

ДИССЕРТАЦИОННАЯ ОРБИТА

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ СТАТУС ЧЕЛОВЕКА И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ МУЛЬТИВИТАМИННЫХ КОМПЛЕКСОВ

УДК 616.75/.76–007.17–079.3:575.113

¹ Буробина А.В., ² Сычева Л.П., ³ Труханов А.И., ¹ Жученко Н.А., ¹ Асанов А.Ю.

¹Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

²Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Россия

³Группа компании АСВОМЕД, Москва, Россия

CYTOGENETIC STATUS OF THE PERSON AND EFFICACY OF MULTIVITAMINS

¹Burobina A.V., ²Sycheva L.P., ³Truhanov A.I., ¹Zhuchenko N.A., ¹Asanov A.Y.

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), Moscow, Russia

²Russian State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

³ASVOMED Group, Moscow, Russia

Введение

В современных условиях человек находится под постоянным воздействием факторов физической, химической и/или биологической природы. Приблизительно 10% из них обладает мутагенной активностью. В связи с этим действие мутагенов на человека неизбежно, что делает актуальным изучение природных и синтетических антимутагенов для профилактики спонтанного и индуцированного мутагенеза [1,2,3,4,5]. Учитывая, что механизм действия многих мутагенов является прооксидантным, в качестве антимутагенов стали изучать витамины, обладающие антиоксидантным действием, например, витамины А и С. Антимутагенное и антиканцерогенное действие витаминов интенсивно исследовали в опытах *in vitro* и *in vivo* в конце прошлого века [6]. При изучении отдельных витаминов-антиоксидантов получены неоднозначные результаты. В то же время результаты опытов на животных дают надежду на возможное антимутагенное действие комплекса витаминов в профилактических дозах. В настоящее время в России расширяются исследования по оценке эффективности и безопасности применения витаминов [7–13], в том числе как антимутагенов при обследовании людей.

Основным методом оценки цитогенетического статуса человека является анализ частоты хромосомных аберраций в лимфоцитах крови [1,2,3,4]. Однако, в качестве альтернативы для оценки хромосомных повреждений все чаще применяют неинвазивный (без взятия крови) микроядерный метод на эпителиальных клетках слизистой щеки [14–20].

Опубликованы обзоры данных, указывающие на повышение частоты микроядер у человека при генотоксическом действии различных факторов окружающей среды, а также при ожирении, диабете, сердечно-сосудистых, онкологических, гематологических, нейро-дегенеративных и других заболеваниях [21, 22, 23, 24]. Становится очевидным, что этот подход является перспективным, в том числе как инструмент фундаментальных исследований физиологических и патологических процессов в организме, связанных с повреждением генома [25–30]. Сегодня, широко используется усовершенствованный метод – неинвазивный полиорганный кариологический тест (ПКТ), позволяющий оценивать наряду с микроядрами широкий спектр состояния ядра эксфолиативных клеток по цитогенетическим показателям, показателям пролиферации и апоптоза в эксфолиативных клетках

[16,19,20]. Основное преимущество ПКТ по сравнению с учетом хромосомных aberrаций – неинвазивное взятие материала для анализа и отсутствие необходимости культивировать клетки крови. Кроме того, ПКТ позволяет оценивать все виды цитогенетических нарушений состояния ядра интерфазной клетки, а также показатели клеточной кинетики: пролиферации и апоптоза. Изменение соотношения этих процессов ведет либо к деструкции ткани, либо к развитию новообразований.

В данной работе проведено изучение влияния приема рекомендуемых профилактических доз препарата "Helvesana", обладающего антиоксидантными и адаптогенными свойствами, на здоровье человека по показателям цитогенетического статуса и клеточной кинетики соматических клеток (буккальных эпителиоцитах). Исследование проведено с использованием инновационного неинвазивного ПКТ, позволяющего учитывать широкий спектр цитогенетических показателей, показателей пролиферации и деструкции ядра клеток [16,20].

Материалы и методы исследования

Препарат. швейцарский препарат "Helvesana" представляет собой мультивитаминный комплекс, включающий большой набор водо- и жирорастворимых витаминов (С, В1, В2, В6, В12, Е, D, ниацин, фолаты, пантотеновую кислоту), витаминоподобных соединений (коэнзим Q10, лютеин), минералов (кальций, магний).

