

образце крови, в 2 образцах крови больных и в 8 контрольных образцах мутаций не обнаружено; вероятность ложноотрицательного результата 6%).

В 152 исследованных краткосрочных культурах аутогенных фибробластов неогенез мутаций *in vitro* был подтвержден. Так, в клетках одной из культур, полученной из кожи испытуемой Н., была выявлена мутация в 248 кодоне гена p53 (G248C), получившая подтверждение в процессе выполнения всех этапов определения мутантных генов. Мутация была выявлена в клетках одной из культур испытуемой Н. после 3-го пассажа клеток. Однако в других параллельных культурах испытуемой, а также в образцах ее периферической крови мутации в гене p53 не найдено, что послужило основанием для выбраковки единичной культуры, содержащей мутантную ДНК.

Полученные результаты хорошо согласуются с проведенными за рубежом исследованиями, подтверждающими наличие элементов генетической нестабильности при длительном культивировании клеточных линий, а единичный положительный результат может свидетельствовать о том, что при сроках культивирования до 30 суток зарегистрированное генетическое событие является сравнительно редким.

Наряду с этим, как показывают проведенные исследования, необходимо одновременное исследование как ДНК культивируемых клеток донора, так и ядросодержащих клеток крови пациента, в связи с возможностью проявления уже имеющейся в клетках организма мутации. Отсутствие изменений ДНК в клетках периферической крови будет свидетельствовать о возникновении мутации *de novo*.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о возможности использования разработанной методики для многоступенчатого поэтапного контроля генетической стабильности культивируемых клеток.

Выводы

1. Разработанная высокоинформативная трехэтапная технология мониторинга генетической нестабильности культивируемых клеток, которая позволяет проводить выбраковку клеточного материала, являющегося возможным источником опухолевой трансформации в организме реципиента.

2. Исследование культур должно производиться в сочетании с анализом генома ядросодержащих клеток крови, что позволяет исключить возможность проявления уже имеющихся в геноме пациентов мутаций генов-супрессоров опухолевого роста и протоонкогенов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Копнин Б.П. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза. Биохимия, 2000, 65, 5-33.
2. Чумаков П.М. Функция гена p53: выбор между жизнью и смертью. Биохимия, 2000, 65, 34-47.
3. Arguello, J R., A.-M. Little, A.L. Pay, D. Gallardo, I. Rojas, S.G.E. Marsh, J.M. Goldman, and J.A. Madrigal. 1998. Mutation detection and typing of polymorphic loci through double strand conformation analysis. Nat. Genet. 18:192-194.
4. Prives, C. and Hall, P.A. The p53 pathway. J. Path., 1999, 187, 112-126.
5. Woods, D. B. & Vousden, K. H. Regulation of p53 function. Exp. Cell Res., 2001, 264, 56-66
6. Zhou B.-B.S., Elledge S.J. The DNA damage response: putting checkpoints in perspective. Nature, 2000, 408, 433-439.

АНТИМУТАГЕННЫЙ ЭФФЕКТ БИОПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА В ГРУППЕ ПАЦИЕНТОВ С ВЫСОКИМ РИСКОМ РАЗВИТИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ

Буханцев В.А., Минин В.В., Довженко Е.И., Ошурков П.А.

Научный руководитель – д.м.н., профессор Макеев О.Г.

ГОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Росздрава,

ГУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий.

ФГУН «ЕМНЦ профилактики и охраны здоровья рабочих промышленных предприятий Роспотребнадзора»

В продолжение испытания репарогенных/антимутагенных эффектов биопрофилактического комплекса (БПК), разработанного совместно с ФГУН «ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора», нами было проведено исследование на двух группах женщин с высоким риском развития онкопатологии, проживающих на территории города Карпинска.

Проведенный анализ экологических и медицинских данных по территории г. Карпинска позволили предположить, что основными факторами мутагенеза, обуславливающими превышение уровня онкопатологии, по сравнению с показателями других территорий Свердловской области, являются сочетание и усиливающее действие природных факторов среды в комплексе с высоким содержанием в почве и подземных водах металлов так называемого «тухололитового комплекса»: урана, титана, циркония, цинка, меди, свинца, хрома, бериллия и других редко встречающихся в природе элементов, а также техногенными поллютантами – бензо(а)пиреном (образующимся при сгорании местного угля) и фторсодержащей пылью (определяемой в выбросах Богословского алюминиевого завода). При этом естественная радиоактивность

радона, торона и их дочерних продуктов распада играют роль проводника в клетки и усилителя эффектов других средовых патогенных факторов. «Точкой приложения» сочетанного и взаимоусиливающего действия комплекса патогенных факторов окружающей среды является генетический аппарат, структурные изменения которого способны обеспечить развитие отклонений, наблюдаемых у населения города Карпинска.

