

Генотоксичный эффект огнестрельных ран

Г.А. Кесян, И.Е. Кондратьева, В. Авидзба, О.В. Жукова
Центральный научно-исследовательский институт травматологии и
ортопедии им. Н.Н. Приорова, Россия, Москва
Республиканский реабилитационный центр, Абхазия, Гагра
Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Россия, Москва

Постоянство частоты гнойных осложнений ран в течение текущего столетия показало, что раневой процесс находится под генетическим контролем, но полиморфные гены, контролирующие процесс заживления, локализируются на многих хромосомах ядерного аппарата и включаются (или же не включаются) в контроль раневого процесса в зависимости от характера ранения – травматического или же огнестрельного. Не исключено, что эта наблюдаемая смена активности генных локусов в раневом процессе косвенно отражает состояние хромосомного аппарата в зависимости от характера ранения, вернее – в зависимости от величины энергетического воздействия, которым сопровождается ранение. Естественно предположить, что такое воздействие должно быть много более мощным при огнестрельном ранении, нежели при раневой травме.

Вопрос состоит в том, можно ли рассматривать это энергетическое воздействие как мутагенное, потенциально представляющее тем большую генетическую опасность, чем большее число людей подвергается такому воздействию при военных конфликтах и в других ситуациях широкого применения огнестрельного оружия? Может ли энергия ранящего снаряда, трансформируясь в энергию так называемых радикалов поражения, иметь такое же мутагенное последствие, как радиационная энергия и энергия химических радикалов, вызываемых попаданием в организм разнообразных веществ – химических мутагенов? В нашей работе мы пытались представить результаты прямого определения сопутствующих огнестрельному ранению генетических изменений в соматических клетках человека и экспериментальных животных.

У животных с огнестрельным ранением задней конечности изучались хромосомные aberrации типа хроматидных мостов (ХМ). У лиц, пострадавших от огнестрельных ран, полученных в военных конфликтах или при бандитских нападениях, изучались хромосомные повреждения типа сестринских хроматидных обменов (СХО). Хромосомные aberrации типа ХМ возникают в результате соединения хроматид негомолотичных хромосом в случае разрывов последних. СХО считаются результатом снижения активности или дефекта процесса репарации ДНК, который в норме удаляет повреждения, способные вызвать хроматидные обмены. Наблюдения как ХМ, так и СХО относятся к способам прямого определения генетических изменений в соматических клетках, при этом считается, что два метода, даже, если дают параллельные результаты, все же отражают состояние различных генетических процессов, происходящих в клетке.

Хромосомные aberrации, индуцированные огнестрельным ранением изучались в эксперименте с нелинейными крысами-самцами (300 шт.) массой около 250 г. После нанесения животному огнестрельной раны в область правого бедра производилась частичная гепатэктомия, стимулировавшая митотическое деление гепатоцитов. Это позволяло в аномалофазе митотического цикла наблюдать состояние хромосомного аппарата и регистрировать случаи хромосомных мостов. Контрольная частота ХМ в гепатоцитах определялась на животных с частичной гепатэктомией, но без огнестрельного ранения задней конечности.

Сестринские хроматидные обмены в ядерном аппарате лимфоцитов человека изучались в культуре крови. Образцы крови взяты у раненых в ходе военных событий в Абхазии (1992, 1993 гг.), Чечне (1995 г.) и в Москве (октябрь 1993 г.), а также у пациентов отдаленной огнестрельной раны ЦИТО (1995-1996 гг.) При постановке культуры крови, по стандартной методике и с теми же реагентами, что и в исследуемой группе, определялось контрольное среднее значение частоты СХО в норме, т.е. у здоровых лиц без огнестрельных ранений.

Итак, два параллельных проявления повреждения генома, вызываемого огнестрельным ранением, - хромосомные aberrации и сестринские хроматидные обмены - удалось наблюдать не одновременно и лишь на разных организмах, что, однако, не затрагивает сути наблюдений и не искажает смысла полученных результатов. Изложим эти наблюдения в порядке их проведения.

Хромосомные aberrации. Хромосомные перестройки типа хроматидных мостов (ХМ) наблюдались при огнестрельных ранениях животных.