Обследуемые. В исследовании принимали участие 40 практически здоровых доноров-добровольцев без наличия хронических заболеваний, не имевших в анамнезе контактов с химическими, радиационными или иными вредными факторами, не подвергавшихся рентгенологическому исследованию в течение года или вирусным заболеваниям в предшествующий месяц (по данным анкетирования). Для выполнения настоящего исследования случайным образом отобрана основная группа людей в количестве 20 человек, которые ежедневно в течение 30 дней принимали препарат "Helvesana" в рекомендуемой производителем (22 мл) суточной дозе. Также сформирована контрольная группа людей в количестве 20 человек, которые в течение 30 дней не принимали препарат "Helvesana". У участников исследования, входящих в состав основной и контрольной группы до начала приема препарата "Helvesana" взяты соскобы со слизистой щеки. Второй раз соскобы со слизистой оболочки щеки взяты на следующий день после окончания приема "Helvesana" у обследуемых как основной, так и контрольной группы. Все участники исследования подписали информированное согласие на участие в исследованиях.

В основную группу (группу воздействия) входили 12 женщин и 8 мужчин в возрасте 30–40 лет, в контрольную группу – 8 женщин и 12 мужчин в возрасте 30–40 лет. Препарат "Helvesana" участники исследования основной группы принимали в зимний период.

Методы исследования

Исследование проведено с использованием инновационного кариологического анализа в соответствии с Руководством ВОЗ (1989); методическими рекомендациями «Оценка цитологического и цитогенетического статуса слизистых оболочек полости носа и рта у человека» (2005); «Способом неинвазивной диагностики цитогенетического и цитотоксического действия факторов окружающей среды на организм человека (Патент № 2292027 по заявке от 24.03.2005)».

Подготовка препаратов к исследованию.

Клетки слизистой оболочки щеки готовили в соответствии с Методическими рекомендациями (2005): стерильным деревянным шпателем делали соскоб с внутренней стороны щек с двух сторон, наносили на предметные стекла, высушивали. Все препараты были зафиксированы этанолом-уксусной кислотой (3:1), окрашены ацетоорсеином-светлым зеленым.

Кариологический анализ.

Препараты шифровали, проводили микроскопический анализ 1000 эпителиоцитов слизистой оболочки щеки от каждого индивидуума и оценивали цитогенетические показатели и показатели клеточной кинетики. В соответствии с Методическими рекомендациями каждую из 1000 анализируемых от индивидуума клеток относили к следующему категориям:

1. Клетки с цитогенетическими нарушениями (микроядрами, протрузиями, суммой цитогенетических нарушений, ядрами атипичной формы).
2. Клетки с двумя ядрами (изолированными; сдвоенными, суммарно теми и другими), которые являются косвенными показателями пролиферации.
3. Клетки с деструкцией ядра:
 - на ранней стадии деструкции ядра (с перинуклеарной вакуолью; повреждением ядерной мембраны; конденсацией хроматина; вакуолизацией ядра и началом кариолизиса);
 - на поздней стадии деструкции ядра (с кариорексисом, кариопикнозом; полным кариолизисом; суммарным показателем позднего апоптоза; суммарным показателем всех клеток в апоптозе – полного апоптоза).

По результатам кариологического анализа сформирована база данных, включающая 16 показателей для каждого из 80 обследований.

Для оценки влияния препарата "Helvesana" была предварительно проведена оценка показателей цитогенетического статуса людей в основной (принимавшей препарат) и контрольной группе до начала исследования (табл.1).

Сравнение показателей с использованием t-критерия Стьюдента и критерия Манна-Уитни: *отличие показателей между группами по обоим критериям.

Основная и контрольная группы на момент начала обследования не отличались статистически достоверно ни по одному из 16 исследованных показателей, что позволило сравнивать их при оценке влияния препарата "Helvesana" на основную группу доноров.

Статистический анализ данных проводили с помощью компьютерных программ Excel и Statistica for Windows. Сравнение данных по группам проводили с помощью t-критерия Стьюдента и непараметрического критерия Манна-Уитни. Различия считали значимыми при $P < 0,05$.

