

## ДЕСТАБИЛИЗАЦИЯ ГЕНОМА ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ И ОСТРОЙ КРОВОПОТЕРИ

В. Л. Кожура, Н. В. Кондакова, С. И. Заичкина, О. М. Розанова

ГУ НИИ общей реаниматологии РАМН, Москва,  
Научно-исследовательский и учебно-методический Центр биомедицинских технологий ВИЛАР РАСХН, Москва,  
Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино Московская область

### Genome Destabilization Upon Exposure to Ionizing Radiation and During Acute Blood Loss

V. L. Kozhura, N. V. Kondakova, S. I. Zaichkina, O. M. Rozanova

Research and Training Center of Biomedical Technologies, All-Russian Institute of Medicinal and Aromatic Plants,  
Russian Academy of Agricultural Sciences, Moscow  
Research Institute of Theoretical and Experimental Biophysics,  
Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow Region

В работе проводится сравнение наиболее распространенных в настоящее время цитогенетических методов (анализ хромосомных аберраций и микроядерный тест) для оценки действия стрессовых факторов на примере ионизирующей радиации. Приведенные экспериментальные результаты позволяют сделать вывод, что микроядерный тест (МЯ-тест) отражает состояние генома и выявляет повреждения при очень слабых воздействиях. С помощью этого микроядерного теста показано, что гемическая гипоксия и реинфузия, как и другие стрессовые факторы, вызывают дестабилизацию генетического материала. *Ключевые слова:* острая кровопотеря, ионизирующая радиация, дестабилизация генома, костный мозг, микроядерный тест.

The paper compares the currently available cytogenetic methods (chromosomal aberration test and micronuclear (MN) test) for the evaluation of the impact of stressors, by using ionizing radiation as an example. The experimental findings have led to the conclusion that the MN test shows the status of genome and reveals lesions upon very weak exposures. The MN test has demonstrated that hemic hypoxia and reinfusion, as other stressors, cause genetic material destabilization. *Key words:* acute blood loss, ionizing radiation, genome destabilization, bone marrow, micronuclear test.

Массивная кровопотеря является одним из тяжелейших стрессовых факторов. С целью снижения летальности и числа осложнений изучали патологию органов и тканей как в процессе самой кровопотери, так и в постреанимационном периоде. Результаты, полученные различными биохимическими и биофизическими методами при гемической гипоксии в модельных опытах на животных при обследовании таких тканей, как мозг, сердце, печень, свидетельствуют об изменениях на физико-химическом, клеточном и биохимическом уровнях [1–5]. Наблюдаются увеличение молекулярной массы белков, изменение активности ферментов, уменьшение содержания РНК и ДНК в тканях и увеличение суммы нуклеиновых кислот в крови, расстройство проницаемости внутриклеточных мембран, усиление прижизненного протеолиза, развитие ацидоза, нарушение процессов окислительного фосфорилирования, активация гликолиза, изменения в структуре воды тканей. Интенсивность процессов зависит от вида органа и усиливается при реанимации. Результаты модельных опытов служат делу создания реанимационных технологий, обеспечивающих физическую и социальную полноценность человека.

В последние годы показано, что гемическая гипоксия [6–9], как и другие критические состояния, относится к свободнорадикальным патологиям, таким как лучевая болезнь, экологические токсикозы, заболевания сердечно-сосудистой системы, нейродегенеративные, онкологические, диабет, заболевания воспалительного генеза и т. д. Общим для них являются процессы образования активных форм кислорода, свободных радикалов и низкомолекулярных эндогенных прооксидантов (перекись водорода, липопероксиды, гипохлорная кислота, пероксинитрит) и ослабления системы антиоксидантной защиты организма [6, 10–13].

Известно, что образование активных радикалов приводит к разрыву мембран, нарушению структуры хроматина клеток и, как следствие, к появлению хромосомных аберраций и накоплению мутаций [10–13]. Вопрос о хромосомных нарушениях при кровопотере и реинфузии до недавнего времени не был исследован. Однако ряд обстоятельств указывал на то, что при гемической гипоксии и реинфузии, нарушение стабильности генома должно было иметь место: 1) установлен факт изменения изоферментного спектра ЛДГ, ключевого фермента заключитель-

ного этапа гликолиза, и высказано предположение, что активирование М-изоЛДГ связано с депрессией гена, ответственного за биосинтез этой изоформы [3]; 2) при гемической гипоксии и реинфузии наблюдается увеличение содержания нуклеиновых кислот в крови и снижение содержания ДНК в ткани [1, 14]; 3) известно, что кровопотеря вызывает активацию кроветворения и ускорение фаз митоза при гемопоэзе [15, 16], что, в свою очередь, может приводить к увеличению ошибок при редупликации ДНК и, как следствие, к хромосомным нарушениям в клетках костного мозга.

