

of its influence on the membrane stability of erythrocytes in decompression disease are discussed.

Research Institute of Hematology and Blood
Transfusion, Ministry of Public Health
of the Byelorussian SSR, Minsk

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Волков Л. К., Юнкин И. П. Влияние повышенного содержания кислорода в дыхательной газовой смеси на процесс декомпрессионного газообразования // Человек и животные в гипербарических условиях. — Л.: Наука. — 1980. — С. 145—147.
2. Зальцман Г. Л., Кучук Г. А., Гургенидзе А. Г. Основы гипербарической физиологии. — Л.: Медицина. — 1979. — 319 с.
3. Кондрашова М. Н. Терапевтическое действие янтарной кислоты. — Пушкино. — 1976. — 234 с.
4. Мухин Е. А., Кептя Э. Б., Николай С. Л. и др. Гипербарическая фармакология. — Кишинев: Штиинца. — 1985. — 117 с.
5. Ellis H. A., Kirkman H. N. A colorimetric method for assay of erythrocytic glucose-6-phosphate dehydrogenase // Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. — 1961. — 106, № 3. — P. 607—609.
6. Simon E. R., Topper Y. J. Fractionation of human erythrocytes on the basis of their age // Nature. — 1957. — 180. — P. 1211—1212.
7. Suess J., Limentani D., Dameshek W., Dolloff M. J. A quantitative method for the determination and charting of the erythrocyte hypotonic fragility // Blood. — 1948. — 3, № 11. — P. 1290—1297.
8. Tillotson J. A., Sauberlich H. E. Effect of riboflavin depletion and repletion on the erythrocyte glutathione reductase in the rat // J. of Natur. — 1971. — 101, № 11. — P. 211—215.

Науч.-исслед. ин-т
гематологии и переливания крови
М-ва здравоохранения БССР, Минск

Материал поступил
в редакцию 29.12.90

УДК 612.575.223:599.323.4

Е. И. Шиманская, Т. П. Шкурат, Л. Г. Медведев, Е. П. Гуськов

Прогнозирование реакции генома соматических клеток водолазов на гипероксическую среду

Анализировали число аббераций хромосом в лимфоцитах периферической крови у добровольцев до и после пребывания в атмосфере чистого кислорода (0,25 МПа, 90 мин). Гипероксическая среда индуцировала увеличение числа аббераций хромосом у всех испытуемых. Анализ лимфоцитов периферической крови профессиональных водолазов до и после погружения при 1,1 МПа воздушной среды в течение 240 мин также выявил значительное превышение уровня спонтанного мутационного процесса после окончания погружения. Как в первом, так и во втором случаях выявлены значительные индивидуальные различия числа абберантных клеток, индуцированные факторами водолазных спусков. Сравнение результатов анализа числа индуцированных хромосомных аббераций, полученных *in vitro* и после погружения, показали высокое совпадение реакции генома индивидуумов. Предлагаемый метод позволяет *a priori* оценить индивидуальную чувствительность генома к действию факторов водолазного спуска.

Введение

Пребывание человека в ситуациях, которые являются для организма необычными, т. е. эволюционно новыми, как правило, вызывает в организме стрессорную реакцию. Последствия этой реакции можно вы-

© Е. И. ШИМАНСКАЯ, Т. П. ШКУРАТ, Л. Г. МЕДВЕДЕВ, Е. П. ГУСЬКОВ, 1991

явить на различных уровнях — от молекулярного до системного. К таким эволюционно новым ситуациям можно отнести пребывание человека в измененной газовой атмосфере. Освоение мирового океана практически невозможно без длительного пребывания человека под давлением.

Среди многочисленных факторов водолазного спуска, влияющих на развитие патологических процессов в организме, основное место занимает молекулярный кислород. По данным литературы известно, что он способен индуцировать изменение генома прокариотических и эукариотических организмов [3, 7, 8] и может рассматриваться как универсальный мутаген и токсикант окружающей среды.

Цель работы — выявление внутрипопуляционных различий реакции генома соматических клеток водолазов на гипероксическую и гипербарическую среду и апробация метода оценки индивидуальной чувствительности генома соматических клеток водолазов к этим факторам.