Результаты и обсуждения

1. Оценка цитогенетического статуса основной группы людей (группы воздействия) до и после приема в течение месяца препарата "Helvesana".

Цитогенетические показатели. У каждого из обследуемых доноров в обеих группах количество клеток с микроядрами на 1000 анализированных клеток варьировало от 0 до 3. Доля клеток с ядерными протрузиями и сумма цитогенетических нарушений в начале исследования варьировала от 1 до 5, и только у одного человека отмечено 13 клеток с ядерными протрузиями из 1000. На втором сроке исследования показатели у этого индивида

Таблица 1. Цитогенетические показатели, показатели пролиферации и деструкции ядра клеток в основной и контрольной группе людей в начале обследования

Показатели	Основная группа в начале исследования	Контрольная группа в начале исследования
	X ср. (95% ДИ); количество клеток	
Цитогенетические показатели в промилле		
Доля клеток с микроядрами	0,6 (0,2;1,0); 12	0,6 (0,2;0,9); 12
Доля клеток с протрузиями ядра	1,3 (-0,1;2,7); 26	1,4 (0,6;2,2); 28
Доля клеток с микроядрами и протрузиями суммарно	1,9 (0,5;3,3); 38	2,0 (1,2;2,8); 40
Доля клеток с ядрами атипичной формы	1,2 (0,5;1,9); 24	0,9 (0,3;1,4); 17
Показатели пролиферации в промилле		
Доля клеток с двумя ядрами	4,9 (3,3;6,4); 97	4,3 (3,2;5,3); 85
Доля клеток со сдвоенными ядрами	3,1 (1,4;4,8); 62	2,4 (1,2;3,6); 48
Доля двуядерных клеток суммарно	8,0 (5,2;10,7); 159	6,7 (4,9;8,4); 133
Показатели деструкции ядра в процентах		
Доля клеток с перинуклеарной вакуолью	1,8 (1,1;2,5); 35,8	1,4 (0,9;1,9); 28,4
Доля клеток с повреждением ядерной мембраны	0,6 (-0,4;1,6); 12,5	0,2 (0,03;0,4); 4,1
Доля клеток с началом кариолизиса	8,7(6,5;10,9); 174,2	9,4 (6,6;12,1); 187,3
Доля клеток с конденсацией хроматина	7,2 (3,5;10,9); 144,2	9,3 (4,4;14,1); 185,1
Доля клеток с кариорексисом	1,8 (0,9;2,6); 35,3	2,1 (1,1;3,1); 42,1
Доля клеток с кариопикнозом	1,0 (0,6;1,4); 19,6	1,2 (0,8;1,6); 24,3
Доля клеток с полным кариолизисом	1,3 (0,7;1,9); 26	1,5 (0,9;2,2); 30,5
Апоптотический индекс (поздние стадии апоптоза)	4,0 (2,8;5,2); 80,1	4,8 (3,5;6,2); 96,9
Полный апоптотический индекс	20,0 (16,1;23,9); 399,3	23,5 (18,4;28,5); 469

снизилась до 2. В целом, частота указанных показателей варьировала от 1 до 5. В начале исследования у 12 человек не выявлены клетки с основным цитогенетическим показателем – микроядрами, в конце количество таких индивидов увеличилось до 16 человек. Ядерные протрузии встречаются в этой группе в 2–4 раза чаще, чем микроядра, что соответствует литературным данным. В целом, доноры основной группы характеризуются низким уровнем цитогенетических нарушений в начале исследования, не превышающих ориентировочные нормативные величины.

При оценке препарата “Helvesana” основным вопросом является изучение его влияния на цитогенетические показатели – микроядра и протрузии, поскольку образование клеток с такими нарушениями однозначно свидетельствует о мутагенном действии фактора на соматические клетки. В проведенном исследовании четко прослеживается снижение всех цитогенетических показателей: доли клеток с микроядрами с 0,6‰ до 0,3‰; доли клеток с протрузиями с 1,3‰ до 1,2‰, доли клеток с атипичной формой ядра – с 1,9‰ до 1,5‰; суммарно доли клеток с цитогенетическими нарушениями – с 1,9‰ до 1,5‰. Однако, эти отличия статистически не достоверны, так как общий фон цитогенетических нарушений в обследуемой группе достаточно низкий.