Эти обстоятельства позволили нам предположить, что острая массивная кровопотеря индуцирует нестабильность генома, которая, как известно, опасна своими отдаленными последствиями (увеличение риска онкологических заболеваний, аномалий в развитии потомства, преждевременное старение, сокращение продолжительности жизни) [17]. Данные об изучении нарушения состояния генетического аппарата при кровопотере и реанимации в литературе отсутствуют. В настоящее время генетическим исследованиям в реаниматологии придается большое значение [18].

В последние годы достаточно подробно описаны возможные последствия для здоровья человека и для всего живого загрязнения среды обитания разнообразными физическими и химическими агентами. Многие из этих агентов, попадая в организм через пищевые цепи, оказывают не только общее токсическое действие, но и вызывают специфические нарушения генетического аппарата клеток, даже в чрезвычайно малых дозах. Под действием этих агентов, прямо или косвенно, в геноме происходят структурные изменения. Когда генотоксическое действие затрагивает геном зародышевых клеток человека или животных, часто гибнут эмбрионы или появляется потомство с врожденными пороками. Мутации в соматических клетках ведут к ослаблению здоровья, вызывают раковые заболевания, снижают активность иммунной системы, нарушают нервную и сердечно-сосудистую системы, уменьшают продолжительность жизни [19].

В этой связи в первоочередную задачу входит адекватный подбор методов, с помощью которых возможно быстро и четко определить мутагенность и канцерогенность веществ, широко применяемых в быту, в промышленности, в сельском хозяйстве, в медицине, а также поиск веществ, предотвращающих или уменьшающих повреждающие воздействия. Чаще всего для этих целей используются цитогенетические методы: во-первых, метод учета хромосомных aberrаций (ХА) в метафазных клетках пролифе-

рирующих тканей *in vitro* или *in vivo*. Этот метод основан на микроскопическом учете видимых нарушений структуры хромосом (хромосомных aberrаций) в метафазных клетках. Рутинная окраска метафазных пластинок позволяет выявить ахроматические пробелы (гепы), одиночные и парные фрагменты хромосом, различные типы хромосомных обменов. Использование дифференциальных окрасок позволяет регистрировать хромосомные инверсии и транслокации. Метод ХА применяется для исследования механизмов как образования самих хромосомных aberrаций, так и действия различных соединений [19, 20]. При большой информативности метод ХА имеет недостатки: он не поддается автоматизации, трудоемок и требует высокой квалификации исследователя, что приводит к большим затратам при экспертных оценках.

В последние годы широкое распространение получил другой способ оценки цитогенетических повреждений — метод подсчета клеток с микроядрами (МЯ) [21]. Известно, что МЯ образуются из ацентрических фрагментов хромосом, не попавших в дочерние ядра при переходе клеток во второй клеточный цикл или в результате потери целых хромосом. МЯ-тест имеет ряд преимуществ по сравнению с методом хромосомных aberrаций. Для получения данных по критерию ХА необходимы множественные фиксации, поскольку эффективность мутагенного действия химических соединений в большинстве случаев различна в стадиях клеточного цикла. МЯ-тест позволяет получить сведения об эффективности воздействия этих соединений по всему клеточному циклу. Другим преимуществом МЯ-теста является четкость и простота при оценке повреждений, что сделало возможным его автоматизацию. Расчеты, сделанные Журковым В. С. с соавт., показывают, что при МЯ-тесте кадровые, временные и экономические затраты, примерно, в 3 раза меньше, чем при учете ХА [22].

Задача данного обзора — рассмотреть роль МЯ-теста в оценке действия на организм экстремальных факторов, дестабилизирующих состояние генома, в сопоставлении с хромосомными повреждениями на примере действия ионизирующей радиации и сравнить с эффектами при гемической гипоксии.

Несколько лет назад было проведено сравнительное изучение количества повреждений, индуцированных  $\gamma$ -излучением, в первом и втором после воздействия митотических циклах по критерию ХА и МЯ-тесту [23]. Было показано, что существует корреляция между количеством клеток с МЯ во втором митотическом цикле и количеством клеток с aberrациями в первом митотическом цикле, а при среднем выходе aberrаций на клетку, равном 2 и более, наблюдается полное совпадение процента поврежденных клеток.

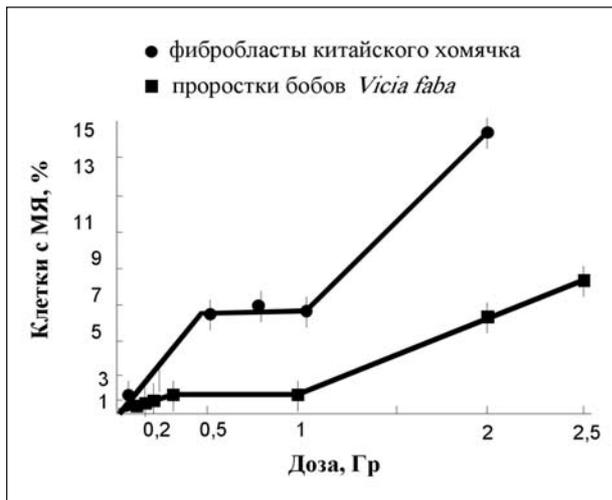


Рис. 1. Зависимость выхода цитогенетического повреждения в различных клетках от дозы  $\gamma$ -облучения [25, 26].

