядра соматических клеток в яйцеклетку: с помощью этого же метода в 1996 г. появилось на свет первое клонированное животное – овца Долли.

Суть метода состоит в том, что из яйцеклетки извлекают клеточное ядро и вводят в нее ядро обычной соматической клетки. Так как структура ДНК в процессе развития не меняется, а меняются только «настройки», то ДНК, введенная в яйцеклетку, под действием нового молекулярного окружения способна приобретать свойства эмбриональной. При этом активируются все необходимые для эмбрионального развития гены, и яйцеклетка начинает развиваться. Клетки такого развивающегося эмбриона являются по определению стволовыми, однако генетический материал в них не исходный, а «подсадной».

Несмотря на внешнюю простоту метода, повторить эксперимент с овцой Долли или провести аналогичный долгое время не удавалось. Только спустя десятилетие, в 2007 г. были опубликованы результаты успешных экспериментов по переносу ядра соматических клеток в яйцеклетку, сделанные на макаках (Вугне *et al.*, 2007). И, наконец, в 2013 г. группа авторов во главе с Ш. Миталиповым обнародовала данные экспериментов по выделению эмбриональных стволовых клеток из клонированного человеческого эмбриона с помощью модифицированной методики. В частности, добиться правильной активации и развития яйцеклетки, в которую пересадили ДНК

Ключевые слова: эмбриональные стволовые клетки, клонирование, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, плюрипотентность.

Key words: embryonic stem cells, cloning, induced pluripotent stem cells, pluripotency



ВАСЬКОВА Елена Андреевна – младший научный сотрудник Института цитологии и генетики СО РАН и Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск), Новосибирского научно-исследовательского института патологии кровообращения им. академика Е. Н. Мешалкина. Автор и соавтор 4 научных работ



ДЕМЕНТЬЕВА Елена Вячеславовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Института цитологии и генетики СО РАН и Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск), ведущий научный сотрудник Новосибирского научно-исследовательского института патологии кровообращения им. академика Е. Н. Мешалкина. Автор и соавтор 14 научных работ

© Е. А. Васькова, Е. В. Деметтьева, 2014

из соматической клетки, помогло использование определенной дозы кофеина (Tachibana *et al.*, 2013).

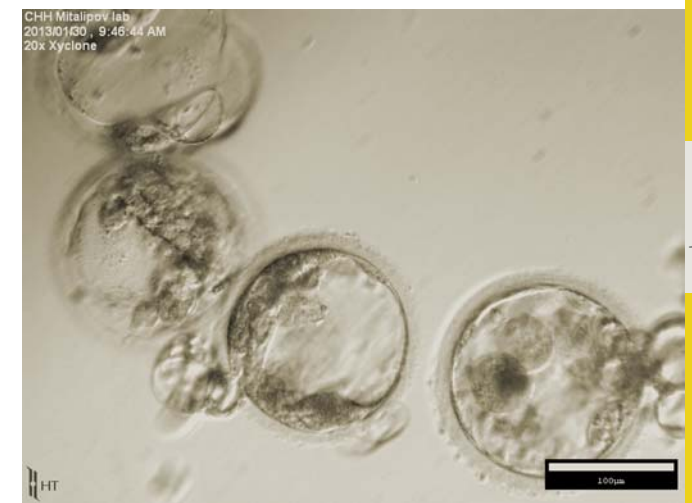
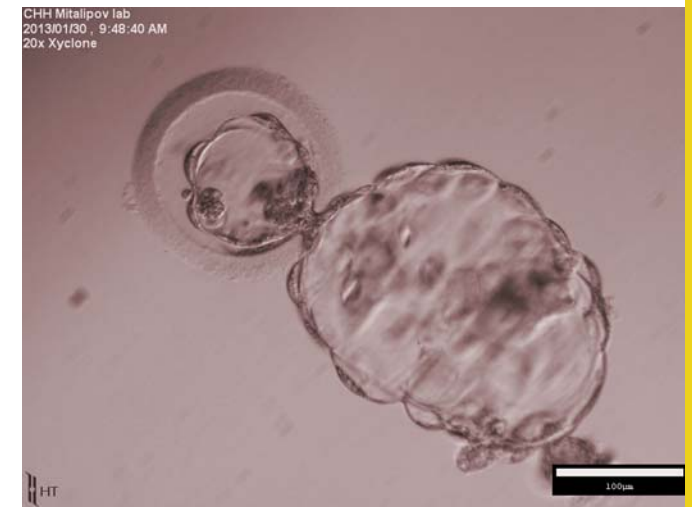
Методика клонирования эмбриона конкурирует с другой технологией получения стволовых клеток – методом получения плюрипотентных стволовых клеток человека из соматических клеток путем активации в них экспрессии определенного набора генов. Возникающие в результате такого «репрограммирования» клетки называют индуцированными плюрипотентными стволовыми клетками (ИПСК). По своим свойствам они сходны с эмбриональными стволовыми клетками, а методика их получения не требует использования эмбрионов. ИПСК могут быть получены в любой момент времени и из клеток любого человека, в том числе страдающего какими-либо заболеваниями.

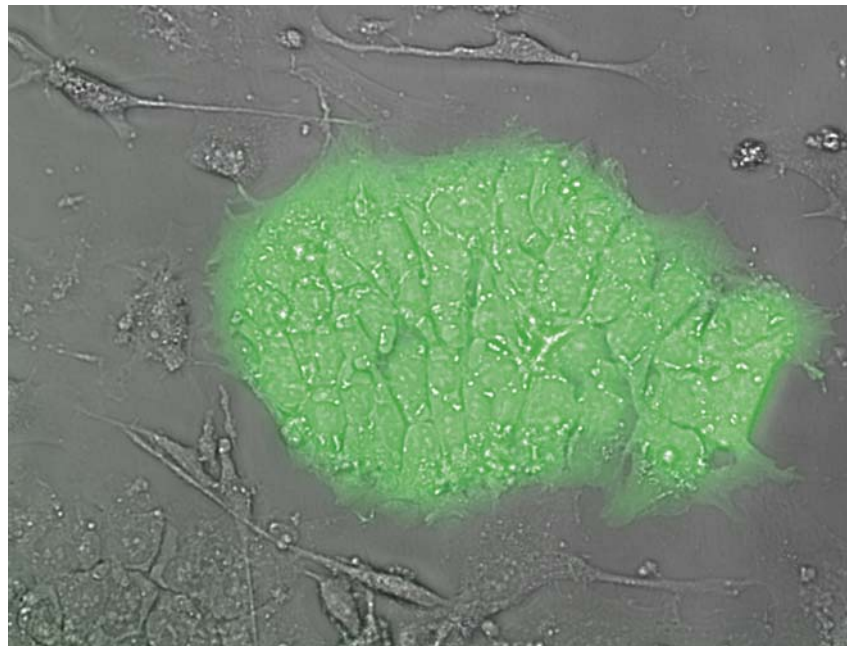
Эта технология, впервые обнародованная в 2007 г., к настоящему времени получила достаточно широкое распространение. Были получены десятки линий ИПСК из различных типов соматических клеток, при этом применялись разные подходы для инициации их «перепрограммирования».

Например, группа новосибирских исследователей из Института цитологии и генетики и Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирского научно-исследовательского института патологии кровообращения имени академика Е. Н. Мешалкина получила ИПСК из клеток кожи и нейральных стволовых клеток человека. Эти клетки удалось успешно подвергнуть направленной хондрогенной дифференцировке, в результате чего они сформировали функциональную хрящевую ткань (Медведев и др., 2010; Medvedev *et al.*, 2011). Такой подход открывает новые перспективы для использования в заместительной клеточной терапии ИПСК, полученных из собственных соматических клеток больного.

Тот же научный коллектив активно ведет работы, связанные с использованием ИПСК для моделирования

На этих уникальных фотографиях представлены бластоцисты – результат дробления яйцеклетки на ранней стадии развития зародыша млекопитающего. Для получения яйцеклеток использовалась методика переноса ядра соматических клеток. Такие клонированные человеческие эмбрионы можно использовать для приготовления линий стволовых клеток, ориентированных на конкретного пациента. *Credit: Shoukhrat Mitalipov, Oregon National Primate Research Center, Oregon Health & Science University*





наследственных сердечно-сосудистых и нейродегенеративных заболеваний. В этом случае получают линии ИПСК от пациентов с определенными генетическими нарушениями и используют их для изучения механизмов возникновения болезней и поиска наиболее эффективных методов лечения.

Но несмотря на все преимущества, ИПСК имеют существенный недостаток: по своим свойствам они не полностью идентичны эмбриональным стволовым клеткам. Эти различия могут быть следствием как неполного репрограммирования, так и сохранения некоторых черт соматических клеток-прародителей. Все это может стать препятствием на пути применения ИПСК в медицине.

Кроме того, такие клетки нельзя использовать для терапии заболеваний, обусловленных нарушениями в ДНК митохондрий – «энергетических фабрик», располагающихся в цитоплазме клетки и имеющих собственный генетический материал. В этом смысле технология клонирования эмбрионов имеет явное преимущество, ведь при таком клонировании в яйцеклетку переносится только ядерная ДНК. Поэтому, используя яйцеклетку, несущую здоровую митохондриальную ДНК, можно получить полностью здоровые пациент-специфичные эмбриональные стволовые клетки.

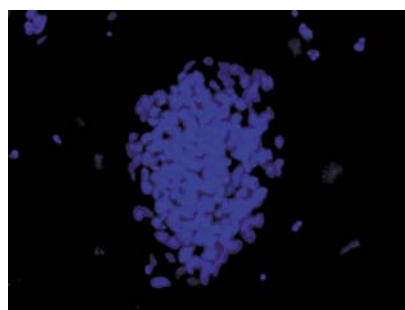
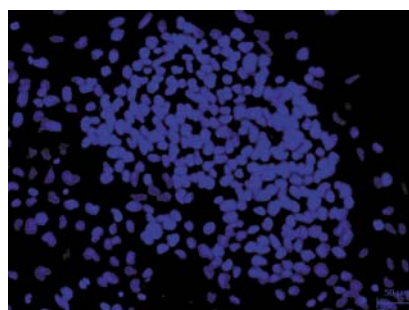
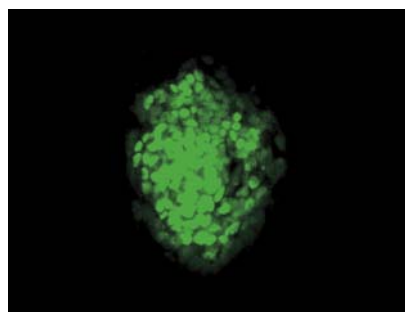
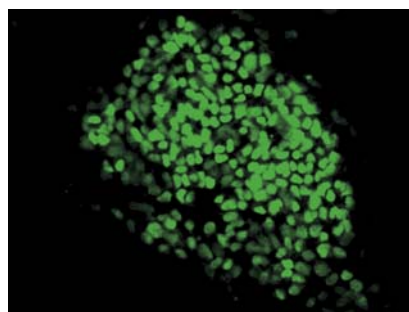
Однако несмотря на все преимущества методики клонирования эмбриона, ее практическое применение пока остается под большим вопросом, в первую очередь из-за больших технических сложностей. Всестороннего изучения требует и вопрос соответствия таких клонированных клеток эмбриональным стволовым клеткам уже существующих линий. Ответ на этот вопрос может стать ключевым для определения дальнейших перспектив применения новой технологии в регенеративной медицине.

Эмбриональные стволовые клетки человека, экспрессирующие зеленый флуоресцирующий белок.

Флуоресцентная микроскопия. Фото А. И. Шевченко и И. С. Захаровой

Зеленое свечение этих индуцированных плюрипотентных стволовых клеток подтверждает, что в них экспрессируется ген NANOG – основной маркер плюрипотентности стволовых клеток, т. е. способности дифференцироваться во множество специализированных типов клеток. Синим цветом окрашены ядра клеток.

Флуоресцентная микроскопия. Фото А. И. Шевченко и И. С. Захаровой



Органы «из пробирки»

В мире неуклонно возрастает число исследований в области клеточных технологий, направленных на создание тканей и органов для использования в регенеративной медицине. В десятку выдающихся открытий прошлого года, по версии журнала «Science», попали результаты трех работ по формированию «в пробирке» трехмерных органоподобных структур почки, печени и головного мозга человека. Эти достижения стали закономерным итогом быстрого развития раздела клеточной биологии, занимающегося управляемой дифференцировкой плюрипотентных стволовых клеток человека, которые потенциально способны давать все типы клеток взрослого организма

Плюрипотентными называют стволовые клетки, способные дифференцироваться (превращаться) в разные типы специализированных клеток: клетки кожи, мышц, нервной ткани и т. п. Именно из таких эмбриональных стволовых клеток и формируются органы будущего организма во время беременности. Чтобы решить труднейшую задачу по искусственному выращиванию из стволовых клеток полноценных органов, нужно разработать и осуществить сложный алгоритм действий, начиная от создания необходимых физических условий и заканчивая введением в нужной концентрации и в нужное время комплексов ростовых факторов. Эта глобальная задача еще окончательно не решена.

До недавнего времени исследователи умели только дифференцировать стволовые клетки человека в определенные клеточные типы: например, в нейральные (клетки нервной ткани), кардиальные (клетки тканей сердца), васкулярные (клетки сосудов) и многие другие. С появлением подобных методов стало возможным решать ряд медицинских задач. Например, американская биотехнологическая компания АСТ («Advanced Cell Technology») проводит клинические испытания дифференцированных производных плюрипотентных стволовых клеток человека, предназначенных для лечения возрастных изменений сетчатки глаза – макулярной дегенерации и дистрофии Штаргардта.

Следующий шаг – получение не просто клеток, а органоподобных трехмерных структур. Первой «мишенью» исследователей стала почка. Попытки получить предшественники почечных клеток делались и ранее, однако сформировать зрелые клетки почки из них не удавалось. Успех сопутствовал группе ученых из Испании и США (Xia *et al.*, 2013).

Сначала исследователи получили почечные клетки-предшественники. Для этого эмбриональные стволовые клетки человека дифференцировали в клетки мезодермы (среднего зародышевого листка), из которого развивается скелет, мышцы, кровеносные сосуды и почка. Затем, добавляя в культуральную среду ростовые факторы, необходимые для естественного

Ключевые слова: эмбриональные стволовые клетки (ЭСК), индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК), трехмерные органоподобные структуры.

Key words: embryonic stem cells (ESC), induced pluripotent stem cells (IPSC), 3D organotypic structures

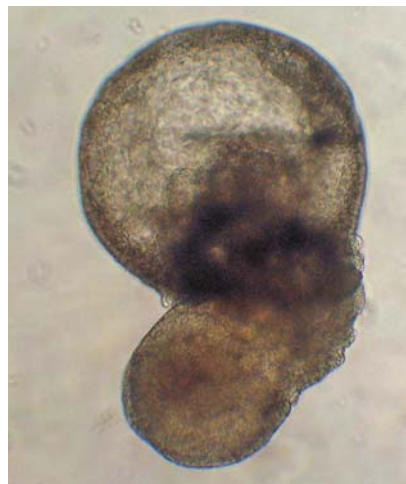
© А. И. Шевченко, И. С. Захарова, 2014



ЗАХАРОВА Ирина Сергеевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск) и Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск), младший научный сотрудник Новосибирского научно-исследовательского института патологии кровообращения им. академика Е. Н. Мешалкина. Член Российского общества регенеративной медицины. Автор и соавтор 6 научных работ



ШЕВЧЕНКО Александр Игоревич – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск) и Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск), ведущий научный сотрудник Новосибирского научно-исследовательского института патологии кровообращения им. академика Е. Н. Мешалкина. Член Российского общества регенеративной медицины. Автор и соавтор 40 научных работ и 6 патентов



Эти так называемые эмбрионидные тельца получены в результате спонтанной дифференцировки эмбриональных стволовых клеток человека.
Флуоресцентная микроскопия.
Фото авторов

развития почки, получили клетки-предшественники почечной ткани с соответствующим набором клеточных маркеров. Эти клетки, в свою очередь, культивировали в смеси с эмбриональными почечными клетками мыши, в результате чего сформировались зрелые клетки человеческой почки. Совместно с мышинными клетками они сформировали трехмерную «химерную» структуру, напоминающую мочеточник.

Несмотря на то что полученные почечные структуры нельзя назвать настоящей человеческой почкой, результаты этого эксперимента значительно расширили потенциальные возможности регенеративной медицины. У ученых появилась возможность моделировать заболевания почек и тестировать медицинские препараты. В качестве первого шага новым методом были получены трехмерные почечные структуры из стволовых клеток пациентов с поликистозом почек.

Группе японских исследователей впервые удалось получить не просто функциональные дифференцированные клетки, а органоид человеческой печени, снабженный кровеносными сосудами (Takebe *et al.*, 2013). Для этого использовались так называемые индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК), которые получают из обычных соматических клеток путем их «репрограммирования» в недифференцированное состояние.

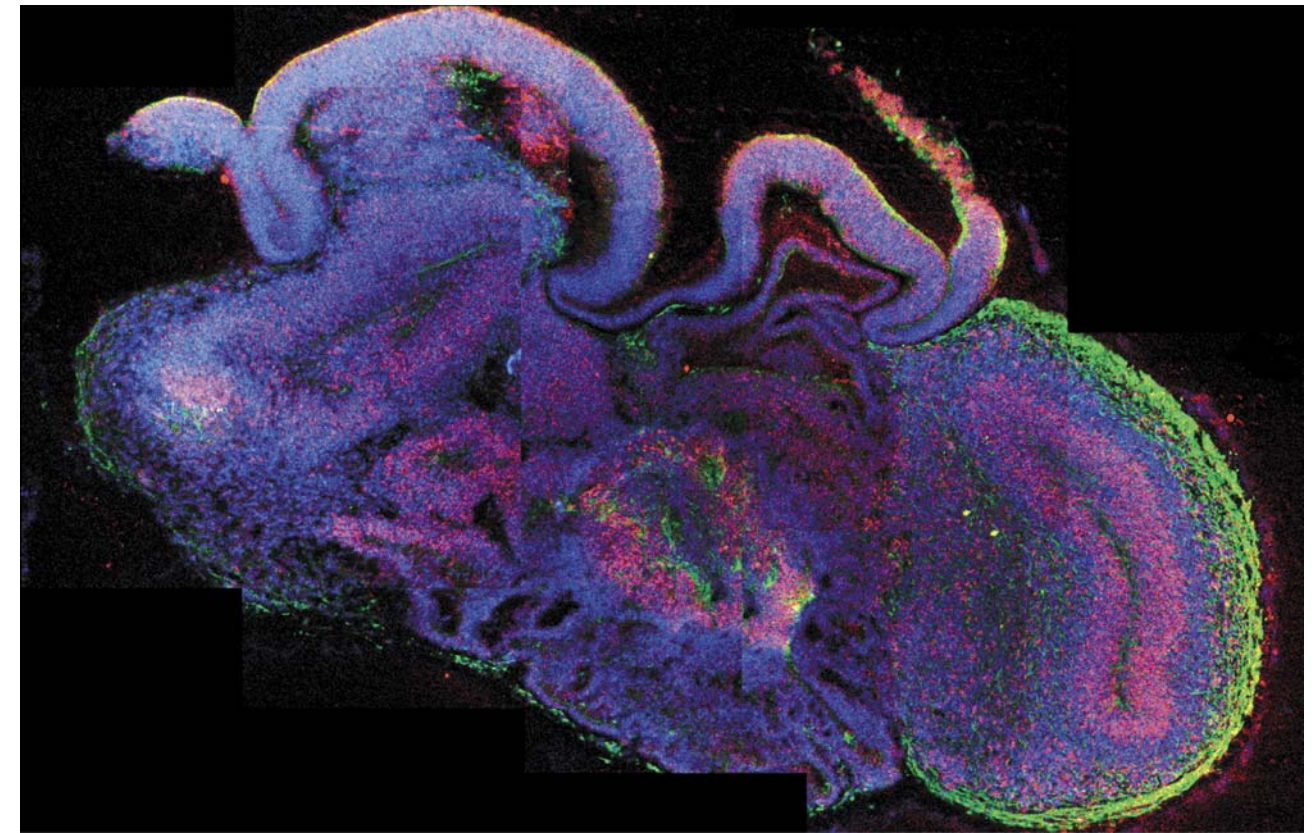
Сначала были получены предшественники гепатоцитов (клеток печени человека), которые далее культивировали совместно с эндотелиальными клетками, выделенными из пупочной вены, и мезенхимальными стволовыми клетками. Эндотелиальные клетки образуют сеть кровеносных сосудов, а мезенхимальные – выделяют гормоноподобные вещества, влияющие на клетки-предшественники гепатоцитов. В итоге сформировалась трехмерная васкуляризированная структура, близкая к эмбриональной ткани человеческой печени.

В качестве теста эту структуру поместили под кожу лабораторным мышам с подавленным иммунитетом, у которых не развивается реакция отторжения на чужеродный трансплантат. Внедренный органоид нормально интегрировался в окружающую ткань, и уже через двое суток его кровеносные сосуды соединились с сосудами подопытного животного. Проведенный спустя два месяца молекулярно-генетический анализ показал, что печеночные клетки стали более зрелыми и даже оказались способны метаболизировать ряд соединений, подобно зрелым клеткам человеческой печени.

Исследователи показали, что трансплантация почечного органоида в область брыжейки иммунодефицитным мышам с нарушением функции печени повышает их выживаемость. Таким образом, эта технология очень перспективна не только для исследовательских целей и тестирования фармакологических препаратов, но и в заместительной клеточной терапии.

Коллективу австрийских и британских ученых удалось получить из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток трехмерные структуры, названные церебральными (мозговыми) органоидами (Lancaster *et al.*, 2013). Плюрипотентные стволовые клетки сначала дифференцировали в клетки-предшественники нервной ткани, а затем их культивировали в специальном гелеобразном матриксе, помещенном во вращающийся биореактор с ростовой средой.

Сформированные церебральные органоиды представляли собой нейроэпителиальную ткань, которая окружала заполненную жидкостью полость, напоминающую желудочек мозга. Своего максимального размера – до 4 мм в диаметре – эти структуры достигали через два месяца культивирования. К этому времени они состояли из различного типа тканей, таких как кора головного мозга, сосудистое сплетение, сетчатка и мозговые оболочки.



Первые трехмерные структуры, выращенные из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, по сути, представляют собой минимозг. На поперечном разрезе такого церебрального органоида с помощью флуоресцентного иммуногистохимического окрашивания можно выделить различные структуры. В правой части находятся ткани коры головного мозга; в нижней – сосудистое сплетение, складчатая структура, вырабатывающая спинномозговую жидкость.

Стволовые клетки окрашены красным цветом, нейроны – зеленым, ядра клеток – синим.
Credit: IMBA/ Madeline A. Lancaster

Однако у них не было кровеносных сосудов, поэтому они имели ограниченный размер и могли поддерживаться в условиях биореактора лишь в течение десяти месяцев.

Исследователи применили свой метод для изучения микроцефалии – заболевания, при котором у человека редуцирован размер мозга, что сопровождается умственной отсталостью. При создании церебральных органоидов из плюрипотентных стволовых клеток таких пациентов было обнаружено, что в процессе клеточной дифференцировки образуется значительно меньшее количество клеток-предшественников нервной ткани. Соответственно, и сформированные церебральные органоиды оказались меньшего размера. По-видимому, аналогичное явление служит причиной недоразвития мозговых структур у пациентов. Добавим, что метод церебральных органоидов позволит исследовать и ряд других нейродегенеративных заболеваний.

Несмотря на то что все полученные трехмерные структуры нельзя назвать полноценными органами, результаты экспериментов значительно расширили потенциальные возможности регенеративной медицины. Подобные органоиды можно использовать для тестирования медицинских препаратов, а также для моделирования заболеваний, связанных с нарушением эмбрионального развития, поскольку они, как правило, трудно воспроизводятся на животных.

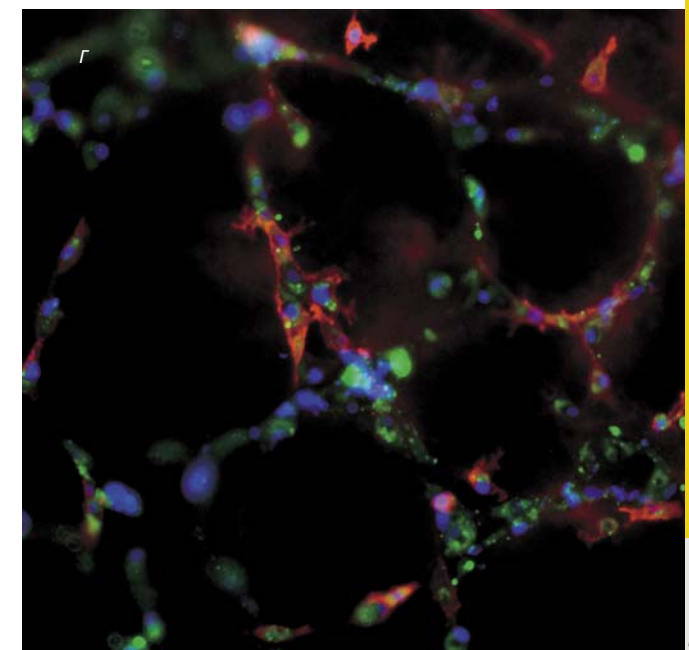
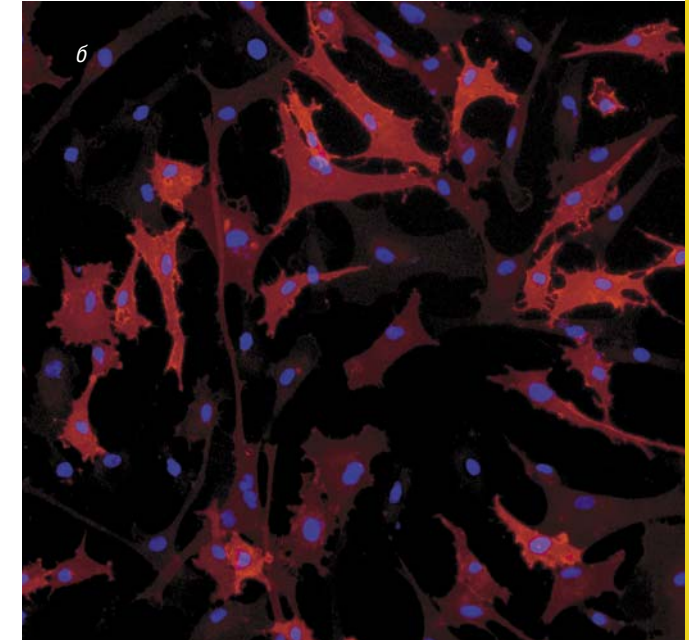
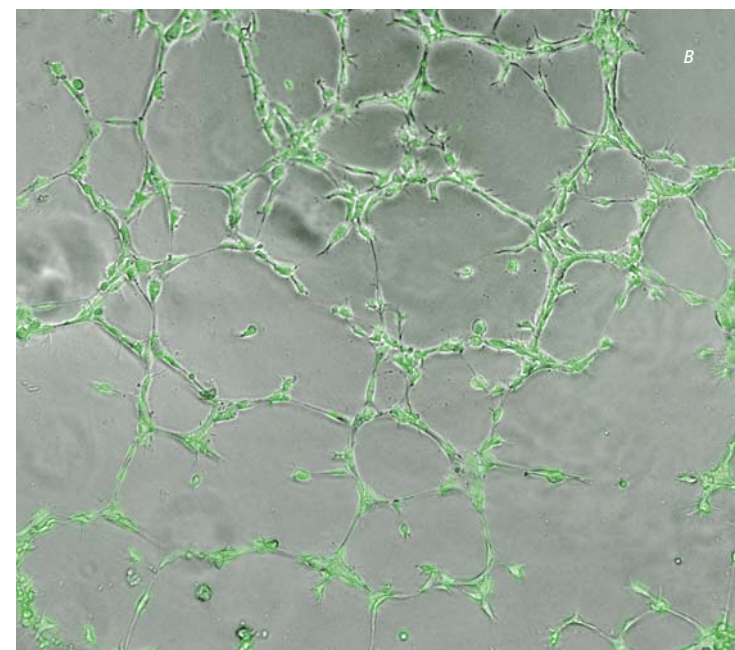
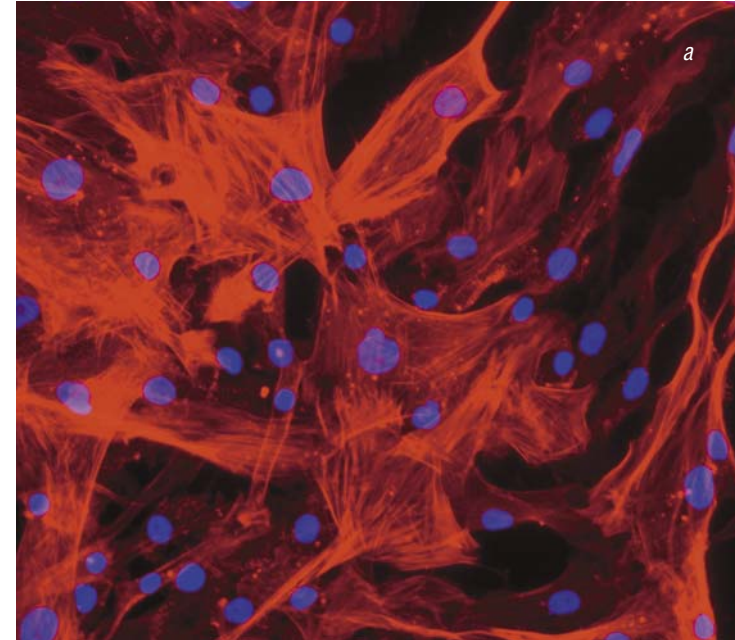
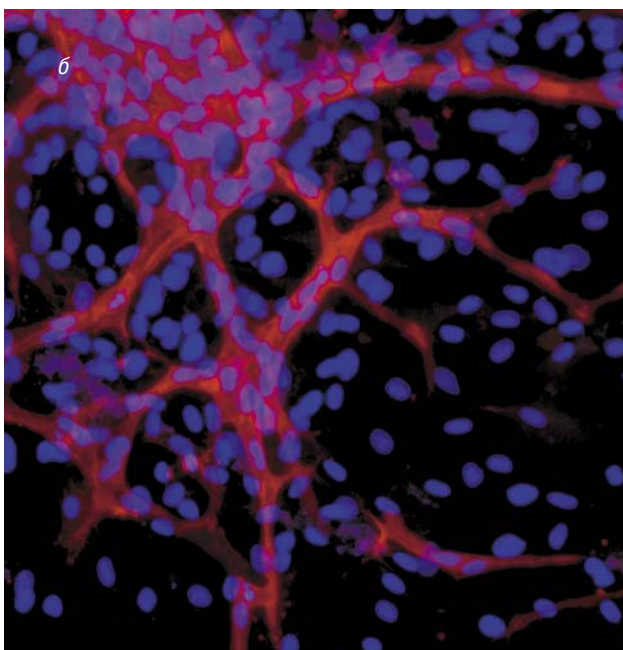
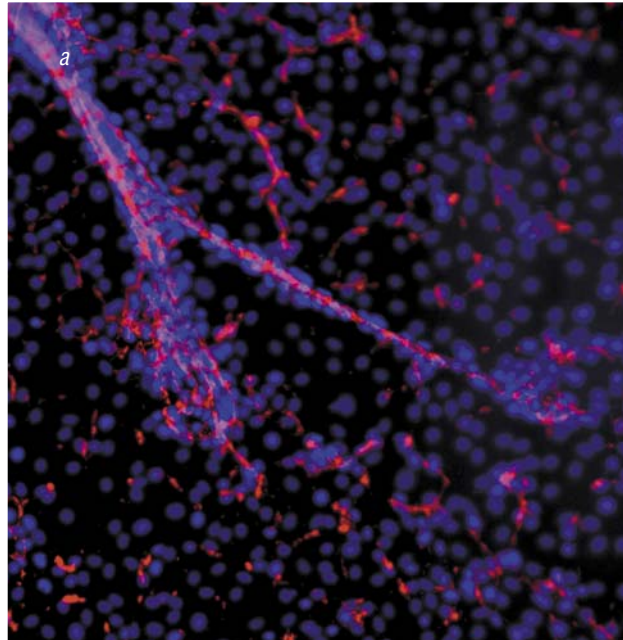
Работы в этом направлении ведутся и в России. Например, разработкой тканеинженерных подходов для регенеративной медицины сосудов занимается группа новосибирских исследователей из Института цитологии и генетики и Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирского научно-исследовательского института патологии кровообращения им. академика Е. Н. Мешалкина.

Актуальность этой темы связана с тем, что в наши дни быстро растет число больных с патологией кровеносных сосудов, причем лечение подобных заболеваний зачастую предусматривает замену сосудов на *аутологичные* (донорские) либо синтетические. Оба эти варианта имеют свои ограничения, альтернативой является использование тканеинженерных протезов сосудов.