Результаты анализа представлены в таблице 2.

Показатели пролиферации. Доля клеток с двумя изолированными ядрами (4,9‰) и суммарная доля двуядерных клеток (8,0‰) также снизилась после приема препарата “Helvesana” в течение месяца (до 4,3‰ и 7,6‰ соответственно), достоверных отличий по этим показателям не выявлено.

Показатели гибели клеток (деструкции клеточно-го ядра). У доноров основной группы исследовано девять показателей ранней и поздней стадий деструкции ядра. В этой группе после приема препарата “Helvesana”

определено статистически значимое снижение на 50% доли клеток с перинуклеарной вакуолью, на 62% доли клеток с кариорексисом ядра и повышение в 2,3 раза доли клеток с полным кариолизисом, что является хорошим показателем нормализации состояния буккального эпителия по показателям деструкции ядра, и определяет основной путь деструкции ядра через кариопикноз и кариолизис.

Таким образом, при сравнении кариологических показателей буккального эпителия доноров до и после приема препарата “Helvesana” отмечена тенденция к снижению частоты клеток с цитогенетическими нарушениями, показателей пролиферации и нормализация состояния буккального эпителия по показателям деструкции ядра.

2. Оценка цитогенетического статуса контрольной группы людей в начале и конце исследования.

Поскольку прием препарата “Helvesana” осуществляли в течение 30 дней и результат оценивали на следующий день после окончания обследования, анализ цитогенетического статуса людей контрольной группы также оценивали через месяц от начала исследования. Таким образом, контрольную группу, как и основную, обследовали дважды: в начале и конце исследования. Биологический материал (клетки буккального эпителия) собирали одновременно у людей основной и контрольной группы. В данном разделе представлены результаты анализа цитогенетического статуса людей контрольной группы на двух сроках исследования (табл. 3).

Цитогенетические показатели. У каждого из обследуемых доноров в обеих группах количество клеток с микроядрами на 1000 анализированных клеток варьировало от 0 до 3, ядерных протрузий и суммы цитогенетических нарушений от 0 до 7. В начале исследования у 11 человек не выявлено клеток с основным цитогенетическим показателем (микроядрами), в конце количество таких индивидов увеличилось до 15 человек. В целом

Таблица 2. Цитогенетические показатели, показатели пролиферации и деструкции ядра клеток в основной группе людей в начале и конце обследования

Показатели	Основная группа в начале исследования	Основная группа в конце исследования
	X ср. (95% ДИ); количество клеток	
Цитогенетические показатели в промилле		
Доля клеток с микроядрами	0,6 (0,2:1,0); 12	0,3 (-0,4:0,6); 6
Доля клеток с протрузиями ядра	1,3 (-0,1:2,7); 26	1,2 (0,5:1,8); 23
Доля клеток с микроядрами и протрузиями суммарно	1,9 (0,5:3,3); 38	1,5 (0,7:2,2); 29
Доля клеток с ядрами атипичной формы	1,2 (0,5:1,9); 24	1,0 (0,2:1,8); 24
Показатели пролиферации в промилле		
Доля клеток с двумя ядрами	4,9 (3,3:6,4); 97	4,3 (2,8:5,8); 86
Доля клеток со сдвоенными ядрами	3,1 (1,4:4,8); 62	3,3 (1,7:4,8); 65
Доля двуядерных клеток суммарно	8,0 (5,2:10,7); 159	7,6 (4,9:10,2); 151
Показатели деструкции ядра в процентах		
Доля клеток с перинуклеарной вакуолью	1,8 (1,1:2,5); 35,8	0,9 (0,6:1,2); 18,4*
Доля клеток с повреждением ядерной мембраны	0,6 (-0,4:1,6); 12,5	0,6 (0,1:1,1); 11,7
Доля клеток с началом кариолизиса	8,7 (6,5:10,9); 174,2	9,3 (5,7:12,8); 185,9
Доля клеток с конденсацией хроматина	7,2 (3,5:10,9); 144,2	9,0 (4,3:13,7); 180,1
Доля клеток с кариорексисом	1,8 (0,9:2,6); 35,3	0,7 (0,4:1,0); 13,8*
Доля клеток с кариопикнозом	1,0 (0,6:1,4); 19,6	1,2 (0,8:1,7); 24,5
Доля клеток с полным кариолизисом	1,3 (0,7:1,9); 26	3,0 (1,4:4,6); 60,6*
Апоптический индекс (поздние стадии апоптоза)	4,0 (2,8:5,2); 80,1	4,9 (2,8:7,0); 98,9
Полный апоптический индекс	20,0 (16,1:23,9); 399,3	23,2 (15,1:31,4); 464,9