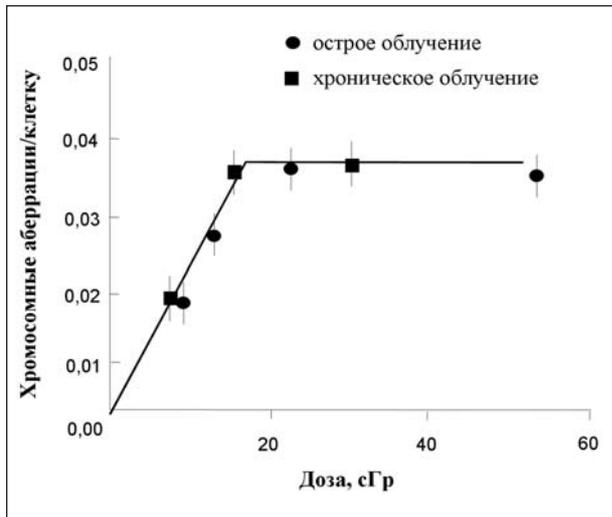


Рис. 2. Зависимость выхода цитогенетических повреждений в культуре лимфоцитов периферической крови человека от дозы острого и хронического  $\gamma$ -облучения [24, 27].

Тест-объектами для изучения цитогенетических повреждений с помощью МЯ-теста *in vitro* являются клетки первичных и перевиваемых клеточных культур животных и человека: лимфоциты периферической крови [24], фибробласты кожи человека, фибробласты китайского хомячка, клетки растений [25] и т. д. Для каждого объекта существует своя специфика приготовления и окраски цитологических препаратов и подсчета МЯ.

Наряду с хромосомным анализом, МЯ-тест на различных объектах используется при исследовании действия различных типов облучения и химических веществ, модифицирующих радиационное повреждение.

Так с помощью МЯ-теста было исследовано влияние малых доз острого и хронического излучения на культурах фибробластов китайского хомячка [25] и лимфоцитов периферической крови человека [27], на клетках растений бобов *Vicia*

*faba* [26]. На рис. 1 представлены дозовые зависимости выхода клеток с МЯ при остром  $\gamma$ -облучении фибробластов китайского хомячка и клеток проростков *Vicia faba*.

Клетки китайского хомячка были подвергнуты острому облучению на установке ГУБЭ в диапазоне доз 5–100 сГр при мощности дозы 47 сГр/мин. Клетки фиксировали через 24 часа, чтобы дать им пройти весь клеточный цикл после облучения. 10 000 клеток анализировали на каждую экспериментальную точку. Аналогичные эксперименты проводили и на *Vicia faba*. Цитологические препараты готовили по стандартной методике [26]. Видно, что дозовые зависимости для обоих объектов имеют сложный характер: первоначальный линейный участок кривой переходит в плато в области доз 40–100 сГр, а затем наблюдается линейная зависимость, но с отличным от первоначального углом наклона, т. е. в области малых доз на первом линейном участке наблюдается высокий уровень повреждений, чем можно было ожидать при экстраполяции результатов при высоких дозах к малым.

Похожая дозовая зависимость была получена нами и на культуре лимфоцитов периферической крови человека, причем как по критерию МЯ, так и по критерию ХА. На рис. 2 представлены дозовые зависимости, полученные при остром и хроническом  $\gamma$ -облучении цельной крови человека. Цельную кровь культивировали по стандартной методике. С каждого образца считали 150–200 метафаз. Видно, что полученные дозовые кривые также имеют сложный характер и совпадают. Аналогичная дозовая зависимость получена нами и по МЯ-тесту, причем показано, что область доз, в которой наблюдается плато, различна для разных объектов. В радиочувствительной системе лимфоцитов человека плато наблюдается в области низких доз, чем в радиоустойчивой системе растений. Таким образом, как при использовании метода хромосомных аберраций, так и с помощью МЯ-теста выявлены аналогичные дозовые зависимости. Полученные результаты позволили выдвинуть гипотезу для объяснения причины такой формы дозовых зависимостей. Было высказано предположение, что повышенная чувствительность в области малых доз и наличие плато связаны с развитием репарационных процессов. Индукция процессов инициируется лишь при определенном уровне возникающих повреждений, а уровень цитогенетических повреждений, наблюдаемый на первом линейном участке дозовой кривой, обусловлен отсутствием или незначительным вкладом репарационных процессов в конечный результат. Подтверждением такого предположения послужили эксперименты по изучению влияния веществ, усиливающих или ослабляющих радиационное повреждение через воздействие их на процессы ре-