Обратим внимание на разительные отличия между значениями частот ХМ в контроле и в эксперименте, разница достигает 5-7 - кратных величин и не оставляет сомнений в том, что огнестрельная рана индуцирует хромосомные aberrации, то есть служит фактором повреждения генома животных. То, что таким фактором является именно огнестрельная рана видно из сравнения с частотой ХМ при колото-резанных ранах. Таким образом, не рана вообще, но именно огнестрельная рана вызывает столь сильные повреждения генома соматических клеток, что это проявляется в 30-40-процентном подъеме уровня ХМ в сравнении с контролем.

Итак, имеем следующие результаты: 1) уровень нарушений генома при колото-резанных ранах не отличается достоверно от спонтанного; 2) огнестрельное ранение задней конечности вызывает 5-7-кратный рост (по сравнению с контролем) числа хромосомных перестроек в клетках печени, не подвергавшихся прямому воздействию ранения; 3) огнестрельное ранение вызывает 5-кратный рост числа хромосомных перестроек в соматических клетках по сравнению с колото-резанными ранами.

Обнаруженная с достаточной достоверностью зависимость повреждений генома соматических клеток от энергии ранящего снаряда означает, что эта энергия является мутагенной в не меньшей степени, чем радиационная и химическая. В справедливости этого заключения необходимо было убедиться, перенеся наблюдения с экспериментальных животных на

человека, тем более, что в период наших исследований огнестрельные ранения перестали быть редкостью.

Сестринские хроматидные обмены. Сводные данные по ряду групп и лет о сестринских хроматидных обменах (СХО) в культуре лимфоцитов человека до лечения, направленного на снижение уровня СХО, и после лечения представлены в Таб.2. В первую очередь отметим наиболее важный факт достоверно большей средней частоты СХО во всей совокупности данных об огнестрельных ранах от контроля; вероятность того, что это увеличение уровня СХО представляет случайный выборочный вариант нормального состояния чрезвычайно мала $P = 4.5E-18$ (17 нулей после запятой до первой значащей цифры). Это дает твердое основание для вывода о том, что огнестрельные ранения индуцируют СХО в хромосомном аппарате соматических клеток.

В отличие от рассмотренных выше экспериментальных данных по животным, где был известен тип ранящего огнестрельного оружия, что позволяло косвенно судить об энергии ранящего снаряда, в представленных здесь материалах военно-полевой хирургии тип ранящего оружия остается неизвестен. Соответственно, невозможен и анализ СХО в связи с величиной огнестрельного энергетического воздействия на организм. В какой-то мере такой анализ может быть заменен сопоставлением величины СХО с клинической оценкой тяжести огнестрельного ранения (Таб. 3). При малой и средней тяжести ранения средний уровень СХО (9.504 ± 0.411) оказывается почти на 2 единицы ниже, чем при тяжелых ранениях (11.226 ± 0.630), эта разница статистически существенна, поскольку вероятность ее случайности менее 5% ($P = 0.0282$). Если считать, что большей тяжести ранения соответствует большее энергетическое воздействие ранящего снаряда, то можно заключить, что у человека уровень СХО, индуцированных огнестрельным ранением, находится качественно в такой же зависимости от величины энергетического воздействия на организм, как и уровень ХМ, индуцированных огнестрельным ранением животных.

Таблица 3.

СХО (%) при различной тяжести огнестрельного ранения

ТЯЖЕСТЬ ОГНЕСТРЕЛЬНОГО РАНЕНИЯ			
МАЛАЯ	СРЕДНЯЯ	БОЛЬШАЯ	
7.800	7.800	8.084	10.260
8.084	8.200	8.200	11.300
8.900	8.395	8.498	11.400
8.913	8.498	8.705	12.700
9.200	8.700	9.016	13.300
12.680	9.100	9.100	13.500
12.700	9.400	9.120	13.800
12.840	9.900	9.200	14.900
	10.467	9.742	15.900
		10.100	17.700
9.504 ± 0.411		11.226 ± 0.630	
t = 2.29	d.f. - 35	P = 0.0282	

Таким образом, сестринские хроматидные обмены, как и хромосомные aberrации типа ХМ могут индуцироваться огнестрельным ранением, которое, как свидетельствуют представленные результаты анализа, способно вызывать повреждения генома. А собственно генотоксический эффект огнестрельного ранения связан с трансформацией кинетической энергии ранящего снаряда в энергию свободных радикалов - так называемых радикалов поражения.