Сравнение показателей с использованием *t*-критерия Стьюдента и критерия Манна-Уитни: *отличие показателей между группами по обоим критериям.

Таблица 3. Цитогенетические показатели, показатели пролиферации и деструкции ядра клеток в контрольной группе людей в начале и конце обследования

Показатели	Контрольная группа в начале исследования	Контрольная группа в конце исследования
	X ср. (95% ДИ); количество клеток	
Цитогенетические показатели в промилле		
Доля клеток с микроядрами	0,6 (0,2:0,9); 12	0,3 (0,03:0,6); 6
Доля клеток с протрузиями ядра	1,4 (0,6:2,2); 28	1,2 (0,6:1,7); 23
Доля клеток с микроядрами и протрузиями суммарно	2,0 (1,2:2,8); 40	1,5 (0,8:2,1); 29
Доля клеток с ядрами атипичной формы	0,9 (0,3:1,4); 17	0,5 (-0,1:1,1); 10
Показатели пролиферации в промилле		
Доля клеток с двумя ядрами	4,3 (3,2:5,3); 85	4,5 (2,8:6,2); 90
Доля клеток со сдвоенными ядрами	2,4 (1,2:3,6); 48	2,5 (1,6:3,4); 50
Доля двуядерных клеток суммарно	6,7 (4,9:8,4); 133	7 (4,9:9,1); 140
Показатели деструкции ядра в процентах		
Доля клеток с перинуклеарной вакуолью	1,4 (0,9:1,9); 28,4	1,1 (0,6:1,6); 21,9
Доля клеток с повреждением ядерной мембраны	0,2 (0,03:0,4); 4,1	0,3 (0,0:0,6); 5,7
Доля клеток с началом кариолизиса	9,4 (6,6:12,1); 187,3	8,5 (5,7:11,4); 170,9
Доля клеток с конденсацией хроматина	9,3 (4,4:14,1); 185,1	10,8 (5,3:16,3); 215
Доля клеток с кариорексисом	2,1 (1,1:3,1); 42,1	1,0 (0,3:1,7); 20,2*
Доля клеток с кариопикнозом	1,2 (0,8:1,6); 24,3	1,4 (0,8:2,0); 27,7
Доля клеток с полным кариолизисом	1,5 (0,9:2,2); 30,5	1,1 (0,5:1,7); 22,1
Апоптический индекс (поздние стадии апоптоза)	4,8 (3,5:6,2); 96,9	3,5 (2,2:4,8); 70
Полный апоптический индекс	23,5 (18,4:28,5); 469	22,8 (14,9:30,7); 456

Сравнение показателей с использованием *t*-критерия Стьюдента и критерия Манна-Уитни: *отличие показателей между группами по Манна-Уитни.

Таблица 4. Цитогенетические показатели, показатели пролиферации и деструкции ядра клеток в контрольной группе людей в начале и конце обследования