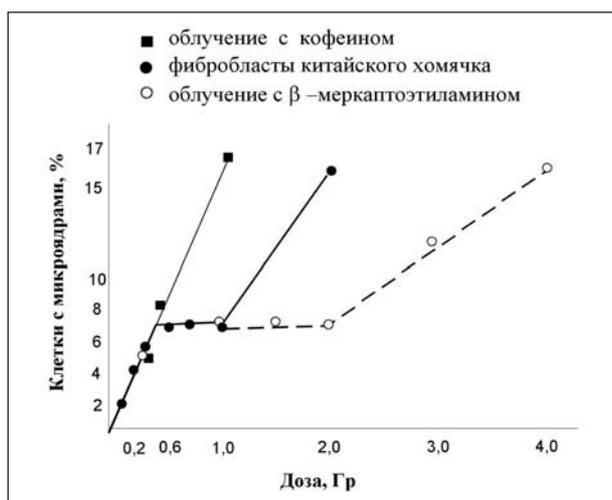


Рис. 3. Зависимость выхода цитогенетических повреждений в фибробластах китайского хомячка от дозы  $\gamma$ -облучения [27, 28].

парации. На рис. 3 представлена дозовая зависимость накопления микроядер при обработке фибробластов китайского хомячка кофеином — известным ингибитором репарации, в концентрации  $8 \times 10^{-4}$  М, и известным радиопротектором  $\beta$ -меркаптоэтиламином (МЭА) ( $10^{-4}$  М), который, как было показано нами ранее, воздействует на репарационные процессы. Видно, что на первом линейном участке дозовой кривой модифицирующее действие кофеина отсутствует, а в области плато и второго линейного участка возрастает до 3-х Гр. При воздействии МЭА в области плато процент клеток с МЯ не уменьшается, а на втором линейном участке наблюдается значительный защитный эффект до уровня повреждений, соответствующего уровню повреждений в области плато, т. е. область плато на фоне МЭА продлевается до 2,5 Гр. Эти данные подтверждают не только истинное существование плато, но и интерпретацию полученных результатов.

Таким образом, приведенные экспериментальные результаты, полученные с помощью МЯ-теста, подтверждают возможность применения его также для поиска новых веществ, усиливающих или уменьшающих повреждение генома.

В настоящее время для изучения способности различных мутагенных факторов индуцировать цитогенетические повреждения предпочтение часто отдают тестам на клетках млекопитающих *in vitro*. Поскольку в экспериментах *in vitro* получаемые результаты значительно зависят от условий культивирования и неспецифических эффектов, возникновение которых невозможно *in vivo*, в тех случаях, когда есть возможность выбора между тестами *in vitro* и *in vivo*, предпочтение следует отдавать последним. Из всех микроядерных методов оценки цитогенетического повреждения, которые применяются на животных *in vivo*, самым широко используемым является метод определения МЯ в

эритроидных клетках костного мозга. Как правило, при употреблении термина «микроядерный тест» *in vivo* подразумевается использование клеток эритроидного ряда грызунов [26, 27].

Этот метод принят Всемирной Организацией здравоохранения в качестве одной из тест-систем при оценке влияния мутагенных факторов окружающей среды на наследственность человека, при скрининге фармацевтических препаратов, пищевых добавок, косметических средств, промышленных отходов и т. д. и входит в список краткосрочных тестов для выявления потенциально канцерогенных веществ. Аналогичные регламентирующие документы существуют и в нашей стране [31]. Следует отметить, что в краткосрочных тестах МЯ-тест используется как равноценный методу ХА. При положительной пробе на эритроидных клетках на мутагенность дальнейшие испытания на батарее тестов уже не проводятся.

Полихроматофильные эритроциты (ПХЭ) в костном мозге являются наиболее удобной популяцией клеток для подсчета частоты микроядер [29]. Они представляют собой предпоследний этап в процессе эритропоэза и, одновременно, конечный продукт серии делений бластовых клеток. У грызунов бластовая стадия состоит из 6–7 клеточных делений, каждое из которых продолжается примерно 10 часов, причем 80% времени приходится на S-стадию клеточного цикла. Сразу после последнего митоза бластовой клетки, дочерние клетки вступают в стадию ортохроматофильных эритроцитов, протекающая от 3 до 10 часов, и в течение которой ядро выталкивается из клетки. Образуются ПХЭ, которые созревают в течение 10–33 часов по данным различных авторов. За это время они претерпевают различные структурные и метаболические изменения и превращаются в нормохроматофильные или зрелые эритроциты (НХЭ).

Поскольку такие агенты, как радиация, не являются специфическими к клеточной стадии и могут индуцировать МЯ в клетках, находящихся в G2-фазе последнего деления бластов, эффекты от них могут обнаруживаться немного раньше, чем от большинства агентов, зависящих от S-стадии. Понятно, что определение оптимального отрезка времени от воздействия изучаемого фактора до максимального выхода микроядер в ПХЭ необходимо для повышения точности регистрации эффектов.

Для большинства S-независимых агентов, включая радиацию, рефрактерный интервал, т.е. время между обработкой агентом и первым наблюдаемым ростом частоты ПХЭ с микроядрами в костном мозге лежит в пределах от 8 до 12 часов. С учетом митотической задержки, индуцируемой такой дозой, как 1,5 Гр и транзитного времени самой стадии ПХЭ, получаем, что максимальный выход МЯ следует ожидать в интервале от 24 до 30 ч.