В Новосибирске был разработан протокол получения специфических васкулярных клеток, которые способны формировать кровеносные сосуды из биопсийного материала, а также из плюрипотентных стволовых клеток человека, подвергнутых направленной дифференцировке. Полученные сосудистые клетки детально исследуются с помощью различных функциональных и молекулярно-генетических тестов. Такими охарактеризованными клетками заселяются синтетические поверхности. Особое внимание при этом уделяется подбору компонентов сосудистого внеклеточного матрикса и ростовых факторов, влияющих на скорость клеточного деления, миграцию и дифференцировку различных типов васкулярных клеток.

Полученный в результате сосудистый протез по своим свойствам близок к натуральному кровеносному сосуду. Функционирование подобных трансплантатов в живом организме планируется оценивать на модельных животных.

Еще одно направление работ связано с исследованием статуса X-хромосом в линиях ИПСК человека, полученных из обычных соматических клеток, и их дифференцированных производных. Эпигенетический феномен инактивации одной из двух X-хромосом у женщин является важным фактором, который необходимо учитывать при планировании клеточной терапии с ИПСК. Поэтому в ходе работы исследователи разрабатывают способы управления статусом X-хромосом при репрограммировании соматических клеток в стволовые, а также при их последующей дифференцировке. Полученные результаты будут использованы для характеристики свойств полученных линий индуцированных плюрипотентных стволовых клеток и подбора спектра надежных методов, позволяющих проводить отбор этих линий для биомедицинских исследований.



Для создания тканеинженерных конструкций сосудистого трансплантата новосибирские исследователи используют два источника клеток: биопсийный материал, а также эмбриональные и индуцированные плюрипотентные стволовые клетки человека, подвергнутые дифференцировке:
 а – сосудоподобные структуры, полученные в результате направленной кардиоваскулярной дифференцировки индуцированных плюрипотентных стволовых клеток;
 б – сосудоподобные структуры, образованные эндотелиальными клетками, выделенными из тканевых кардиальных образцов.
 Флуоресцентная микроскопия. Фото авторов

Все клетки, используемые для заселения тканеинженерных конструкций сосудистых трансплантатов, выделяют из обширного пула, содержащего клетки различных других типов. Поэтому перед использованием они должны быть тщательно охарактеризованы.
 На фото – клетки гладкой мускулатуры (а) и эндотелиальные клетки (б), выделенные из биопсийного материала; сеть капилляроподобных структур в матригеле (в и г), образованных эндотелиальными клетками, выделенными из биопсийного материала и окрашенные антителами к разным специфическим маркерам.
 Флуоресцентная микроскопия. Фото авторов



БЛИНОВ Владимир Евгеньевич – доктор физико-математических наук, заведующий лабораторией Института ядерной физики им. Г. И. Будкера СО РАН (Новосибирск), профессор кафедры электрофизических установок и ускорителей Новосибирского государственного технического университета. Автор и соавтор 328 научных публикаций

На конечной фазе эволюции звезд в результате взрывов сверхновых в нашей галактике появляются тяжелые элементы с массой, большей, чем у водорода и гелия. Звезды служат своеобразными тиглями, в которых эти элементы образуются, а их катастрофическая смерть разносит последние по всей галактике. В дальнейшем это звездное вещество служит материалом, из которого образуются планеты и в итоге мы сами.

На фото – Туманность Медузы, представляющая собой оболочку, оставшуюся от взрыва сверхновой звезды IC 443.

Credit: Adam Block/Mount Lemmon SkyCenter/University of Arizona

Ключевые слова: космические лучи, сверхновая, механизм ускорения космических частиц.

Key words: cosmic rays, supernova, particle acceleration mechanism

Галактический ускоритель

В 1912 г. австрийский физик и будущий нобелевский лауреат В. Гесс на основе наблюдений за изменением ионизации воздуха с высотой сделал вывод о существовании проникающего излучения внеземного происхождения. Спустя столетие после открытия космических лучей ученым с помощью космического гамма-телескопа «Ферми» удалось подтвердить гипотезу, что космические лучи разгоняют до сверхвысоких скоростей (энергий) остатки взорвавшихся сверхновых звезд. Это открытие было отмечено журналом «Science» как наиболее значимое достижение в физике в 2013 г., войдя в десятку самых выдающихся открытий прошлого года

История изучения космических лучей началась еще в конце XIX в. после открытия феномена естественной радиоактивности: физики обнаружили, что заряженный электроскоп быстро разряжается, если рядом с ним находится радиоактивный материал. После этого скорость разряда электроскопа стали использовать для измерения уровня радиоактивности. В то время полагали, что *атмосферное электричество* (ионизация воздуха) вызывается только естественной радиацией, источником которой являются радиоактивные элементы земной коры и радиоактивные газы, содержащиеся в воздухе.

В 1900 г. шотландскому физика и будущему нобелевскому лауреату Ч. Вильсону, а также двум немецким школьным учителям Ю. Элстеру и Г. Гейтелю удалось повысить чувствительность электроскопа и с более высокой точностью измерить скорость спонтанного разряда. На основе этих измерений они пришли к выводу, что источник ионизации находится вне сосуда электроскопа, причем часть радиации является сильно проникающей. Это предположение было подтверждено в 1902 г. количественными измерениями, проведенными такими выдающимися исследователями, как Э. Резерфорд и Г. Кук.

Согласно первоначальным предположениям, все это излучение имело земное происхождение. Для проверки этой гипотезы были проведены измерения уровня радиации в зависимости от высоты над поверхностью Земли, а также при погружении электроскопа под воду. Однако полученные данные не соответствовали ожидаемым:

© В. Е. Блинов, 2014



В 1911—1912 г. австрийский физик В. Ф. Гесс (на фото – в правой части корзины) совершил ряд полетов на стратостатах для определения космической природы проникающей радиации. © Archive Victor F. Hess Society, Echophysics—European Centre for the History of Physics, Pöllau, Austria

Уникальные возможности космического телескопа-обсерватории «Ферми» (справа) дали ученым возможность доказать теорию происхождения космических лучей сверхвысоких энергий. © NASA/Goddard Space Flight Center Conceptual Image Lab

оказалось, что радиоактивность уменьшалась при погружении в воду, но возрастала с увеличением высоты над Землей. Эти результаты прямо указывали, что регистрируемое излучение не зависит от радиоактивности земной коры, однако физики не спешили отказываться от гипотезы о земной природе мистической проникающей радиации.

Все изменилось после серии экспериментов, проведенных В. Гессом в 1912 г. с использованием армейских стратостатов. Проведя серию измерений уровня радиации в зависимости от высоты подъема, он обнаружил ее рост примерно в четыре раза на большой высоте по сравнению со значением на поверхности Земли. Повторив эти измерения во время частичного солнечного затмения, Гесс смог оценить влияние излучения Солнца как возможного источника радиации.

На основе данных, полученных в этих экспериментах, он сделал вывод, что «результаты представленных наблюдений, по-видимому, наиболее естественно могут быть объяснены исходя из предположения, что излучение с очень высокой проникающей способностью входит в атмосферу Земли сверху... Так как не обнаружено уменьшения интенсивности излучения ночью и во время солнечного затмения, то трудно предположить, что Солнце является источником этого излучения» (Гесс, 1936). О научной жизни Виктора Гесса читайте интересную статью Питера М. Шустера в *Journal of Astroparticle Physics* (<http://dx.doi.org/10.1016/j.astropartphys.2013.05.005>).

За более чем столетнюю историю физики космических лучей многое удалось понять и детально исследовать. Так, было установлено, что первичные космические лучи, бомбардирующие земную атмосферу, на 90 %

состоят из *протонов* (ядер атома водорода), а остальная часть – из ядер атомов легких элементов, образовавшихся еще в «юной» Вселенной, и электронов. Вторичные космические лучи образуются в процессе взаимодействия первичных космических лучей с атмосферой Земли, а до поверхности Земли долетают в основном *мю-мезоны* – частицы, аналогичные по свойствам электронам, но в двести раз тяжелее их.

Каждую минуту каждый квадратный сантиметр земной поверхности пересекают два мю-мезона. Наряду с земной радиоактивностью (прежде всего от радиоактивного газа радона) они формируют естественную дозу облучения человека, которая была бы много выше, не будь атмосферы, частично защищающей нас от облучения. К примеру, экипажи самолетов, проводящие на больших высотах много времени, получают дозы облучения, сравнимые с дозами облучения персонала атомных станций.

Интенсивность первичных космических лучей быстро уменьшается с ростом энергии. Из теоретических моделей следует, что космические лучи с энергией до 10^{18} эВ – внутригалактического происхождения, а имеющие более высокие энергии приходят к нам извне, причем источники их происхождения до сих пор точно не установлены.

Максимальные энергии космических лучей в миллиарды раз превосходят энергию Большого адронного коллайдера, что делает их исследования очень привлекательными и перспективными для физики элементарных частиц. Однако крайне низкая интенсивность таких лучей (одна частица на 1 км^2 в сто лет!) требует создания детекторов огромных размеров и затрудняет проведение экспериментов. Тем не менее наличие в кос-

мических лучах частиц с энергией, недоступной для наземных ускорителей и, как следствие, потенциальная возможность обнаружения новых физических явлений при сверхвысоких энергиях, продолжает вдохновлять физиков на проведение все новых исследований с космическими лучами.

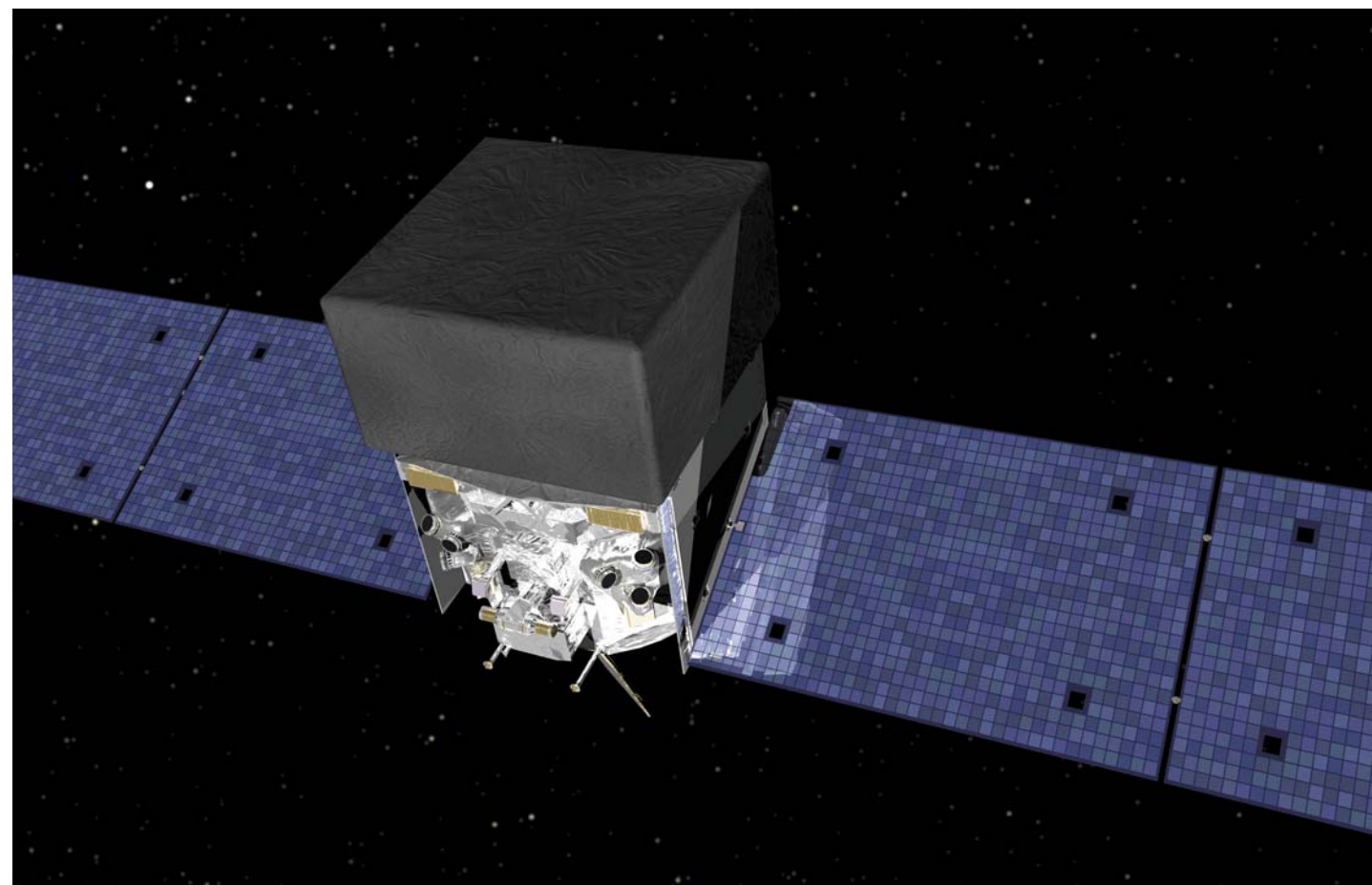
Одной из нерешенных загадок физики космических лучей является принцип работы «космического ускорителя», который разгоняет внутригалактические космические лучи до сверхвысоких энергий. Теоретики уже давно предложили механизм ускорения, основанный на разгоне частиц при прохождении их через фронт ударной волны, возникающей при взрыве сверхновой звезды, но экспериментального подтверждения этой гипотезы до недавнего времени не существовало.

Траектории электрически заряженных частиц, из которых состоят космические лучи, искривляют галактические магнитные поля, из-за чего определить положение источника излучения по измерению направления траектории заряженной частицы невозможно. Гамма-кванты, в отличие от заряженных частиц, не подверже-

ны влиянию магнитных полей, поэтому их регистрация позволяет достаточно точно определить координаты источника излучения. Именно этим обстоятельством и воспользовались исследователи из международной коллаборации «Ферми», в которую входят США, Франция, Германия, Италия, Япония и Швеция.

Космическая обсерватория «Ферми», выведенная НАСА на околоземную орбиту в 2008 г., – пример сотрудничества представителей двух наук – астрофизики и физики элементарных частиц. В ней использованы технологии регистрации гамма-излучения, применяемые при создании детекторов для исследований по физике элементарных частиц, но вывод ее на околоземную орбиту и обеспечение ее многолетней работы потребовали от международной команды физиков и НАСА решения ряда очень сложных инженерных и технологических задач.

Широкоугольный телескоп «Ферми» предназначен для регистрации, определения направления прилета и последующей визуализации гамма-излучения с энергиями от миллиона до сотен миллиардов электрон-вольт



Это изображение остатков сверхновой IC443 (Туманность Медузы) является комбинацией изображений, полученных в разных диапазонах длин волн. С помощью обсерватории «Ферми» было зарегистрировано жесткое гамма-излучение (пурпурный цвет), излучение в видимом диапазоне (желтый цвет); с помощью космического инфракрасного телескопа «WISE» – инфракрасное излучение в различном диапазоне: с длиной волны 3,4 мкм (синий цвет), с длиной волны 4,6 мкм (голубой цвет), с длиной волны 12 мкм (зеленый цвет), с длиной волны 22 мкм (красный цвет). Голубые петли отмечают границы, на которых происходит взаимодействие остатков сверхновой с плотным облаком межзвездного газа.

Credit: Nasa/Doe/Fermi lat collaboration, Tom Bash and John Fox/Adam Block/Noao/Aura/Nsf, JPL-Caltech/Ucla

(заметим, что энергия видимого излучения, регистрируемого сетчаткой глаза, лежит в диапазоне 2–3 эВ). Результат, отмеченный журналом «Science», был получен при исследовании гамма-излучения от оболочек, образовавшихся в результате взрыва двух сверхновых звезд – IC443 и W44.

Остатки IC443, известные под названием Туманность Медузы, находятся на расстоянии 5 тыс. световых лет от Земли в направлении созвездия Близнецов и имеют возраст около 10 тыс. лет. Остатки W44 удалены от нас примерно на 9,5 тыс. световых лет в направлении созвездия Орла, а их возраст составляет около 20 тыс. лет. Каждый из этих объектов представляет собой «вещественные» остатки, образовавшиеся в результате взрыва массивной звезды на последней стадии ее эволюции, и расширяющуюся ударную волну. Оболочки от взрыва сверхновых IC443 и W44 расширяются, достигая холодных плотных облаков межзвездного газа, которые испускают гамма-излучение.

До измерений, проведенных обсерваторией «Ферми», не было известно, какие точно частицы космических лучей – протоны или электроны – производят гамма-излучение, исходящее из облаков межзвездного газа, так как эти частицы возбуждают гамма-излучение примерно с одинаковой энергией. После четырех лет исследований и тщательного анализа данных физики обнаружили главную особенность гамма-излучения, генерируемого остатками двух исследуемых сверхновых звезд. Эта особенность обусловлена короткоживущей частицей – нейтральным π -мезоном, который образуется при столкновении протонов космических лучей



Согласно теоретической модели ускорения космических лучей, заряженная частица, захваченная магнитным полем остатков сверхновой, движется в этом поле случайным образом и иногда пересекает фронт главной ударной волны, образовавшейся после взрыва. При каждом пересечении «туда и обратно» фронта ударной волны скорость частицы должна увеличиться примерно на 1%. После множества таких переходов частица набирает энергию, достаточную, чтобы преодолеть удерживающее ее магнитное поле оболочки сверхновой и вырваться «на свободу» в галактическое пространство в виде космического луча сверхвысокой энергии

с практически неподвижными протонами оболочки сверхновой.

После своего рождения нейтральный π -мезон быстро распадается на два гамма-кванта – это излучение имеет характерное распределение по энергии с резким спадом в области низких значений. Именно такую особенность в спектре гамма-излучения межзвездного газа удалось обнаружить с помощью обсерватории «Ферми». Это явилось убедительным доказательством того, что остатки сверхновых IC443 и W44 ускоряют именно протоны.

Таким образом, физикам удалось неопровержимо доказать, что остатки исследуемых сверхновых звезд

являются природными ускорителями протонов, что подтвердило правильность теоретических моделей ускорения космических лучей.

К этому можно только добавить, что предположение о том, что космические лучи сверхвысоких энергий ускоряются магнитными полями облаков межзвездного газа, было выдвинуто в 1949 г. виднейшим итальянским физиком Э. Ферми – тем самым Ферми, в честь которого и был назван космический телескоп-обсерватория, где было сделано открытие.



ДАНИЛЕНКО Константин Васильевич – доктор медицинских наук, заместитель директора по научной и лечебной работе НИИ физиологии и фундаментальной медицины СО РАМН (Новосибирск). Автор и соавтор 42 научных работ и 1 патента

Сон «промывает» мозги

Если в поисковую систему Яндекс ввести вопрос «для чего нужен сон?», она выдаст около 18 млн ссылок! Это является достаточным свидетельством важности и актуальности темы, с давних лет привлекавшей внимание ученых. Неудивительно, что в список ведущих открытий года, по версии «Science» вошли исследования на мозге, позволившие наконец пролить свет на одну из тайн сна

Ученые из Медицинского центра Рочестерского университета (США), проведя детальное многостадийное исследование на лабораторных мышах, проанализировали изменения обмена веществ в мозге во время сна и бодрствования. Для этого в субарахноидальное пространство (в полость между мягкой и паутинной мозговыми оболочками головного и спинного мозга, заполненную спинномозговой жидкостью) и в общий кровоток (в бедренную вену) они параллельно вводили красящие индифферентные метки, а затем следили за их распределением в верхнем слое коры мозга. Стадии сна и бодрствования документировались на основе данных точечной электрокортикографии и электромиографии.

Оказалось, что переход из состояния бодрствования в состояние сна сопровождался резким (на 60% в течение 20–30 мин) увеличением потока жидкости в недавно открытой исследователями *глимфатической системе* – заполненной спинномозговой жидкостью системе каналов, сформированной клетками мозговой ткани (*глии*), обслуживающей нейроны. Во время сна эти каналы расширялись, и в спинномозговой жидкости возрастала концентрация различных веществ. Среди последних оказался и потенциально токсичный для нервных клеток *бета-амилоид* – белок, в большом количестве присутствующий у пациентов с болезнью Альцгеймера. При переходе от сна к бодрствованию вывод веществ из глиальной ткани в омывающие мозг жидкости, напротив, практически прекращался.

Дальнейшие исследования с помощью красящих меток показали, что при блокаде норадренергических рецепторов мозга происходит такая же, как во сне, активация работы глимфатической системы. В результате было высказано предположение, что наступление сна инициируется накоплением определенных веществ в процессе бодрствования.

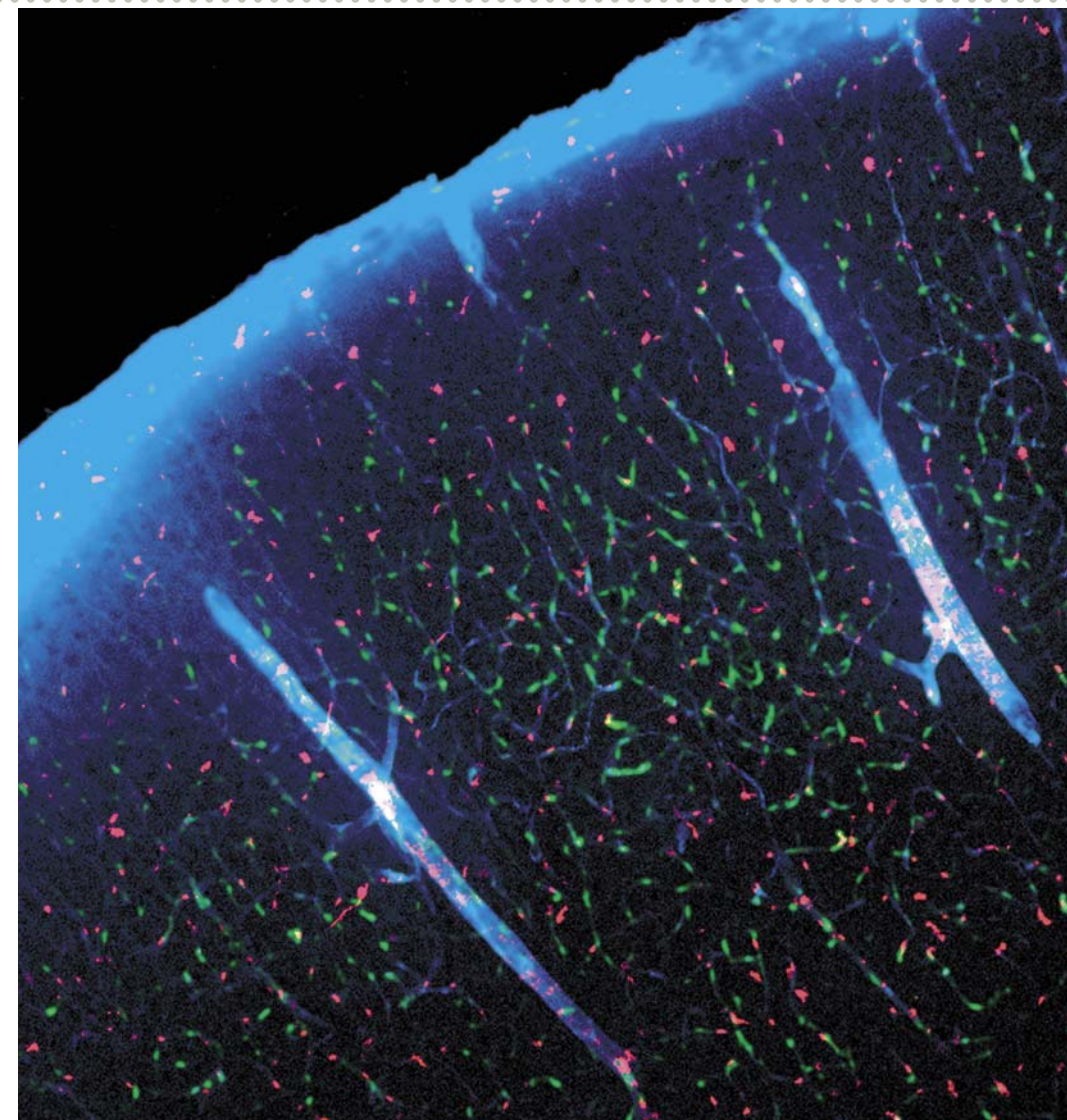
Таким образом, эти работы экспериментально подтвердили верность широко распространенной теории о сне как о стадии жизнедеятельности, необходимой для «очистки» мозга от вредных веществ.

Эти действительно выдающиеся результаты активно обсуждались в российском Обществе сомнологов. Нужно сказать, что о прекращении норадренергической активности клеток синего ядра мозга во время фазы быстрого сна было известно и ранее (Ротенберг, 2005), а руководитель Общества сомнологов д. б. н. В. Б. Ковальзон (Институт проблем экологии и эволюции имени А. Н. Северцова, Москва) еще в 2012 г. выдвинул гипотезу о «вантузной» роли «медленного» сна.

Однако до недавнего времени у исследователей имелись лишь косвенные свидетельства о наличии у мозга «очистительной» системы, хотя еще в советское время отечественные ученые (М. А. Барон, А. Я. Росин и др.) выполнили ряд исследований движения спинномозговой жидкости в мозге.

© К. В. Даниленко, 2014

Ключевые слова: цикл сон-бодрствование, глимфатическая система, спинномозговая жидкость.
Key words: sleep-wake cycle, glymphatic system, cerebrospinal fluid



Во время сна объем клеток головного мозга у лабораторных мышей сокращался более чем наполовину, соответственно увеличивались каналы (голубой цвет) между клетками, заполненные спинномозговой жидкостью. Так работает «мусоропровод» по выведению из мозга токсических «отходов». Двухлучевая конфокальная микроскопия.

Credit: Jeff Iliff and Maiken Nedergaard

Тем не менее экспериментально обнаружить и детально описать микрожидкостную систему мозга удалось только с появлением современных технологий прижизненной микроскопии, позволяющей наблюдать живые ткани на глубине более одного миллиметра, и цветного функционального картирования при помощи флуоресцирующих меток. Полученные таким образом результаты дали новый импульс исследованиям, которые должны в итоге дать точный ответ на давний вопрос: «Зачем мы спим?»



ВЛАСОВ Валентин Викторович – академик РАН, председатель Объединенного ученого совета СО РАН по биологическим наукам, директор Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск), заведующий кафедрой молекулярной биологии Новосибирского государственного университета. Лауреат государственной премии РФ (1999). Автор и соавтор более 460 научных работ и 29 патентов

Беря в руки какой-либо предмет, вдыхая воздух, проглатывая пищу, мы обзаводимся множеством невидимых сожителей, которые способны чрезвычайно быстро размножаться. В человеческом организме содержится 1,0—2,5 кг бактерий, что составляет около 1—2% массы тела. Эта бактериальная биомасса состоит примерно из ста триллионов клеток, что в несколько раз превышает число собственных клеток организма человека. Геном человека насчитывает около 20 тыс. генов, совокупный бактериальный геном – около 3 млн, т. е. в 300 раз больше! При этом не учитываются еще одни наши микробитатели – вирусы, число которых намного превышает число бактерий

Микробный «орган» человека

В десятку научных прорывов 2013 г., по версии журнала «Science», вошли результаты исследований, следствием которых стала переоценка функциональной значимости и влияния на здоровье микроорганизмов, сосуществующих с человеком и другими высшими животными. Эти работы стали еще одним важным шагом на пути к персонализированной медицине

Микробы присутствуют везде и всегда. Деление бактериальных клеток происходит примерно каждые 20 мин., т. е. потомство одной бактериальной клетки через 8 ч может достигнуть 16 млн! В благоприятных условиях бактерии могут быстро размножиться, в неблагоприятных – погибнуть. А теперь представьте себе, какие процессы происходят в нашем организме, когда мы дышим, едим, пьем, принимаем антибиотики, моем руки, путешествуем и контактируем с различными объектами живой природы...

Тем не менее долгое время считалось, что взаимодействие человека с микробами представляет интерес лишь в аспекте предотвращения и лечения инфекционных заболеваний. О масштабе же присутствия микробов и многообразии их деятельности в организме человека просто не задумывались. Это было связано с тем, что традиционная микробиология изучает отдельные виды микробов, которые удается выделить и выращивать вне живого организма, однако рост большинства наших микроскопических «постояльцев» возможен лишь в определенном микроокружении, которое требует специально воспроизводить.

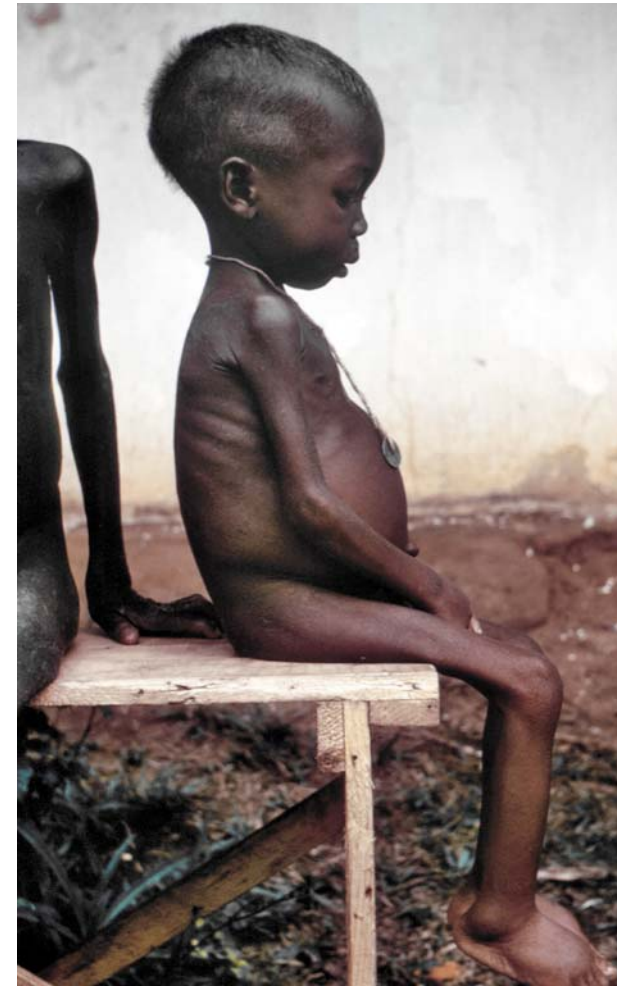
Ситуация кардинально изменилась с появлением и развитием техники секвенирования ДНК, позволившей проводить так называемые *метагеномные исследования*, т. е. получать информацию о геномах всех организмов, присутствующих в образце. Таким образом, вместо генома отдельного вида микроорганизма мы можем изучать суммарный геномный материал всего микробного сообщества, выделенного из природных объектов, например, пищеварительного тракта человека.

Подобные исследования, проведенные международными консорциумами ученых США и Европы в рамках проекта «Микробиом», продемонстрировали, что микробы – далеко не случайные гости в нашем теле. Содружество микробов, живущих в организме человека – микробиом, является, по сути, еще одним нашим «органом», пусть и невидимым, но совершенно необходимым для поддержания здоровья. И хотя функции этого органа еще только начинают исследовать, уже сегодня ясно, что они чрезвычайно важны и многообразны.

Ключевые слова: кишечная микрофлора, микробиом человека, синдром Квашиоркор.

Key words: gut microflora, human microbiome, Kwashiorkor syndrome

© В. В. Власов, 2014



Этот апатичный истощенный ребенок, запечатленный на фотографии конца 1960-х гг., был найден в одном из лагерей помощи в Нигерии во время Нигерийско-Биафрской войны среди многих других больных синдромом Квашиоркор. Как было недавно установлено, в развитии этой неинфекционной болезни, проявляющейся в тяжелой белково-энергетической недостаточности, ключевую роль играет кишечная микрофлора.

Credit: the Centers for Disease Control and Prevention

Микробные сообщества различаются даже у здоровых людей: по их составу, как по отпечаткам пальца, можно идентифицировать конкретного человека. Особенности микробиоты индивидуума определяются его генетическими характеристиками, а также питанием и образом жизни в целом.

Микробиом человека сильно меняется в интервале от рождения до двухлетнего возраста, а затем остается достаточно стабильным. Разные части тела (например, ротовая полость и кожа спины) заселены различными

микробными сообществами, поскольку условия «проживания» в них могут значительно отличаться. Поэтому микробиом кожи конкретного человека будет больше схож с соответствующим микробиомом кожи другого человека, чем с микробным сообществом собственного кишечника. Наибольшее разнообразие микроорганизмов отмечено в ротовой полости, наименьшее – в желудке, причем оно начинает вновь возрастать по мере продвижения по пищеварительному тракту. Микробиом кишечника зависит от диеты: например, он значительно различается у вегетарианцев и «мясоедов».