На сегодняшний день уже имеются необходимые предпосылки для направленной разработки антимуtagenных препаратов, полностью подавляющих генотоксические эффекты тяжелых металлов, токсических органических соединений и других ксенобиотиков, а также ионизирующего излучения. Особый интерес представляют полиненасыщенные жирные кислоты и их производные – эйкозаноиды как представители класса антимутагенов.

Цель исследования – оценка антимутагенного эффекта биопротилактического комплекса в группе женщин с высоким риском развития онкологической патологии.

Материалы и методы исследования

Обследуемые были разделены на 2 группы. По результатам анализа анкетирования женского населения, проведенного с учётом популяционных и индивидуальных факторов риска развития рака легких, кишечника и молочной железы, была сформирована группа высокого онкологического риска. На основании целенаправленного медицинского обследования по критериям включения/исключения из испытаний, были отобраны женщины без признаков онкологических заболеваний. Этим добровольцам проведен месячный курс отработанного в эксперименте БПК. Первая группа принимала БПК, вторая группа – плацебо. I группа (с курсом БПК) – 22 человека. II группа (курс плацебо) – 28 человек.

Исследовали лейкоциты периферической крови до приема БПК или плацебо, и после завершения курса. Для оценки степени повреждения ДНК использовались: метод ДНК-комет и ПДАФ-анализ, подробно описанные в предыдущем совместном исследовании с ФГУН «ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора» [1,2].

Статистическую обработку данных проводили с использованием t-критерия в программном пакете Statistica 6.0 [3].

Результаты исследования и обсуждение

1. Результаты исследования крови женщин методом ДНК-комет.

Таблица 1

Распределение повреждений ДНК по классам комет (в %, $M \pm m$) в лейкоцитах женщин

Группа женщин		Класс комет				
		C1	C2	C3	C4	C5
I	До	50,5±3,1	10,9±0,4	9,8±2,3	20,1±4,4	6,9±0,3
	После	86,2±2,2*	5,6±1,4*	3,8±2,2*	0,3±0,1*	0
II	До	51,3±3,8	9,9±0,8	10,2±1,9	19,8±3,8	6,5±0,3
	После	55,2±2,1	10,3±1,6	11,6±2,1	19,6±3,6	7,1±0,4

* - здесь и далее, достоверность отличий показателя ($p \leq 0,05$) по отношению к аналогичному показателю в каждой группе.

Из представленных данных следует, что у женщин до приема биопротилактического комплекса, наблюдается процентное смещение количества поврежденных клеток в направлении среднего (C3) и высокого (C4) уровня повреждений ДНК, а также в класс полностью поврежденных клеток (C5). После приема комплекса отмечается достоверный положительный эффект. Так, наблюдается отсутствие класса полностью поврежденных клеток (C5), а доля клеток в классе с высоким (C4) уровнем повреждения ДНК снижается практически до следовых значений ($0,3 \pm 0,1$). Доля клеток со средним уровнем повреждения уменьшается по сравнению с состоянием до приема комплекса в 2,6 раза, при этом количество практически неповрежденных клеток (C1) возрастает на 35,7%.

Во второй группе женщин до исследования наблюдается аналогичное распределение повреждений по классам комет, как и в первой группе, а после приема плацебо достоверных изменений определяемых показателей не наблюдается. Это свидетельствует об эффективности примененного комплекса биопротилактических препаратов в отношении стабилизации генетического аппарата клеток.

2. Результаты анализа полиморфизма длин амплифицированных фрагментов.

Обобщенные результаты радиоактивности исследованных образцов представлены в таблице 2.