МЯ-тест был использован для исследования дозовой зависимости выхода цитогенетических повреждений в области малых доз радиации и радиозащитного действия веществ, обладающих антиоксидантной активностью [32]. На рис. 4 представлена зависимость индукции МЯ в ПХЭ костного мозга мышей (самцы белых беспородных мышей линии SHK). Видно, что форма дозовой кривой аналогична тем дозовым кривым, которые были получены в экспериментах *in vitro*.

Облучение осуществляли от источника  $Co^{60}$  на установке ГУБЭ. Приготовление цитологических препаратов проводили по стандартной методике [26] с некоторыми собственными модификациями. Через 28 ч, после облучения, мышей забивали методом цервикальной дислокации. Данное время фиксации было выбрано нами исходя из результатов предварительных экспериментов, согласно которым на этом сроке наблюдали максимальный выход повреждений, и отношение ПХЭ к НХЭ оставалось неизменным и равнялось примерно 1:1, что свидетельствовало об отсутствии митотической задержки. Далее из бедренных косточек задних конечностей извлекали пунктат костного мозга, путем отрезания кончиков кости и выдавливания ее содержимого шприцом. Костный мозг от одного животного (обе или одна косточка, в зависимости от количества костного мозга) суспендировали в эмбриональной сыворотке крупного рогатого скота. Затем суспензию распивали на предметные стекла и делали мазки.

Фиксирование препаратов проводили в течение 3–4 мин в метаноле, приблизительно, через 30 мин после мазка. Окраску цитологических препаратов костного мозга осуществляли краской Гимза по-Романовскому. Подсчет МЯ в ПХЭ осуществляли при помощи светового микроскопа (CarlZeiss Jena, ГДР) с иммерсионным объективом  $\times 100$ . От каждой мыши анализировали в среднем по 2000–6000 ПХЭ, в зависимости от степени поврежденности. Так, для групп необлученных животных подсчитывали большее количество ПХЭ для увеличения статистической значимости.

На рис. 5 представлены результаты защитного действия дигидрокверцетина (ДКВ), в виде лекарственного средства «Диквертин», аналог — «Капилар», полученные с помощью МЯ-теста при  $\gamma$ -облучении мышей [33]. На молекулярной многокомпонентной биотест-системе, разработанной в НИЦ БМТ ВИЛАР [34] для этого вещества, показана высокая активность к радикалам ОН [34], а также высокая способность защищать основные мишени действия АФК — белок, ДНК, эритроцитарный мембранный комплекс [34].

ДКВ в спиртовом физрастворе вводили животным внутрибрюшинно из расчета 24 мг/кг веса за 15–20 мин до облучения. В качестве позитивного контроля использовали аминоэтилизоуро-

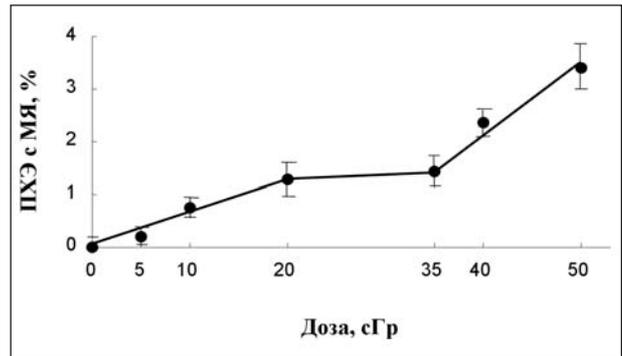


Рис. 4. Дозовая зависимость выхода ПХЭ с МЯ в костном мозге мышей при  $\gamma$ -облучении *in vivo*. Кривая построена после вычета спонтанного выхода ПХЭ с МЯ [32].

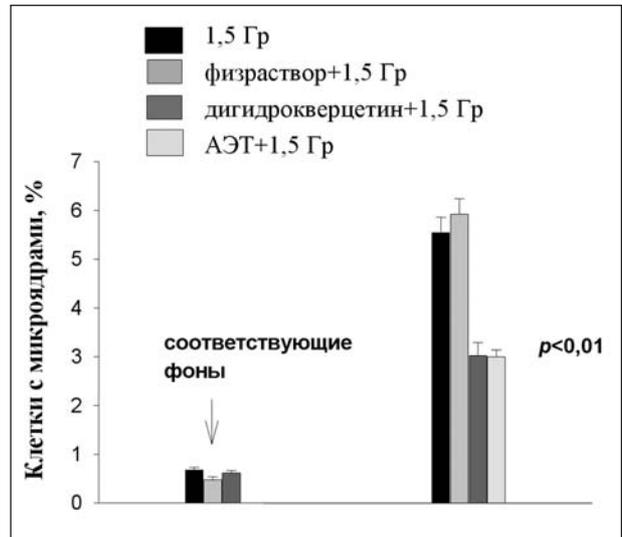


Рис. 5. Влияние «Диквертина» и АЭТ на выход клеток с микрофрагментами в костном мозге мышей после  $\gamma$ -облучения [33, 34].

