

19. Tomczyka M. Potentilla - A review of its phytochemical and pharmacological profile/ M. Tomczyka, K. P. Latte // J. Ethnopharm. 2009. Vol. 122. P. 184–204.
20. Шериева Ф. К. Фармакогностическое изучение лапчатки белой – Potentilla alba L., интродуцированной на Северном Кавказе: дис...канд.фарм.наук. Волгоград, 2015. 121 с.
21. Поляков Н. А. Состав и содержание проантоцианидинов в корнях и корневищах лапчатки белой (Potentilla Alba)/ Н. А. Поляков, Ф.М. Хазиева, А.И. Мешков, И.Н. Коротких, В. И. Осипов // Фенольные соединения: свойства, активность, инновации: сборник научных статей по материалам X Международного симпозиума “Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты”, Москва, 14-19 мая 2018 г. / отв. ред. Н.В. Загоскина –М.: ИФР РАН,-2018. С. - 347.
22. Поляков Н.А., Сравнительное изучение состава и содержания метаболитов у растений рода Potentilla/ Н.А. Поляков, Ф.М. Хазиева, И.Н. Коротких, В.И. Осипов// Пятая научно-практическая конференция с международным участием: «Молодые учёные и фармация XXI века»: Сборник трудов пятой научно-практической конференции аспирантов и молодых учёных «молодые учёные и фармация XXI века» М., ВИЛАР, 2017г. с.114
23. Ossipova S., Ossipov V., Haukioja E., Loponen J., Pihlaja K. Proanthocyanidins from mountain birch leaves: quantitation and properties/ S. Ossipova, V. Ossipov, E. Haukioja, J. Loponen, K. Pihlaja // Phytochem. Analysis. 2001. Vol. 12. N 2. P. 128-133
24. Santos-Buelga C. Proanthocyanidins and tannin – like compounds – nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health/ C. Santos-Buelga, A. Scalbert // J. Sci. Food Aric. 2000. Vol. 80, N 7. P. 1094-1117
25. Gu L.W. Liquid chromatographic/electrospray ionization mass spectrometric studies of proanthocyanidins in foods/ L.W. Gu, V.A. Kelm, J.F. Hammerstone, Z. Zhang, G. Beecher, J. Holden, D. Haytowitz, R.L. Pior // J. Mass Spectrometry. 2003. Vol. 38. N 12. P. 1272-1280
26. Haslam E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action/ E. Haslam // J. Nat. Prod. 1996. Vol. 59, N 2. P. 205-215
27. Bagchi D. Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins C and E, and a grape seed proanthocyanidin extract in vitro / D. Bagchi, A. Garg, R. Krohn // Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol. 1997. Vol. 95, N 2. P. 179-189
28. Park Y.C. Activity of monomeric, dimeric, and trimeric flavanoids on NO production, TNF – alfa secretion, and NF– kappa B-dependent gene expression in RAW 264.7 macrophages/ Y.C. Park, G. Rimbach, C. Saliou // FEBS Lett. 2000. Vol. 465, N 2/3. P. 93-97.

УДК 615.272.7+615.015.44+599.323.4

Иванов В.С.

кандидат медицинских наук, главный врач

ГУ «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии НАМН»

Шнайдер С.А.

доктор медицинских наук, профессор

ГУ «ИС ЧЛХ НАМН»

Ткаченко Е.К.

кандидат биологических наук,

заведующая сектором экспериментальной патологии

ГУ «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии НАМН»

ИЗУЧЕНИЕ МУТАГЕННЫХ ЭФФЕКТОВ ГЕНОТОКСИКАНТОВ ПРЯМОГО И НЕПРЯМОГО ДЕЙСТВИЯ

Ivanov V.S.

candidate of medical sciences, doctor of the

SE “Institute of Dentistry and Maxillofacial Surgery of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”

Shnaider S.A.

doctor of medical sciences, professor, director of the

SE “Institute of Dentistry and Maxillofacial Surgery of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”

Tkachenko E.K.

candidate of biological sciences, head of the experimental pathology sector of the SE “Institute of Dentistry and Maxillofacial Surgery of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”

Аннотация. В тесте доминантных летальных мутаций зародышевых клеток самцов крыс изучены генотоксические эффекты фенобарбитала и фторурацила. Впервые установлена высокая мутагенность фторурацила; фенобарбитал не проявил генотоксичности.

Abstract. In the test of dominant lethal mutations of germ cells of male rats, the genotoxic effects of phenobarbital and fluorouracil were studied. The high mutagenicity of fluorouracil was first established; phenobarbital did not show genotoxicity.

Ключевые слова: мутагенность, фторурацил, фенобарбитал, эмбрионы, индуцированная летальность.

Key words: mutagenicity, fluorouracil, phenobarbital, embryos, induced mortality.

Постановка проблемы

С целью изучения возможной роли нарушений функций генома клеток пародонта при его патологии были изучены генотоксиканты прямого и непрямого действия. В качестве первого избран геномотропный ксенобиотик, фторурацил, лиганд Ah-рецепторов (ядерных рецепторов ароматических углеводородов) при химиотерапии злокачественных новообразований органов ротовой полости.