Таблица 2

Распределение радиоактивности амплифицированной ДНК в агарозном геле

Группа женщин		Активность ядра, в Бк/нг ДНК	Активность хвоста, в Бк/нг ДНК	Коэффициент фрагментации
I	До приема	43593,8±1481,2	55234,2±3256,9	0,56
	После приема	80236,4±4723,5	12367,8±124,4	0,13*
II	До приема	45624,2±1965,9	52281,3±3421,6	0,53
	После приема	48924,4±3771,6	57112,5±2218,1	0,54

Коэффициент фрагментации ДНК в группе женщин до приема БПК составлял 0,56, что можно принять за норму для данной группы обследуемых (в рамках коэффициента от 0 до 1,0). После приема комплекса наблюдается достоверное снижение коэффициента фрагментации до 0,13 (в 4,3 раза), что свидетельствует об эффективности биопрофилактического комплекса по данному показателю.

Наряду с этим показатели во 2-ой группе женщин не свидетельствуют о достоверных отличиях от первой группы до приема комплекса. В свою очередь, после приема плацебо достоверные отличия во второй группе по коэффициенту фрагментации отсутствуют.

3. Результаты анализа полиморфизма длин амплифицированных фрагментов при дополнительном радиационном воздействии.

Таблица 3

Распределение радиоактивности амплифицированной ДНК в агарозном геле при дополнительном радиационном воздействии.

Группа женщин		Активность ядра, в Бк/нг ДНК	Активность хвоста, в Бк/нг ДНК	Коэффициент фрагментации
I	До приема	23427,2±1243,5	63641,3±2484,8	0,73
	После приема	54416,9±2463,6	20278,6±763,3	0,27*
II	До приема	23864,8±1427,1	62395,8±2571,2	0,72
	После приема	27516,4±1822,1	65193,7±2358,4	0,70

Из полученных результатов следует, что воздействие ионизирующего излучения непосредственно на образцы крови женщин до приема комплекса в значительной степени приводит к повреждению ядерной ДНК клеток. При этом, доля наносимых повреждений в 1,9 раза выше по сравнению с аналогичной группой без воздействия радиационного фактора. После приема комплекса наблюдается достоверное снижение коэффициента фрагментации в 2,7 раза, а степень повреждений сохраняется на более высоком уровне по сравнению с группой после приема препаратов комплекса в отсутствие воздействия облучения. Этот факт, по-видимому, объясняется, во-первых: особенностями репарационных систем человека, которые требуют большего времени; во-вторых, высокой разовой дозой ионизирующего излучения, равной годовой дозе для «группы риска».

Показатели второй группы до приема комплекса не отличаются от аналогичных показателей первой группы. После приема плацебо во 2-ой группе хотя и наблюдается некоторое числовое снижение коэффициента фрагментации, но статистически достоверным оно не является.

Выводы

1. Проведенное исследование подтверждает, что применение биопрофилактического комплекса благоприятно влияет на генетический аппарат клеток человека, снижая уровень повреждений за счет репаративного/антимутагенного механизмов, что и было установлено ранее на экспериментальных животных.

2. Используемый комплекс может быть рекомендован в качестве меры профилактики на территориях с высоким уровнем загрязнения среды как техногенными и природными поллютантами (тяжелые металлы), так и высоким уровнем естественного радиоактивного фона.

Работа поддержана грантом Министерства природных ресурсов Правительства Свердловской области.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кашнельсон Б.А., Макеев О.Г., Дегтярёва Т.Д. Экспериментальное испытание комплекса средств биологической защиты организма от канцерогенного действия комбинации экотоксикантов. [Текст]/ Б.А. Кашнельсон, О.Г. Макеев, Т.Д. Дегтярёва, Л.И. Привалова, В.А. Буханцев, С.А. Денисенко, Т.В. Слышкина, Н.П. Макаренко, И.Х. Измайлов, Е.С. Куликов// Токсикологический вестник. - Москва, №3, 2007. С. 15-20
2. Минин В.В., Буханцев В.А., Довженко Е.И. Обоснование применения комплекса средств для биологической профилактики в городах с повышенным риском развития рака [Текст]/ Актуальные вопросы современной

- медицинской науки и здравоохранения: Материалы 62-й Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием - Екатеринбург: Изд-во УГМА, 2007.
3. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA [Текст]/ О.Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2003. – 312 с.

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ НАНОСИСТЕМЫ ТИЗОЛЬ В ПАРОДОНТОЛОГИИ

Бушуева Е.Ю., Ильных В.С., Легких А.В.

Научный руководитель работы - д.м.н. Еловицова Т.М.