Показатели	Основная группа в конце исследования	Контрольная группа в конце исследования
	X ср. (95% ДИ); количество клеток	
Цитогенетические показатели в промилле		
Доля клеток с микроядрами	0,3 (–0,4;0,6); 6	0,3 (0,03;0,6); 6
Доля клеток с протрузиями ядра	1,2 (0,5;1,8); 23	1,2 (0,6;1,7); 23
Доля клеток с микроядрами и протрузиями суммарно	1,5 (0,7;2,2); 29	1,5 (0,8;2,1); 29
Доля клеток с ядрами атипичной формы	1,0 (0,2;1,8); 24	0,5 (–0,1;1,1); 10
Показатели пролиферации в промилле		
Доля клеток с двумя ядрами	4,3 (2,8;5,8); 86	4,5 (2,8;6,2); 90
Доля клеток со сдвоенными ядрами	3,3 (1,7;4,8); 65	2,5 (1,6;3,4); 50
Доля двоядерных клеток суммарно	7,6 (4,9;10,2); 151	7 (4,9;9,1); 140
Показатели деструкции ядра в процентах		
Доля клеток с перинуклеарной вакуолью	0,9 (0,6;1,2); 18,4	1,1 (0,6;1,6); 21,9
Доля клеток с повреждением ядерной мембраны	0,6 (0,1;1,1); 11,7	0,3 (0,0;0,6); 5,7
Доля клеток с началом кариолизиса	9,3 (5,7;12,8); 185,9	8,5 (5,7;11,4); 170,9
Доля клеток с конденсацией хроматина	9,0 (4,3;13,7); 180,1	10,8 (5,3;16,3); 215
Доля клеток с кариорексисом	0,7 (0,4;1,0); 13,8	1,0 (0,3;1,7); 20,2
Доля клеток с кариопикнозом	1,2 (0,8;1,7); 24,5	1,4 (0,8;2,0); 27,7
Доля клеток с полным кариолизисом	3,0 (1,4;4,6); 60,6*	1,1 (0,5;1,7); 22,1
Апоптотический индекс (поздние стадии апоптоза)	4,9 (2,8;7,0); 98,9	3,5 (2,2;4,8); 70
Полный апоптотический индекс	23,2 (15,1;31,4); 464,9	22,8 (14,9;30,7); 456

Сравнение показателей с использованием *t*-критерия Стьюдента и критерия Манна-Уитни: *отличие показателей между группами по обоим критериям.

люди, входящие в контрольную группу с учетом обоих сроков исследования, характеризуется низким уровнем цитогенетических нарушений.

Цитогенетические нарушения в большей степени представлены клетками с ядерными протрузиями, частота которых в этой группе в 2,3–4 раза больше, чем клеток с микроядрами, что соответствует ранее полученным нами и другими исследователями данным.

Отмечено улучшение цитогенетических показателей в конце исследования, однако отличия по средней частоте микроядер (0,6‰ в начале исследования и 0,3‰ через месяц); частоте клеток с протрузиями (1,4‰ и 1,2‰) и сумме цитогенетических нарушений (2,0‰ и 1,5‰) статистически не достоверны. Также не отличалась средняя частота клеток с ядрами атипичной формы, которая составила 0,9‰ в начале исследования и немного, но недостоверно снизилась до 0,5‰ в контрольной группе через месяц.

Показатели пролиферации. Доля клеток с изолированными (4,3‰ и 4,5‰) и сдвоенными ядрами (2,4‰ и 2,5‰) была приблизительно одинакова на обоих сроках исследования. Суммарная доля двоядерных клеток у доноров контрольной группы составила 6,7‰ и 7,0‰ в начале и конце исследования. Достоверных отличий по этим показателям не выявлено.

Показатели гибели клеток (деструкции клеточного ядра). У доноров контрольной группы исследовано девять показателей ранней и поздней стадий деструкции ядра. Статистически достоверные отличия определены только для показателя «кариорексис», который в два раза снизился на момент второго обследования. Это изменение можно рассматривать как благоприятное, определяющее основной путь деструкции ядра через кариопикноз и кариолизис.

Таким образом, в контрольной группе доноров отмечена тенденция к улучшению цитогенетического статуса ко второму сроку обследования, однако следует учесть, что наблюдаемые изменения статистически не достоверны.

3. Оценка влияния профилактических доз “Helvesana” на цитогенетический статус человека. Сравнение основной группы после приема препарата с контрольной группой при втором обследовании

Результаты сравнения основной группы людей после приема препарата “Helvesana” и контрольной группы людей на тот же срок обследования представлены в таблице 4.

Цитогенетические показатели. У доноров обеих групп количество клеток с микроядрами варьировало от 0 до 3, доля клеток с ядерными протрузиями и сумма клеток с цитогенетическими нарушениями – от 0 до 5 на 1000 анализированных клеток. В целом частота всех цитогенетических показателей оказалась низкой и одинаковой в основной и контрольной группе: доля клеток с микроядрами – 0,3‰; с протрузиями ядра – 1,2‰; сумма цитогенетических нарушений – 1,5‰.