Самая очевидная польза, которую получает человек от своих «сожителей» – помощь в переработке пищи. В этом смысле микробиом кишечника работает как эффективный биореактор: в нем перерабатываются питательные вещества, которые в ином случае не переварятся в организме человека. Микробы секретируют множество полезных метаболитов, в том числе витамины К и группы В, которые через кишечную стенку попадают в кровяное русло.

Так как микробиом может меняться достаточно быстро, он позволяет человеку быстрее адаптироваться к изменениям внешних условий. Это расширяет метаболический потенциал человеческого организма за пределы его генетических возможностей, что, безусловно, определяет многие аспекты физиологии здоровья и болезни. Во многих случаях именно микробиом определяет реакцию организма на внешние воздействия, а также болезни и лекарства.

Доказано, что обитающие в организме человека микроорганизмы эффективно конкурируют с чужеродными патогенными микроорганизмами-агрессорами, препятствуя инфицированию путем конкуренции за питательные вещества, выделения специфических веществ, убивающих бактерии и т. д. Такую защитную роль играют микробиомы ротовой полости, кишечника, кожи и половых органов. Например, оказалось, что специфическая микробиота влагалища у некоторых африканских женщин снижает риск их заражения вирусом иммунодефицита человека.

Кишечная флора оказывает важное влияние на иммунную систему человека: бактерии стимулируют развитие некоторых лимфатических тканей – так называемых пейеровых бляшек в желудочно-кишечном тракте, являющихся важным источником клеток, синтезирующих иммуноглобулин типа А, который обеспечивает защиту практически всех слизистых оболочек органов человека. Доказано, что микроорганизмы помогают организму человека бороться с воспалительными заболеваниями кишечника, а также с аллергическими заболеваниями.

Микробиом кишечника влияет на метаболизм различных лекарств, в том числе широко распространенных, таких как сердечный гликозид дигоксин и анальгетик

ацетаминофен. Еще один пример – противоопухолевый препарат *иринотекан* (СРТ-11), который в норме нейтрализуется в печени. Однако кишечная микрофлора может превращать его снова в токсичное вещество, что приводит к поражению клеток кишечника и тяжелой диарее. Выяснение этого обстоятельства позволило решить проблему: пациентам стали дополнительно давать ингибитор специфического бактериального фермента, в результате чего появилась возможность вводить больным более высокие дозы препарата и добиваться лучших терапевтических результатов.

Отклонения в составе микробиоты могут быть связаны с определенными болезнями, поэтому ее анализ может быть полезен для диагностики. Так, имеются указания на возможную роль микроорганизмов в развитии ревматоидного артрита, астмы, диабета, ожирения, рака, аллергии, сердечно-сосудистых заболеваний. Значительные изменения микробиоты обнаружены и у больных болезнью Крона – хронического воспалительного заболевания пищеварительного тракта неясной этиологии.

Люди, склонные к худобе, а также обладающие избыточным весом, отличаются по составу микробиоты. Введение лабораторным мышам, не имеющим своей микрофлоры, бактерий, выделенных у таких людей, приводило у животных к формированию специфических микробных сообществ, обеспечивающих животным, соответственно, похудание или набор массы тела.

Экспериментально доказано, что нарушения функций микробиома кишечника могут влиять и на функции мозга, вызывать беспокойство, нарушение сна и даже приводить к аутизм-специфическим нарушениям.

В настоящее время комплексные препараты микроорганизмов уже начали применять в клинике, пока лишь для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта, не поддающихся терапии антибиотиками. Например, только в США ежегодно от тяжелого заболевания, вызванного антибиотикоустойчивыми штаммами широко распространенной бактерии *Clostridium difficile*, погибает около 14 тыс. человек. В этом случае поразительно эффективным оказывается корректировка бактериальной флоры больных путем введения в кишечник пациентов «фекальных трансплантатов» от здоровых людей. В большинстве случаев такая необычная терапия приводила к немедленному излечению.

Несомненно, в самое ближайшее время нас ждет продолжение фейерверка открытий в области микробиологии, которые позволят еще глубже понять весь спектр взаимодействий микробов с организмом человека и создать новые средства терапии и профилактики заболеваний.

Незримый кукловод

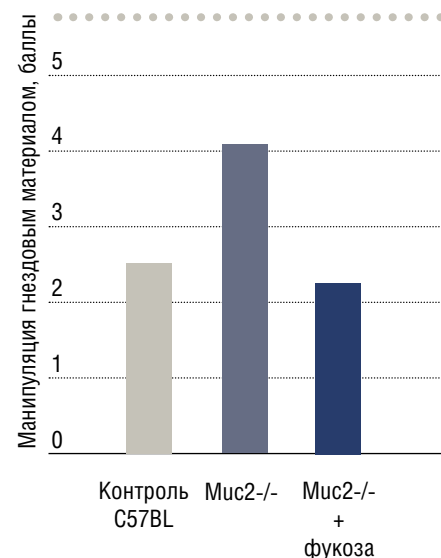
Основанием для включения в десятку научных прорывов 2013 г. результатов изучения взаимодействия микробиома со своим многоклеточным хозяином послужил ряд экспериментов на лабораторных животных, в которых доказывалась ключевая роль кишечной микрофлоры в развитии неинфекционных заболеваний, таких как камни в почках, рак печени, ожирение и синдром Квашиоркор (тяжелая белково-энергетическая недостаточность). Более того, было показано, что экспериментальные изменения взаимоотношений иммуноэндокринных систем кишечника с микрофлорой, его заселяющей, приводят к таким же отклонениям в поведении подопытных животных, какие наблюдаются при психических расстройствах аутистического спектра.

Нужно отметить, что оригинальные по методическому подходу исследования роли кишечного микробиома в модуляции поведения лабораторных мышей ведутся в Центре генетических ресурсов лабораторных животных, сформированном на базе ЦКП «SPF-виварий»



МОШКИН Михаил Павлович – доктор биологических наук, профессор, заведующий отделом генофондов экспериментальных животных, научный руководитель ЦКП «SPF-виварий» Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск). Автор и соавтор более 200 научных работ, в том числе 1 монографии

© М.П. Мошкин, 2014



Список выдающихся научных достижений 2013 г., по версии «Science», убедительно показал не только неоспоримую актуальность биологических и биомедицинских исследований, но и важность их инфраструктурного обеспечения, в том числе огромную роль лабораторных животных, которые были использованы в семи из десяти лучших работ на разных этапах их выполнения. Для проведения подобных работ требуются животные, содержащиеся в условиях отсутствия патогенов – микроорганизмов, вызывающих инфекционные заболевания. В частности, именно такой SPF-формат (Specific Pathogen Free) установлен во всем мире для проведения доклинических испытаний лекарственных препаратов. В России имеется всего шесть таких SPF-вивариев, в том числе при ИЦГ СО РАН (Новосибирск), на основе которого создан первый в стране Российский национальный центр генетических ресурсов лабораторных животных в формате Центра коллективного пользования



Лабораторные мыши, нокаутные по гену *Muc2*, т. е. с выраженным дефицитом кишечного муцина, характеризуются рядом фенотипических особенностей по сравнению с контрольными животными. Так, среди самцов этой линии отмечено поведение, характерное для невроза навязчивых состояний, выражающееся в росте манипуляций гнездовым материалом (справа); к «нетрадиционному половому поведению» (садки с самцом-интродером), а также высокая смертность от антибиотиков, достигающая 60%. Все эти эффекты снимаются добавлением в рацион животных одного из компонентов муцина – сахара фукозы, являющегося субстратом для питания кишечных микроорганизмов. Фото Е. Завьялова

Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск). Суть этого подхода заключается в изучении поведенческих и физиологических эффектов, обусловленных первичными изменениями кишечной микрофлоры. Начать эти работы удалось благодаря линии лабораторных мышей с нокаутом («выключением») по гену кишечного муцина (*Muc2*-/-), которые были получены из московского Центра «Биоинженерии» РАН.

Муцин – это высокомолекулярный гликопротеин из семейства мукопротеинов, который участвует в формировании слизистой стенки кишечника. Он не только выполняет защитную барьерную функцию, но и обеспечивает питание некоторым видам бактерий за счет входящих в его состав сахаров, таких как фукоза. Эксперименты показали, что у мышей *Muc2*-/-, у которых муцин не вырабатывается, наряду с изменениями микрофлоры наблюдаются существенные отклонения в социальном поведении. Оказалось, что оба этих показателя удается нормализовать при кормлении мышей фукозой.

Хотя эти работы находятся пока на начальной стадии, уже сейчас можно предполагать, что у них есть шансы послужить толчком к разработке «правильного кефира» для пациентов, у которых отклонения в психике сочетаются с нарушениями структуры и функции кишечника.



НЕТЁСОВ Сергей Викторович – член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, профессор, проректор НГУ по научной работе. Лауреат премий Правительства РФ (1998, 2006). Член Российского Общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов, Американского общества вирусологов, Американского и Европейского обществ по биобезопасности. Автор и соавтор более 380 научных публикаций

Вакцина от РСВ-инфекции

Каждый год в мире госпитализируются миллионы детей с заболеваниями легких, вызванными респираторно-синцитиальным вирусом (РСВ), и до 160 тыс. детей погибает в результате развития вызванных им тяжелых пневмоний. В десятку научных прорывов 2013 г. по версии «Science» попали исследования в области структурной молекулярной биологии, целью которых является создание профилактической вакцины от этого вирусного заболевания. Через полтора года исследователи планируют получить препарат, пригодный для клинических испытаний

В России каждый год регистрируется 25–31 млн случаев инфекций дыхательных путей, а еще около 10 млн остаются, судя по всему, неучтенными, потому что в случаях «легкой простуды» больные к врачу обычно не обращаются. Этот самый массовый тип заболеваний вызывается преимущественно вирусами из семейств пикорнавирусов (риновирусами и энтеровирусами), парамиксовирусами, коронавирусами, аденовирусами, парвовирусами, а также бактериями.

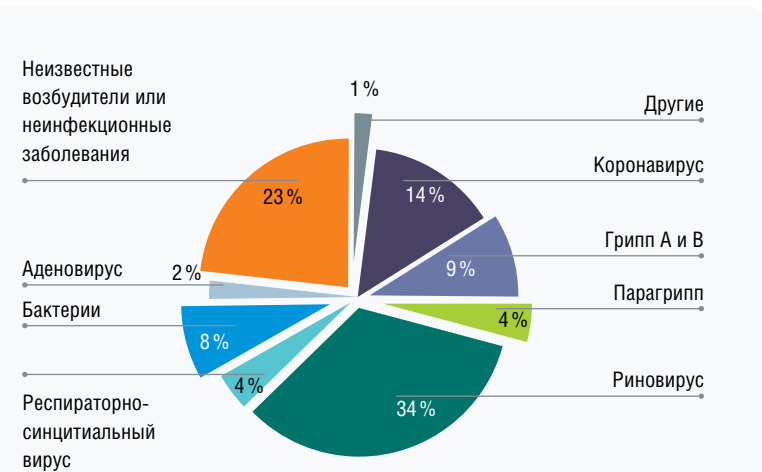
Нужно отметить, что именно вирусы являются непосредственной причиной более 70% всех респираторных инфекций, а бактерии нередко продолжают начатое вирусами дело, становясь причинами вторичных, уже бактериальных инфекций. При этом единственной вирусной респираторной инфекцией, против которой разработаны вакцины, остается пока вирус гриппа.

Судя же по данным медицинской статистики, главной причиной острых респираторных инфекций являются риновирусы. Но так как они вызывают заболевания с относительно легким протеканием и продолжительностью не более 2–5 дней, то их просто терпят как небольшое, пусть и неизбежное, зло. Да и серотипов этих вирусов существует множество, поэтому затраты на соответствующую вакцину будут весьма значительными, а защититься от всех просто невозможно.

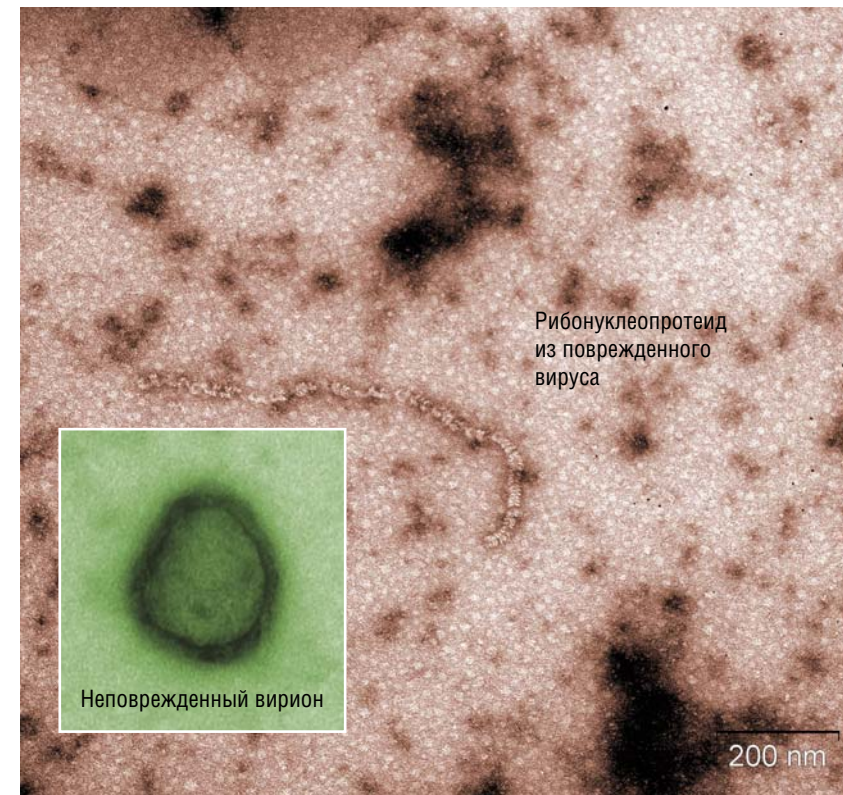
Этиология респираторных заболеваний, вызываемых вирусами и бактериями. Данные по городу Текамси, штат Мичиган, США (по: Monto, 2002)

Ключевые слова: РСВ-инфекция, вакцина, вирус, ОРВИ.
Key words: RSV-infection, vaccine, virus, ARVI

© С.В. Нетесов, 2014



Респираторно-синцитиальный вирус – инфекционный агент, вызывающий тяжелые респираторные заболевания у взрослых и детей. Просвечивающая электронная микроскопия. Фото Е. Рябчиковой (ИХБФМ СО РАН, Новосибирск)



Среди остальных вирусов, вызывающих ОРВИ, выделяется респираторно-синцитиальный вирус (РСВ). У взрослых и детей старшего возраста он вызывает поражения дыхательного тракта, проявляющиеся ринофарингитом, бронхитом и пневмонией, но особенно опасен он для детей младшего возраста, у которых поражение вирусом нижних дыхательных путей может заканчиваться летальным исходом.

Сейчас в профилактических целях для детей с высоким риском заражения РСВ используют препарат «Palivizumab», созданный на основе моноклональных антител – белков-иммуноглобулинов, способных связываться только с одним антигеном инфекционного агента (в данном случае – с участком вирусного F-белка, который способствует слиянию оболочки вируса с мембраной клетки). Однако для профилактики заболевания этот препарат должен использоваться неоднократно, при том что цена его высока.

С помощью подходов структурной биологии исследователям удалось детально изучить особенности процесса слияния вируса с клетками в течение инфекционного процесса и обнаружить наиболее «уязвимый» участок на молекуле F-белка (Cohen *et al.*, 2013).

В результате был создан модифицированный аналог этого белка, который может служить в качестве мощного иммуногена, основного ингредиента профилактической вакцины. И действительно, введение этого белка

лабораторным животным стимулировало выработку в их организмах сильнодействующих антител, намного более эффективных, чем «Palivizumab».

Результаты этих исследований дают основания надеяться, что вакцина против РСВ будет в ближайшее время разработана и внедрена в практику, в том числе и у нас в стране. Ведь, к примеру, в том же Новосибирске, по данным Е.И. Сергеевой из ГНЦ вирусологии, и биотехнологии «Вектор» (Кольцово, Новосибирская обл.), респираторно-синцитиальный вирус вызывает, до 7% всех заболеваний ОРВИ.

В заключение отметим, что за последнее десятилетие стали известны еще два новых типа возбудителей ОРВИ: метапневмовирусы и бокавирусы. Так, среди детей, госпитализированных в стационары Москвы за период 2003–2009 гг. с тяжелыми респираторными заболеваниями, свыше четверти было инфицировано именно этими вирусами (Козулина, 2010).

При этом наиболее восприимчивыми к метапневмовирусу оказались дети грудного возраста, а к бокавирусу – двух первых лет жизни. Очевидно, эти два возбудителя ОРВИ наравне с респираторно-синцитиальным вирусом должны стать объектом интенсивных исследований, направленных на создание безопасных и эффективных профилактических вакцин.

В. В. ВЛАСОВ, Д. В. ПЫШНЫЙ, М. А. ЗЕНКОВА, П. Е. ВОРОБЬЕВ

КОМПЛЕМЕНТАРНЫЕ ЗДОРОВЬЮ

ПРОШЛОЕ, НАСТОЯЩЕЕ И БУДУЩЕЕ АНТИСМЫСЛОВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Мечтой фармакологов и медиков всех времен было создание веществ с избирательной токсичностью, которые были бы способны напрямую инактивировать инфекционный агент (бактерии и вирусы) или уничтожить раковую клетку, не принося вреда организму человека. Казалось естественным в качестве мишеней для таких веществ выбирать белки, важные для жизнедеятельности вируса, бактерии или раковой клетки, которые не присутствуют в здоровых клетках человека. Однако несмотря на правильную постановку вопроса, эффективных технологий, позволяющих решить эту задачу, до сих пор не создано. Исследования сибирских ученых, начатые еще в 60-х гг. прошлого века и намного опередившие свое время, привели к созданию принципиально нового направления в фармакологии, главным объектом которого стали нуклеиновые кислоты, т. е. непосредственные носители наследственной информации

На сегодняшний день лекарственные препараты, являющиеся специфическими ингибиторами белков инфекционных агентов или клеток злокачественной опухоли, удалось получить лишь в некоторых случаях и по подсказке природы. Так, для избирательного взаимодействия с определенными белками-ферментами используют искусственные аналоги их субстратов, а для воздействия на раковые клетки – антитела к белкам, находящимся на их поверхности.

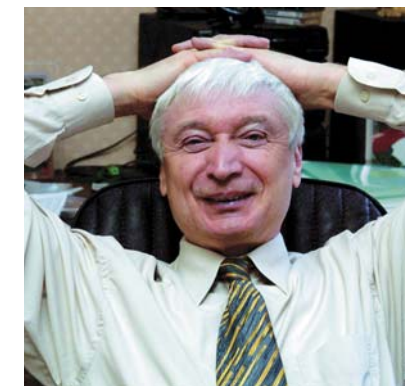
Однако к вопросу создания избирательных препаратов можно подойти с другой стороны. Ведь все белки «изготавливаются» на основе соответствующих генетических программ, и если смотреть в корень проблемы, то становится ясно, что именно эти «предшественники» являются идеальными терапевтическими мишенями.

Наследственная информация живых организмов «записана» в последовательности особых природных полимеров – нуклеиновых кислот, дезоксирибонуклеиновой (ДНК) и рибонуклеиновой (РНК). Геномы вирусов и бактерий содержат гены, характерные только для этих организмов. В генах опухолевых клеток имеются мутации, ответственные за их злокачественное перерождение и биохимические нарушения, которые не встречаются в генах нормальных клеток. Именно эти уникальные нуклеотидные последовательности могут быть целевыми объектами для воздействия избирательными лекарственными средствами.

Ключевые слова: антисмысловые олигонуклеотиды, антисмысловые технологии, терапевтические нуклеиновые кислоты.

Key words: antisense oligonucleotides, antisense technologies, therapeutic nucleic acids

ВЛАСОВ Валентин Викторович – академик РАН, председатель Объединенного ученого совета СО РАН по биологическим наукам, директор Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск), заведующий кафедрой молекулярной биологии Новосибирского государственного университета. Лауреат Государственной премии РФ (1999). Автор и соавтор более 460 научных работ и 29 патентов



ПЫШНЫЙ Дмитрий Владимирович – доктор химических наук, заместитель директора по научной работе, заведующий лабораторией бионанотехнологии Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск). Автор и соавтор более 140 научных работ и 10 патентов



ЗЕНКОВА Марина Аркадьевна – доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией биохимии нуклеиновых кислот Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск). Автор и соавтор более 180 научных работ и 12 патентов



ВОРОБЬЕВ Павел Евгеньевич – кандидат химических наук, научный сотрудник лаборатории бионанотехнологии Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск), доцент кафедры молекулярной биологии Новосибирского государственного университета. Автор и соавтор более 20 научных работ



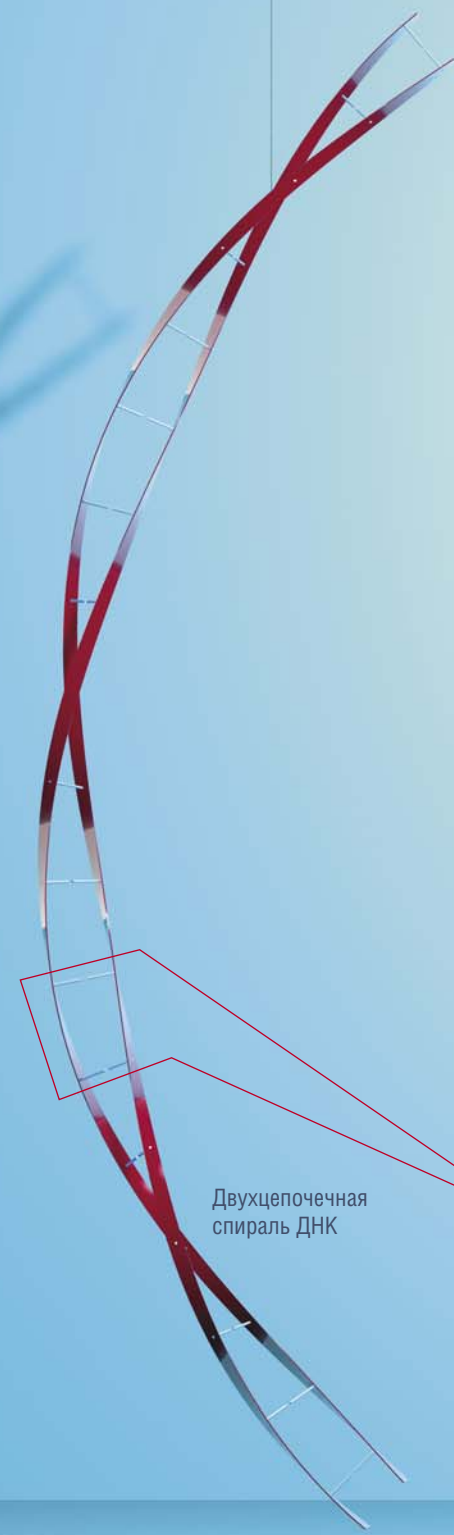
Работу по направленному воздействию на генетические мишени – ДНК и РНК – начала в 1960-е гг. группа химиков и биологов под руководством Д. Г. Кнорре, работавшая в лаборатории природных полимеров (впоследствии – отдел биохимии) Института органической химии СО АН (Новосибирск). Основополагающая идея, сформулированная старшим научным сотрудником лаборатории Н. И. Гриневой, состояла в использовании для этой цели *олигонуклеотидов* – фрагментов нуклеиновых кислот, способных образовывать специфические комплексы с комплементарными им нуклеотидными последовательностями.

На старте

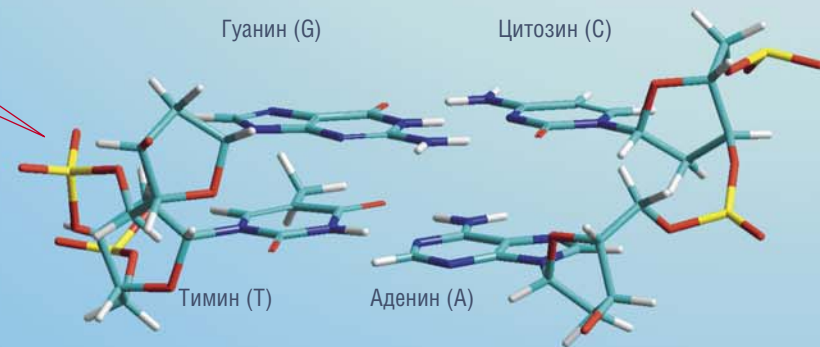
Если в биологическую систему, в которой имеется множество (обычно миллионы) молекул разных нуклеиновых кислот, добавить олигонуклеотид, то он образует комплекс только с той нуклеиновой кислотой, в которой имеется комплементарная ему последовательность. Способность узнавать определенные нуклеотидные последовательности означает и способность узнавать гены, поскольку в каждом гене можно найти уникальные, только в нем присутствующие последовательности нуклеотидов.

Даже в таком огромном геноме, как геном человека, последовательность из двадцати нуклеотидов статистически встречается только один раз. То есть такой последовательности в принципе достаточно, чтобы избирательно воздействовать на гены человека, а для воздействия на геномы вирусов

Двухцепочечные молекулы ДНК и РНК формируются благодаря взаимодействию пар нуклеотидов, способных к взаимному узнаванию и образованию комплексов за счет формирования водородных связей. Это свойство называется КОМПЛЕМЕНТАРНОСТЬЮ. Комплементарны друг другу нуклеотиды гуанин и цитозин, аденин и тимин (в состав РНК вместо тимина входит урацил). Нуклеотидная цепочка «узнает» комплементарную себе цепочку и связывается с ней путем образования пар между отдельными нуклеотидами



Двухцепочечная спираль ДНК



и бактерий требуются более короткие (12–15-звенные) олигонуклеотиды.

С технической точки зрения, для реализации идеи Н. И. Гриневой требовалось найти уникальную последовательность нуклеотидов в целевой нуклеиновой кислоте, на которую нужно было воздействовать, и синтезировать олигонуклеотид, комплементарный этому участку. В наши дни это не является проблемой, однако для тех времен идея выглядела поистине фантастической: синтезировать олигонуклеотиды тогда еще только учились, поэтому они были за пределами дороги и доступны лишь в очень небольших количествах.

К тому же тогда не существовало еще эффективных методов *секвенирования* (определения последовательности) нуклеиновых кислот. Никто не мог уверенно предсказать, что возможность быстрой расшифровки структуры генов и, соответственно, поиска генных мишеней, появится в ближайшее столетие.

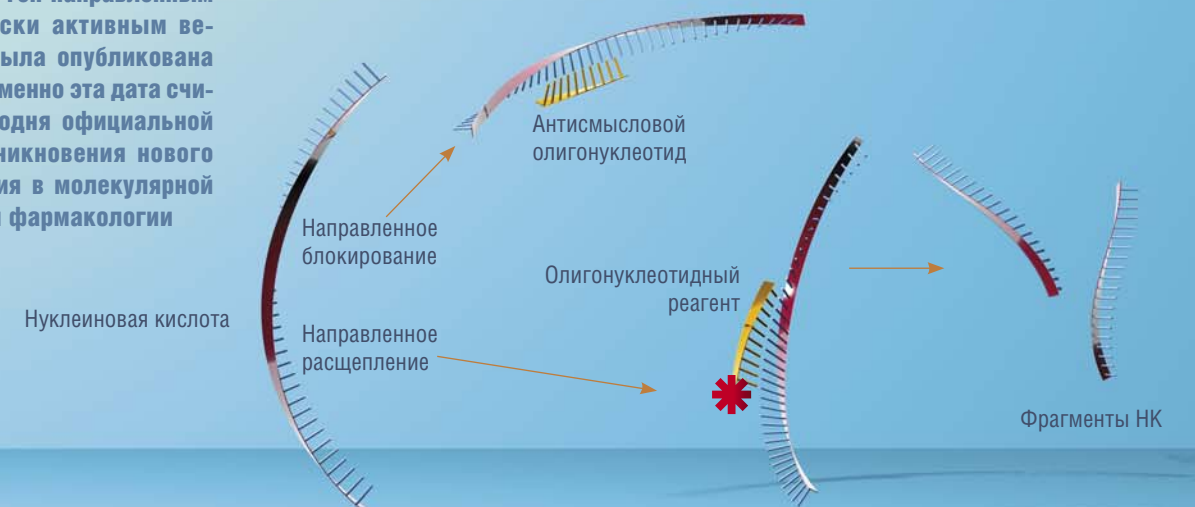
Однако все эти соображения не стали препятствием необычайному по смелости проекту (нигде в мире в то время подобные работы даже не планировались!), который начала небольшая группа молодых сотрудников и аспирантов института и студентов НГУ. Знания, воля к победе, эффективное планирование и широкое междисциплинарное сотрудничество позволили исследователям быстро продвинуться вперед. Были разработаны технологии синтеза и организовано производство веществ, необходимых для создания фрагментов нуклеиновых кислот. А благодаря созданию методов химической модификации нуклеиновых кислот появилась возможность присоединять к олигонуклеотидам различные химические группы.

В фундаментальных работах сибирские исследователи показали принципиальную возможность направленного воздействия на нуклеиновые кислоты с помощью олигонуклеотидов, снабженных реакционноспособными группами, которые «работают» в точно заданных участках молекулы-мишени.

При исследовании взаимодействия олигонуклеотидов с живыми клетками было обнаружено, что их можно вводить в организм неповреждающими методами – через кожу и слизистые оболочки. Были идентифицированы белки крови и рецепторы на поверхности клеток, способные захватывать нуклеиновые кислоты. Наконец,

Присоединение химической реакционноспособной группы к олигонуклеотиду превращает его в препарат направленного действия. За счет олигонуклеотидной части структуры он избирательно связывается с определенным участком нуклеиновой кислоты, а присоединенная химическая группа, в зависимости от ее природы, отвечает за разрушение этой нуклеиновой кислоты или за внесение в нее химического изменения. Немодифицированный олигонуклеотид, связавшись с нуклеиновой кислотой, также может оказывать воздействие на ее функции. Например, образовывать с мРНК, представляющей собой «матрицу» для построения белка, такие прочные комплексы, что синтез белка с этой мРНК полностью подавляется. Олигонуклеотиды могут воздействовать как на одноцепочечные нуклеиновые кислоты (РНК), так и на двухцепочечную геномную ДНК, расплетая ее двойную спираль или образуя комплексы из трех цепей

Первая работа по олигонуклеотидам – ген-направленным биологически активным веществам была опубликована в 1967 г. Именно эта дата считается сегодня официальной датой возникновения нового направления в молекулярной биологии и фармакологии





Новое направление в фармакологии обязано своим появлением небольшой группе молодых сибирских исследователей, в которую входили сотрудники и аспиранты Института органической химии СО АН СССР (Новосибирск) и студенты Новосибирского государственного университета. Автор идеи комплементарно-адресованной модификации нуклеиновых кислот, Н. И. Гринева, в 1960 г. была принята старшим научным сотрудником в лабораторию природных полимеров института (впоследствии – отдел биохимии), руководителем которой был приглашен Д. Г. Кнорре. За создание основ адресованной модификации генетических структур Кнорре и Гринева в 1991 г. были удостоены Ленинской премии в области науки и техники
 На фото – коллектив лаборатории природных полимеров НИОХ СО АН СССР (1964 г.). В первом ряду: Д. Г. Кнорре (в центре), Н. И. Гринева (крайняя слева), аспирантка А. М. Беликова (крайняя справа)

была доказана терапевтическая эффективность олигонуклеотидных реагентов, т. е. их способность подавлять размножение вирусов в клетках и, соответственно, развитие вирусной инфекции у животных.

Лекарства «со смыслом»

Первые публикации сибирских исследователей, посвященные потенциальным ген-направленным препаратам и биологическим эффектам, вызываемым олигонуклеотидами, вызвали огромный интерес у специалистов. После проведения в 1988 г. в Новосибирском Академгородке первого в мире симпозиума по этой теме, на который собрались химики и биологи из самых известных зарубежных лабораторий, в работу по «олигонуклеотидной» тематике включились ученые США и Франции, а затем и других стран.

Американцы, поднаторевшие в рекламе, стали называть терапевтические олигонуклеотиды *антисмысловыми*, а технологии работы с ними – *антисмысловыми технологиями*. Это странное, на первый взгляд, назва-

ние появилось потому, что основными мишенями для олигонуклеотидов в то время были матричные РНК, нуклеотидная последовательность которых соответствует *смысловому* (т. е. кодирующему белок) участку цепи ДНК. Поэтому комплементарные им олигонуклеотиды, блокирующие синтез белка, имеют «антисмысловую» последовательность.

Поданная таким образом идея антисмысловых технологий выглядела просто и красиво, ее можно было легко донести до представителей власти и бизнеса. За технологиями на основе олигонуклеотидов вырисовывалось большое будущее, поскольку специфические препараты для защиты от различных вирусов или уничтожения раковых опухолей можно было быстро разработать и производить по универсальной технологии. Для этого требовалось только расшифровать структуру генов-мишеней, что в то время было уже вполне реальным делом.