ниум (АЭТ) в дозе 300 мг/кг веса, который вводился в аналогичных условиях. Общеизвестно, что АЭТ является одним из классических и наиболее эффективных синтетических радиопротекторов. Из рис. 5 видно, что выход повреждений в группе, обработанной ДКВ, значительно ниже выхода повреждений в группе без предварительного введения препарата, т. е. наблюдается достоверный радиозащитный эффект внутрибрюшинного введения исследуемого вещества. За счет предобработки ДКВ уровень повреждения понижался на 45%, почти такое же защитное действие оказывало введение АЭТ.

Таким образом, МЯ-тест проявил себя как чувствительный, адекватный и удобный метод регистрации генетических повреждений при действии ионизирующей радиации и позволяет выявлять закономерности даже при очень малых воздействиях.

С учетом опыта работы с ионизирующей радиацией, МЯ-тест был применен нами для оценки влияния кровопотери и последующей реани-

**Выход МЯ на 1000 полихроматофильных эритроцитов в костном мозге крыс в различных вариантах опытов в разные сроки исследования после воздействия (по данным [36])**

№	Варианты опытов	20 ч	22 ч	24 ч	28 ч	30 ч	7 сут
1	Кровопотеря	2,73±0,20	2,55±0,10	3,56±0,13	2,97±0,30	2,0±0,42	—
2	Кровопотеря + реанимация	2,41±0,20	3,02±0,23	4,19±0,17	2,38±0,20	2,46±0,25	0,52±0,07
3	Кровопотеря + МКС + реанимация	0,63±0,08	0,77±0,06	0,79±0,07	1,00±0,06	0,90±0,13	—
4	Контроль	0,13±0,03	0,50±0,03	0,50±0,04	0,57±0,06	0,54±0,06	0,19±0,03

мации на состояние генома [9, 36]. Исследование проведено на разработанной в НИИ ОР РАМН [1] биотехнологической модели кровопотери и реанимации с использованием крыс в качестве экспериментальных животных. Проводили острую массивную кровопотерю (АД 40 мм рт. ст.) в течение 1 часа. Реперфузию осуществляли путем введения собственной крови животного.

Для повышения точности регистрации эффектов по МЯ-тесту у крыс необходимо было определить оптимальное время максимального выхода ПХЭ с микроядрами.

По данным разных авторов [37], ПХЭ созревают в течение 10–33 ч. Рефрактерный интервал для крыс, лежит в пределах от 8 до 12 часов, как и у мышей. Поскольку исследуемые факторы могут по-разному влиять на длительность созревания ПХЭ, нами были выбраны сроки исследования: 20, 22, 24, 28, 30 ч и 7-е сутки для всех вариантов опытов. Полученные данные приведены в таблице. Уровень естественного фона микроядер у контрольных — наркотизированных и ложнооперированных крыс — практически не отличается от интактного контроля и составляет величину ~0,5 МЯ на 1000 клеток. Максимальный выход микроядер при кровопотере и реанимации наблюдается на 24-ом часовом сроке исследования и составляет величину, превышающую уровень контроля в ~7 раз — при кровопотере. При проведении мероприятий по реанимации выход МЯ еще больше возрастает — на 20% по сравнению со значением для кровопотери и в 8,4 раза — по сравнению с контролем. Постепенное снижение выхода МЯ на больших сроках исследования может иметь разные объяснения и требует специального исследования. Следует отметить, что факторы, замедляющие митоз, увеличивают время максимального выхода МЯ: до 28–30 ч при действии  $\gamma$ -излучения и до 36 ч и более — при действии различных мутагенов. Таким образом, с помощью МЯ-теста было экспериментально подтверждено предположение о дестабилизирующем действии на геном гемической гипоксии и реинфузии [36, 9]. Мы не использовали сроки исследования больше 7 суток. Но необходимо отметить, что в случае ионизирующей радиации МЯ могут наблюдаться в клетках животных (мыши) через длительное время после облуче-

ния организма низкими дозами и регистрироваться у потомков облученных родителей [38].

Была исследована также возможность коррекции возникающих цитогенетических повреждений. Для этого использовали синтетический препарат мексидол (2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат), относящийся к группе гетероциклических фенольных соединений с атомом азота в гетероцикле. Мексидол (МКС) является ингибитором свободнорадикальных процессов, активирует антиоксидантную систему ферментов, тормозит процессы перекисного окисления липидов клеток, обладает липид-регулирующими свойствами, оказывает мембраностабилизирующее и антиагрегантное действие [10, 39].