5-фторурацил – противоопухолевый препарат из группы антиметаболитов, антагонистов пиримидинов. Ингибирует процесс деления клеток путем блокирования синтеза ДНК (вследствие угнетения активности фермента тимидилсинтазы) и образования структурно несовершенной РНК (вследствие внедрения фторурацила в её структуру). Выбор фторурацила основывается также на его способности вызывать язвенный стоматит, как следствие падения пролиферативного потенциала эпителия [1].

Непрямым генотоксикантом признан фенобарбитал – противосудорожное и снотворное средство. Непрямое генотоксическое действие фенобарбитала проявляется как следствие активации ксенобиотиков в микросомах печени и других тканях, в активные токсиканты [2].

Фенобарбитал – противоэпилептическое лекарственное средство из группы барбитуратов. Является производным барбитуровой кислоты, оказывает неизбирательное угнетающее действие на ЦНС путем повышения чувствительности ГАМК-рецепторов к гамма-аминомасляной кислоте и увеличения тока ионов Cl^- через каналы рецепторов. Оказывает выраженное снотворное действие и находит применение при расстройствах сна. В малых дозах фенобарбитал оказывает успокаивающее действие.

Анализ последних исследований и публикаций

Ранее утановлено, что ароматические углеводороды имеют тропность к тканям пародонта. Накапливаясь в десне и слизистой оболочке полости рта, некоторые фенольные соединения и их гетероциклические аналоги вызывают различные изменения в этих тканях. В частности, хлорбифенилы вызывают в клетках накопление меланосом [3], мефенитоин и нифедипин вызывают гипертрофический гингивит [4].

Выделение нерешенных ранее частей общей проблемы

Мутагенез исследуют учитывая число доминантных летальных мутаций в половых клетках крыс-самцов, приводящих к гибели потомков первого поколения в период пренатального развития [5].

Нами была поставлена задача оценки мутагенных свойств фторурацила в тесте доминантных летальных мутаций зародышевых клеток. Доминантные летальные мутации – это генетические изменения в половых клетках родителей, которые приводят к гибели потомков первого поколения в период пренатального развития.

Формулирование целей статьи

Цель работы – изучение мутагенных эффектов фторурацила и фенобарбитала в тесте доминантных летальных мутаций зародышевых клеток самцов крыс.

Изложение основного материала

Материалы и методы исследования

Опыты проведены на 15 крысах-самцах и на 29 самках, содержащихся на стандартном рационе вивария ГУ «ИС ЧЛХ НАМН Украины». Трём группам самцов (по 5 особей) массой 178 ± 8 г на протяжении 11 недель, периода, охватывающего все стадии сперматогенеза, с помощью зонда вводили per os следующие вещества: 1) интактная группа получала дистиллированную воду в дозе 0,1 мл/100 г массы тела крыс; 2-ой группе животных вводили водную суспензию фенобарбитала в дозе 0,005 г/кг массы тела в сутки; 3-я группа получала водный раствор фторурацила в дозе 0,025 г/кг массы тела крыс. Все препараты вводили per os в объеме 0,1 мл : фторурацил вводили 3 раза в неделю, вследствие его цитотоксичности; фенобарбитал – 5 раз в неделю. По истечении 11 недель каждому самцу подсаживали по 2 виргинные самки массой 242 ± 15 г сроком на 1 неделю для спаривания. Все опыты на животных проводили согласно Европейской Конвенции о защите позвоночных животных.

На 19-20 день беременности умерщвленных декапитацией самок немедленно вскрывали и подсчитывали количество живых и мертвых эмбрионов (ЖЭ). Анализ результатов и статистическая обработка производились в соответствии с методическими указаниями по оценке мутагенной активности [5,6]. Для каждой исследуемой группы учитывали следующие показатели: % беременных самок (фертильность), количество ЖЭ и МЭ на 1 беременную самку, показатель постимплантационных потерь:

$$A = \frac{MЭ}{MЭ + ЖЭ} \times 100\%$$

где МЭ и ЖЭ – количество живых и мертвых эмбрионов в исследуемой группе.

Для анализа различий в средних тенденциях между опытными и контрольными группами использовался показатель постимплантационных потерь A_j , вычисляемый для каждого самца, по формуле:

$$A_j = \frac{\sum_{i=1}^{n_j} A_{ji}}{n_j}$$

где A_{ji} – доля мертвых имплантантов у i самки j самца; n_j – число беременных самок у j самца.

Для анализа использовался ранговый критерий Вилкоксона [7]. Проверялись следующие гипотезы: 1) в исследуемой группе (фторурацил) данный параметр в среднем больше, чем в интактной.

Для каждой группы рассчитывалось среднее значение показателя постимплантационных потерь у всех самцов по формуле:

$$\bar{A} = \frac{\sum_{j=1}^N A_j}{N}$$

, где N – число самцов в данной группе.

В случае получения достоверных различий между опытной и контрольной группами определялся показатель индуцированной летальности по формуле:

$$I_{\text{инд}} = \frac{\bar{A}_t - \bar{A}_c}{1 - \bar{A}_c}$$

где индексами t и c помечены средние значения показателя постимплантационных потерь

для опытной и контрольной группы, соответственно.