Итоги исследования представляют последовательность, в которой не обнаруживаются внутренних противоречий в отношении к общей теории, объединяющей элементы этой последовательности в звенья цепи. Эти звенья таковы:

- огнестрельные ранения сопровождаются большим и статистически существенным ростом числа хромосомных перестроек в ядрах соматических клеток тех тканей,

реструктур в ядрах соматических клеток тех тканей, которые напрямую никак не затронуты ранением и топографически далеких от зоны поражения; это существенное повреждение хромосомного аппарата клетки специфично именно для огнестрельной раны;

- степень повреждения хромосомного аппарата клетки оказывается в сильнейшей зависимости от таких баллистических характеристик ранящего снаряда, сочетание которых указывает на энергетическую природу повреждающего воздействия ранения на геном;
- огнестрельное ранение вызывает также сестринские хроматидные обмены - явление, стоящее не в одном, но в параллельном ряду с хромосомными абсрациями и рассматривающееся как свидетельство нарушений в системах репарации ДНК; эти нарушения, индуцируемые огнестрельным ранением, оказываются долго живущими, сохраняющимися по крайней мере на протяжении нескольких месяцев после ранения, действительный срок их сохранения предстоит выяснить;
- степень нарушения систем репарации ДНК оказывается в статистически существенной зависимости от тяжести огнестрельного ранения, за которой можно предполагать величину энергетического импульса, переданного ранящим снарядом.

Изложенные результаты позволяют утверждать, что огнестрельное ранение является источником такого энергетического воздействия на организм, которое сопровождается руководящими признаками мутагенности, такими как хромосомные абсрации и сестринские хроматидные обмены. Наблюдавшиеся до сих пор лишь в экспериментальных исследованиях по мутагенезу и при тестировании на мутагенность различных соединений в окружающей человека среде, эти индикаторы повреждения генома обнаруживаются (и в эксперименте, и в военно-полевых условиях) с полной отчетливостью, как последствия огнестрельных ранений. Огнестрельное ранение обладает, следовательно, генотоксическим эф-

фектом. Генетическое последствие огнестрельного ранения представляет, таким образом, новую проблему не только для военно-полевой медицины, но для общества и государства.

Полиморфизм митохондриальной ДНК в населении Северного Кавказа в свете генетической связи с сарматским населением Предкавказских степей

С.Ю. Рычко, О.Ю. Наумова, И.Ю. Морозова
Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, 119991 Москва,
ул. Губкина 3, тел. (095)135.4219, Fax (095)132.8962,
E-mail rychko@vigg.ru

За последние два десятилетия исследования полиморфизма митохондриальной ДНК (мтДНК) в популяциях человека показали успешность и высокую информативность использования этого инструмента в решении популяционно-генетических, этногенетических и даже исторических вопросов. Этому способствуют уникальные особенности мтДНК: во-первых, высокая скорость изменчивости митохондриальной ДНК приводит к высокому уровню полиморфизма мтДНК в популяциях такого молодого вида как человек. Во-вторых, отсутствие рекомбинаций и наследование мтДНК исключительно гаплотипами способствует простоте реконструкции предковых форм – гаплотипов-основателей – наблюдаемого генетического разнообразия. Наследование от одного родителя определяет мтДНК как нейтральный маркер материнской линии, и, наконец, многокопийность мтДНК обуславливает длительную ее сохранность в ископаемых костных останках. Последнее обстоятельство позволяет исследовать древнее население, след которого фиксируется ныне лишь в археологических памятниках, в палеоантропологических останках.

Кавказ, учитывая его геополитическое положение на стыке Европы и Азии, сложный многоуровневый ландшафт и многообразие этнического состава его населения, представ-