В 1987 г. президент США Р. Рейган лично посетил лабораторию в американском Национальном институте рака, где была продемонстрирована противовирусная активность олигонуклеотидов в отношении вируса иммунодефицита человека. Механизм этой активности был позднее раскрыт в совместных работах сибирских ученых и их американских коллег.

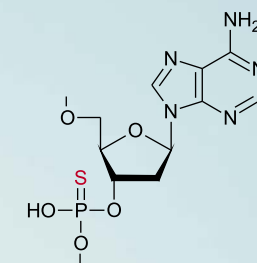
В разных странах, в основном в США, были основаны десятки крупных компаний, которые стали разрабатывать различные варианты олигонуклеотидных производных, направленные, в первую очередь, на вирусные РНК и специфические РНК опухолевых клеток. Журналы пестрели статьями, где описывались успешные эксперименты; на научных и медицинских конференциях представители фирм рассказывали о препаратах, уже готовых для испытаний в клинике.

Казалось, волшебные лекарства вот-вот хлынут к страдающим пациентам, однако несмотря на огромный объем проведенных исследований, быстрой победы не получилось. Слишком масштабны оказались химические задачи по синтезу пригодных для терапии олигонуклеотидов, слишком широкие биологические исследования требовалось провести, чтобы понять процессы, запускаемые этими веществами в клетках.

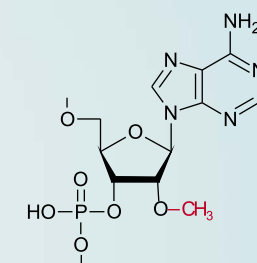
Наиболее широко в настоящее время применяются аналоги олигонуклеотидов с различными модификациями рибозофосфатного скелета. Именно такие модификации регулируют специфичность формирования комплементарных комплексов с целевой ДНК, повышают устойчивость олигонуклеотидов к гидролизу нуклеазами, не увеличивая их токсичность.

Среди таких аналогов можно выделить:

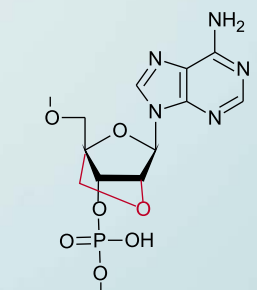
- а – тио-аналоги, отличающиеся от природных нуклеиновых кислот лишь заменой одного из атомов кислорода в каждой фосфатной группе на атом серы;
- б – аналоги, содержащие 2'-модифицированные остатки рибозы, в которых гидроксильная группа чаще всего метилирована либо заменена на атом фтора;
- в – LNA-аналоги с сахарофосфатным остовом, структура которых стабилизирована метиленовым или этиленовым мостиком, разработаны в компании «Эксикон» (Дания) бывшим сотрудником ИХБФМ СО РАН А. Кошкиным;
- г – пептидо-нуклеиновые кислоты, в которых сахарофосфатный остов заменен полиамидным;
- д – морфолино, в которых азотистые основания связаны со скелетом, состоящим из остатков морфолина, чередующихся с диметиламидофосфатной группой.



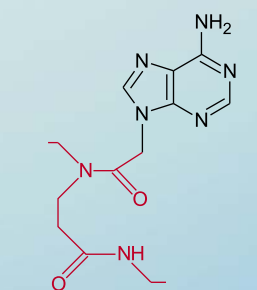
а Тио-ДНК



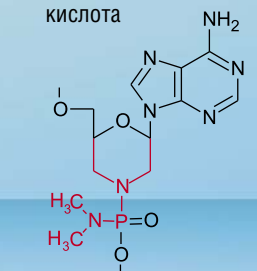
б 2'-O-метил-РНК



в LNA



г Пептидо-нуклеиновая кислота



д Морфолино

Сенсационные сообщения появлялись все реже, и энтузиазм стал убывать. Маленькие фирмы сошли со сцены, однако крупные фирмы и академические лаборатории продолжили, уже без рекламной шумихи, систематические исследования, шаг за шагом развивая химию и биологию нуклеиновых кислот.

Мир РНК

Исследуя структуру и функции клеточных РНК, ученые открывали все новые и новые процессы, протекающие в клетках под воздействием олигонуклеотидов. Оказалось, что образование комплексов олигонуклеотидов с РНК уже само по себе оказывает большое воздействие на функции последних, а также может приводить к разрушению РНК ферментами клетки, такими как РНКазы.

Так, связывание олигонуклеотида с мРНК в месте инициации синтеза белка останавливает процесс трансляции. А некоторые химически модифицированные аналоги олигонуклеотидов образуют с РНК такие прочные комплексы, которые могут блокировать продвижение рибосом по матричной РНК и таким образом полностью подавлять синтез белка. Выяснилось также,

что олигонуклеотиды способны связываться не только с РНК, но и образовывать специфические комплексы с некоторыми белками, влияя на множество внутриклеточных процессов.

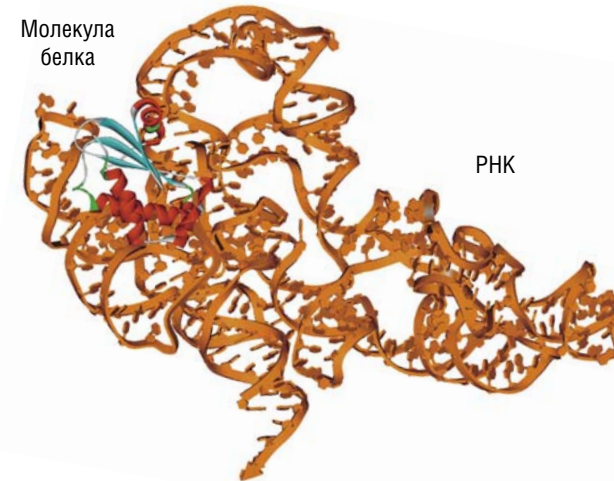
Дальнейшее совершенствование методов изучения биополимеров, в том числе взрывное развитие технологий секвенирования ДНК, способствовало стремительному накоплению знаний в области молекулярной и клеточной биологии. Были расшифрованы геномы человека и практически всех известных инфекционных агентов, вирусов и бактерий; открыт ряд мутаций и хромосомных перестроек, связанных с онкологической трансформацией клеток. Произошла и переоценка роли РНК в живых системах: оказалось, что именно эти молекулярные структуры обеспечивают основные регуляторные функции в клетках и, соответственно, вовлекаются в развитие различных патологических процессов.

Одним из наиболее удивительных открытий стали *рибозимы* – молекулы РНК с характерной вторичной и третичной структурой, обладающие, подобно белкам, свойствами *ферментов*, т.е. способностью катализировать протекание химических реакций. Почти все обнаруженные в природе рибозимы являются *рибонук-*

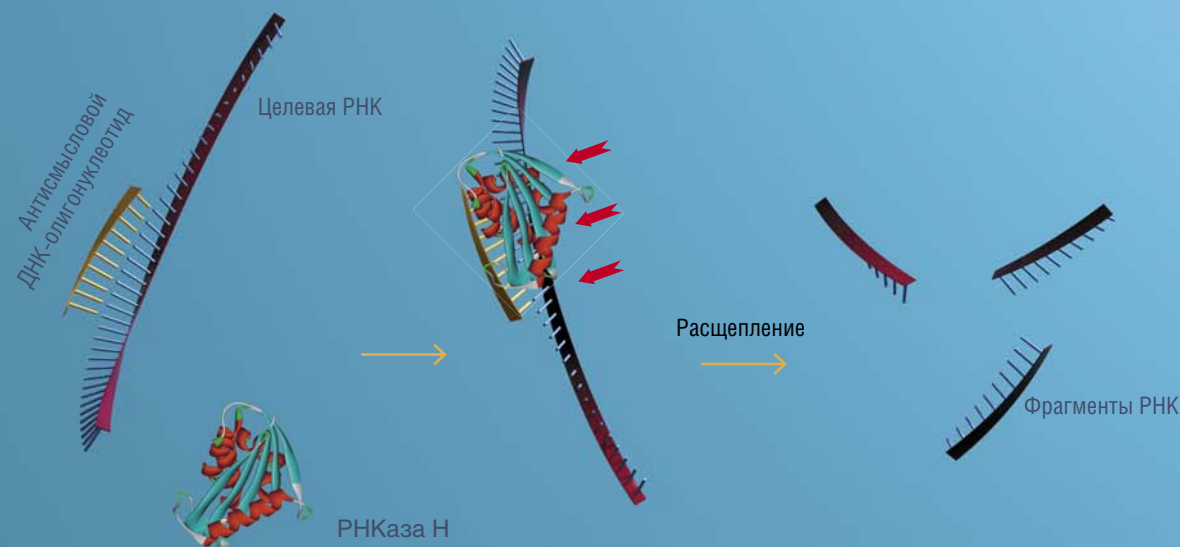
леазами – ферментами, разрушающими РНК: они, как правило, участвуют в процессах созревания матричной РНК. Если фрагменты каталитического ядра подобных рибозимов встроить в синтетические олигонуклеотиды, то такая конструкция будет по принципу комплементарности связываться с РНК-мишенью и расщеплять ее. Позднее методами молекулярной селекции были созданы ДНКзимы, также способные расщеплять РНК. Но исследователей ждало еще более поразительное открытие: выяснилось, что механизм, предложенный теоретиками для воздействия на генетические программы, уже давно используется природой.

Например, чрезвычайно мощным средством подавления экспрессии генов оказались так называемые *малые интерферирующие РНК* (siРНК). Они образуются при фрагментировании длинных двухцепочечных или коротких шпильчатых РНК, нуклеотидная последовательность которых комплементарна определенной матричной РНК. Связываясь с такой мРНК, siРНК запускают действие ферментативного механизма, разрушающего целевую молекулу.

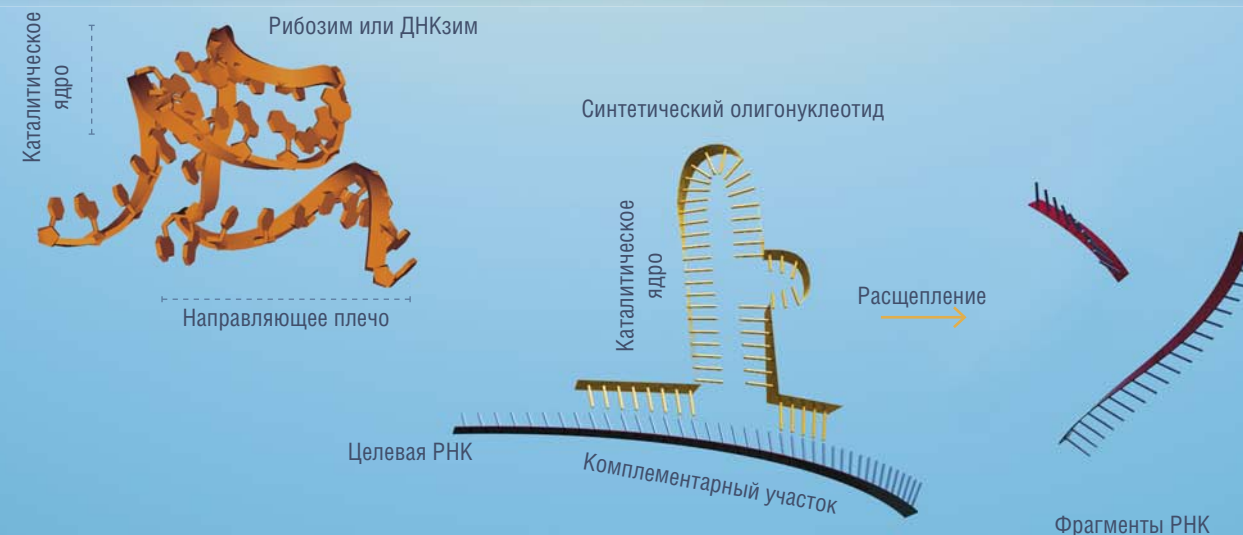
За расшифровку процесса *РНК-интерференции*, которая, по сути, сама по себе является «антисмысловой



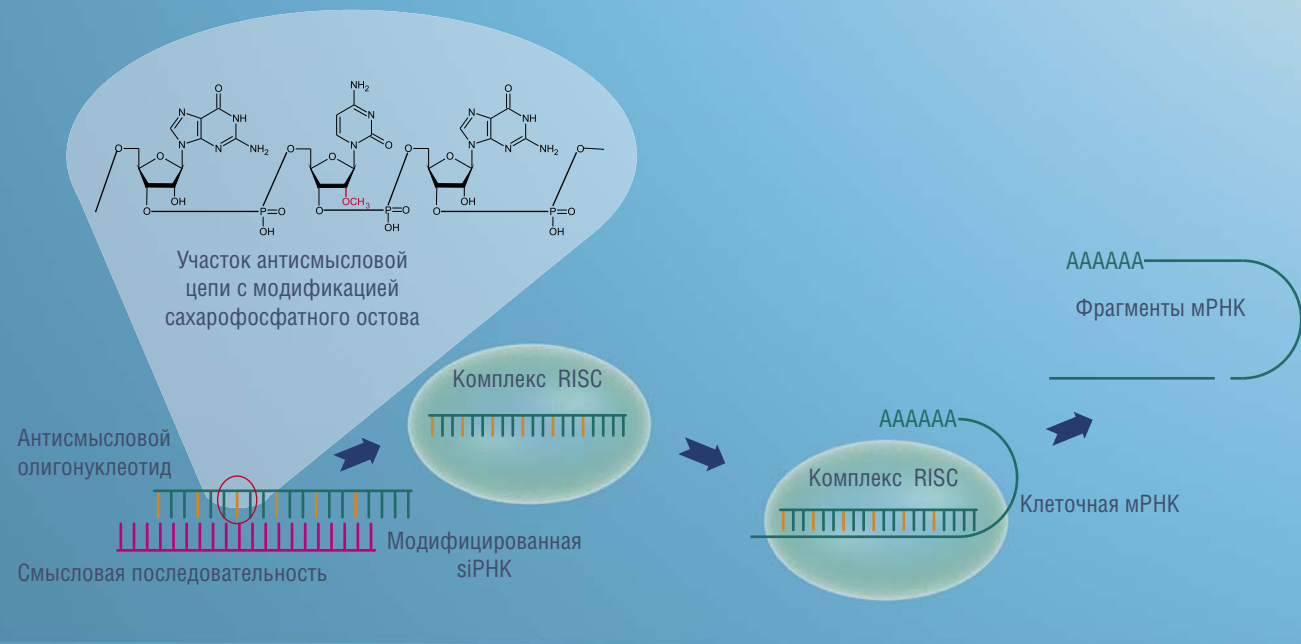
Рибозимы – молекулы РНК, обладающие свойствами фермента, могут функционировать самостоятельно или в комплексе с одной или несколькими молекулами белка. Фермент рибонуклеаза Р (РНКаза Р) отщепляет фрагмент РНК в процессе созревания транспортных РНК бактерий и ряда некодирующих РНК эукариот



Подавить экспрессию генов можно с помощью рибонуклеаз – ферментов, разрушающих РНК. Например, рибонуклеазы Н (РНКазы Н) – природного фермента, который участвует в процессе репликации (удвоении) ДНК во время клеточного деления. Этот фермент способен узнавать и расщеплять цепь РНК в составе гибридных РНК-ДНК дуплексов. Но такой гибридный дуплекс может быть образован мРНК и комплементарным ей антисмысловым олигонуклеотидом. В этом случае фермент будет разрушать мРНК в области ее контакта с антисмысловой цепью ДНК или ее наиболее близких по структуре аналогов



С помощью природных и искусственных рибозимов или ДНКзимов можно осуществлять расщепление РНК в определенном участке. Каталитические нуклеиновые кислоты, применяемые для этой цели, обладают сходным строением. В их структуре выделяется каталитическое ядро – фрагмент вторичной и третичной структуры, ответственный за расщепление молекулы-мишени. Ядро заключено между участками последовательности (направляющими плечами), которые специфично связываются с РНК и направляют на нее действие фермента. Фрагменты такого каталитического ядра можно встроить в синтетические олигонуклеотиды. Подобная конструкция будет по принципу комплементарности связываться с мишенью и расщеплять ее



Чрезвычайно эффективным механизмом подавления экспрессии генов является РНК-интерференция, которая запускается в клетке длинными двухцепочечными РНК, характерными для вирусов. Система клеточных белков превращает эту РНК в набор коротких фрагментов – siРНК, образующих с клеточными белками комплекс RISC. В составе этого комплекса цепи siРНК расплетаются, и смысловая цепь удаляется. С помощью антисмысловой цепи RISC «узнает» матричную РНК, комплементарно связывается с ней и разрезает ее. Такая мРНК быстро разрушается, и белок, последовательность которого кодируется данной мРНК, не синтезируется. siРНК могут быть искусственно синтезированы и доставлены в клетку для подавления активности определенного гена, например, гена *her2*, проявляющего гиперэкспрессию при раке молочной железы (вверху). При этом модификация нуклеотидов увеличивает стабильность и время жизни образовавшихся комплексов

технологией», американские ученые А. З. Файер и К. С. Мелло были удостоены в 2006 г. Нобелевской премии. И, конечно, siРНК могут быть синтезированы искусственно и доставлены в клетку в качестве ген-направленных препаратов.

Нужно подчеркнуть, что регулировать экспрессию генов с помощью олигонуклеотидов можно на различных уровнях. Антисмысловые олигонуклеотиды, комплементарные последовательности мРНК, подавляют экспрессию генов на стадии трансляции. Однако в последние годы внимание исследователей все больше привлекают некодирующие РНК, в том числе так называемые *микроРНК*, играющие роль регуляторов работы генов.

В этом смысле такие РНК вовлечены практически во все процессы жизнедеятельности организма, в том числе клеточную дифференцировку, канцерогенез и т.п. Именно эти РНК представляют собой важный современный класс мишеней для антисмысловых технологий.

Круг заболеваний, эффективность лечения которых может быть радикально повышена с помощью подобных препаратов, стремительно расширяется. В их числе – тяжелые вирусные, сердечно-сосудистые и раковые заболевания. В частности, уже вторую стадию клинических испытаний прошел *миравирсен*, препарат против гепатита С, разработанный датской компанией «Santaris Pharma», который представляет собой антисмысловый олигонуклеотид к одной из микроРНК.

Однако в качестве лекарственных препаратов можно использовать не только ингибиторы микроРНК, но и сами эти вещества. Например, в ряде опухолей был обнаружен недостаточный уровень экспрессии определенных микроРНК. В таких случаях можно создать искусственные аналоги этих микроРНК и ввести их в клетку для достижения нужного терапевтического эффекта. Первый подобный препарат для борьбы с гепатокарциномами – MRX34 – разработала и уже вывела на стадию клинических испытаний американская компания «Mirna Therapeutics».

Широким фронтом

В наши дни разработкой и синтезом олигонуклеотидов и их аналогов занимается большой исследовательский и индустриальный сектор экономики. Рынок олигонуклеотидов только для исследовательских целей в прошлом году превысил 700 млн долл. Уже синтезированы десятки новых видов химически модифицированных олигонуклеотидов; созданный на их основе ряд противовирусных и противовоспалительных препаратов проходит клинические испытания, а некоторые из них уже используются в медицинской практике.

Например, препарат *витравин*, созданный компанией «ISIS Pharmaceuticals» (США), применяют для лечения больных цитомегаловирусным ретинитом – это поражение глаз возникает при значительном ослаблении иммунной системы в результате заболевания СПИДом, химиотерапии, трансплантации или приема иммуносупрессоров. Препарат представляет собой химически модифицированный олигонуклеотид (*тио-ДНК*), комплементарный одной из мРНК цитомегаловируса. В начале 2013 г. компания вывела на рынок еще один препарат из этого семейства – *кинагро*, предназначенный для снижения уровня липопротеидов низкой плотности у больных гомозиготной семейной гиперхолестеринемией, редкого, но очень тяжелого заболевания сосудистой системы.

Одним из мировых лидеров в развитии терапии на основе малых интерферирующих РНК является компания «Alnylam Pharmaceuticals» (США). Созданный там препарат *патисиран* предназначен для лечения группы тяжелых наследственных заболеваний, связанных с дефектами гена, кодирующего белок транскретин. Накопление мутантного белка приводит к развитию тяжелых нейропатий и кардиомиопатий, которыми в мире страдают сотни тысяч человек. Патисиран в настоящее время проходит третью (последнюю) стадию клинических испытаний.

Разработаны и успешно проходят клинические испытания и другие препараты на основе siРНК: против вируса гепатита В (разработка компании «Arrowhead Research», США); против аденокарциномы и вирусов Марбург и Эбола (разработки компании «Tekmira», Канада).

В России исследования интерферирующих РНК сейчас ведутся в основном в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск). Здесь разработаны и синтезированы препараты РНК, эффективно блокирующие в раковых клетках экспрессию гена множественной лекарственной устойчивости, который обеспечивает этим клеткам защиту от традиционных противоопухолевых препаратов, а также гена *c-тус*, значимого для размножения опухолевых клеток. На основе полученных результатов

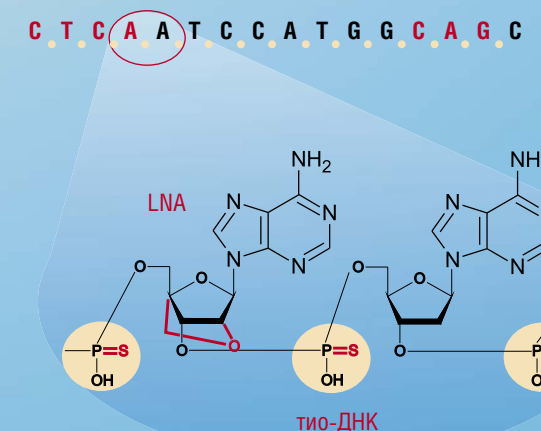
планируется создание принципиально новых средств терапии для лечения различных опухолевых и вирусных заболеваний, а также коррекции широкого спектра биохимических нарушений.

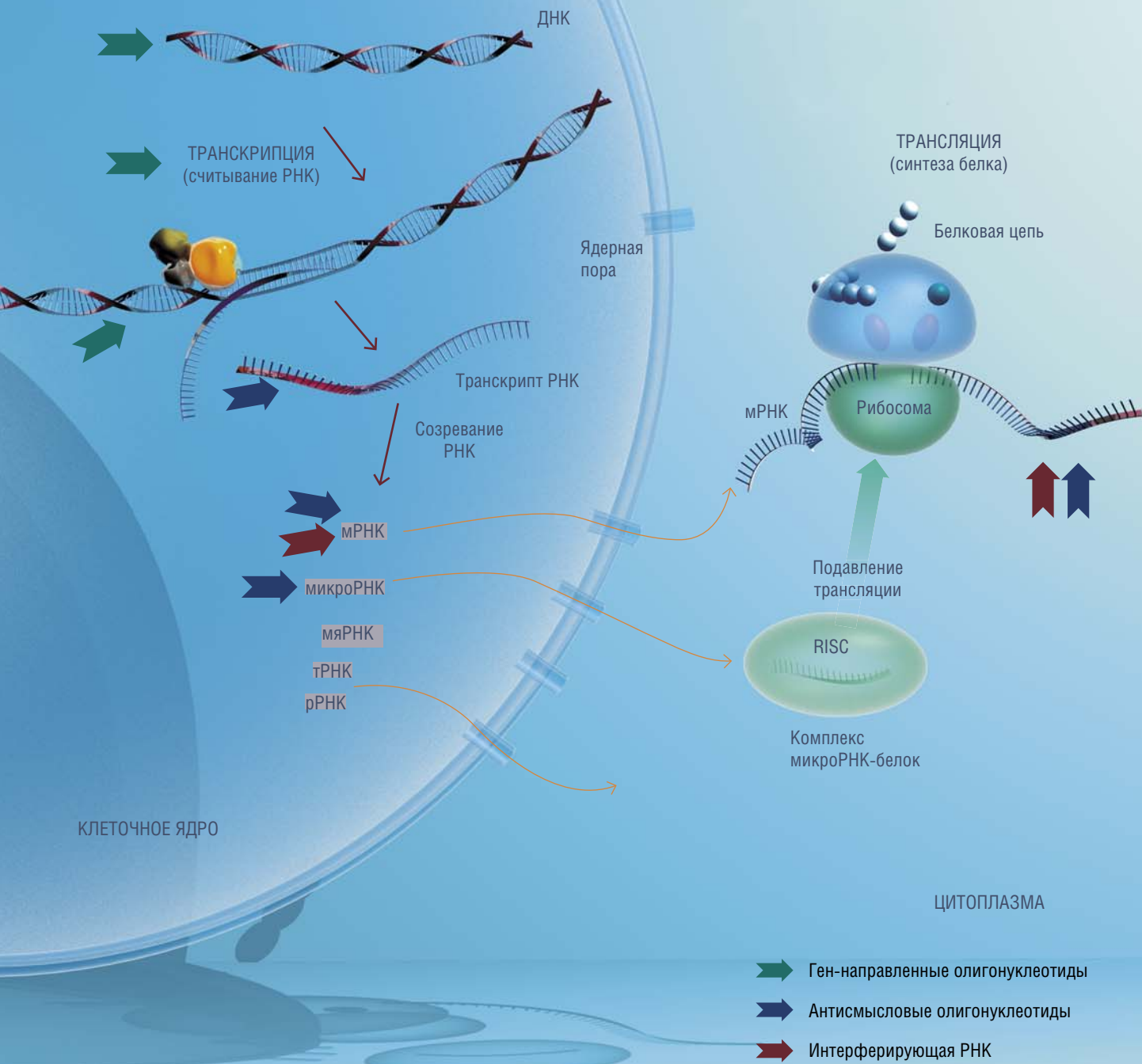
Антисмысловые технологии открывают широкие перспективы и на пути борьбы с бактериальными патогенами. Многолетний опыт использования антибиотиков показал, что бактерии очень быстро приобретают лекарственную устойчивость, и достаточно одной трудной по разработке нового лекарства. При этом у любой бактерии имеются гены, нарушение работы которых немедленно приводит к ее гибели.

Рационально сконструированный препарат на основе антисмысловых олигонуклеотидов, нацеленный на подобный ген, способен уничтожить бактерии, даже если целевой ген будет содержать не одну мутацию, а три. В ИХБФМ СО РАН сейчас реализуется проект по разработке таких препаратов, направленных против различных патогенов. Эти работы ведутся в сотрудничестве с приглашенным специалистом из США, лауреатом Нобелевской премии по химии (1989 г.), профессором С. Альтманом.

Новый препарат EZN-3042 представляет собой химерный ДНК/LNA-олигонуклеотид, направленный на матричную РНК белка сурвивина. Подавление синтеза этого белка значительно снижает жизнестойкость раковых клеток и резко повышает эффективность химиотерапии. На сегодня уже ряд LNA-олигонуклеотидов проходят клинические испытания в качестве препаратов против злокачественных опухолей, нарушений метаболизма и тяжелых наследственных заболеваний

Нуклеотидная последовательность EZN-3042





Регулировать экспрессию генов с помощью антисмысловых олигонуклеотидов можно на разных уровнях, начиная с процесса транскрипции – считывания генетической информации с ДНК на РНК, который происходит в ядре клетки и включает в себя стадию созревания РНК, в результате которой образуется пул молекул РНК с разными функциями (транспортная тРНК, переносящая аминокислоты; рибосомальная рРНК, входящая в состав рибосом, и т.д.), до процесса трансляции – синтеза белка на матричной РНК (мРНК), который происходит в цитоплазме на рибосомах. Все терапевтические олигонуклеотиды традиционно принято подразделять на ген-направленные – их мишенью является геномная ДНК, и на собственно антисмысловые – их мишенью являются РНК. Отдельно выделяют группу олигонуклеотидов, работающих по механизму РНК-интерференции

Опыт последних лет подтвердил плодотворность рожденной в Сибири идеи использования фрагментов нуклеиновых кислот в качестве базовых структур для создания ген-направленных биологически активных веществ. Пожалуй, самое замечательное свойство нуклеиновых кислот – программируемость их свойств. Именно это позволяет при создании лекарственного препарата просто записать его «формулу» в виде последовательности нуклеотидов в соответствии со «смысловой» последовательностью гена-мишени. Способ разработки нового лекарственного препарата, таким образом, становится очень прост и рационален.

В заключение хочется добавить, что вклад нуклеиновых кислот в терапевтический «арсенал» не ограничивается антисмысловыми технологиями. Благодаря все той же программируемости они смогли потеснить классические лекарственные препараты «на их поле».

Подавляющее большинство таких препаратов являются ингибиторами различных клеточных белков: ферментов, рецепторов и регуляторов активности генов. Сегодня с помощью методов молекулярной селекции возможно создавать молекулы нуклеиновых кислот с заданными свойствами, в том числе и способностью блокировать функцию любых белков. Такие ДНК и РНК называют *аптамерами*.

Первый терапевтический аптамер – *макуген* – уже используется в клинической практике для лечения заболеваний сетчатки глаза, а множество других проходят клинические испытания. В их числе – перспективные антикоагулянты, препараты для борьбы с аутоиммунными и онкологическими заболеваниями. С помощью молекулярной селекции можно получить и каталитически активные аптамеры – *аптазимы*, т.е. настоящие «нуклеиновые ферменты». И аптамеры, и аптазимы уже применяются в медицинской диагностике.

Но и этим не ограничивается терапевтический потенциал олигонуклеотидов! Как известно, важной составной частью механизма наследственного иммунитета являются клеточные белки – так называемые *толл-рецепторы*, которые способны специфично узнавать определенные нуклеиновые кислоты, сходные по строению с вирусными. Их взаимодействие запускает в клетке каскад процессов, приводящий к наработке интерферона и активации процессов иммунной защиты в соседних клетках. Поэтому такие РНК и ДНК можно использовать в качестве эффективных иммуностимулирующих средств. Уже сегодня олигонуклеотиды, содержащие соответствующие нуклеотидные последовательности, добавляют к обычным вакцинам для усиления их действия.

Повысить эффективность противоопухолевой терапии раковых заболеваний помогут короткие двухцепочечные

ДНК. Дело в том, что такая терапия интенсивно повреждает геномную ДНК раковых клеток, вызывая в ней двухцепочечные разрывы, приводящие к клеточной гибели. Однако ферментативные системы клетки могут распознавать концевые двухцепочечные участки и не менее интенсивно восстанавливать поврежденную ДНК. Поэтому попадание в раковую клетку больших количеств коротких двухцепочечных ДНК, имитирующее массивное повреждение, «отвлекает» клетку от подобного «ремонта».

Возвращаясь к антисмысловым технологиям, нужно добавить, что с помощью модифицированных олигонуклеотидов можно не только блокировать «ненужные» гены, но и вносить в генетические программы точечные мутации, что открывает путь к созданию безопасных методов лечения наследственных заболеваний.

Таким образом, огромный прогресс в развитии терапии нуклеиновыми кислотами, наблюдаемый в последние годы, позволяет надеяться на появление в недалеком будущем безопасных и эффективных лекарств от заболеваний, не поддающихся существующим методам лечения, а также на значительный рост эффективности лечения остальных заболеваний. А поскольку специфический препарат для защиты от поражения любым патологическим агентом можно быстро разработать и производить по универсальной технологии, это значительно облегчает создание средств борьбы с новыми инфекциями и для защиты от биологического оружия.

Публикация подготовлена при поддержке гранта правительства РФ (проект 14.B25.31.0028) под руководством лауреата Нобелевской премии 1989 г. по химии С. Альтмана

Литература

Власов В.В. *Лекарство для генов* // НАУКА из первых рук. 2007. № 2 (14). С. 55–59.

Черноловская Е.Л. *РНК-интерференция: клин клином* // НАУКА из первых рук. 2008. №1 (19). С. 54–59.

Belikova A.M., Zarytova V.F., Grineva N.I. *Synthesis of ribonucleosides and diribonucleoside phosphates containing 2-chloroethylamine and nitrogen mustard residues* // Tetrahedron Lett. 1967. N. 37. P. 3557–3562.

Kole R., Krainer A.R., Altman S. *RNA therapeutics: beyond RNA interference and antisense oligonucleotides* // Nature Reviews Drug Discovery. 2012. V. 11. P. 125–140.

Burnett J.C., Rossi J.J. *RNA-based therapeutics – current progress and future prospects* // Chemistry & Biology. 2012. V. 19. P. 60–71.