Методика

В эксперименте принимали участие две группы доноров — практически здоровые мужчины в возрасте 18 лет, не имевшие опыта подводных погружений, и профессиональные водолазы в возрасте от 25 до 35 лет, имевшие стаж подводных работ не менее 700 ч, которые погружались последний раз более чем за год до проведения исследований. Исследовали число aberrаций хромосом в клетках лимфоцитов периферической крови до и после экспериментальных погружений, а также после обработки интактной цельной крови кислородом под повышенным давлением (0,7 МПа, 60 мин, *in vitro*). Условия экспериментов приведены в табл. 1. Использование указанных режимов ни в одном случае не привело к развитию декомпрессионных расстройств.

Для постановки модельных экспериментов *in vitro* флаконы с культурой крови помещали в стерильную барокамеру, где после пятиминутной продувки кислородом создавали давление 0,7 МПа (время обработки — 60 мин). Для приготовления препаратов лимфоцитов 0,5 мл крови культивировали в пенициллиновых флаконах, содержащих 5 мл питательной среды 199, 0,5 мл сыворотки крови крупного рогатого скота, 100 ед. пенициллина, 5 ед. гепарина. Лимфоциты стимулировали фитогемагглютинином (ФГА) фирмы «Reanal» и помещали в стерильный термостат на 72 ч при температуре 37 °С. Фиксировали культуру через 72 ч после введения ФГА фиксатором Карнуа (1 часть ледяной уксусной кислоты и 3 части абсолютного спирта). За 2 ч до фиксации в культуру вводили колхицин из расчета 0,01 мкг/мл. Препараты метафазных хромосом готовили по стандартной методике [6] и окрашивали по Романовскому — Гимза. Анализ препаратов проводили по Международным стандартам, описанным Захаровым [2].

Таблица 1. Характеристика газовой среды при экспериментальных погружениях

Номер серии	Доноры	Максимальное давление, МПа	pO_2 , МПа	Скорость компрессии, МПа/мин	Продолжительность изопреции, мин	Скорость декомпрессии, МПа/мин
Медицинский кислород						
1	Практически здоровые мужчины	0,25	0,25	0,05	90	0,01
Сжатый воздух						
2	Профессиональные водолазы	1,10	0,23	0,1	90	0,001

Результаты и их обсуждение

Результаты анализа цитогенетических последствий пребывания испытуемых, ранее не принимавших участия в водолазных спусках, в условиях повышенного давления кислорода, приведены в табл. 2. Число aberrаций хромосом в лимфоцитах периферической крови, взятой до погружения, варьирует в пределах спонтанной нестабильности хромосом, известных из данных литературы [1, 4, 5]. После пребывания в среде чистого кислорода у всех испытуемых зарегистрировано достоверно увеличенное число клеток с aberrациями, которое сохраняется у некоторых индивидумов в течение года.

Сопоставление результатов анализа клеток крови, обработанной *in vitro*, с результатами, полученными *in vivo*, демонстрирует значительное различие индивидуальной чувствительности генетического материала к повышенному давлению кислорода, с одной стороны, и удовлетворительную корреляцию между результатами, полученными у различных индивидумов в опытах *in vivo* и *in vitro*, с другой. Из табл. 2 видно, что у тех испытуемых, у которых обработка крови кислородом *in vitro* способствовала появлению более 20 % клеток с aberrациями, после погружения зафиксировано такое же число aberrаций хромосом и увеличение через 1 г. после окончания эксперимента. Очевидно, что геном соматических клеток у этих индивидумов обладает повышенной чувствительностью к кислороду, и, по приведенным результатам, они должны быть выделены в группу генетического риска.