Введение мексидола производили непосредственно перед процедурой реанимации в хвостовую артерию в дозе 50 мг/кг. При реанимации в присутствии мексидола происходит резкое снижение выхода МЯ практически до уровня контрольных животных. Обращает внимание также тенденция к более позднему наступлению оптимума выхода МЯ в опытах с мексидолом, что говорит о нормализующем действии этого антиоксиданта на процесс созревания эритроцитов, ускоренный под влиянием кровопотери.

Таким образом, результаты, полученные с помощью микроядерного теста, показывают, что острая массивная кровопотеря приводит к нарушениям в организме на цитогенетическом уровне, вызывая дестабилизацию клеточного генома, последующая реанимация усиливает этот эффект, что связано с резким усилением свободно-радикальных процессов в клетке. Введение антиоксиданта непосредственно перед реинфузией крови оказывает выраженный протекторный эффект на состояние генома, снижая количество микроядер практически до уровня у контрольных животных.

Полученные результаты дают обоснования для выбора оптимальной стратегии биомедицинской технологии восстановления жизненных функций организма при острой массивной кровопотере, обеспечивающей безопасность отдаленных последствий проводимых мероприятий по выводу организма из критического состояния.

Результаты проведенного анализа свидетельствуют об общности пусковых механизмов повреждения основных мишеней активными формами кислорода при различных стрессовых воздействиях, в том числе и гемической гипоксии.