В.А. ДУБЫНИН, К.К. ТАНАЕВА

Материнская депрессия: когда счастье не в радость

У человека в шутку выделяют три пола: мужчины, женщины и беременные женщины. Как и в любой шутке, в этой скрывается немалая доля истины, поскольку деятельность организма беременной и кормящей женщины чрезвычайно специфична. В пред- и послеродовой период различные системы и органы начинают во многом функционировать по другому, нестандартному «сценарию». Более того, в это время наблюдаются существенные изменения и в течении многих (особенно психических) болезней. В этом смысле не является исключением такое широко распространенное нарушение психики, как депрессия, называемая в данном случае материнской, или послеродовой



Ключевые слова: послеродовая депрессия, экспериментальные модели, материнская мотивация.
Key words: postpartum depression, animal models, maternal motivation

Материнскую, или послеродовую, депрессию выделяют из обширной группы депрессивных нарушений психики как отдельное заболевание в основном по времени его наступления: эта патология развивается в первый год после рождения ребенка.

Подобное состояние регистрируется у 10–15%, а по некоторым данным – даже почти у половины всех рожениц! Реальную цифру, особенно для нашей страны, назвать сложно, поскольку мать, как правило, не обращается за врачебной помощью, особенно в случае легкой или средней степени тяжести заболевания. Вероятнее всего, этой патологией страдает каждая пятая родившая женщина. Нужно сказать, что это противоречит расхожему мнению о деторождении как панацее от плохого настроения и расстройств психики.

Такая ситуация определяется тем, что молодая мать и ее окружение нередко воспринимают депрессивно-подобные симптомы в около-родовой период как малозначимое явление, которое впоследствии должно пройти само собой. Более того, женщина может стыдиться своей подавленности в этот период жизни, традиционно считающийся счастливым («мать не может быть несчастной!»), и скрывать свое состояние от себя и близких.

Неудивительно поэтому, что материнская депрессия является относительно малоизвестным и ма-



ДУБЫНИН Вячеслав Альбертович – доктор биологических наук, профессор, старший научный сотрудник кафедры физиологии человека и животных биологического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова. Автор и соавтор около 70 научных работ



ТАНАЕВА Ксения Кирилловна – аспирантка кафедры физиологии человека и животных биологического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова. Автор и соавтор 3 научных работ

лоизученным заболеванием, особенно в странах с низким уровнем жизни. В итоге молодая мать, затрачивая огромные силы на уход за ребенком, нередко не заботится о собственном психическом здоровье.

Последствиями послеродовой депрессии могут стать и физические расстройства, например, частые головные боли, головокружения, тошнота, озноб, сбой менструального цикла и т. п. Совместно с изменениями в эмоциональной сфере эти симптомы оказывают негативное влияние на качество жизни женщины и повышают риск появления более серьезных проблем со здоровьем в дальнейшем. К тому же при наличии вредных привычек подобное состояние нередко сопровождается возобновлением (ростом) потребления табака, алкоголя или наркотиков, что крайне негативно сказывается на атмосфере в семье.

Симптомы материнской, или послеродовой, депрессии:

- **постоянная усталость, нарушения сна и аппетита;**
- **состояние глубокой печали и опустошенности, частый плач, «эмоциональная тупость»;**
- **отстраненность от семьи, друзей, привычных приятных занятий;**
- **сильная озабоченность и беспокойство о ребенке, страх навредить ему либо, напротив, отсутствие интереса к новорожденному;**
- **мысли о самоубийстве (Stevens, 2010)**

© В.А. Дубынин, К.К. Танаева, 2014

Двойная мишень

Кто же попадает в группу риска, наиболее уязвимую в отношении развития материнской депрессии? Естественно, в первую очередь те женщины, в истории болезни которых имеются эпизоды депрессии или иных психиатрических расстройств. Однако были выявлены и другие социальные группы с высокой встречаемостью патологии. Так, заболевание чаще встречается у матерей-одиночек, безработных, рожениц подросткового возраста, в случаях незапланированной беременности или тяжелого ее протекания (Lanzi *et al.*, 2009; Micali *et al.*, 2011).

На психологическом состоянии молодой матери негативно сказывается и повышенный уровень стресса во время беременности, жестокость в семье. В послеродовой период женщина часто находится в состоянии своего рода социальной и информационной изоляции, поскольку основную массу усилий и времени посвящает новорожденному. Поэтому важную роль играет уровень социальной поддержки (взаимоотношения с друзьями, родственниками и, особенно, отцом ребенка), а также условия трудовой деятельности матери, т. е. ее обеспеченность декретным отпуском и возможность работы по свободному графику (Cooklin *et al.*, 2011).

Стоит отметить, что чаще других страдали послеродовой депрессией женщины, затронутые трагическими нью-йоркскими событиями 11 сентября 2001 г. (Gershoff *et al.*, 2010), а также подвергшиеся воздействию урагана Катрина в августе 2005 г. (Savage *et al.*, 2010).

Наконец, к факторам, провоцирующим болезнь, можно отнести физическое состояние роженицы, в том числе наличие послеродовых швов, трудности с отплевыванием естественных надобностей после родов и даже отсутствие комфорта в больничной палате! Молодые матери часто переживают и за состояние своей фигуры, болезненно воспринимая ее неизбежные изменения в результате родов и кормления ребенка (LaCoursiere *et al.*, 2010).

Свою лепту в провоцирование депрессии вносит и наличие никотиновой или иной зависимости. В некоторых случаях прослеживается связь развития послеродовой депрессии с диетой женщины, например, с уровнем поступления в ее организм омега-3 жирных кислот или морепродуктов (Levant, 2011; Miyake *et al.*, 2011). Эти факторы подтверждают мнение, что разнообразный полноценный пищевой рацион благоприятно сказывается на течении беременности в целом.

При этом важно понимать, что в случае родовой депрессии страдает здоровье не только матери, но и ребенка! Развитие этой болезни чревато нарушениями в питании матери и несоблюдением медицинских предписаний по уходу за собой и за новорожденным. Женщины, страдающие послеродовой депрессией,



Положительные эмоции, выделение гормонов пролактина и окситоцина, влияющих на молочную железу

Механическая стимуляция соска при кормлении

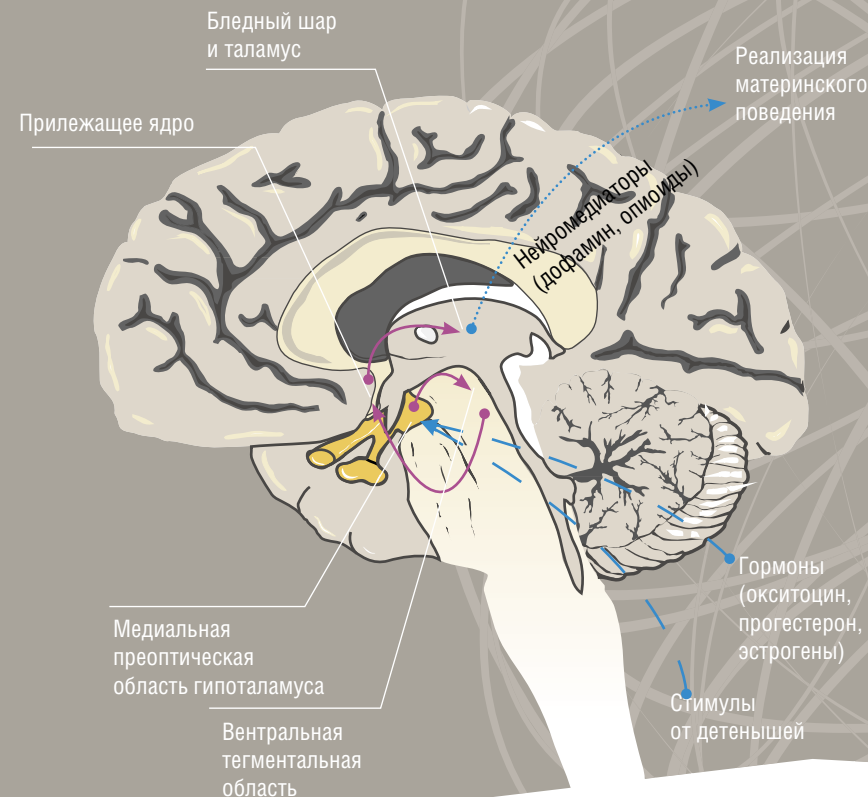
Детско-родительские отношения – система с большим количеством обратных связей. Например, при грудном вскармливании образуется нервно-эндокринная дуга, способная в течение долгого времени поддерживать материнское поведение

часто неадекватно оценивают эмоциональные реакции собственного ребенка, особенно негативные (Stein *et al.*, 2010).

Нарушение взаимодействия между матерью и ребенком может привести в будущем к отклонениям в его физическом, умственном и эмоциональном развитии. В частности, к нарушениям сна в возрасте до года (Pinheiro *et al.*, 2011), развитию депрессивности, расстройств внимания, повышенной возбудимости (Calvarino *et al.*, 2010; Tompson *et al.*, 2010), а также снижению коэффициента умственного развития в подростковом возрасте (Fishnell, 2010). Однако долгосрочных исследований взаимоотношений «депрессивная мать – ребенок» не очень много, и итоги их разнятся.

Нейрофизиология родительской заботы

Очевидно, что для эффективного поиска способов лечения послеродовой депрессии и нарушений родительского поведения необходимо иметь представление о нейробиологических механизмах формирования ма-



За формирование материнского поведения у млекопитающих ответственны, в первую очередь, медиальная преоптическая область гипоталамуса, вентральная часть покрышки среднего мозга (вентральная тегментальная область) и прилежащее ядро прозрачной перегородки больших полушарий. Активируясь под действием внешних и внутренних стимулов, преоптическая область гипоталамуса возбуждает действие прилежащего ядра, в свою очередь влияющего на вентральную часть бледного шара, связанную с передними ядрами таламуса. Таламус совместно с фронтальной корой обеспечивает связь между материнской мотивацией и движениями, запуская реализацию поведенческих программ. По: (Numan, 2007)

теринской мотивации. Поскольку проводить подобные исследования на людях крайне сложно, для этой цели используют экспериментальных животных, в первую очередь грызунов. На основе этих моделей удалось обнаружить весьма обширную сеть мозговых структур, принимающих участие в формировании материнского поведения, и эти же самые структуры ответственны за развитие послеродовой депрессии.

Материнское поведение – забота о потомстве, взаимодействие с новорожденными, формируется у млекопитающих благодаря активности таких областей мозга, как гипоталамус (важнейшей из «древних» структур головного мозга, ответственной за врожденные поведенческие программы), вентральная часть покрышки среднего мозга и базальные ганглии больших полушарий. Эти структуры не только специфически активируют материнское поведение, но и подавляют конкурирующие мотивационные состояния, такие как реакция избегания детенышей (Brunton, Russel, 2008).

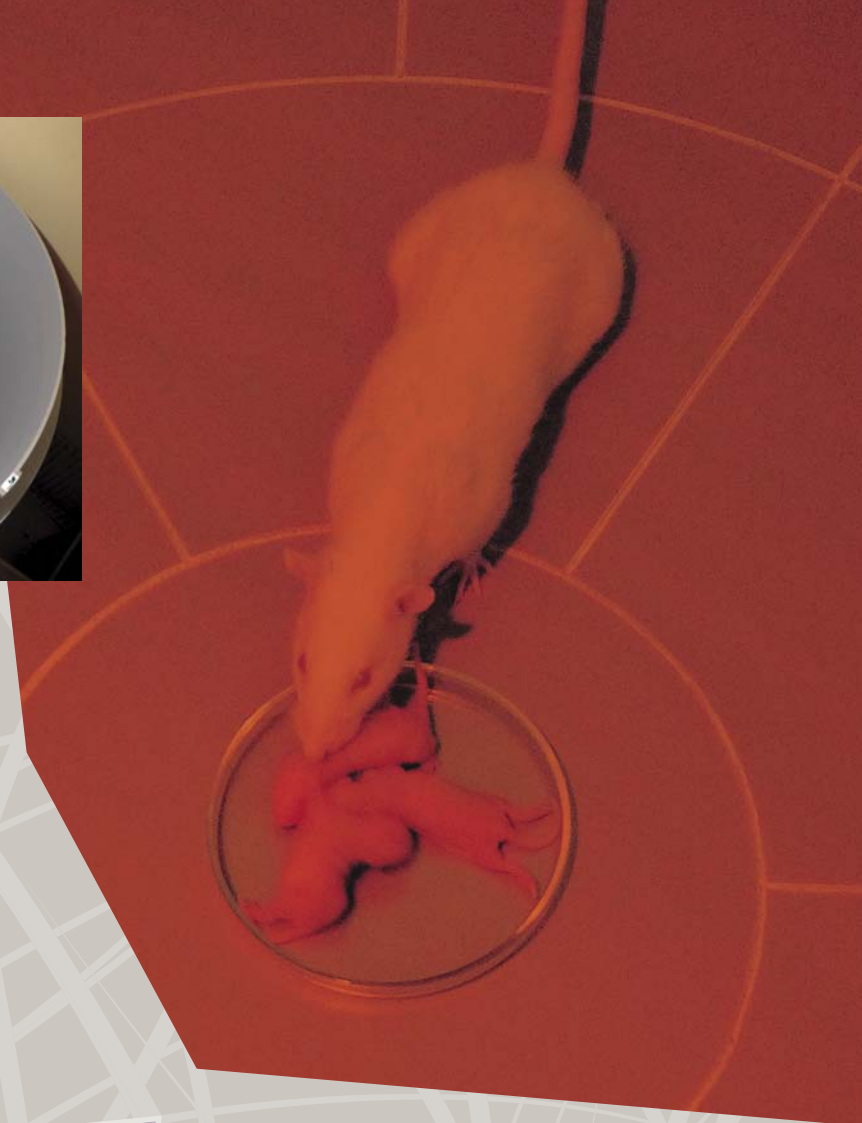
Запуск программы родительской заботы происходит на соответствующем гормональном фоне, а также под воздействием других внутренних сигналов и сигналов из внешней среды, включая стимулы, поступающие от детенышей. Дело в том, что детско-родительские отношения – это сложная система с большим количеством обратных связей. Например, при кормлении детеныша в результате механической стимуляции соска в кровь матери выделяются гормоны пролактин и окситоцин. Мать при этом испытывает положительные эмоции – так работает нервно-эндокринная дуга,

способная в течение долгого времени поддерживать материнское поведение. В свою очередь, мать влияет на новорожденного через физиологически активные компоненты грудного молока.

Важнейшую роль в регуляции материнского поведения выполняет нейромедиатор дофамин («гормон удовольствия»), который вырабатывается нейронами мозговых структур, в данном случае – нейронами тегментальной области среднего мозга.

На экспериментальных животных моделях показано, что введение кормящим самкам антагонистов или блокаторов дофамина негативно отражается на таких аспектах материнского поведения, как перенос детенышей и строительство гнезда (Giordano *et al.*, 1990; Stern, Keer, 1999; Добрякова и др., 2005). При хроническом введении кормящим самкам подобных фармакологических препаратов происходит длительное, стабильное нарушение функционирования дофаминовой нейромедиаторной системы, соответствующее клиническим данным при послеродовой депрессии.

Важную роль в системе подкрепления и выработки положительных эмоций, помимо дофаминовой, играет опиоидная система мозга. При формировании материнского поведения ее активность в медиальной преоптической области гипоталамуса понижается; соответственно, ее стимуляция (например, инъекции морфина в эту область мозга) приводит к поведенческим нарушениям. Не только морфин, но и другие агонисты («стимуляторы») опиоидных рецепторов также нарушают материнское поведение у белых крыс (Добрякова и др., 2011).



Тестирование материнского поведения животных в «открытом поле» проводят в разных условиях: при красном и обычном ярком освещении

В тесте «принудительного плавания» здоровое животное активно старается выбраться из воды (слева); депрессивная крыса, вяло реагирующая на ситуацию, изредка шевелит хвостом и лапами, чтобы удержаться на поверхности воды (справа)



ЧЕТВЕРОНОГИЕ «МОДЕЛИ»

Исследования нейробиологических механизмов развития материнской депрессии проводить на людях крайне сложно, поэтому основные данные получены при использовании экспериментальных животных, в первую очередь грызунов. Конечно, лабораторная крыса не может ответить на вопросы анкеты, но депрессивно-подобные отклонения в ее поведении зарегистрировать можно.

Для моделирования состояния послеродовой депрессии кормящим самкам вводят различные вещества, например, нейролептики. Хроническое введение таких препаратов приводит к стабильному нарушению функционирования нейромедиаторных систем и соответствующим изменениям материнского поведения.

Одним из симптомов депрессии является *агедония* – снижение способности получать удовольствие. Человеку в таком состоянии даже коробка любимых конфет не принесет радости. Крысы тоже любят сладкое и в норме выбирают поилку с раствором сахарозы, а не обычную воду. У животного в депрессии такое предпочтение формироваться не будет. Психическое состояние особи можно оценить и в тесте «принудительное плавание», когда животное на 10—15 минут помещают в емкость с водой. Здоровая особь в такой ситуации будет активно плыть, барахтаться и карабкаться на стенки сосуда. Животное, находящееся в депрессии, будет склонно к «пассивному плаванию».

Для оценки взаимодействия самки с новорожденными используют тестирование в «открытом поле» – круглой арене, окруженной стенкой, в центре которой помещают детенышей. После этого регистрируются все акты материнского поведения: подходы к детенышам, перенос их из центра на более безопасную, с точки зрения матери, периферию и т. п.

Подводная часть айсберга

Понимание нейробиологических основ материнского поведения дает нам основу для выявления глубинных причин его нарушения и механизмов появления послеродовой депрессии. Гипотезы относительно этих причин также проверяются на лабораторных «крысиных» моделях.

Как уже упоминалось выше, в группу риска по родовой депрессии входят женщины, у которых ранее уже наблюдались депрессия или другие расстройства психики. Это свидетельствует о возможной генетической предрасположенности к депрессии вообще и к послеродовой депрессии в частности. И действительно, низкая выраженность родительских реакций и признаки общей депрессивности были обнаружены у крыс линии WAG/Rij, характеризующихся наследственно закрепленными нарушениями поведения (Dobryakova *et al.*, 2008; Sarkisova *et al.*, 2010).

Еще один пример – крысы линии Flinders Sensitive, врожденно предрасположенные к депрессии. Оказалось, что контакт с новорожденными не вызывал у них роста концентрации дофамина в прилежащем ядре мозга – структуры, входящей в мозговую «центр удовольствия», стимулирование которого вызывает чувство наслаждения (Lavi-Avnon *et al.*, 2008). При этом другие подкрепляющие стимулы (например, питье воды при жажде) приводили у них к нормальной секреции дофамина и, соответственно, появлению чувства удовольствия.

Однако сбои в работе нервной системы могут определяться не только врожденной предрасположенностью, но и воздействием нейротоксических веществ на раннем (внутриутробном) этапе развития организма будущей матери. Так, в исследованиях, проведенных авторами, беременным самкам крыс вводили вальпроат натрия. Известно, что это вещество вызывает нарушения формирования центральной нервной системы эмбрионов, что приводит к появлению у этих особей в будущем определенных психических отклонений (в частности, аутизма). Изучение потомства матерей, подвергнутых токсическому воздействию, показало, что их дочери успешно приносили потомство, однако уровень родительской заботы у них был действительно существенно ниже.

Выше уже упоминалось о провоцирующей роли хронического стресса в развитии послеродовой депрессии. Известно, что такой стресс сопровождается повышением активности системы нейронов, секретирующих гормон и нейромедиатор норадреналин. Как и дофамин, норадреналин снижает активность нейронов тегментальной области мозга и, соответственно, оказывает аналогичные негативные эффекты на материнское поведение (Numan, Insel, 2003).

При этом следует отметить, что кратковременный (ситуативный) стресс способен, напротив, усилить материнские «чувства». Например, родительские реакции крыс активируются при более яркой (т. е. более стрессогенной для животных) освещенности арены в тесте «открытое поле». В таких условиях, очевидно, проявляет себя принцип доминанты, сформулированный еще великим российским физиологом А. А. Ухтомским. Согласно ему, в ситуации, когда поведение особи преимущественно определяется материнской мотивацией, любой дополнительный сенсорный стимул способен еще больше усилить ее проявление.

Провокатором послеродовой депрессии может стать и так называемая гормональная абстиненция. Дело в том, что в организме женщины во время беременности продуцируются в больших количествах женские половые гормоны, эстрогены и прогестерон. Помимо всего эти гормоны воздействуют на мозг, регулируя активность нейромедиаторных систем и нервных центров (Brunton and Russel, 2008). Сразу же после родов уровень женских половых гормонов в крови резко снижается.

Для проверки гипотезы о влиянии гормональных изменений на возникновение послеродовой депрессии самкам крыс хронически инъекцировали прогестерон и эстрадиол, что имитировало нормальный гормональный фон при беременности (Stoffel and Craft, 2004). После отмены препаратов у животных был зафиксирован относительный рост депрессивных проявлений.

Лечить или не лечить?

Для лечения послеродовой депрессии слабой степени тяжести, очевидно, достаточно обычной психотерапии. В этом смысле огромное положительное влияние оказывают участие и поддержка близких, особенно, супруга. Однако не менее чем в четверти случаев требуется медикаментозная терапия.

При этом необходимо учитывать, что чаще всего заболевание развивается на фоне грудного вскармливания, поэтому воздействию препаратов будет подвергаться не только мать, но и ребенок. Так, концентрация галоперидола в крови матери при его хроническом применении будет лишь в два раза выше, чем в ее молоке (Whalley *et al.*, 1981).

Современная лекарственная терапия послеродовой депрессии направлена, в первую очередь, на регуляцию активности дофаминергической и серотонинергической систем мозга при помощи антидепрессантов. Чаще всего используются препараты, для которых не имеется клинических данных об их отрицательном воздействии на развитие ребенка при продолжении грудного вскармливания, например, бупропион (Fishnell, 2011). Однако препаратов, для которых было бы достоверно



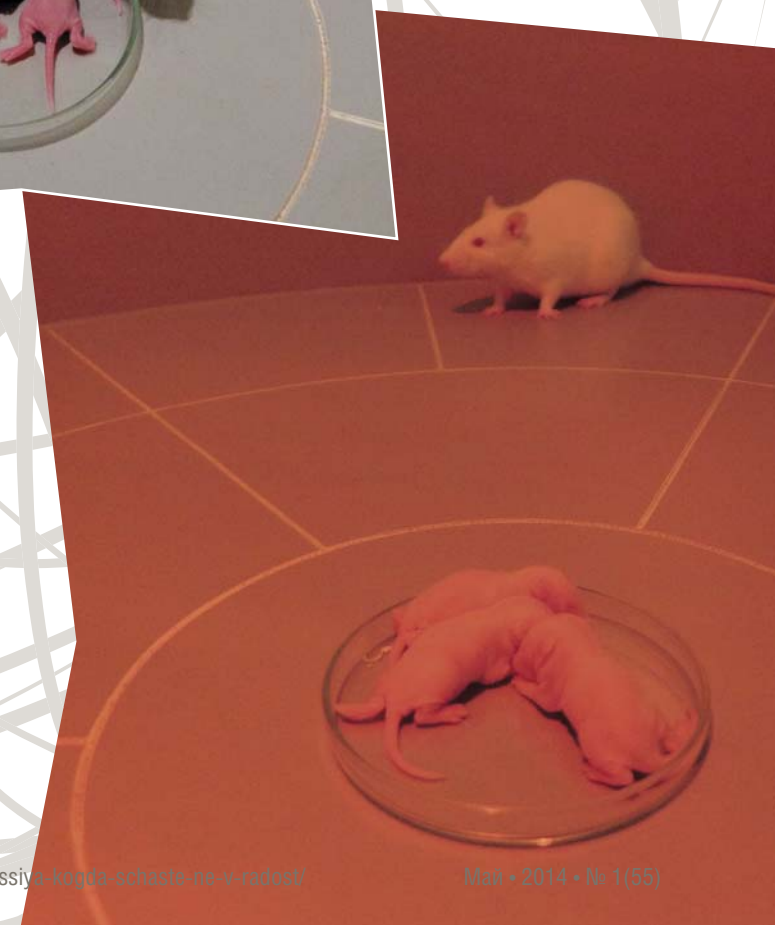
Родительские реакции крыс – ночных животных, активируются при более яркой (т. е. более стрессогенной для животных) освещенности арены в тесте «открытое поле». В таких условиях мать старается перенести детенышей в наиболее безопасное место – к стенке арены (вверху). При комфортном для животных красном освещении мать не беспокоится и не спешит переносить детенышей (внизу)

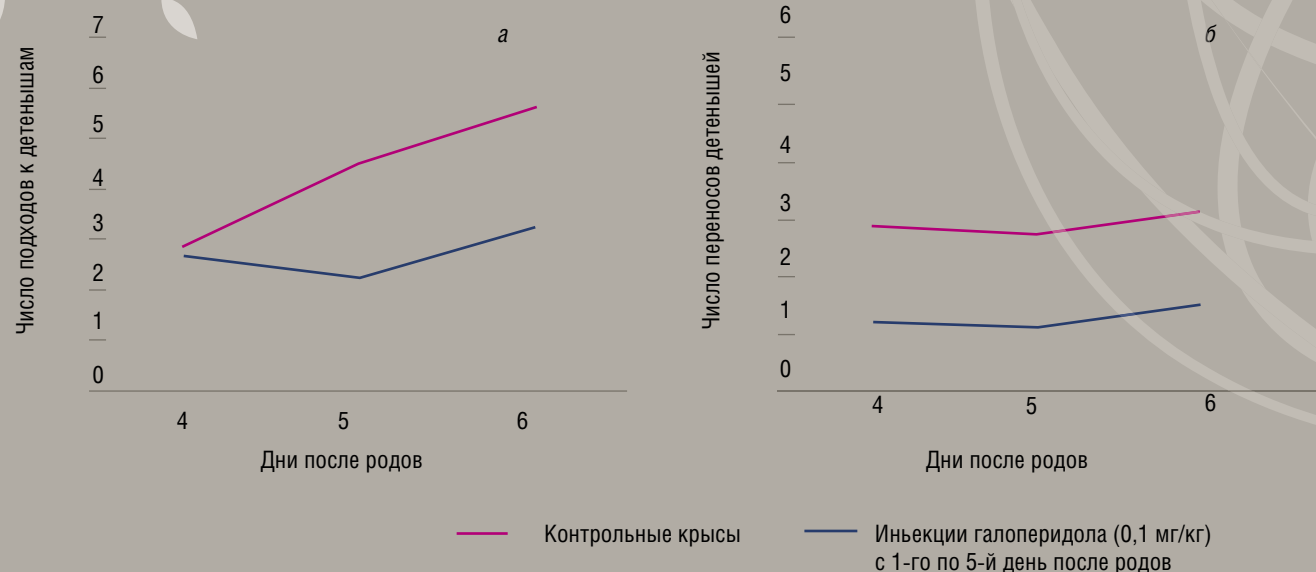


показано отсутствие какого-либо негативного влияния на потомство, пока не существует.

Таким образом, женщине приходится выбирать между продолжением грудного вскармливания и приемом антидепрессантов. При этом отлучение ребенка от груди, помимо всего прочего, означает, что он не будет получать физиологически активных веществ, содержащихся в молоке, в том числе бета-казоморфинов, которые уменьшают беспокойство и подверженность стрессам. То есть ребенок проигрывает в любом случае.

В такой ситуации чрезвычайно актуальным становится поиск фармакологических способов коррекции послеродовой депрессии, оказывающих минимальное влияние на ребенка. К счастью, на сегодня известно несколько групп веществ, перспективных с этой точки зрения. Среди них – женские гормоны. Как выше упоминалось, материнская депрессия во многом имеет ту





Литература
 Добрякова Ю.В., Танаева К.К., Дубынин В.А. и др. Роль дофаминовой и опиоидной систем в регуляции материнского поведения // *Успехи физиологических наук*. 2011. Т. 42, № 1. С. 3–17.
 Brunton P.J., Russell J.A. The expectant brain: adapting for motherhood // *Nat. Rev. Neurosci.* 2008. V. 9, N 1. P. 11–25.
 Numan M., Insel T.R. The neurobiology of parental behavior // *New York: Springer*, 2003. 418 p.
 Tompson M.C., Pierre C.B., Boger K.D. et al. Maternal depression, maternal expressed emotion, and youth psychopathology // *J. Abnorm. Child. Psychol.* 2010. V. 38, N 1. P. 105–117.

же природу, что и депрессия в период менопаузы, обусловленная снижением выработки эстрадиола (Moses-Kolko *et al.*, 2009). Справиться с подобными состояниями могут подкожные инъекции этого гормона, однако исследований по проверке безопасности для матери и ребенка долговременного введения эстрогена пока нет.

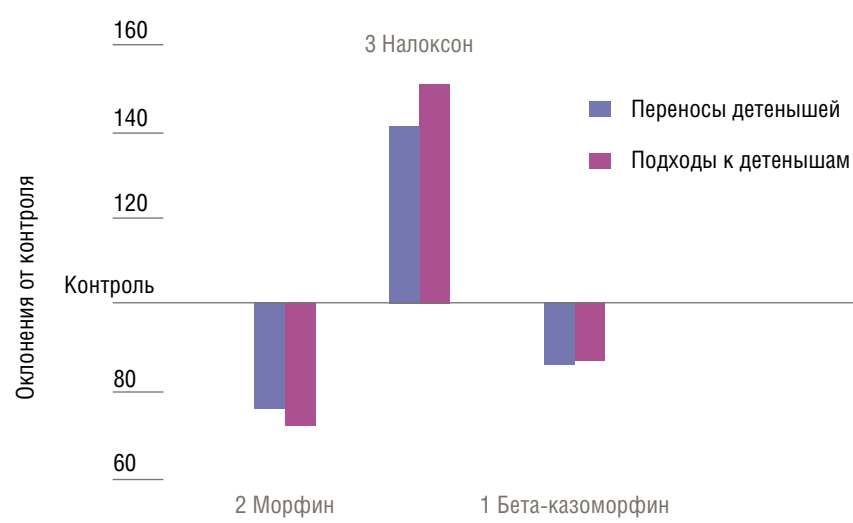
Выше упоминалось, что уровень родительской мотивации снижается под действием морфина и его производных. Соответственно, активировать материнские реакции можно с помощью налоксона, антагониста опиоидных рецепторов, который обычно используют в случае острой интоксикации опиатами. Это было подтверждено опытами на самках крыс, у которых введение даже низких доз налоксона увеличивало число контактов с детенышами (Добрякова и др., 2005).

Фармакологическую модель материнской депрессии можно получить при введении родившим самкам лабораторных крыс галоперидола, антагониста рецепторов «гормона удовольствия» дофамина. Это подтверждают данные теста «открытого поля», в котором регистрировались стандартные элементы материнского поведения: подходы к детенышам (а) и число переносов их в безопасное место (б)

Более того, оказалось, что налоксон может снимать основные негативные эффекты не только опиоидов, но и блокаторов рецепторов «гормона счастья» дофамина, что также способствует нормализации материнского поведения.

Оптимальный и одновременно эффективный способ введения налоксона – интраназальный, т.е. через нос. Дело в том, что при всасывании через эпителий носовой полости часть препарата попадает непосредственно в мозг, минуя системный кровоток. Благодаря этому можно значительно снизить количество вводимого вещества, уменьшив его побочные эффекты. Безусловно, чтобы рекомендовать налоксон для терапии послеродовой депрессии, необходимы дальнейшие тщательные исследования, однако уже имеющиеся результаты дают весомые основания для оптимизма.

Очевидно, что проблему послеродовой депрессии нужно решать, действуя сразу в двух основных направлениях. Во-первых, проводить разъяснительную работу как среди будущих матерей, так и врачей относительно важности ранней диагностики заболевания. Наиболее эффективной стратегией, по-видимому, следует считать проведение опросов среди женщин не психиатрами, а обычными врачами-специалистами (гинекологами и педиатрами), которых женщины регулярно посещают в до- и послеродовой период. Выявление патологии на ранней стадии позволит справиться с ней более результативно и, возможно, без применения фармакологических препаратов.



При формировании материнского поведения активность опиоидной системы мозга в медиальной преоптической области гипоталамуса понижается. Соответственно, введение крысам агонистов опиатной системы – морфина и бета-казоморфина-7 (эндогенного морфина), угнетает родительскую активность у крыс. Налоксон – антагонист опиатной системы, напротив, стимулирует материнскую активность, что выражается в росте числа эпизодов взаимодействия матери с детенышами в тесте «открытого поля»

В настоящее время изучаются и возможности коррекции послеродовой депрессии путем воздействия на опиоидную систему. Например, блокада рецепторов холецистокинина, одного из модуляторов опиоидергической регуляции материнской мотивации, усиливает вызванные морфином нарушения родительских реакций у крыс (Miranda-Paiva *et al.*, 2002). Следовательно, этот нейропептид и его производные можно рассматривать в качестве фармакологических агентов, потенциально способных корректировать послеродовую депрессию. Аналогичные предположения существуют и в отношении других пептидных препаратов – модуляторов поведения, например, фрагментов и аналогов адреноректорикотропного гормона и вазопрессина.