Вычисленная индуцированная летальность определяла степень мутагенной активности препарата. Препарат с индуцированной летальностью от 0 до 10 % квалифицировался как слабый мутаген (1 балл), от 10 до 25% - средний мутаген (2 балла), свыше 25% - сильный мутаген (3 балла).

Результаты исследований

В табл. 1 представлены результаты изучения течения беременности у самок крыс, спаривающихся с самцами и получавших фенотарбитал и фторурацил.

В интактной группе самок, самцы которых получали лишь растворитель (дистиллированную воду), наблюдалось 100% беременностей.

Как видно из табл.1, введение фенотарбитала самцам вызвало снижение числа беременностей самок до 60%. Отрицательное влияние фенотарбитала, по-видимому, сопряжено с его эффектом индукции цитохромов P450, в результате которого существенно возрастает окисгенирование углеводородов, в частности, хлорбифенилов. Проявившийся у самцов седативный эффект фенотарбитала мог способствовать наблюдавшемуся снижению фертильности. В то же время применение фенотарбитала практически не вызывало гибели эмбрионов. Данные, представленные в табл. 1, свидетельствуют о снижении уровня фертильности самок, которые спаривались с самцами, получавшими фторурацил, почти вдвое – до 58%, по сравнению с самками интактной группы (100%).

Максимальное количество мертвых эмбрионов (МЭ) на 1 беременную самку – 3,29, и минимальное количество живых эмбрионов (ЖЭ) – 5,29 отмечали в группе фторурацила. Доля мертвых эмбрионов в группе фторурацила составила – 38,3%.

Статистический анализ выявил, что в группе фторурацила доля мертвых эмбрионов, вычисленная на одного самца, значимо выше ($p < 0,05$), чем в интактной (табл. 1).

Таблица 1

Влияние фенотарбитала и фторурацила на показатели фертильности, количества живых и мертвых эмбрионов

Группа животных	Количество самок	Количество беременных самок	Процент фертильности	Количество небеременных самок	Количество живых эмбрионов (ЖЭ)	Количество мертвых эмбрионов (МЭ)	ЖЭ на 1 беременную самку	МЭ на 1 беременную самку	$\frac{МЭ+ЖЭ}{100} \cdot 100\%$
Интактная	7	7	100	0	52	0	7,43	0	0
Фенотарбитал	10	6	60	4	51	0	8,50	0	0
Фторурацил	12	7	58	5	37	23	5,29	3,29	38,3

Средние значения этого показателя и индуцированной летальности представлены в табл. 2.

**Постимплантационные потери, индуцированная летальность и
степень мутагенности фторурацила**

Группы животных	Среднее значение показателя постимплантационных потерь на 1 самца, $\bar{A}$	Индуцированная летальность $I_{\text{инд}}$, %	Степень мутагенности, баллы
Интактная	0	0	0
Фторурацил	0,541	54,1	3

Индуцированная летальность для фторурацила составила 54,1%, что соответствует согласно градации [6] степени мутагенной активности препарата, равной 3 баллам.

Выводы и предложения. Было изучено влияние генотоксических лигандов ядерных Ah-рецепторов, фенотарбита и антиметаболита фторурацила на зародышевые клетки самцов крыс. Впервые на этом объекте исследования установлена высокая мутагенность (3 балла) фторурацила.

Представленные данные свидетельствуют о том, что в тесте доминантных летальных мутаций фенотарбитал не проявил генотоксичности. Наряду с этим следует указать, что седативные свойства препарата могли способствовать наблюдавшемуся у самцов снижению фертильности.

Дальнейшее использование генотоксических эффектов фторурацила, как ключа к расшифровке роли нарушений генома клеток пародонта в генезе его патологии, планируется на следующем этапе.

Список литературы

1. Преображенская М.Н. Поиск противоопухолевых препаратов среди аналогов компонентов нуклеиновых кислот – ЖВХО им. Менделеева. – 1973. - №6. – С. 643-656.
2. Voskresensky O.N., Voskresenkaya E.B. Problem of pharmacovigilance: the significance of xenobiotics structure – activity relationships // Фармак. вісник. – 1997. - №5.
3. Isamu H., Akifumi A., Sashiko M. Histological study on the gingiva in the patient with Jusho and the PCB poisoned monkeys // Fukuoka acta med. – 1987. – V. 78. - №5.- P: 259-265.
4. Sauguet P., Monteil R.A. Les hyperplasies gingivales secondaires a la prise d'antagonistes calciques: mise an point // J. Biol. buccale. – 1992. – V.20. - №1. – P.25-32.
5. Методичні рекомендації з оцінки мутагенних властивостей нових лікарських засобів / К.: МОЗ України. – 1996. – 32 с.
6. Руководящие метод. материалы по экспериментальному и клиническому изучению новых лекарственных средств / М.- 1982. – с. 42-46.
7. Холлендер М., Вулф Д. Непараметрические методы статистики. – М. – 1983. – 517 с.