Как видно из табл. 3, число клеток с aberrациями хромосом в контрольных пробах у профессиональных водолазов не зависело от времени (ч), проведенного на грунте, и не отличалось от интактного контроля (см. табл. 2). После окончания погружения у всех испытуемых число клеток с aberrациями хромосом значительно возросло и варьировало в широких пределах — от 10 до 71 %. Результаты, приведенные в табл. 3, демонстрируют некоторую тенденцию к повышению нестабильности генома у людей, которые провели на грунте более 1000 ч, хотя прямой зависимости между временем пребывания на грунте и числом клеток с aberrациями не прослеживается. Здесь же следует отметить, что сравнение числа клеток с aberrациями хромосом между двумя группами, в среднем, демонстрирует *in vivo* и *in vitro* большее число таковых в группе профессиональных водолазов.

Сравнение числа aberrаций в лимфоцитах периферической крови, обработанной *in vitro*, вновь демонстрирует высокую корреляцию с результатами, полученными после окончания погружений. У некоторых испытуемых была взята кровь через 3 мес после окончания погружения. Так же, как и в предыдущей группе, у людей, в клетках которых после обработки *in vitro* зарегистрировано свыше 20 % aberrаций, увеличенное число лимфоцитов с нарушениями хромосом зарегистрировано и в отделенные сроки после окончания воздействий.

Сохранение большого числа aberrаций хромосом спустя продолжительное время после окончания погружений может иметь неблагоприятные последствия для целостного организма, связанные со снижением иммунной резистентности, в связи с уменьшением числа нормально функционирующих лимфоцитов, а также с возможностью повышения риска малигнизации клеток из-за персистирования aberrаций обменного типа.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что интактная популяция человека характеризуется значительной вариабельностью реакции генома соматических клеток на повышенное давление кислорода и воздуха. В связи с этим возникает необходимость использования тестов, позволяющих выявить группу повышенного генетического риска с высокой чувствительностью генома к экстремальным факторам среды. Одним из таких тестов может быть оценка числа aberrаций хромосом клеток периферической крови, обработанной *in vitro* повышенным давлением кислорода, который спо-

Таблица 2. Число лимфоцитов крови с хромосомными аберрациями у практически здоровых испытуемых в условиях повышенного давления кислорода

Вариант опыта	Испытуемый						
	1-й	2-й	3-й	4-й	5-й	6-й	7-й
До погружения (контроль)	4,0±2,3	6,6±2,5	9,0±2,9	6,0±2,1	3,0±2,4	4,4±1,3	0
In vitro (0,7 МПа, 60 мин)	14,0±3,7	25,0±4,4	16,0±3,4	28,0±2,7	13,0±1,2	41,0±6,6	19,5±4,0
In vivo (0,25 МПа, 20 мин):							
через 20 мин после погружения	13,0±3,2	21,0±4,2	17,0±4,0	26,0±3,4	10,0±1,4	24,0±2,6	16,3±3,2
через 1 г после погружения	6,0±2,3	9,0±2,8	12,3±4,6	20,6±3,0	8,0±2,2	21,2±6,6	2,7±1,6

Таблица 3. Число лимфоцитов крови с хромосомными аберрациями у водолазов с разным стажем подводных работ

Вариант опыта	Общий стаж работы под водой у разных водолазов						
	700 ч	800 ч	1000 ч				7600 ч
			1-й водолаз	2-й водолаз	3-й водолаз	4-й водолаз	
До погружения (контроль)	0	6,4±3,5	2,1±0,7	6,9±2,5	4,3±2	0	7,0±2,9
In vitro (0,7 МПа, кислород)	14,2±3,7	17,0±3,9	36,0±5,5	16,0±3,4	23,0±4,2	14,0±2,3	34,1±5,1
In vivo (1,1 МПа, воздух)	11,6±2,7	10,0±6,3	41,0±5,9	23,0±4,2	20,3±2,9	18,6±4,0	56,0±7,6
Через 3 мес после погружения			9,0±2,2*				24,2±2,1

Примечание: * Достоверных различий по сравнению с контролем нет; во всех остальных случаях $P > 0,05$.