Второе актуальное направление – поиск новых методов лечения, в частности, внедрение в медицинскую практику новых лекарственных препаратов, принципиально отличающихся от современных антидепрессантов. К сожалению, пока специализированных препаратов для коррекции послеродовой депрессии не найдено. В этой связи необходимо детально изучить действие налоксона (опиоидного антагониста), низких доз эстрогенов и стимуляторов рецепторов дофамина.

Механизмы, управляющие интенсивностью родительской заботы, также еще нуждаются в уточнении. Кроме того, необходимо получить достаточную информацию относительно долгосрочного влияния материнской депрессии на развитие ребенка, для чего в первую очередь следует создать интегрированные базы данных крупных медицинских центров.

В публикации использованы фото из архива авторов

Заражай и властвуй!

Еще совсем недавно изучению роли бактерий, живущих внутри организмов, не уделялось достаточного внимания, однако сегодня проблемами микромира занимаются научные коллективы по всему миру. По современным данным, микроорганизмы-сожители оказывают огромное влияние не только на здоровье, но и на поведение своих хозяев и даже способствуют образованию среди них новых видов! Одними из ярких представителей таких микроорганизмов являются бактерии рода *Wolbachia*, которые живут внутри клеток насекомых, влияя на их размножение, поведение и общую приспособленность к условиям окружающей среды

Бактерии *Wolbachia* в яйцевой трубке яичника плодовой мушки дрозофилы (красный цвет). Синим цветом окрашены ядра клеток.
Лазерная сканирующая конфокальная микроскопия

Ключевые слова: бактерия *Wolbachia*, насекомые, микроскопия, стратегии контроля насекомых-вредителей, лихорадка Денге.
Key words: *Wolbachia* bacteria, insects, microscopy, pest control strategies, Dengue fever



ЖУКОВА Мария Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории морфологии и функции клеточных структур Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск). Автор и соавтор 5 научных работ

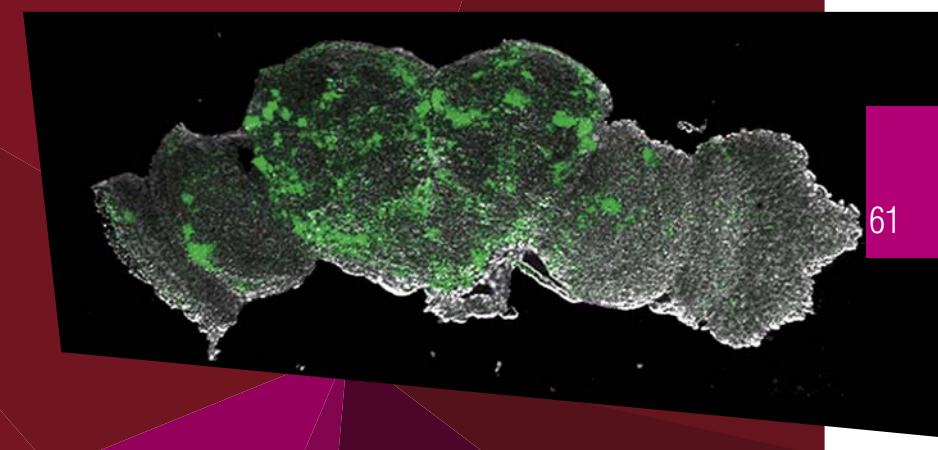
СТРУНОВ Антон Александрович – младший научный сотрудник лаборатории морфологии и функции клеточных структур Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск). Автор и соавтор 7 научных работ

МАЛЬКЕЕВА Дина Александровна – аспирант Новосибирского государственного университета, инженер лаборатории морфологии и функции клеточных структур Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск)

КИСЕЛОВА Елена Владимировна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории морфологии и функции клеточных структур Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск). Победитель всероссийского конкурса научных фотографий «Наука – это красиво!» в номинации «Мир, скрытый от наших глаз» (2009, 2010). Автор и соавтор более 200 научных работ

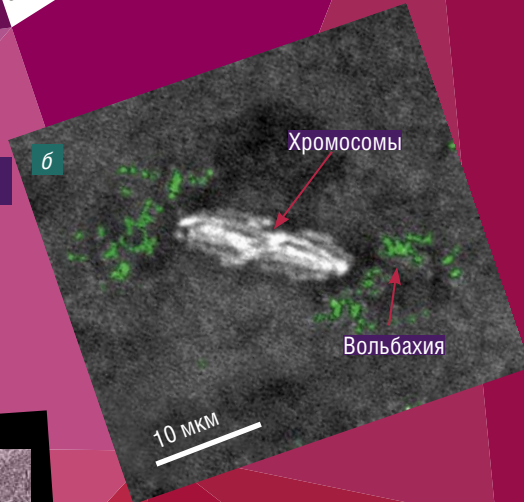
Бактерий рода *Wolbachia* по праву можно назвать одними из самых распространенных микроорганизмов на Земле. По последним данным, они встречаются у 40% видов наземных беспозвоночных, включая насекомых, паукообразных, ракообразных и нематод, и круг хозяев, в которых обнаруживают эти бактерии, постоянно расширяется (Zug, Hammerstein, 2012). А ведь только одних насекомых известно на сегодня более 1 млн видов!

Удивительные способности *Wolbachia*, обеспечивающие такое широкое распространение

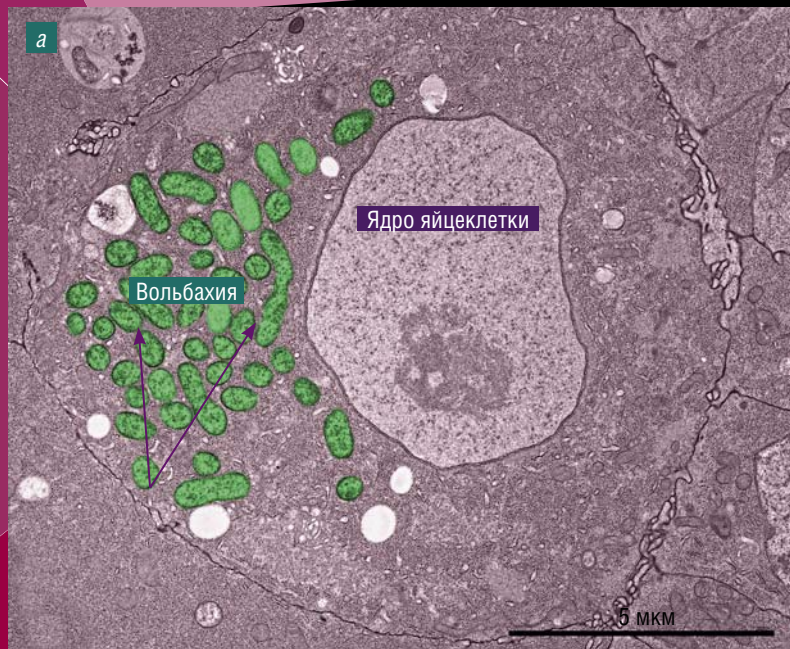
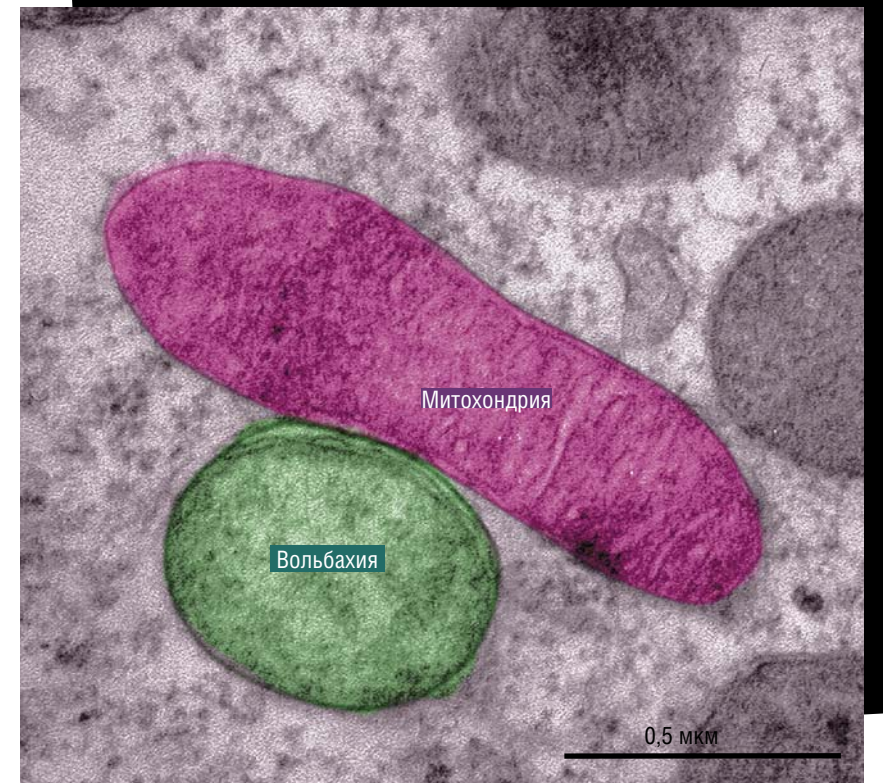




Бактерии рода *Wolbachia* были впервые обнаружены в 1924 г. М. Гертигом и С. В. Вольбахом в яичниках комаров-пискунов (*Culex pipiens*). Эти бактерии наиболее близки к риккетсиям — мелким специализированным микроорганизмам, вызывающим различные болезни животных и человека. В отличие от риккетсий, вольбахия не способна инфицировать млекопитающих. Слева — вольбахия в клетках мозга *Drosophila melanogaster*. Электронная просвечивающая микроскопия.



Цитоплазма эмбриона дрозофилы. Бактерии рода *Wolbachia* тесно взаимодействуют с органеллами клеток хозяина, такими как клеточные «электростанции» митохондрии. Электронная просвечивающая микроскопия



Этих микроорганизмов в природных популяциях беспозвоночных, отражены в таких часто используемых для них названиях, как «репродуктивный паразит» и «бактерия-манипулятор».

Дело в том, что вольбахия способна вызывать у своих хозяев все четыре известные на сегодня модификации полового размножения, возникающие под действием микроорганизмов (Yen, Barr, 1971; Werger *et al.*, 2008). Подобное влияние бактерии на размножение беспозвоночных связано с тем, что они обязательно «заселяют» клетки яичников и семенников.

Поскольку вольбахия может жить только внутри клеток живого организма, то и передается она из поколения в поколение хозяев преимущественно через цитоплазму яйцеклеток, т.е. по материнской линии («вертикальный перенос»). Передача от одной особи к другой («горизонтальный перенос») в при-

роде происходит достаточно редко, однако в эволюционном масштабе времени такие события все же случаются, что отчасти объясняет широкое распространение бактерий в природе.

Венера против Марса

Заражение вольбахией приводит к возникновению у ее хозяев ряда репродуктивных нарушений.

Цитоплазматическая несовместимость проявляется в гибели потомства от зараженного самца и незараженной вольбахией самки, а также от двух особей, зараженных разными штаммами бактерии. Этот наиболее широко распространенный вид репродуктивного нарушения обнаружен у большого количества насекомых, равноногих ракообразных и клещей. Процент смертности, происходящей на эмбриональной стадии, может варьироваться от 0 до 100% от числа отложенных яиц.

Вызываемый вольбахией партеногенез («девственное размножение», т.е. без оплодотворения) описан для клещей, перепончатокрылых, трипсов и ногохвосток (Charlat *et al.*, 2003). У этих членистоногих самки обычно развиваются из оплодотворенных яиц, несущих «двойной» набор хромосом, полученный от обоих родителей, а самцы — из неоплодотворенных яиц с гаплоидным материнским набором хромосом. Однако

в потомстве зараженных особей из неоплодотворенных яиц также развиваются самки.

Это происходит благодаря вмешательству вольбахии в процесс клеточного деления на ранних стадиях развития эмбрионов. В результате удвоения материнского набора хромосом в клетках эмбрионов потомство зараженных особей представлено исключительно «женским полом».

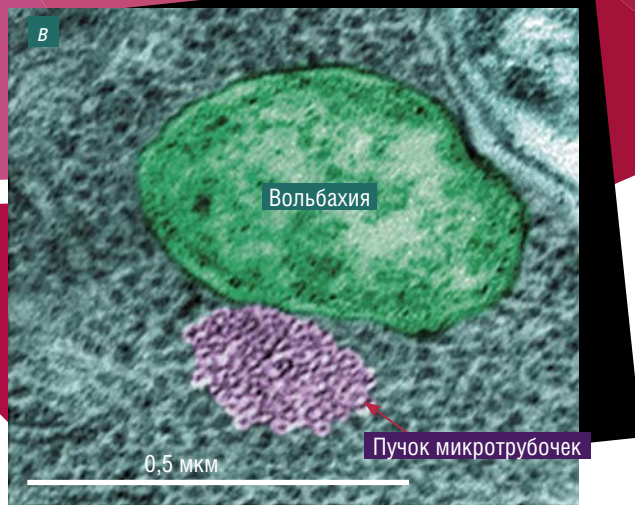
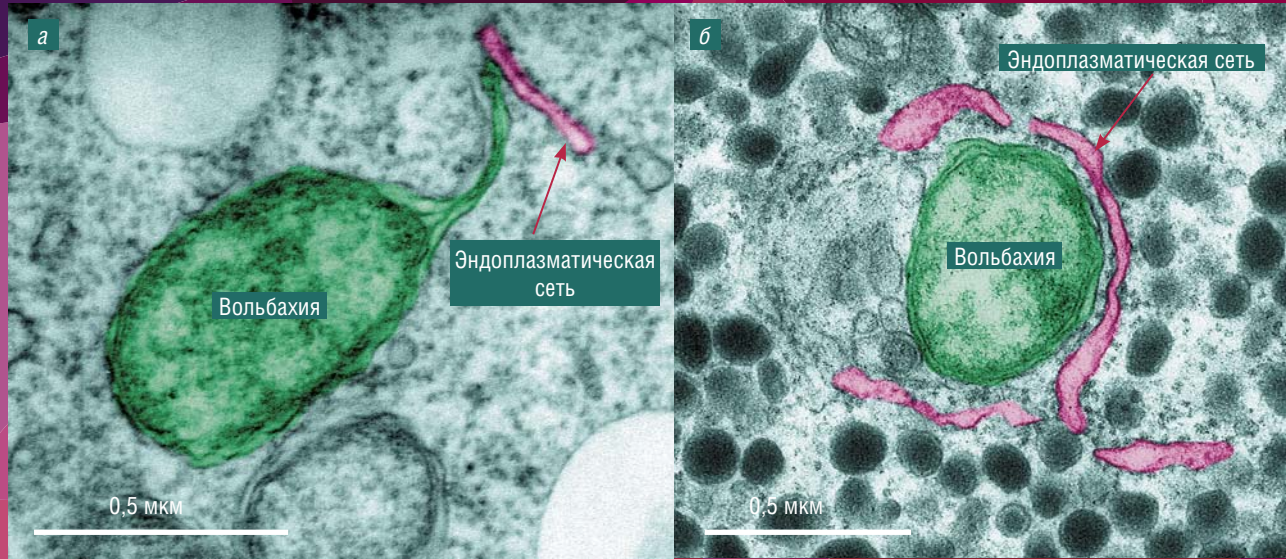
У равноногих ракообразных и некоторых насекомых, зараженных вольбахией, был обнаружен еще более необычный феномен — феминизация, превращение в самок «генетических» самцов с мужским набором хромосом (Werger *et al.*, 2008). Это происходит благодаря тому, что в присутствии бактерий подавляется развитие так называемой «андрогенной железы», которая вырабатывает «мужской гормон», необходимый в норме для развития самцов.

В некоторых случаях вольбахия может также вызывать андрокид («гибель самцов») на ранних стадиях эмбрионального развития. Это явление описано у жуков, бабочек, дрозофил и лжескорпионов (Werger *et al.*, 2008).

Все эти случаи вмешательства вольбахии в «личную жизнь» своих хозяев связаны с их статусом репродуктивного паразита. Цитоплазматическая несовместимость помогает снизить плодовитость незараженных самок, тем самым увеличивая в потомстве долю

Вольбахия передается из поколения в поколение хозяина (например, дрозофилы) по материнской линии — через цитоплазму яйцеклеток (а). В ранних эмбрионах дрозофилы бактерии при делении клеток локализуются преимущественно вблизи полюсов веретена деления, состоящего из микротрубочек. Такое расположение обеспечивает попадание бактерии в обе дочерние клетки (б).

Электронная просвечивающая микроскопия (а), лазерная сканирующая конфокальная микроскопия (б)



Вольбахия контактирует также с эндоплазматической сетью в цитоплазме эмбриона (а) и в нервной клетке (б) дрозофилы. Бактерии *Wolbachia* используют микротрубочки для перемещения в клетках хозяев. На микрофотографиях бактерии взаимодействуют с пучком микротрубочек на поперечном (б) и продольном (г) срезах в клетках яичника дрозофилы. Электронная просвечивающая микроскопия



зараженных матерей. Это способствует распространению бактерий в популяции хозяина при сохранении соотношения самок и самцов. Партогенез же, феминизация и андроцид приводят к нарушению этого соотношения, увеличивая в популяции долю самок, потомство которых будет заведомо заражено бактерией-манипулятором.

Макроэффекты микроорганизма

Помимо манипулирования размножением своих хозяев вольбахия может оказывать влияние на их общую приспособленность.

Так, присутствие этих бактерий в организме насекомых (комаров, дрозофил) приводит к повышению устойчивости последних к другим паразитам: возбудителю малярии (малярийному плазмодию), а также к различным вирусам (например, вирус *Drosophila C*). Кроме того, повышается устойчивость насекомых к вирусам, представляющим опасность для человека (вирусы лихорадки Денге, желтой лихорадки, лихорадки Западного Нила), для которых они служат переносчиками (Teixeira *et al.*, 2008; Glaser, Meola, 2010; Van den Hurk *et al.*, 2012; Chrostek *et al.*, 2013).

Поскольку наиболее хорошо изученным объектом среди насекомых является дрозофила, именно она послужила моделью для ряда исследований, направленных на изучение процессов взаимодействия организма насекомого-хозяина с вольбахией.

В таких исследованиях было обнаружено, например, что вольбахия влияет на метаболизм железа, которое ее хозяин получает с пищей. При помещении дрозофил на корм с недостатком или избытком солей железа незараженные особи откладывали меньшее количество яиц по сравнению с зараженными (Brownlie *et al.*, 2009; Kremer *et al.*, 2009).

Одним из наиболее поразительных свойств этих внутриклеточных бактерий является их способность влиять на поведение своих хозяев. Так, для двух видов дрозофил (*Drosophila melanogaster* и *Drosophila paulistorum*) показано, что если самки и самцы будут заражены разными штаммами вольбахии, они будут избегать скрещивания, которое должно привести к цитоплазматической несовместимости (Koukou *et al.*, 2006; Miller *et al.*, 2010).

Это означает, что дрозофилы способны каким-то образом распознавать своих «собратьев по вольбахии». Механизм этого явления пока неизвестен, но предполагается, что он связан с присутствием бактерий в клетках специфических отделов мозга хозяев, отвечающих за поведение, и в клетках жирового тела – органа насекомых, принимающего участие в выработке феромонов (веществ внешней секреции, отвечающих за химическую коммуникацию внутри вида).

НАУКА из первых рук <http://scfh.ru/papers/zarazhay-i-vlastvuy/>

Исследования структурной организации и функции вольбахий в различных линиях дрозофил при нормальных и стрессовых условиях окружающей среды ведутся в течение ряда лет в новосибирском Институте цитологии и генетики СО РАН (Дудкина и др., 2004; Жукова и др., 2008). При этом особое внимание уделяется патогенному штамму *wMelPop* (от *popcorn* – попкорн), который был назван так за его способность активно размножаться в клетках организма дрозофилы, заполняя собой все свободное пространство подобно попкорну в микроволновке (Min, Benzer, 1997). Эти бактерии снижают продолжительность жизни насекомых приблизительно в два раза уже при обычной (25 °C) температуре, а при повышении температуры этот негативный эффект бактерий усиливается.

Исследование динамики заселения клеток мозга дрозофилы бактериями штамма *wMelPop* показало, что они попадают туда на ранних стадиях развития насекомого, т. е. во время эмбриогенеза. Однако активно делиться они начинают только во взрослом насекомом, постепенно разрушая его нервную систему, при этом скорость деления бактериальных клеток увеличивается с ростом температуры (Strunov *et al.*, 2013).

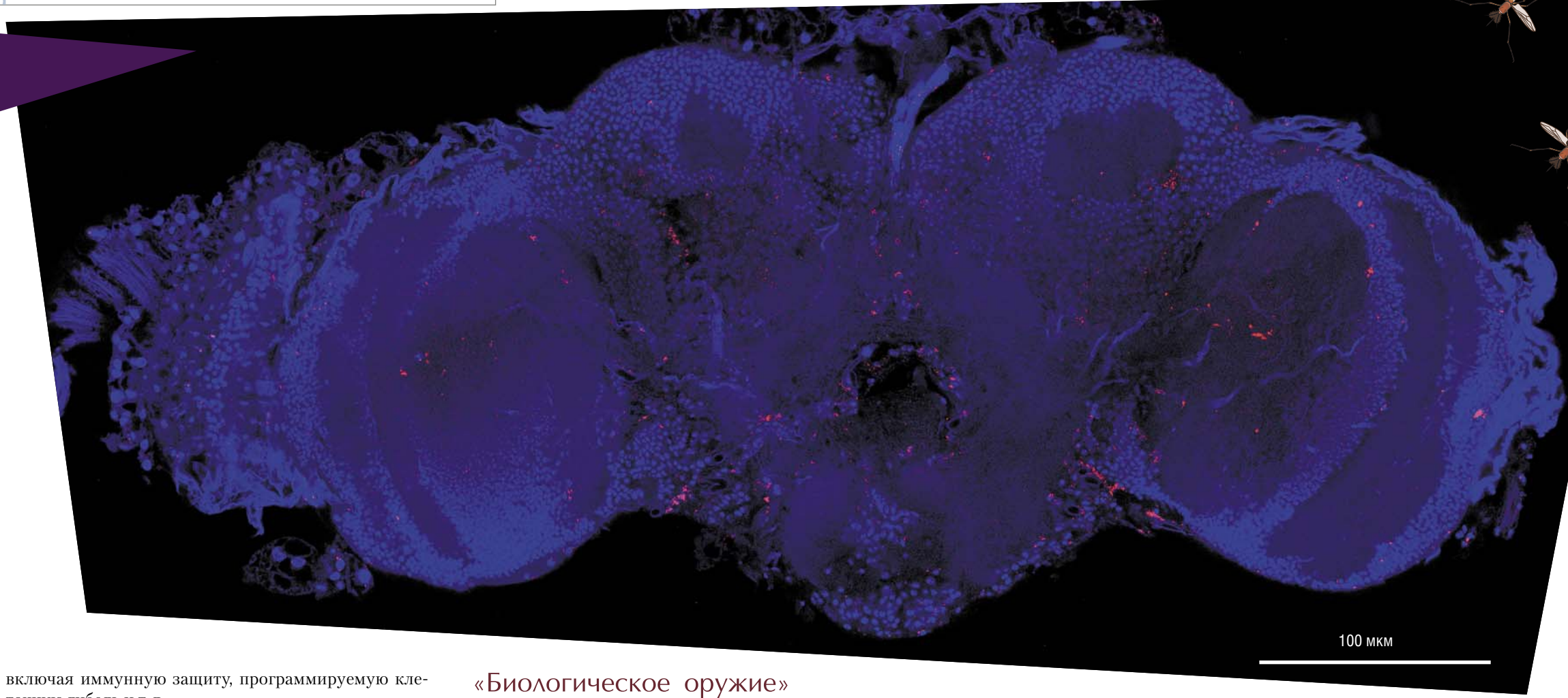
Кстати сказать, патогенный штамм *wMelPop* оказывает негативное влияние и на размножение дрозофил, вызывая увеличение частоты программируемой клеточной гибели в формирующихся фолликулах яичников плодовой мушки (Zhukova, Kiseleva, 2012).

Желтолихорадочные кусаки

Каким же способом эти удивительные бактерии влияют на своих хозяев, вызывая такие разные последствия? Пролить свет на механизм этих взаимодействий позволили недавние исследования, проведенные на желтолихорадочных кусаках (*Aedes aegypti*) – комарах, которые являются переносчиками ряда тяжелых заболеваний человека, включая желтую лихорадку и лихорадку Денге.

Эти насекомые были заражены в лабораторных условиях штаммом *wMelPop*, специфичным для дрозофил (McMeniman *et al.*, 2009). Чтобы бактерии адаптировались к условиям жизни внутри нового хозяина, их предварительно содержали в течение 2,5 лет в культуре клеток бело-пестрых кусак, а затем еще около года – в культуре клеток самих желтолихорадочных комаров (McMeniman *et al.*, 2008).

Исследования показали, что присутствие бактерий в клетках комаров приводит к изменению в них уровня синтеза ряда микроРНК (Hussain *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2013). Эти короткие одноцепочечные РНК длиной 18–25 нуклеотидов не кодируют никаких белков, однако принимают участие в регуляции работы большого числа генов. Поэтому они играют важнейшую роль во многих процессах жизнедеятельности организма,



Бактерии рода *Wolbachia* присутствуют не только в яичниках, но и во многих других тканях и органах хозяина, например, в мозге. Изучение динамики распределения бактерий в клетках мозга насекомых необходимо для понимания механизмов влияния микроорганизмов на поведение их хозяев. Слева – мозг дрозофилы, зараженной вольбахией штамма *wMel*. Лазерная сканирующая конфокальная микроскопия

включая иммунную защиту, программируемую клеточную гибель и т. д.

Оказалось, что в присутствии вольбахии увеличивается уровень синтеза микроРНК, которые участвуют в регуляции плотности распределения этих бактерий в тканях комаров. Эти же микроРНК повышают устойчивость комаров к вирусу лихорадки Денге (Hussain *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2013).

Еще одно интересное открытие было сделано при изучении штамма вольбахии *wPip*, которым заражены комары-пискуны (*Culex pipiens*). В геноме этих бактерий был обнаружен регулятор транскрипции, влияющий на экспрессию гена хозяина, ответственного за проявление цитоплазматической несовместимости (Pinto *et al.*, 2013).

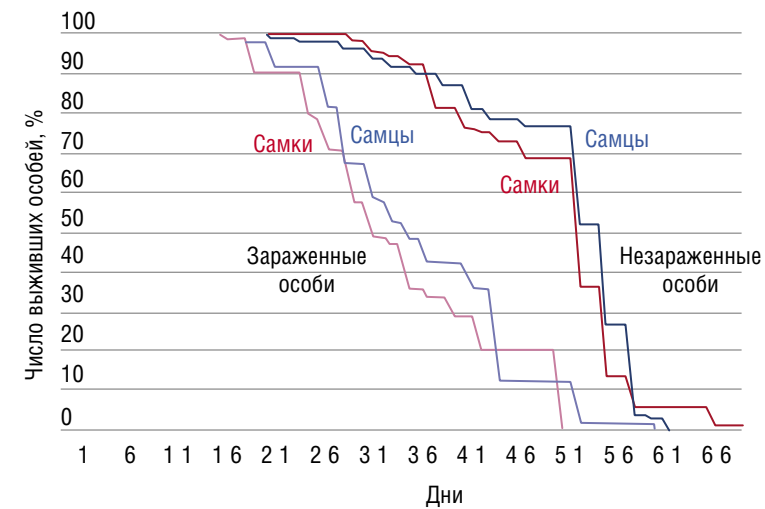
Все эти данные свидетельствуют о том, что физиологические и поведенческие особенности зараженных бактериями насекомых, которые можно наблюдать в лабораторных условиях и в природе, обеспечиваются переплетением множества различных, генетически обусловленных механизмов взаимодействия двух кардинально различных (про- и эукариотических) организмов. И, конечно, эти непростые взаимодействия требуют дальнейшего глубокого изучения.

«Биологическое оружие» против лихорадки

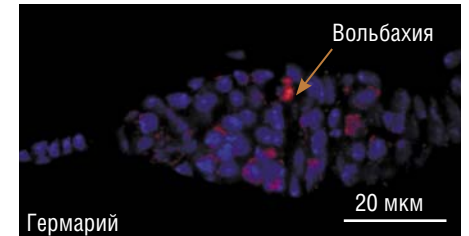
Интенсивное исследование вольбахии за последние десятилетия принесло не только фундаментальные «плоды»: с их помощью удалось сделать значимые шаги в борьбе с заболеваниями животных и человека, которые переносятся насекомыми.

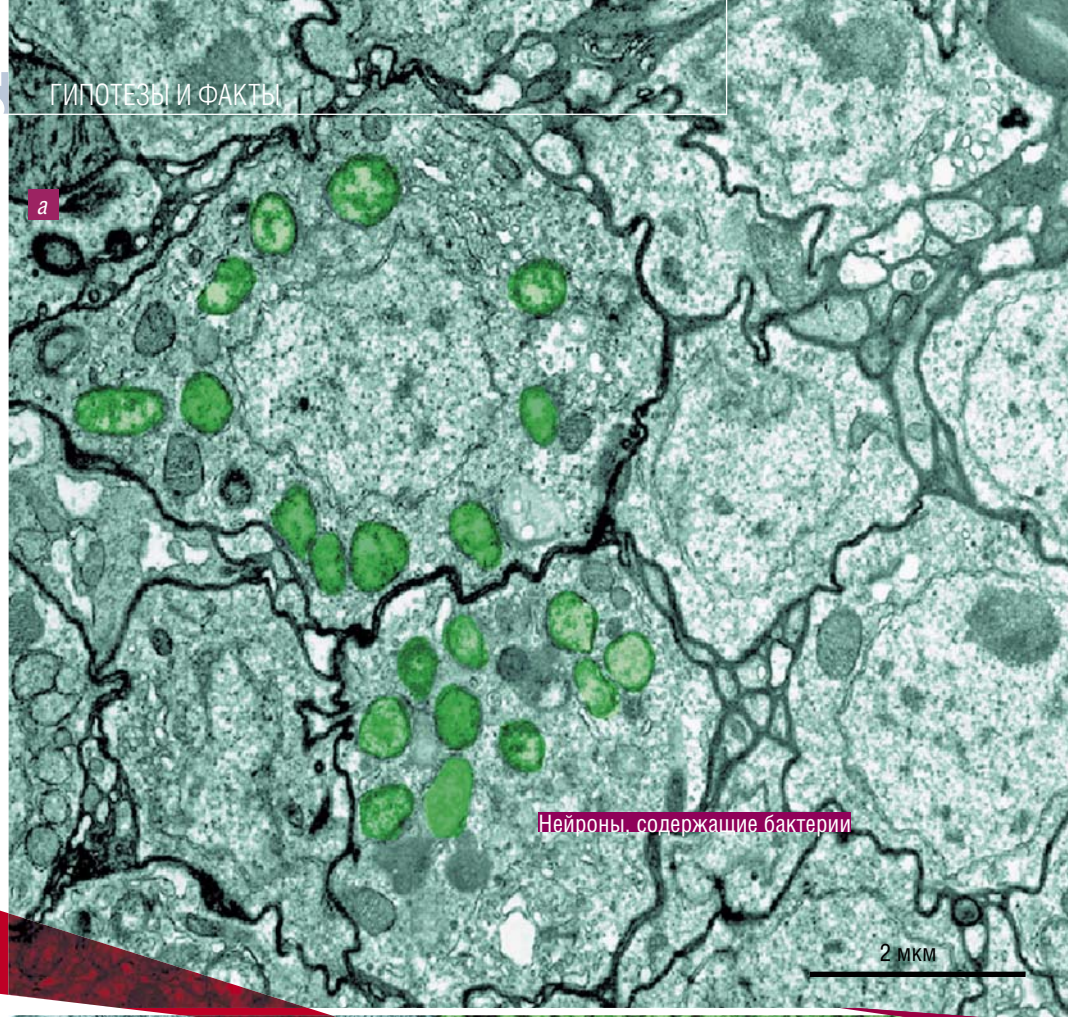
Оказалось, что в организме все тех же желтолихорадочных комаров, зараженных вольбахией штамма *wMel*, практически не размножается вирус лихорадки Денге; следовательно, комар перестает быть переносчиком этого опасного заболевания (Walker *et al.*, 2011). Заметим, что ежегодно в мире лихорадкой Денге болеет около 360 млн человек, профилактической же вакцины для этого заболевания до сих пор нет (Bhatt *et al.*, 2013).