Кафедра терапевтической стоматологии УГМА

Проблема профилактики и печения воспаления тканей пародонта (ВТП) является одной из серьезных проблем стоматологии. Это объясняется высокой распространенностью ВТП среди детского и взрослого населения - по частоте они занимают второе место после карнеса зубов [1,4-6]. Этим объясняется и необходимость поиска новых средств и методов профилактики и лечения ВТП. Представляет интерес Тизоль (Т) - аквакомплекс глицеросолювата титана. Т способствует проведению медикаментозных добавок через кожу и слизистую оболочку. Форма Т - гель Он не накапливает жидкость в тканях, предохраняет их от высыхания и усиливает оксигенацию. Т хорошо сочетается со многими фармакологическими средствами. Лекарственное средство Т является и лекарственной формой. Это дает возможность обеспечить стойкость и стабильность лекарственного вещества, равномерное распределение на десне, а также сокращение расхода лекарства.

Тизоль, благодаря своим пенетрирующим свойствам, при нанесении на кожу проникает на глубину до 8 см в патологический очаг через мембраны клеток (размер пор мембраны от 1 до 10 нм) и межклеточное пространство (размер его от 15 до 20 нм). Это подтверждает тот факт, что аквакомплекс глицеросолювата титана относится к наносистемам [2-5]. Препарат Т в своем составе содержит неорганическую частицу – титан, который находится в капсуле, содержащей связанный глицерин и воду. Эта наносистема получена в результате химического взаимодействия реагентов.

Цель исследования - изучение эффективности лечения больных с ВТП (катаральным гингивитом и пародонтитом) путем включения в комплексную терапию гелевого препарата Тизоль как наносистемы.

Материалы и методы исследования

Нами проведено открытое сравнительное исследование эффективности гелевого препарата Т при лечении больных с ВТП. В исследование было включено 50 человек (35 женщин, 15 мужчин) пациентов с ВТП. Средний возраст пациентов составил 35 лет, продолжительность заболевания – от 1 до 10 лет. На момент включения в исследование в течение двух месяцев общей терапии (приема лекарственных препаратов не проводилось). Комплексное лечение включало устранение местных раздражающих факторов, контроль гигиены полости рта, также хирургические и ортопедические методы (по показаниям). Консервативное лечение начиналось с медикаментозной обработки полости рта Т, а далее – аппликацией Т-комплекса с хлоргексидином. Т применяется в так называемых микродозах, т.е. тонким слоем наносится на десну («эффект прозрачной пленки»). Оценивались продолжительность действия препаратов после нанесения, наличие побочных эффектов, а также эффективность терапии по мнению пациента (хороший, удовлетворительный, отсутствие эффекта). Лабораторное обследование включало в себя клинический анализ крови, общий анализ мочи; в необходимых случаях – биохимическое исследование крови на содержание глюкозы. Статистическая обработка полученных данных проводилась по методам вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

Ко второму посещению (через два дня) уменьшились клинические признаки воспаления, улучшились результаты индексной оценки пародонта (РМА, ПИ и др.). Состояние десны улучшалось с каждым посещением. К концу курса лечения при использовании Т отек, гиперемия десны достоверно уменьшились ($p < 0.005$), наблюдалось объективное улучшение состояния тканей пародонта. Достоверно уменьшились боль, отек, кровоточивость, гиперемия десны. Значения индекса РМА снизились более чем в 8 раз, ПИ – в 3 раза. Хороший эффект имел место в 92%, удовлетворительный – в 8%. Отсутствие эффекта не отмечено. Переносимость препарата была во всех случаях хорошей. На фоне локальной комплексной терапии отсутствовали изменения в клиническом анализе крови и мочи.

Выводы

1. Применение Т в виде аппликаций на десну обеспечило выраженный кровоостанавливающий, противовоспалительный и противовоспалительный эффект.

2. Периодическое проведение профилактических курсов комплексной терапии ВТП, систематической и тщательной личной гигиены полости рта на фоне профессиональной гигиены полости рта, позволяет добиться выраженного лечебного эффекта и стабилизации воспалительно-деструктивного процесса в тканях пародонта. Дальнейшее изучение механизма действия этой наносистемы позволит разработать новые медицинские технологии по применению его в лечении больных ВТП, повысит качество стоматологической помощи и уменьшит стоимость курса лечения.