собен
которы
изложе
дотвра
числа
наруш
тельно

E. I. Shi

PREDIC
OF DIV

Cytogen
professio
groups
cells ger

The
and indi

mosome

reveal th
Acco

20 % an

Research
of Minis
Special

СПИСО

1. Бочко
туре

2. Захар
ка, А

3. Gille
He I

1989.-

4. Gund
1983.-

5. Joenfe
phocy

6. Moor
cultu

7. Scott
doxica

8. Sofun
nerati

Науч.-ис
Ростов.

УДК 616.8

Г. Л. Ра

Потен
гипер

Повтор
циркул
ние ки

© Г. Л. Р

ISSN 020

собен дать прогноз индивидуальной чувствительности организма к некоторым факторам водолазного спуска до погружения. Реализация изложенной схемы генетического контроля за водолазами может предотвратить неблагоприятные последствия, связанные с увеличением числа аберраций хромосом и недопустить увеличение числа клеток с нарушениями ядерного аппарата у индивидуумов с высокой чувствительностью генома к гипербарической оксигенации.

Е. И. Shimanskaja, Т. Р. Shkurat, Л. Г. Medvedev, Е. Р. Guskov

PREDICTION OF THE SOMATIC CELLS GENOME RESPONSE OF DIVERS TO HYPEROXIC ENVIRONMENT

Cytogenetical consequences of high oxygen pressure action (HOB) have been studied in professional and nonprofessional divers after deeping. Blood samples of subject from both groups were treated with HBO in vitro to compare individual reaction of the somatic cells genome to HOB.

The present study reveals that HBO increases the level of chromosome aberrations, and individual response to HBO differs. There is a correlation between the level of chromosome aberrations in vivo and in vitro. This indicates that blood treatment in vitro can reveal the sensitivity of the genome in human before HBO treatment.

According to the data in vitro 2 groups of the genome response to HBO: up to 20 % and higher than 20 % aberrations are distinguished.

Research Institute of Biology, University
of Ministry of Higher and Secondary
Special Education, Rostov-on-Don

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бочков Н. П., Кулешов Н. П., Журков В. С. Анализ спонтанных аберраций в культуре лейкоцитов человека // Цитология. — 1972. — 14, N 10. — С. 1267—1273.
2. Захаров А. Ф., Бенюш В. А., Кулешов Н. П., Барановская Л. И. Хромосомы человека. Атлас. — М.: Медицина, 1982. — 264 с.
3. Gille J. P., Joenje H. Chromosomal instability and progressive loss of chromosomes in He La cells during adaptation to hyperoxic growth conditions // Mutation Research. — 1989. — 219. — P. 225—230.
4. Gundy S., Varga L. Chromosome aberrations in healthy person. // Mutation Research. — 1983. — 120, N 2—3. — P. 187—191.
5. Joenje H., Oostra A. B. Oxygen-induced cytogenetic instability in normal human lymphocytes // Human Genetic. — 1986. — 74. — P. 438—440.
6. Moorhead P., Nowell P., Mellman W. J. et al. Chromosome preparation of leucocytes cultured from human peripheral blood // Exp. Cell. Res. — 1960. — 20. — P. 613—616.
7. Scott M. D., Meshnick S. R., Eaton J. N. Superoxide dismutase — rich bacteria. Paradoxical increase in oxidant toxicity. // J. Biol. Chem. — 1987. — 262. — P. 3640—3645.
8. Sofuni T., Ishidate M. J. Induction of chromosomal aberrations in active oxygen — generating system // Mutat. Res. — 1988. — 197. — P. 127—132.

Науч.-исслед. ин-т биологии
Ростов. ун-та, Ростов-на-Дону

Материал поступил
в редакцию 15.03.91

УДК 616.8—009.865:615.835.12

Г. Л. Ратнер, Г. Е. Слущер

Потенцирование регионального эффекта гипербарической оксигенации при феномене Рейно

Повторные ангиоспазмы при феномене Рейно приводят к развитию циркуляторной, тканевой и гипоксической гипоксии, поэтому применение кислорода в лечении феномена патогенетически оправдано. Пока-

© Г. Л. РАТНЕР, Г. Е. СЛУЩЕР, 1991

ISSN 0201-8489. Физиол. журн. 1991. Т. 37, № 4

123