Первые полевые испытания нового «биологического оружия» против лихорадки Денге начали австралийские ученые под руководством профессора С. О'Нейлла. В 2011 г. они выпустили в окрестностях г. Кэрнса желтолихорадочных комаров, инфицированных в лаборатории бактериями штамма *wMel* (Hoffmann *et al.*, 2011). Сходные испытания были начаты в двух районах



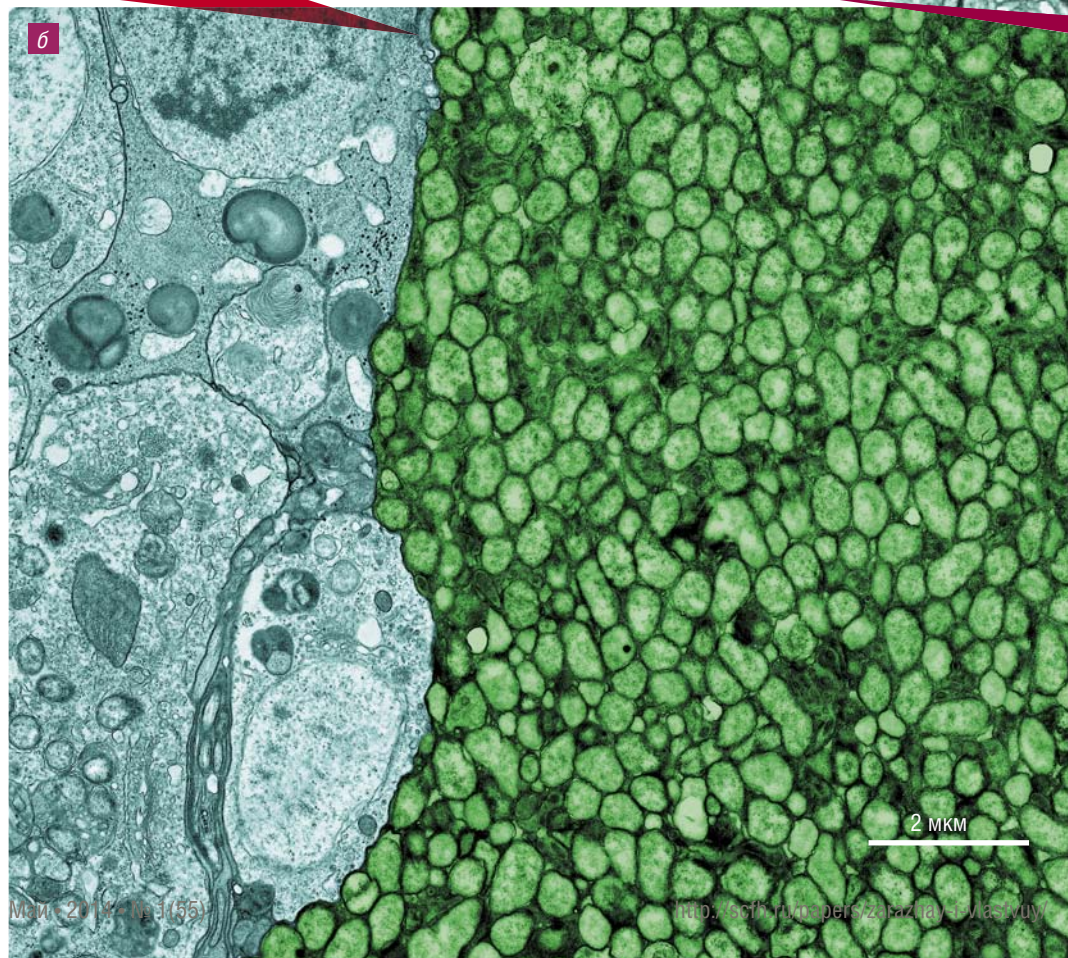
Заражение дрозофил патогенным штаммом вольбахии *wMelPop* значительно сокращает продолжительность их жизни (слева) и влияет на их размножение, вызывая гибель клеток в гермарию – передней части яйцевой трубки дрозофилы, где формируются фолликулы с яйцеклетками (справа). У зараженных особей число таких гермариев увеличивается. Флуоресцентная микроскопия





Нейроны, содержащие бактерии

2 мкм



2 мкм



в

на островах Индонезии; подобная программа планируется и на о-ве Чи Нгуен (Вьетнам).

Предполагается, что численность комаров, зараженных вольбахией, должна расти, и они будут вытеснять из популяции незараженных особей за счет эффекта цитоплазматической несовместимости. Сегодня на экспериментальных территориях в Австралии сохраняется высокий уровень зараженности комаров. Однако, несмотря на достигнутые успехи, заключение об эффективности такого метода борьбы с опасным заболеванием можно будет сделать только через несколько лет, проанализировав динамику заболеваемости людей на этих территориях.

Открытием внутриклеточной бактерии вольбахии ученые получили уникальную модель, на которой можно исследовать взаимодействия между микроорганизмами и макроорганизмом-хозяином, а также взаимные адаптации, позволяющие столь разным существам успешно сосуществовать вместе. Практическое же применение знаний об этих многоликих бактериях делает возможным создание «экологически чистых» методов биологического контроля за популяциями беспозвоночных, являющихся переносчиками опасных для человека заболеваний или вредителями сельского хозяйства.

Исследования вольбахии также помогут пролить свет на ключевое макроэволюционное событие – симбиотическое происхождение внутриклеточных органелл, в частности, митохондрий, с которыми эти бактерии имеют общего предка, другими словами, раскрыть тайну происхождения эукариотической клетки высших организмов, к которым относимся и мы с вами.

Бактерии *Wolbachia* патогенного штамма *wMelPop* активно делятся в клетках мозга взрослых особей дрозофилы, постепенно разрушая нервную систему насекомого:

а – нейроны, содержащие бактерии в цитоплазме; *б* – несколько нейронов, цитоплазма которых заполнена множеством бактерий; *в* – художественная интерпретация микрофотографии. *Электронная просвечивающая микроскопия*

Литература:

Захаров И. А. Бактерии управляют половым размножением насекомых // *Природа*. 1999. № 5. С. 28–34.

Серга С. В., Козарецкая И. А. Загадка распространения *Wolbachia* в природных популяциях *Drosophila melanogaster* // 2013. Т. 74, № 2. С. 99–111.

McGraw E. A., O'Neill S. L. Beyond insecticides: new thinking on an ancient problem // *Nat. Rev. Microbiol.* 2013. V. 11, № 3. P. 181–193.

Veneti Z. L., Reuter M., Montenegro H., et al. Interactions between inherited bacteria and their hosts: the *Wolbachia* paradigm // *The influence of cooperative bacteria on animal host biology* / Ed. by M. J. McFall Ngai, B. Henderson, E. G. Ruby. C. U. P. 2005. P. 119–142

В публикации использованы фото авторов, полученные на базе Центра коллективного пользования микроскопического анализа биологических образцов ИЦиГ СО РАН

Работа выполнена при финансовой поддержке интеграционного проекта Программы Президиума РАН «Динамичность генофондов, генотипическая и фенотипическая изменчивость в популяции» № 30.33.

А.Д. КИТОВ

Урёл-Амутис и Акули – «новы́е» ледники Прибайкалья

Оледенение, влияя на уровень Мирового океана, во многом определяет существование на Земле живых организмов, в том числе человека: чем больше покрывают льды поверхность планеты, тем сильнее отступает океан. Конечно, все это в большей мере относится к огромным ледниковым массивам, таким как антарктические. Но и горные ледники могут влиять на жизнь регионов и целых народов, обеспечивая их пресной водой. И хотя роль малых горных ледников, таких как восточно-сибирские, в этом смысле незначительна, они представляют огромный интерес для ученых в качестве природных индикаторов изменений климата



КИТОВ Александр Данилович – кандидат технических наук, старший научный сотрудник лаборатории теоретической географии Института географии им. В. Б. Сочавы СО РАН (Иркутск). Автор и соавтор 147 научных работ

Урёл-Амутис – самый крупный ледник Баргузинского хребта. Сползая вниз, более массивная часть ледника образует глубокую трещину – бергшрунд – один из главных признаков ледника

Ключевые слова: Баргузинский хребет, нивально-гляциальные образования, ледники, снежники.
Key words: Barguzinsky Ridge, nival-glacial formations, glaciers, snowfields



Мунку-Сардык – высочайшая (3491 м) вершина Восточных Саян с современным оледенением

Климат Земли постоянно меняется, в результате чего она с периодичностью около 100 тыс. лет переживает эпоху оледенения (Барри, 2006). Согласно результатам глубинного бурения донных осадков оз. Байкал за последние 750 тыс. лет межледниковые периоды сокращаются, а ледниковые – увеличиваются (Кузьмин, 2005). Не исключено, что и наблюдаемое сегодня потепление в скором будущем сменится похолоданием.

Тенденции изменения современного климата можно проследить по поведению ледников – «наследству» прошлых ледниковых эпох. В этом смысле особый интерес представляют небольшие ледники, которые обладают меньшей инерционностью.

Большие и малые ледники были обнаружены во всех частях света, включая Австралию и Африку. Что же касается Восточной Сибири, то, по мнению известного климатолога А. И. Воейкова, высказанному им в конце XIX в., ледники не могли существовать в условиях мощного сибирского антициклона, когда атмосферные осадки, и так небольшие, выпадают преимущественно в жаркий летний сезон года. Кроме того, сохранению и образованию ледников должна препятствовать



Ледник Перетолчина – самый крупный ледник Мунку-Сардык, был назван в честь географа С. П. Перетолчина, одного из первых исследователей восточно-сибирских ледников. В 1900 г. он установил на высоте 2860 м так называемый минимальный термометр и в течение семи лет фиксировал минимальную годовую температуру. В 2006 г. термометр был найден иркутскими географами и с тех пор используется на леднике по назначению

и относительно небольшая высота местных гор, которая на 1300–1500 м не «дотягивает» до нижней границы хионосферы – части тропосферы, где при соприкосновении с земной поверхностью возможно зарождение и существование снежников и ледников. Нижний уровень хионосферы совпадает с климатической снеговой границей, где число дней в году со снежным покровом достигает 365, т. е. снег лежит весь год.

Необычный красноватый цвет этого ледового «потока» на леднике Перетолчина объясняется присутствием водорослей





Чтобы лед сохранялся круглогодично, требуется постоянная температура не выше 0 °С. С ростом высоты над поверхностью Земли температура понижается: в тропосфере каждые 100 м температура падает на 0,65 °С и достигает -73 °С к верхней границе 12 тыс. м (далее начинается стратосфера, где температура повышается до 0 °С). Нижняя часть тропосферы (от 3—10 км) называется хиносферой (от греч. «хинос» – снег), и в этой зоне температура всегда отрицательная. Там, где дно хиносферы касается Земли, лежит лед или вечный снег. Такое наблюдается в горах, которые «протыкают хиносферу». Эту линию касания хиносферы Земли называют «линией 365», или теоретической (климатической) снеговой линией. Самый высокий нижний уровень хиносферы – над Андами и в Тибете (6500 м), над экватором он равен 4400 м, а к полюсам понижается до 200—300 м в Арктике и до уровня моря – в Антарктике

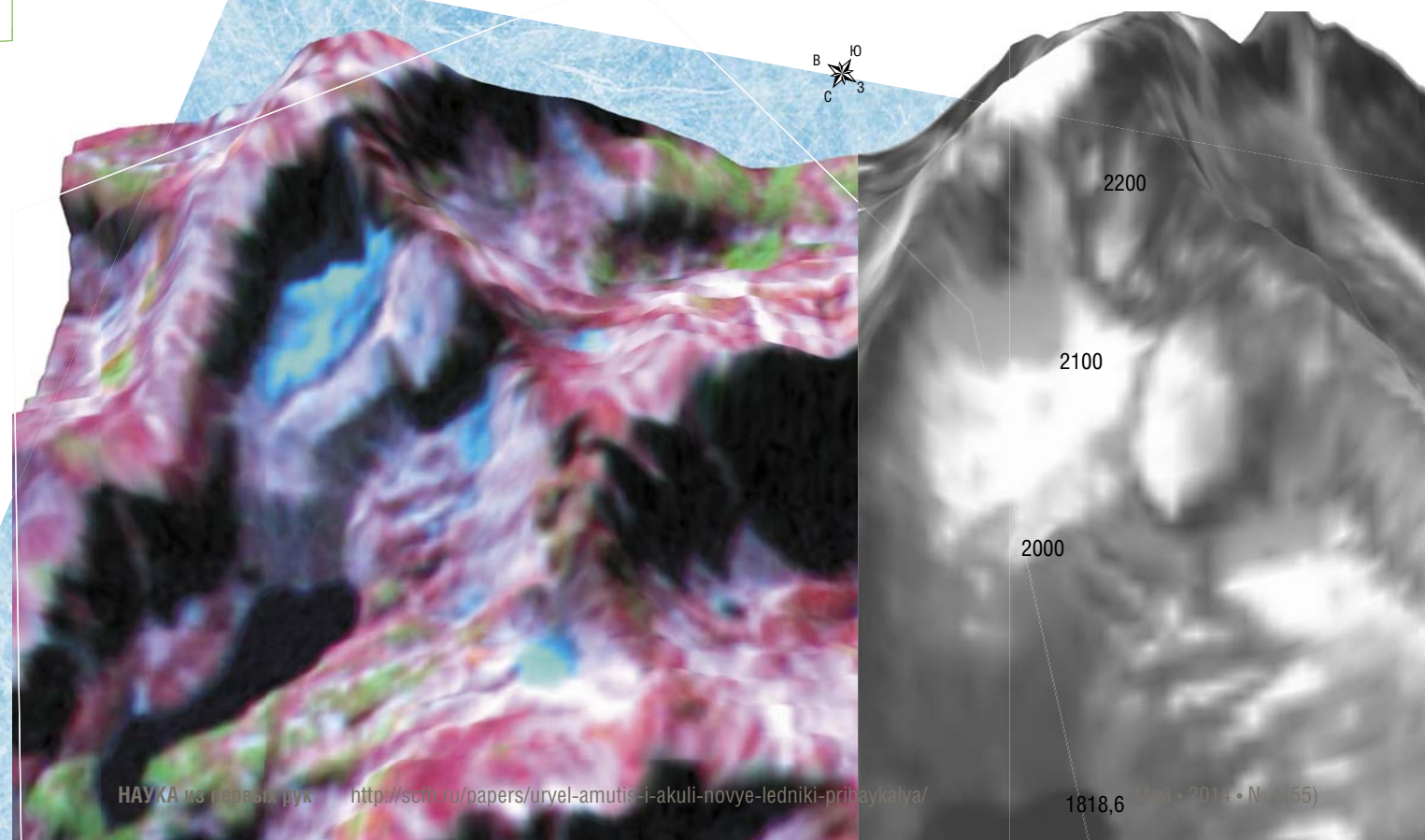
Первый фотоснимок оледенения на Баргузинском хребте был сделан 30 июля 1985 г. А. А. Кошелевым (слева). Спустя семь десятилетий этот же ледник, названный Урёл-Амутис, был сфотографирован с той же позиции во время экспедиции 2013 г. (справа)

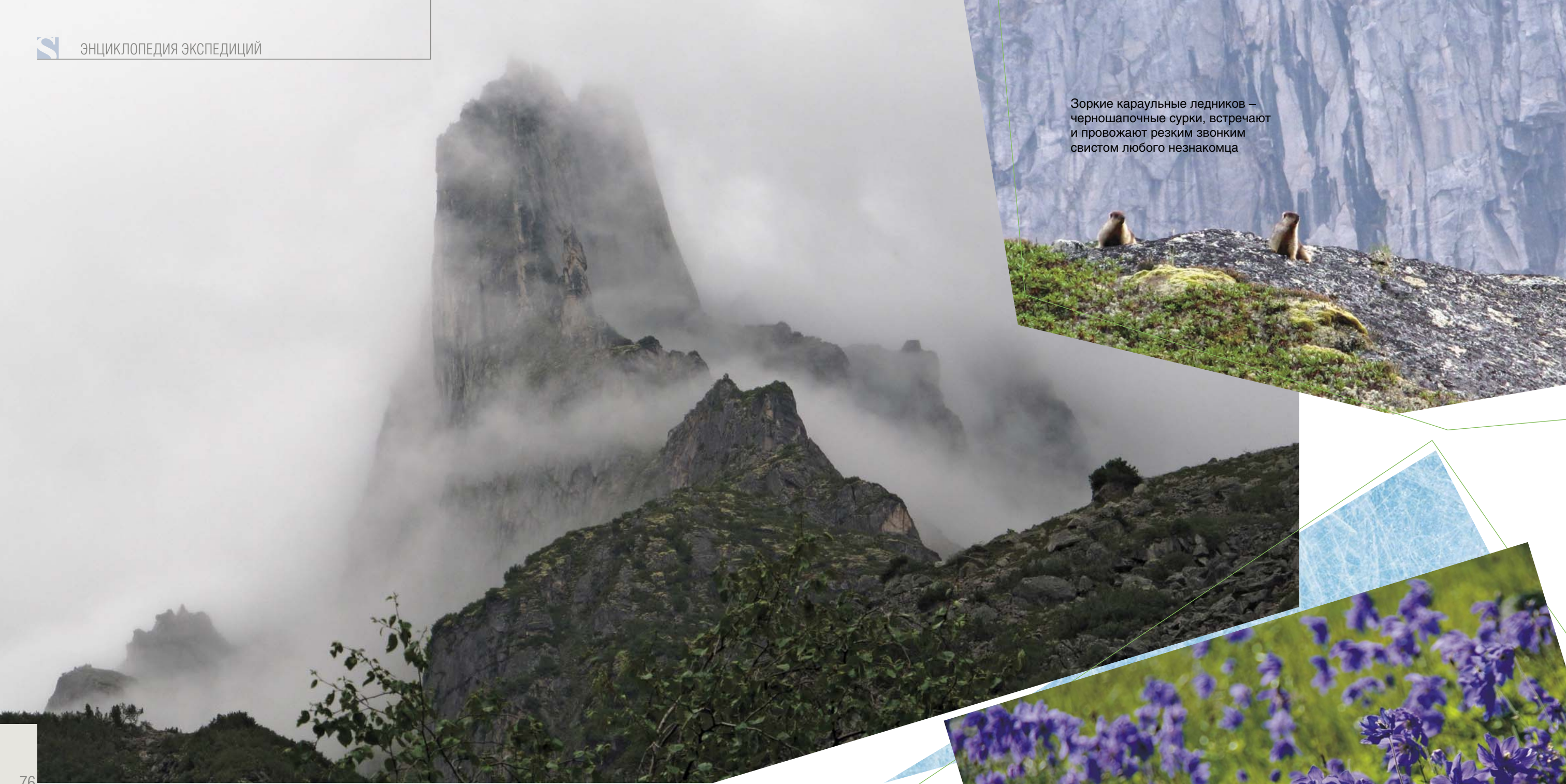
Теория Воейкова, которую в 1938 г. поддержал выдающийся географ Л. С. Берг, господствовала до середины XX в., несмотря на открытие на рубеже веков ледников Перетолчина и Радде в Восточных Саянах. И только открытие физико-географом В. С. Преображенским в 1958 г. ледников на хребте Кодар в Центральном Забайкалье окончательно развеяло этот миф и доказало, что благодаря особенности местных климатических условий и запасу холода ледники могут «жить» и ниже уровня «365» (Поповнин, 2006).

По последним данным, в Восточной Сибири имеется три горных массива с современным оледенением: это уже упомянутый хребет Кодар, Восточные Саяны (хребты Мунку-Сардык, Окинский и Саянские

К снежно-ледовым образованиям принято относить наледи, снежники, каменные глетчеры и ледники. Наледи имеют несколько иную природу образования и стоят особняком. А вот снежники, каменные глетчеры и ледники имеют своеобразную генетическую связь (Коваленко, 2011). Все эти образования имеют свою классификацию, основанную на различных критериях. Так, по времени «жизни» снежники могут быть многолетними, перелетками и сезонными; ледники по типу функционирования и местоположению делятся на пульсирующие, долинные, каровые, висячие, покровные, горные и т. п. Если снежник чаще всего представляет собой фазу, предшествующую леднику (до тех пор, пока он не выработал ложе (кар) в склоне хребта, не спрессовался в лед и не начал течь), то каменные глетчеры – его завершающая фаза, представляющая собой смесь камней и льда, которая продолжает вести себя как ледник и не имеет явно выраженной зоны питания

Благодаря современным методам ГИС-анализа, географы смогли заранее рассмотреть все детали строения ледника Урёл-Амутис. Сначала с помощью радарного спутника были получены изолинии высот (вверху, на фоне космоснимка WorldView-1), по которым построили цифровую модель рельефа с использованием космоснимков Landsat-ETM (внизу слева) и WorldView-1 (внизу справа)





Зоркие караульные ледников – черношапочные сурки, встречают и провожают резким звонким свистом любого незнакомца

белки) и Северное Прибайкалье (Байкальский и Баргузинский хребты). При этом ледники Прибайкалья до недавних пор не были зарегистрированы в соответствующих каталогах, и даже сам факт их существования был спорным.

И все-таки они есть

Первые упоминания о ледниках на Баргузинском и Байкальском хребтах относятся ко времени начала строительства БАМа, за которым последовало активное освоение региона. В 1985 г. горное оледенение на Баргузине

Баргузинский хребет, занимающий более трети восточного побережья Байкала – самый мощный и высокий из хребтов, окружающих озеро. В высокогорной части находится множество пиков с острыми вершинами и труднодоступными крутыми склонами, такими как эта вершина Замок – страж перед выходом к горным ледникам

Суровую красоту скал подчеркивают горные луга, покрытые нежным голубым водосбором (агвилегией), который недаром называют «цветком эльфов»



Иркутские географы из Института географии им. Сочавы СО РАН проводят инструментальные и экспедиционные исследования районов современного оледенения в горных массивах, окружающих оз. Байкал. *Космоснимок МОДИС*

Край «языка» ледника Акули – второго по величине ледника Баргузинского хребта. Несмотря на его деградацию, толщина льда пока еще впечатляет. *Справа вверху* – северный олень – самый крупный обитатель Баргузинского высокогорья

обнаружил и сфотографировал иркутский ученый-энергетик, заслуженный путешественник СССР А. А. Кошелев, однако и это не убедило географов. Бесспорные доказательства существования ледников на севере Прибайкалья удалось получить лишь в 2011–2013 гг. в ходе экспедиций на Баргузинский хребет, организованных сотрудниками Института географии им. В. Б. Сочавы СО РАН (Иркутск).

ленко, Китов, 2011). Исследователи добрались до озер Урёл-Амутис, где им удалось сделать фотографическую съемку нижней части ледникового «языка», однако к самому леднику подобраться не удалось.

Подготовка к «ледниковым» экспедициям началась с тщательного изучения территории, причем не только по картам, но и по космоснимкам разного масштаба. В результате ученым удалось определить 187 мест предполагаемого оледенения. Однако большинство из них, как выяснилось впоследствии, являются не настоящими действующими ледниками, а их переходной формой – многолетними снежниками и каменными глетчерами.

На следующий год географы двинулись более северным маршрутом, от с. Верхняя Заимка (Северо-Байкальский р-н Бурятии) по р. Верхняя Акули к ее истокам. Судя по старым топокартам, на вершине Акули-лимашки должен был располагаться самый большой ледник Баргузинского хребта.

В 2011 г. иркутской научной экспедиции удалось исследовать территорию от байкальской губы Хакусов, где расположен знаменитый природный курорт с горячими источниками, до истоков р. Томпуды – места, согласно топокартам, наиболее насыщенного ледниками (Кова-

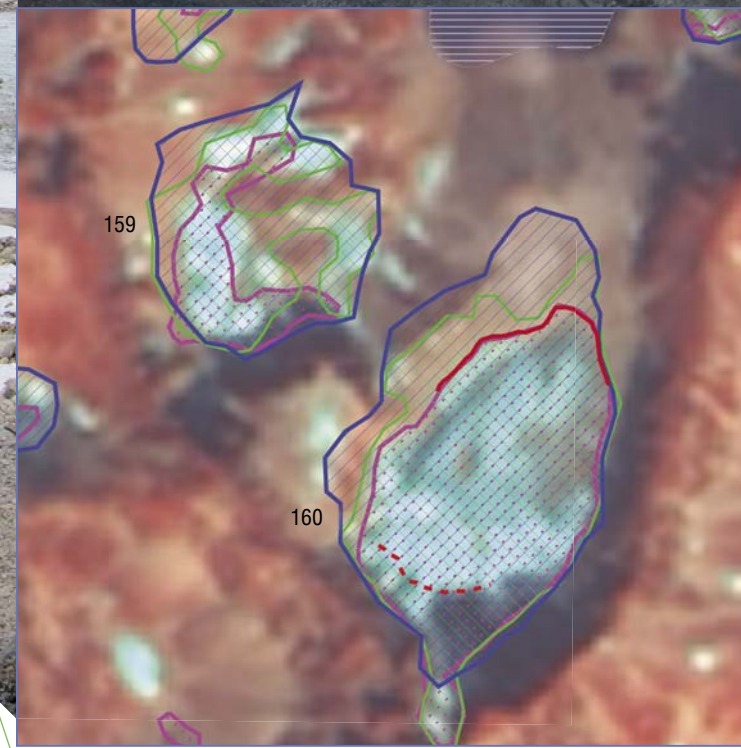
Оказалось, что этот некогда действительно крупный ледник к настоящему времени существенно деградировал и оказался значительно меньше, чем было указано на картах – всего 0,06 км². Такое расхождение с действительностью могло быть связано и с тем, что благодаря значительному похолоданию в 1950–1960-х гг. топографы приняли за продолжение основного ледника большие многолетние снежники. Ледник географы назвали Акули в честь протекающей по соседству речки.

Согласно экспедиционному плану, далее исследователи должны были пройти через плато с множеством озер, бывшим центром оледенения этой части хребта.





В первой экспедиции в 2011 г. из-за трудностей маршрута географам удалось достичь и сфотографировать только низ «языка» ледника Урёл-Амутис (слева). Сам ледник удалось «покорить» лишь через два года, в 2013 г. (справа)



- Границы открытого льда по данным топокарты 1960 г.
- Границы открытого льда по данным космоснимка «Landsat-5» 1992 г.
- Границы открытого льда по данным космоснимка «Landsat-7» 2010 г.

Этот космоснимок, на котором запечатлены баргузинские ледники Урёл-Амутис (160) и ледник 159, был сделан спутником «Landsat-8» 8 августа 2013 г., когда на Урёл-Амутисе работала экспедиция иркутских географов

Однако маршрут оказался чрезвычайно труднопроходимым, а погода – неблагоприятной. Поэтому географам пришлось закончить сезон: зима уже буквально «наступала на пятки», осыпая градом и запорашивая снегом вершины (Коваленко и др., 2012).

Самый большой ледник Баргузинского хребта «покорился» географам лишь в 2013 г., когда они подошли к нему с другой стороны и смогли подняться значительно выше, чем годом ранее. Там, в районе истоков рек Правая Фролиха и Тала Светлинская, при изучении снежно-ледовых образований и был обнаружен ледник площадью 0,14 км², названный Урёл-Амутис (Китов и др., 2013).

В ВЕК ВЫСОКИХ ТЕХНОЛОГИЙ

Работа географов не ограничивается находкой ледника и внесением данных о нем в соответствующие каталоги. Следующий шаг – определение инерционности процессов, которым подвержен ледник, и регулярные наблюдения за изменением его границ.

Эту работу в наше время значительно облегчают дистанционные средства наблюдения, позволяющие оперативно и с большой точностью получать количественные данные о таких труднодоступных и опасных объектах, как ледники. К этим приборам относятся наземные лазерные сканеры, GPS-приемники, а также радиолокационные спутниковые системы, с помощью которых можно с миллиметровой точностью строить цифровые модели рельефа и следить за изменениями поверхности ледника.

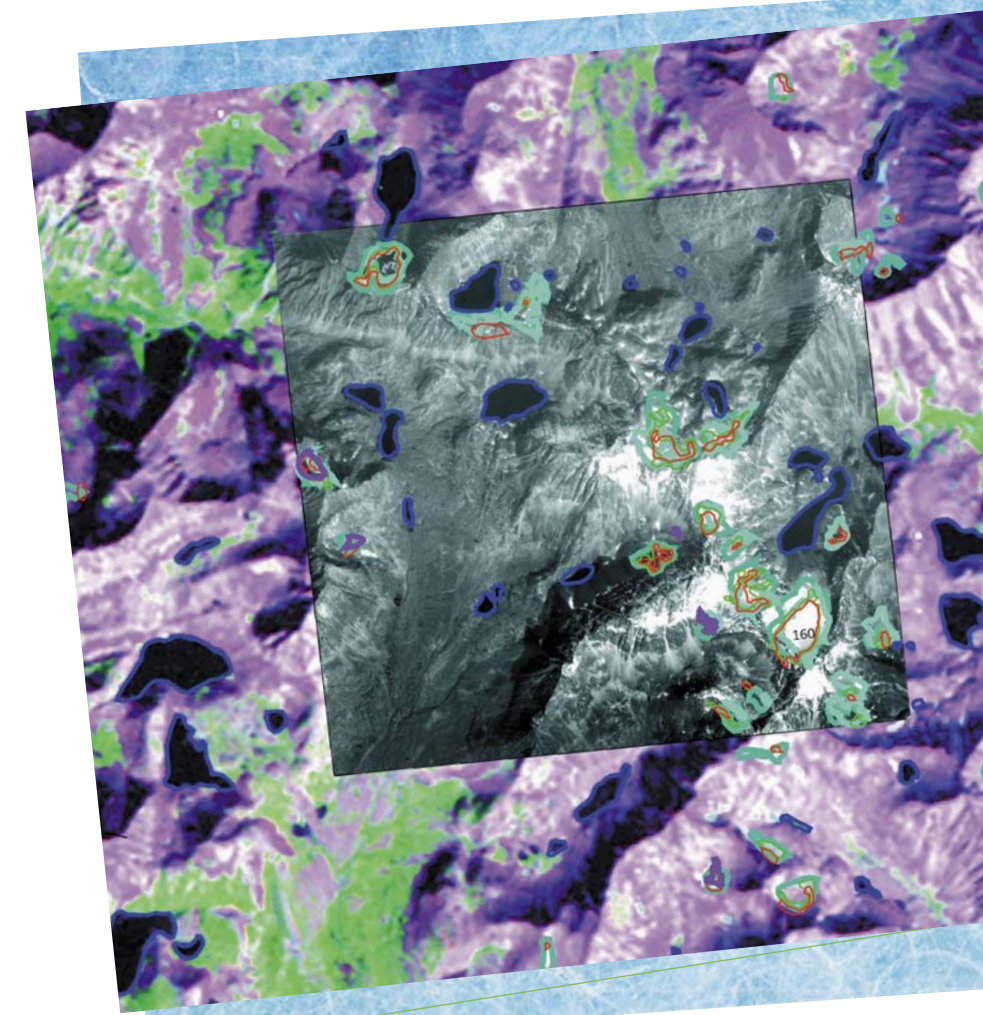
Данные со спутников позволяют отслеживать динамику ледников в любой точке планеты, однако эффективность таких систем существенно ограничивается облачностью. И здесь на помощь приходят беспилотные летательные аппараты, оснащенные сканерами. Георадары позволяют построить профили ледника и модель его подстилающей поверхности, а также вычислить объем (мощность) ледника, используя данные наземных сканеров. Во многих горных системах сейчас установлены автоматизированные метеостанции, которые через беспроводную связь оперативно передают данные, сохраняющиеся в соответствующих базах данных и доступных по сети Интернет



Команда первых исследователей ледника Урёл-Амутис: руководитель экспедиции А. Китов, аспиранты ИГ СО РАН И. Балязин, Е. Иванов и студент Восточно-Сибирской государственной академии образования Н. Филатов

Этот ствол дерева был обнаружен в морене ледника хребта Мунку-Сардык в Восточных Саянах. Древесный патриарх прожил 280 лет в период оптимума голоцена, т. е. около 7,5 тыс. лет назад, и был законсервирован обвалом. Это означает, что ледники там не могли сформироваться в более ранний период, поскольку климатические условия, необходимые для их существования, не позволяют развиваться такой растительности. Не исключено, что ледники Восточных Саян, скорее всего, «старше» баргузинских

Сравнительный анализ данных разных лет показывает, что за последние полвека ледники и другие снежно-ледовые образования на Баргузинском хребте заметно уменьшились в размерах, некоторые – вплоть до почти полного исчезновения. Контуры ледников наложены на космоснимок «Landsat-ETM» 2010 г. (пространственное разрешение 15 м) и «WorldView-1» 2008 г. (разрешение 0,5 м). Используются данные топокарты 1960-х гг. (голубой контур) и космоснимков «Landsat» (зеленый – 2009 г., красный – 2010 г.). Отмечены снежно-ледниковые образования по данным GPS (сиреневый) и озера (синий)



Ледники Баргузинского хребта уникальны по многим параметрам. Во-первых, в силу своего «загадочного» происхождения: предполагается, что они являются остатками большого ледника аккемской стадии (5–4 тыс. лет назад). Но главное в том, что в этих широтах ледники должны располагаться на высотах от 3500 м. Однако баргузинские ледники обнаружены на высоте около 2300 м, что значительно ниже снеговой границы, т. е. там, где теоретически никакие ледники существовать не могут.