## Литература

1. Кожура В. Л. Пластический обмен мозга при смертельной гиповолемической гипотензии и в постреанимационном периоде: дис...д-ра. мед. наук. М.: 1981.
2. Маркелов И. М. Изменение фракционного состава белков сердца при экспериментальном инфаркте и лучевой болезни: дис... канд. мед. наук. Л.: 1964.
3. Маркелов И. М. Оценка активности изоферментов в аспекте современных проблем реаниматологии: дис...д-ра мед. наук. Л.: 1969.
4. Молчанова Л. В. Механизмы, способствующие формированию необратимых изменений в ткани мозга при терминальных состояниях и после оживления. Автореф. дис...д-ра биол. наук. М.: 1988.
5. Рощина А. А., Николаева С. С., Кожура В. Л. и др. Исследование состояния воды в тканях при массивной кровопотере и лазерной терапии. Биомедицинские технологии и радиоэлектроника 2004; 1–2: 93–100.
6. Кожура В. Л. Актуальные проблемы нейробиологии массивной кровопотери. Вестн. 1997; 10: 10–13.
7. Рощина А. А., Николаева С. С., Кожура В. Л. и др. Состояние воды и ПОЛ в тканях крыс при массивной кровопотере и облучении He-Ne лазером. Бюл. эксперим. биологии и медицины 2003; 2: 158–161.
8. Кирсанова А. К., Кожура В. Л., Новодержкина И. С., Паршина Е. Ю. Влияние лазерного облучения на интенсивность свободнорадикального окисления при гиповолемической гипотензии и после реинфузии. Общая реаниматология 2005; 1 (2): 53–56.
9. Кожура В. Л., Кондакова Н. В., Глатова Т. А., Кирсанова А. К. Влияние реинфузии на феномен образования микроядер в эритроцитах костного мозга при массивной кровопотере. Общая реаниматология 2005; 1 (3): 21–24.
10. Ланкин В. З., Тихазе А. К., Кухарчук В. В., Беленков Ю. Н. Биоантиоксиданты — универсальные лекарства? В кн. Сб. материалов науч. симпози. Антиоксиданты в профилактике и комплексной терапии свободнорадикальных патологий 9 Рос. нац. конгр. Человек и лекарство. М: РКНИК МЗ РФ; 2002: 3–18.
11. Зенков Н. К., Ланкин В. З., Меньшикова Е. В. Окислительный стресс. М.: МАИК Наука; 2001.
12. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М: Наука; 1972.
13. Vladimirov Yu. A. In: Free radicals, aging and degenerative diseases. — N-Y. -L.: Alan R. Liss. Inc.; 1986. 141–145.
14. Кожура В. Л., Носова Н. В. Влияние длительной массивной кровопотери на изменение генома клеток коры головного мозга и гипоталамуса. В кн.: Экспериментальные, клинические и организационные проблемы общей реаниматологии. Сб. тр., посвящ. 60-летию института. М.: РАМН; 1996. 23–32.
15. Чертков И. Л., Гуревич О. А. Стволовая кроветворная клетка и ее микроокружение. М.: Медицина; 1984.
16. Шмаров Д. А., Митерев Г. Ю., Кучма Ю. М. и др. Параметры клеточного цикла клеток костного мозга как показатель физиологического состояния кроветворения. Тез. докл. I Рос. конгр. по патофизиологии. М.: 1996. 101.
17. Бурлакова Е. Б., Михайлов В. Ф., Мазурик В. К. Система окислительно-восстановительного гомеостаза при радиационно-индуцируемой нестабильности генома. Радиаци. биологич. Радиоэкология 2001; 4(5): 489–499.
18. Мороз В. В., Тучина Л. М., Порошенко Г. Г. Проблемы структурной и функциональной геномики при критических состояниях. Общая реаниматология 2005; 1 (4): 55–64.
19. Ильинских Н. И., Новоцкий В. В., Ванчугова И. Н., Ильинских И. Н. Микроядерный тест и цитогенетическая нестабильность. Томск: Томский мед институт; 1992.
20. Ганасси Е. Э., Заичкина С. И., Розанова О. М. и др. Проблемы хромосомного мутагенеза и цитогенетического мониторинга. Радиобиология 1991; 31 (6): 882–889.
21. Fenech M. The cytokinesis-block micronucleus technique: A detailed description of the method and its application to genotoxicity studies in human populations. Mutat. Res. 1993; 285: 35–44.
22. Журков В. С., Фельдт Е. Г., Вискубенко И. Ф. Сравнение эффективности двух цитогенетических тестов на клетках костного мозга мышей при выявлении мутагенной активности канцерогенов и неканцерогенов. Всесоюз. симп. Объем и методы генотоксической оценки и побочных эффектов биологически активных веществ. Л.; 1989. 41–42.
23. Заичкина С. И., Ганасси Е. Э. Микроядерный тест как количественный показатель структурных нарушений хромосом, индуцированных различными воздействиями. Studia Biophysica 1984; 99: 203–210.
24. Gaziev A. I., Sologub G. R., Fomenko L. A., Zaichkina S. I. et al. Effect of vitamin-antioxidant micronutrients on the frequency of spontaneous and in vitro gamma-ray-induced micronuclei in lymphocytes of donors: the age factor. Carcinogenesis 1996; 17 (3): 493–499.
25. Аптикаева Г. Ф., Ахмадиева А. Х., Ганасси Е. Э. и др. Влияние хронического облучения на цитогенетическое поражение клеток млекопитающих в культуре. Радиаци. биологич. Радиоэкология 1993; 33 (3): 879–883.
26. Ганасси Е. Э., Лямин Э. А., Аптикаева Г. Ф., Эйбус Л. Х. и др. Статистический анализ радиационного поражения хромосом растительных клеток в связи с вариабельностью данных. Генетика 1971; 7 (12): 30–38.
27. Ганасси Е. Э., Заичкина С. И., Аптикаева Г. Ф. и др. Особенности репарации цитогенетического повреждения при воздействии малыми дозами облучения на клетки млекопитающих и растений. Радиобиология 1992; 32 (1): 38–42.
28. Zaichkina S. I., Aptikaeva G. F., Akhmadieva A. Kh. et al. Cytogenetic consequences of low-dose radiation. Radiobiological disasters consequences of accidents at nuclear power plants. In: Nova science publishers 1995. 31–37.
29. Schmid W. The micronucleus test. Mutat. Res. 1975; 31 (1): 9–15.
30. Salamon M. F., Hedde J. A. The Bone marrow micronucleus assay rationale for a revised. N. Y., 7.: Plenum Press; 8(4), 111–149.
31. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармацевтических веществ. М.: Ремедиум; 2000.
32. Заичкина С. И., Кондакова Н. В., Розанова О. М. и др. Тестирование противолучевого действия биологически активных веществ в диапазоне средних и малых доз облучения с использованием цитогенетического показателя — МЯ-теста. Хим.-фармац. журн. 2004; 8: 3–8.
33. Кондакова Н. В., Заичкина С. И., Розанова О. М. и др. Противолучевые свойства лекарственного средства «диквертин» по микроядерному тесту *in vivo* при умеренных и малых дозах ионизирующей радиации. Вопр. биол., мед. и фармац. химии 2002; 4: 46–49.
34. Быков В. А., Кондакова Н. В., Сахарова В. В. и др. Подходы к тестированию биологически активных веществ на антирадикальную активность с использованием комплекса биотест-систем *in vitro*. Вестник НИЦЭГКЛС Минздрава РФ 2000; 1 (5): 82–89.
35. Кондакова Н. В., Сахарова В. В., Рина Н. В. и др. Константы скоростей реакций флавоноидов и родственных соединений природного происхождения с радикалами ОН при радиоллизе в водном растворе. Химия высоких энергий 1998; 32 (2): 106–111.
36. Кожура В. Л., Глатова Т. А., Кондакова Н. В. и др. Цитогенетические изменения костного мозга при массивной кровопотере и их коррекция мексидолом. Анестезиология и реаниматология 2003; 6: 21–23.
37. Albanese R., Middleton B. J. The assessment of micronucleated polychromatic erythrocytes in rat bone marrow. Technical and statistical consideration. Mutat. Res. 1987; 182 (6): 323–332.
38. Заичкина С. И., Розанова О. М., Ахмадиева А. Х. и др. Выявление с помощью теста «адаптивный ответ» нестабильности генома у потомства самцов мышей, подвергнутых хроническому воздействию гамма-облучения. Радиаци. биологич. Радиоэкология 2002; 42 (6): 606–611.
39. Методические рекомендации по применению антиоксиданта Мексидол у больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения. М.: МЗРФ РГМУ; 2002.

Поступила 16.01.06