Благодаря огромной работе, проделанной сотрудниками Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, удалось уточнить топографические карты, созданные в середине прошлого века. Открытие точного местоположения и исследование характеристик ледников Прибайкалья позволило зарегистрировать их в соответствующих базах данных.

Исследователи уверены, что ледники Баргузинского хребта станут в будущем источником ценных сведений для прогнозирования изменений климата на северном побережье Байкала, для чего требуется вести постоянный мониторинг их границ.

Литература

Китов А.Д. Итоги 100-летних наблюдений за динамикой гляциальных горных геосистем массива Мунку-Сардык // География и природные ресурсы. 2009. № 3. С. 101–108.

Коваленко Н.В. Режим и эволюция малых форм оледенения. М.: МАКС Пресс, 2011. 240 с.

Кузьмин М.И. Прогноз погоды на 8 млн лет назад // НАУКА из первых рук. 2005. № 3(6). С. 54–65.

Поповнин В.В. Современная эволюция ледников Земли // Современные глобальные изменения природной среды. В 2 томах. Т. 1. М.: Научный мир, 2006. С. 507–577.

Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2013620600, Ледники Баргузинского хребта, 13 мая 2013 г.

Сейсмический «ПУЛЬС» ВУЛКАНА

Экспедиция на вулкан Горелый

Во все времена вулканы были объектом живейшего и зачастую благоговейного интереса людей. Завораживающая красота и мощь вулканических извержений вдохновляла людей на создание легенд и мифов, которые были ничем иным, как попыткой объяснить эти поразительные природные явления. И сегодня интерес к вулканам не ослабевает, ведь человечество по-прежнему уязвимо перед природными катаклизмами, которые вызывают крупные вулканические извержения. Ученые стремятся изучить механизмы, которые приводят к активизации вулканической деятельности: эти данные позволяют не только лучше понять геодинамические процессы, протекающие в глубинах нашей планеты, но и повысить ценность прогнозов вулканической опасности

И. Ю. КУЛАКОВ



КУЛАКОВ Иван Юрьевич – доктор геолого-минералогических наук, заведующий лабораторией сейсмической томографии Института нефтегазовой геологии и геофизики им. А. А. Трофимука СО РАН (Новосибирск). Автор и соавтор более 70 научных работ

Белые облака над камчатским вулканом Горелый (1829 м) – его «визитная карточка», образовались из газов и водяного пара, извергнутых с огромных глубин

Ключевые слова: вулканы, сейсмоприемники, томография, землетрясения.

Key words: volcanoes, seismic stations, tomography, earthquakes

© И. Ю. Кулаков, 2014



Одним из способов заглянуть внутрь вулкана и увидеть особенности его строения является сейсмическая томография – достаточно молодой геофизический метод, который в наши дни активно используется для изучения различных геологических структур. Сейсмические волны, которые инициируются землетрясениями, распространяются внутри земной поверхности, «просвечивая» ее подобно рентгену. Задача сейсмической томографии – расшифровать эту информацию и на ее основе создать трехмерную модель упругих параметров (например, сейсмических скоростей). На основе такой модели, в свою очередь, можно судить о геологических процессах, происходящих в глубинах Земли.

При изучении вулканов для получения качественной томографической картины необходимо накопление большого количества точных данных, что подразумевает установку сейсмических сетей на достаточно длительный срок. Это требует больших финансовых затрат, поскольку стоимость одной современной станции для сейсмологических исследований сопоставима с ценой нового автомобиля бюджетного класса, а для проведения качественного эксперимента требуется несколько десятков таких станций. Кроме того, серьезные проблемы вызывает доставка тяжелого оборудования в труднодоступные места и установка его на вулкане.

Поэтому неудивительно, что несмотря на большой интерес, который проявляют ученые к методам сейсмической томографии, в мире не так много примеров

Некоторые из наиболее крупных известных извержений вулканов имели глобальные эффекты и оказали существенное влияние на климат и историю человечества. Так, катастрофическое извержение вулкана Хуайнапутина в Южной Америке в 1601 г. привело к малому ледниковому периоду в Европе, а в России – к неурожаю и голоду в 1601–1603 гг., что стало одной из причин трагического «Смутного времени». Изменение климата в результате извержения вулкана Тамбора в Индонезии в 1815 г. привело к неурожаям, голоду, эпидемиям и смутам на всех континентах. И даже относительно небольшое

удачно расставленных сетей, которые можно использовать для получения внутри вулкана сейсмических изображений хорошего качества.

В 2013 г. лаборатория сейсмической томографии Института нефтегазовой геологии и геофизики СО РАН им. А. А. Трофимука (Новосибирск) инициировала экспедицию на вулкан Горелый на Камчатке, в задачу которой входила установка достаточно плотной сети сейсмических станций.

«Дышащий» вулкан

Горелый – один из наиболее активных камчатских вулканов. О его потенциальной опасности свидетельствует крупная кальдера (обширная кольцевая котловина) диаметром около 30 км, окружающая современную вулканическую постройку вулкана. Эта кальдера образовалась в результате мощного извержения прото-Горелого вулкана, случившегося около 40 тыс. лет назад, что по геологическим меркам может рассматривать как «вчерашний день».

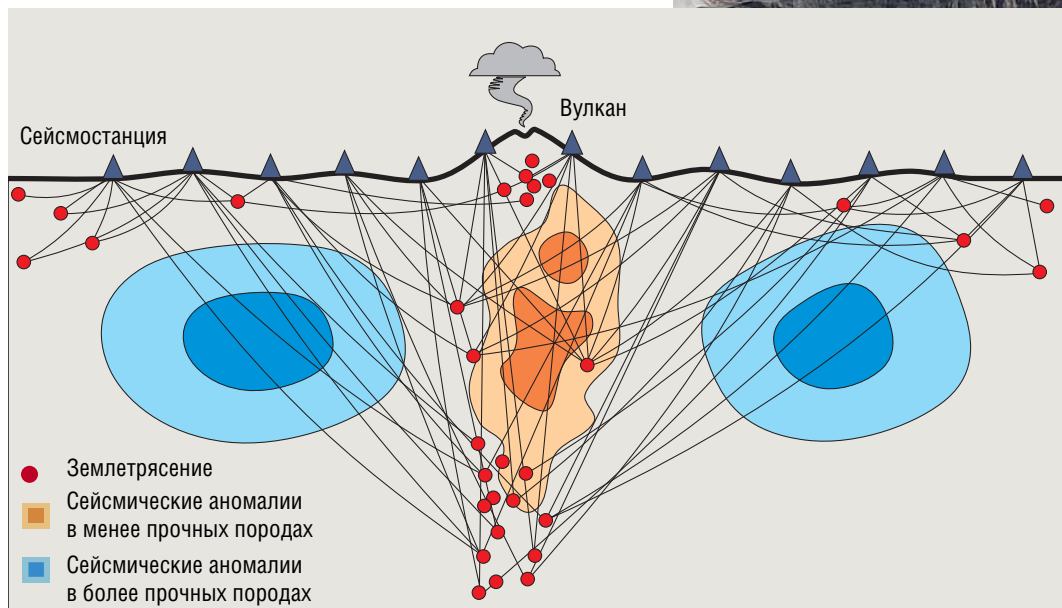
Объем пород, выброшенных при этом извержении, который оценивается в 100 км³, дает основания предположить, что извержение могло оказать глобальный эффект на климат Земли подобно извержению вулкана Тамбора в 1815 г. Такого рода взрывные извержения происходят в случае андезитовых магм, которые представляют собой высоковязкий материал, насыщенный флюидами.

недавнее извержение исландского вулкана Эйяфьрлайекюдль вызвало коллапс авиасообщений в Европе, при том что объем извергнутых им пород (0,01 км³) был несопоставим с известными историческими извержениями, такими как Кракатау в 1883 г. (20 км³). Огромную опасность представляют и образующиеся во время извержений горячие пепловые тучи (пирокластические потоки), которые движутся с огромной скоростью, уничтожая все на своем пути. Самый печально знаменитый пример – извержение Везувия в 79 г., которое стерло с лица земли процветающий римский город Помпеи

До 2013 г. на вулкане Горелый была установлена только одна стационарная сейсмическая станция, еще две работали на вулкане Мутновский и вулкане Асача

Исследователи на краю активного кратера вулкана Мутновский

В большинстве случаев для изучения глубинного строения вулканов с помощью сейсмической томографии используют пассивные схемы наблюдения. При этом сейсмический сигнал, возбуждаемый естественными источниками (землетрясениями), регистрируется сейсмостанциями, установленными на поверхности. Распространяясь в среде, сейсмические волны «накапливают» интегральную информацию о распределении упругих параметров в пространстве между приемником и источником. Задача томографии состоит в том, чтобы расшифровать эту информацию и определить пространственное распределение сейсмических параметров



Вулкан Горелый располагается в 75 км к юго-западу от г. Петропавловск-Камчатский. Горелый – типичный кальдерный вулкан. Его современную постройку венчают три крупных слившихся вулканических конуса, на склонах которых имеются десятки побочных прорывов. На вершине вулкана сегодня насчитывается одиннадцать кратеров, включая центральный, из которого идет мощный выброс газов



УЧАСТНИКИ ЭКСПЕДИЦИИ

Полевые работы по установке сейсмических станций проводились в августе 2013 г. группой из десяти человек. Шестеро из них – сотрудники и студенты лаборатории сейсмической томографии Института нефтегазовой геологии и геофизики им. А.А. Трофимука СО РАН из Новосибирска, которые ежегодно проводят полевые работы по сейсмологическому исследованию различных вулканов Камчатки. В качестве волонтеров к группе присоединились двое зарубежных коллег. Для Алехандро Диаса, аспиранта из университета Гранада (Испания), с которым наша лаборатория давно сотрудничает, работа на Камчатке выполнялась в качестве стажировки с целью приобретения бесценного опыта работ в тяжелых полевых условиях. Другой зарубежный коллега, профессор Николай Шапиро, заместитель директора Института физики Земли Парижа (Institut de Physique du Globe de Paris) известен во всем мире как автор целого направления в сейсмологии. Его советы были чрезвычайно важны для оптимизации установки сети. Богатый опыт проведения полевых работ на Камчатке молодого сотрудника из Института вулканоло-

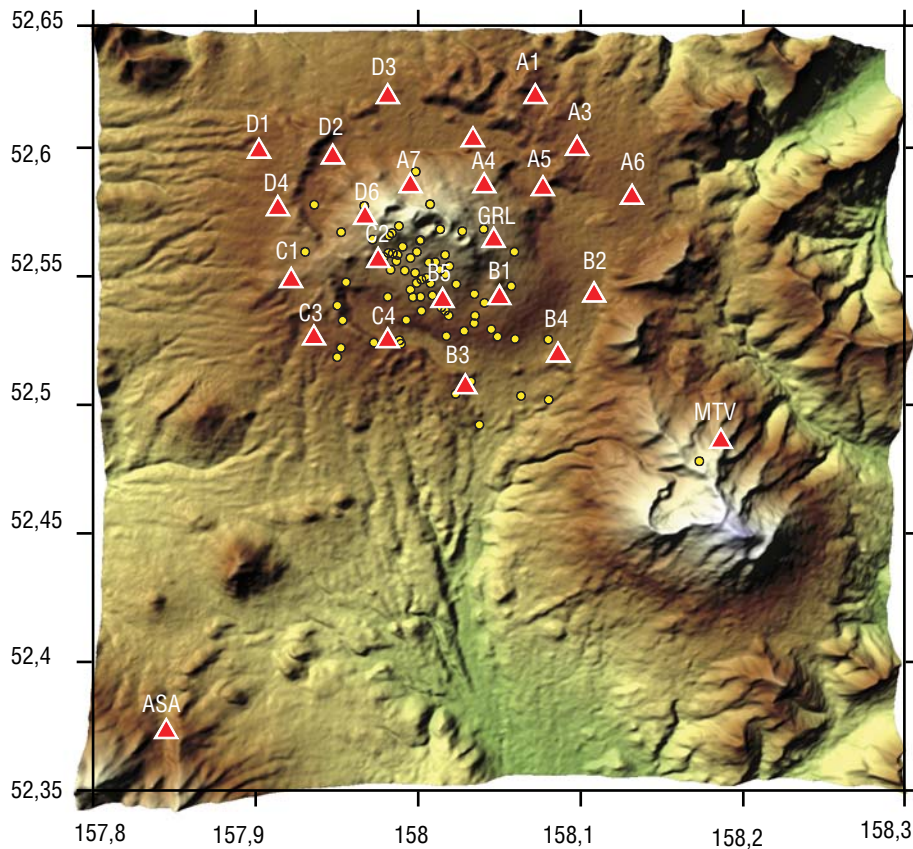
гии и сейсмологии ДВО РАН Ильяса Абкадырова выручал нас в непростых ситуациях. Наконец, мастерство и самоотверженность водителя экспедиции Сергея во многом определило успешность установки сейсмической сети. О водителях на Камчатке, которые совершают настоящие чудеса, следует написать отдельный рассказ. Например, для того чтобы подъехать к некоторым частям вулкана и тем самым сократить продолжительность пеших маршрутов, приходилось пересекать крупные поля снежников. В некоторых местах под снегом были возможны скрытые резервуары талой воды. Если тяжело загруженный ГАЗ-66 провалится в таком месте, вытащить его будет очень сложно. Благодаря феноменальному чутью водителя нам удалось благополучно преодолеть все препятствия и проникнуть на машине в такие места, где и пешком трудно передвигаться. Научная задача работавшей параллельно с нами геофизической экспедиции оказалась невыполненной именно из-за того, что пересечение таких снежников стало для них непреодолимой проблемой

Испанский коллега Алехандро Диас и Павел Кузнецов прокладывают путь к новой станции на склоне Горелого

Снежники – коварное препятствие для машины. Требуется большое мастерство и интуиция водителя, чтобы успешно их пересечь

Временный «дом» экспедиционников был разбит в кальдере у подножия современной вулканической постройки Горелого





Сейсмическая сеть, установленная на вулкане Горелый летом 2013 г. в дополнение к трем действующим станциям Камчатского филиала Геофизической службы РАН (ASA, MTV и GRL), уже в самом начале работы за несколько часов зарегистрировала положение ряда сейсмических событий, сопровождавших активацию вулкана. Положение станций отмечено красными треугольниками, землетрясения – желтыми точками

Камчатская погода в августе непредсказуема: иногда балует ярким солнцем, а иногда встречает ураганным ветром, дождем и туманом. В любом случае маршрут на вулкан Горелый никто не отменял



По дну кальдеры можно было проехать на автомашине, но далее приходилось продвигаться пешком на расстояние до 3–4 км по резко пересеченной местности, да еще с грузом за плечами. Груз в рюкзаках включал в себя все компоненты сейсмической станции, дополненные компьютером, шанцевым инструментом, теплоизоляционной паклей и другими необходимыми вещами для установки станции.

Сейсмическая станция включает в себя три основных элемента. Во-первых, датчик – упрощенно говоря, очень чувствительный микрофон, улавливающий колебания поверхности Земли на достаточно низких частотах (например, с периодом до 50 с.). Во-вторых, регистратор, который проводит оцифровку сигнала с датчика и записывает его на карту памяти. И, наконец, источники питания. В качестве последних за рубежом часто ис-





Полуостров Камчатка –
родина красной лисы-огневки

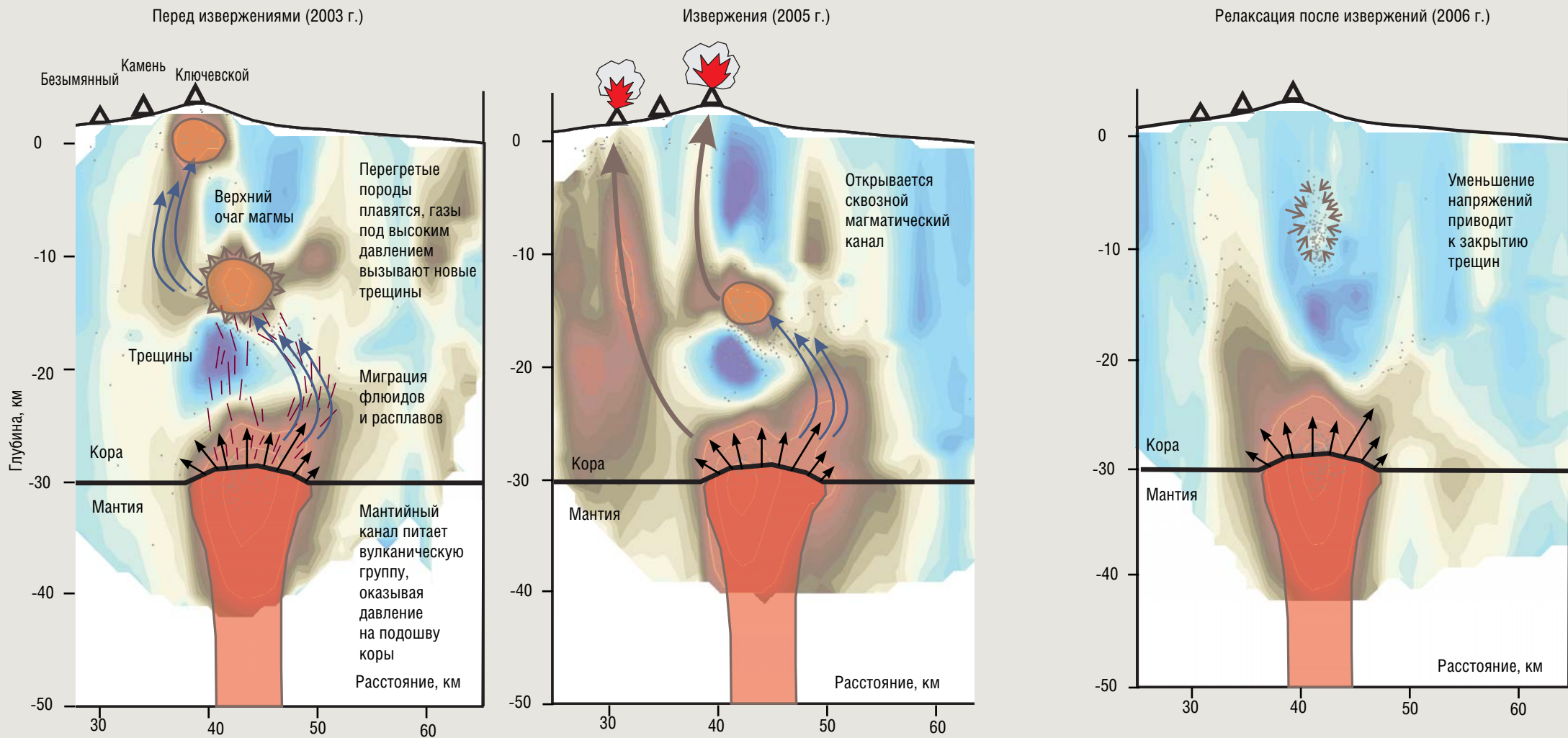
Фумаролы на вулкане Мутновский,
извергающие раскаленный газ
с пренеприятным запахом



пользуют солнечные или ветряные генераторы, однако в условиях Камчатки применять их не представляется возможным из-за сильных ветров и обильных снегопадов. Поэтому в качестве источника энергии для одной станции (которого хватает на один год эксплуатации) используются специальные батареи большой емкости общей массой около 40 кг.

С целью предохранения от мороза оборудование закапывалось в землю на достаточно большую глу-

бину, что было нелегко, учитывая каменистую почву вулкана. Но самую большую опасность для приборов представляют не низкие температуры, а вандалы, двуногие и четвероногие. Так, известны случаи, когда стационарные пункты геофизической службы, установленные в чрезвычайно труднодоступных местах, были полностью разграблены, несмотря на бетонные стены и бронированные двери – злоумышленники использовали автоген, который доставляли издалека



ВУЛКАНИЧЕСКИЕ МЕТАМОРФОЗЫ

Сибирским исследователям одним из первых в мире удалось предоставить доказательства того, что структура недр под вулканами может существенно меняться на различных этапах вулканической активности (Koulakov *et al.*, 2013). На основании данных длительных сейсмологических наблюдений была построена четырехмерная томографическая модель коры под вулканами Ключевской группы Центральной части п-ова Камчатка и прослежены ее изменения на разных этапах извержения. Оказалось что основной питающий магматический источник под Ключевским вулканом, расположенный на глубине ниже 24 км, оставался неизменным в течение всего периода наблюдения. В то же время вышележащие структуры значительно менялись благодаря миграции флюидов и расплавов. Отмечено, что в период, предшествующий крупным извержениям Ключевского и Безымянного вулканов, под ними находились два тела с аномальным высоким отношением скоростей поперечных и продольных сейсмических волн (V_p/V_s), которые были расположены друг над другом

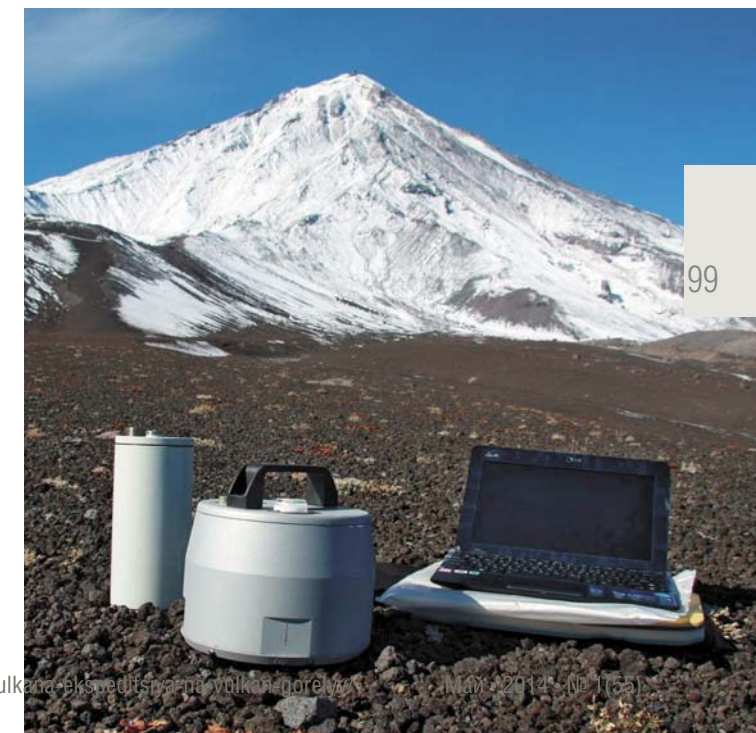
на глубинах 12 и 1 км. Эти аномалии отражают наличие промежуточных магматических камер, существование которых подтверждается петрологической информацией о разнообразии составов и режимов извержений вулканов Ключевской группы. При извержении структура земной коры под вулканами резко изменилась: конфигурация сейсмических аномалий стала другой, а среднее значение отношения V_p/V_s увеличилось. Это может свидетельствовать об активизации миграции флюидов и расплавов во время извержения и насыщении ими пород под вулканами. В последующие три года после извержений средний уровень отношения V_p/V_s под вулканами уменьшился, а аномалии в верхней части коры исчезли. Это свидетельствует о наступлении фазы релаксации вулкана, когда количество флюидов в системе становится недостаточным для формирования магматических очагов. Полученные результаты позволили сделать вывод, что магматические очаги являются очень динамическими системами.

На разных временных проекциях томографической модели земной коры под Ключевской группой вулканов (вулканы Безымянный, Камень и Ключевской) коричневым цветом показаны высокие значения отношения скоростей пробега продольных и поперечных сейсмических волн (V_p/V_s), которое является достаточно надежным индикатором наличия в породах флюидов и расплавов. Точки показывают положения гипоцентров землетрясений

ми. Вероятно, их вещество – пористое, как губка, содержит перегретые породы, близкие к точке плавления. Температура их плавления при проникновении флюидов из мантии понижается, что и приводит к частичному плавлению пород и формированию магматических очагов. Однако, если в результате вулканической активности флюиды в конце концов выходят на поверхность, расплавленная субстанция в магматических очагах может быстро исчезнуть



Главными элементами сейсмостанций, установленных на вулкане Горелый, является регистратор «Baikal» и сенсор СМЕ 4111 отечественного производства (внизу). Эти приборы на целый год закапывают в землю. Для обеспечения непрерывной работы одной сейсмостанции требуются несколько батарей общим весом 40 кг (вверху)





по бездорожью. При этом, как правило, ничего из оборудования не было похищено, и ценные научные приборы, которые нельзя использовать в обычной жизни, были просто разбиты безвозвратно.

Большую опасность для станций представляют и медведи, численность которых на Камчатке достаточно высока и которые отличаются немалым любопытством и интересом к человеку. Известны случаи, когда сразу после установки станции медведи устраивали там настоящий погром, после чего станции требовался капитальный ремонт. Именно поэтому на месте проведения работ рекомендуется не есть, не справлять естественную нужду и вообще не оставлять на поверхности ничего, что могло бы указать животным на присутствие человека. К счастью, в августе медведи обычно стараются держаться подальше от человека, хотя их присутствие где-то рядом чувствуется постоянно.

В результате ударной работы в течение десяти дней все новые станции были успешно запущены, однако отъезд пришлось отложить. В последний день установки была получена информация, что в вулкане началась сейсмическая активизация, выражающаяся в сотнях слабых, но ощутимых землетрясений ежедневно. Нельзя было упустить возможность оперативно получить уникальную информацию, поэтому экспедиция провела трехдневные выходы у подножия вулкана, пока все станции одновременно вели запись сейсмических процессов.

По ходу экспедиционных работ новосибирские исследователи при поддержке Института вулканологии и сейсмологии ДВО РАН установили на вулкане Горелый 21 сейсмическую станцию в дополнение к уже существующей. По расположению и инструментальному обеспечению эта сейсмическая сеть на вулкане на сегодня является одной из лучших в мире.

С помощью новой сети уже удалось получить первые данные о сотнях сейсмических событий на вулкане, которые будут использованы для обнаружения положения магматического очага. На их основе уже в ближайшее время планируется построить предварительную томографическую модель вулкана.

Основной объем информации будет получен в августе 2014 г., а затем приборы будут извлечены из земли. Предполагается, что данные, полученные за полный год работы сети, дадут все необходимые сведения о функционировании магматической системы вулкана и позволят оценить возможность его активизации в будущем.

Молодые геологи на краю кратера вулкана Горелый. К сожалению, на фотографии не передать оглушающий шум газов, вырывающихся из отверстий внизу

Литература

Koulakov I. LOTOS code for local earthquake tomographic inversion // *Benchmarks for testing tomographic algorithms*. 2009. BSSA. V. 99, N. 1. P. 194–214.

Koulakov I., Gordeev E.I., Dobretsov N.L. et al. Rapid changes in magma storage beneath the Klyuchevskoy group of volcanoes inferred from time-dependent seismic tomography // *J. Volcanol. Geotherm. Res.* 2013. V. 263. P. 75–91.

Работа поддержана проектом Отделения наук о Земле РАН № 7.3, интеграционным проектом СО РАН № 20 и интеграционным проектом СО и ДВО РАН № 42



ПОДПИСКА для ЮРИДИЧЕСКИХ ЛИЦ

Стоимость подписки на полугодие – 690 руб.
Стоимость подписки на год – 1380 руб.



Чтобы оформить подписку на 2014 г., заполните заявку:

1. Полное наименование организации _____
 2. Юридический адрес _____
 3. ИНН/КПП _____
 4. Тел./ факс _____
 5. E-mail _____
 6. Контактное лицо (Ф.И.О. полностью) _____
 7. Ваши реквизиты для получения изданий по почте _____
Почтовый адрес (включая индекс) _____
 8. Получатель издания в организации (отдел, Ф.И.О.) _____
 9. Прошу выслать счет на подписку
журнала «НАУКА из первых рук» на первое, второе полугодие, год (нужное подчеркнуть),
количество экземпляров _____
- почтой факсом e-mail

и вышлите ее по адресу:

**Редакция журнала
«НАУКА из первых рук»
630090, г. Новосибирск,
а/я 96**

или отправьте по факсу:
8 (383) 330-26-67

или по e-mail: zakaz@infolio-press.ru

Счет на оплату будет выслан
в течение трех рабочих дней после
получения заявки

По всем вопросам обращаться:

Тел.: 8 (383) 330-27-22.

Факс: 8 (383) 330-26-67,

e-mail: zakaz@infolio-press.ru

Вы также можете оформить
подписку на нашем сайте:
www.sciencefirsthand.ru
www.sibsciencenews.org

Платежные реквизиты:

ООО «ИНФОЛИО»,
ИНН 5408148073
КПП 540801001
Р/счет 407 02 810 603 120 002 214
в ОАО «МДМ БАНК»,
г. Новосибирск
Кор/счет 30101810100000000821,
БИК 045004821

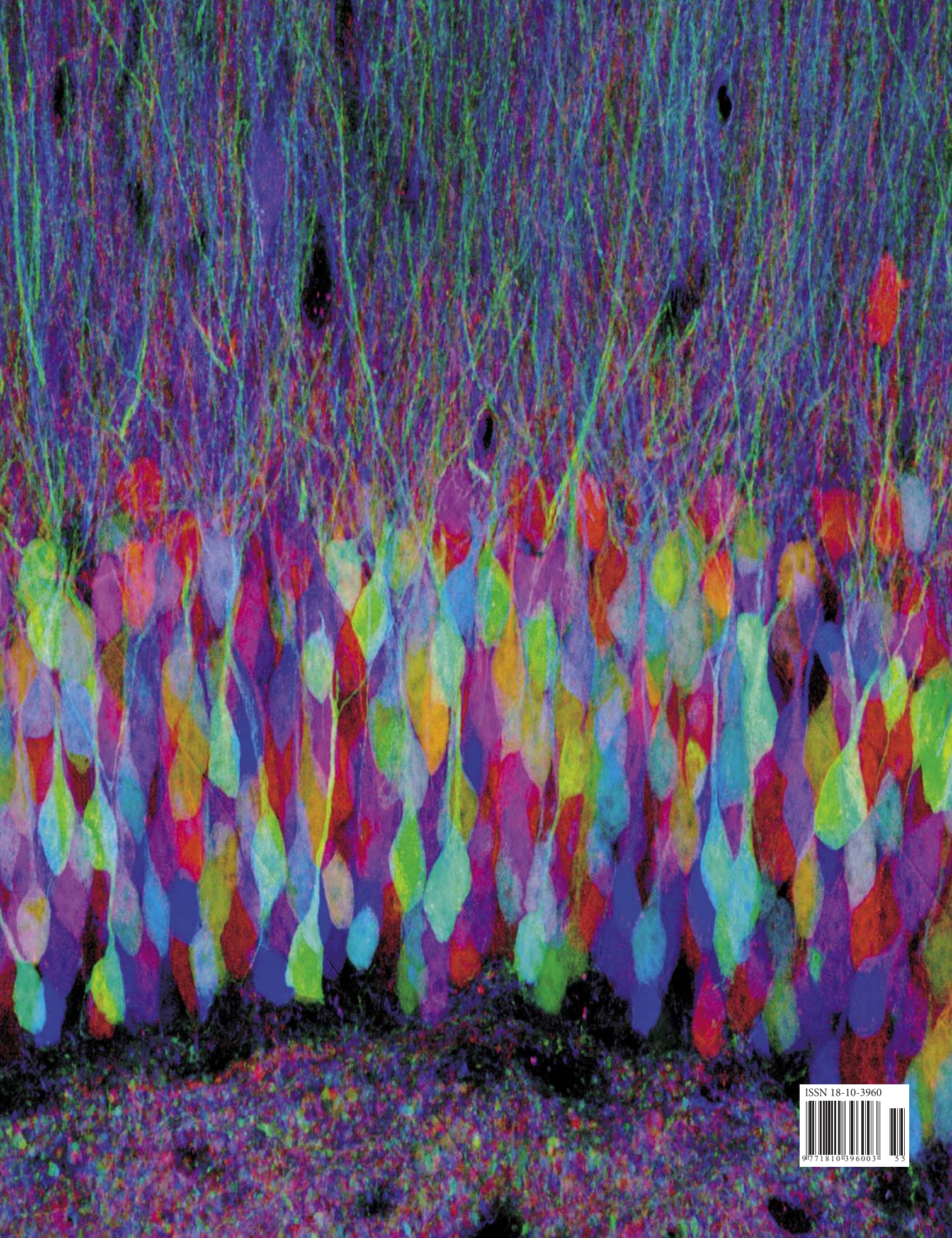
Подписка по каталогам:

Каталог агентства
«Роспечать» (стр. 269):
индекс **46495**
Объединенный каталог
«Пресса России» (стр. 387):
индекс **42272; on-line: www.pressa-rf.ru**

Подписка on-line

Агентство «Деловая пресса»: www.delpress.ru
Интернет магазин «PRESS cafe»:
www.presscafe.ru
МК-периодика: www.periodicals.ru
Информнаука: www.informnauka.com





ISSN 18-10-3960



9 771810 396003 55