Показатели пролиферации. Доля клеток с двумя изолированными ядрами (4,3‰ и 4,5‰), клеток со сдвоенными ядрами (3,3‰ и 2,5‰) и суммарная доля двоядерных клеток (7,6‰ и 7‰) также оказалась приблизительно одинаковой в основной и контрольной группе.

Показатели гибели клеток (деструкции клеточного ядра). Небольшое улучшение статуса буккального эпителия в основной группе по отношению к контрольной отмечено по показателям деструкции ядра за счет снижения доли клеток с кариорексисом и повышением доли клеток с полным кариолизисом (этот показатель отличается статистически достоверно). Соответственно

отмечено небольшое повышение апоптического индекса, учитывающего поздние стадии деструкции ядра (3,5% и 4,9%), и полного апоптического индекса, включающего также клетки с началом кариолизиса и конденсацией хроматина (22,8% и 23,2%).

Таким образом, при сравнении кариологических показателей буккального эпителия доноров основной группы после приема препарата "Helvesana" и контрольной группы на втором сроке обследования отмечена тенденция к нормализации состояния буккального эпителия по показателям деструкции ядра, однако не выявлены отличия по цитогенетическим показателям и показателям пролиферации.

При обобщении результатов исследования по каждому обследуемому индивидуально, очевидно, что в каждой группе есть участники, у которых отмечено ухудшение цитогенетического статуса, которое может быть связано со случайным воздействием каких-либо не определяемых на момент исследования факторов. В то же время в основной группе отмечена более благоприятная ситуация: явное улучшение отмечено у 7 человек, небольшое улучшение – у 8, ухудшение – только у 5 человек. В контрольной группе улучшение также отмечено у 7 человек, у 5 человек статус не изменился, ухудшение отмечено у 8 индивидов, попадающих в группу риска.

Таким образом, при сравнении индивидуальных данных установлено, что прием препарата «Helvesana», улучшил цитогенетический статус большей части индивидов в основной группе (15 из 20), ухудшение статуса выявлено только у пяти человек, тогда как в контрольной группе улучшение отмечено у 7 человек из 20, ухудшение – у 8 человек.

В качестве одного из механизмов индукции мутаций в клетках организма рассматривается внутриклеточное образование свободных радикалов под воздействием химических, физических или биологических факторов. Анализ данных литературы показывает, что работ по реальному применению антимуагенов для защиты генома от мутагенных воздействий немного. Подобные исследования проводятся на культурах лимфоцитов человека. Так, для защиты от свободных радикалов рекомендуется использовать антиоксиданты, в частности, витамины С и А [5], показано, в случае употребления высоких доз (1 г/сут) аскорбиновой кислоты, уменьшается количество поврежденных клеток.

Для оценки хромосомных повреждений в качестве альтернативы все чаще применяют неинвазивный (без

взятия крови) микроядерный метод на эпителиальных клетках слизистой щеки. Эпителиальная ткань представляет особый интерес, поскольку является барьерной на пути воздействия факторов окружающей среды (воздуха, воды, пищи). С 2007 года работает Международный проект HUMNXL по применению микроядерного теста на эксфолиативных клетках. Эти проекты позволили решить многие вопросы оценки цитогенетического статуса человека, в частности, стандартизации протоколов, подготовки препаратов к исследованию, критериев выявления микроядер, влияния сопутствующих факторов [26, 27].

В рамках новой парадигмы профилактики заболеваний [32], основанной на персонифицированном предотвращении повреждений ДНК, на повестке дня стоит вопрос о внедрении микроядерного теста для оценки эффективности и безопасности применения природных и синтетических антимуагенов [20,25].

Выводы

1. При сравнении кариологических показателей буккального эпителия доноров до и после приема препарата "Helvesana" отмечена тенденция к снижению частоты клеток с цитогенетическими нарушениями, показателей пролиферации и нормализация состояния буккального эпителия по показателям деструкции ядра. Статистически достоверные отличия выявлены по доле клеток с перинуклеарной вакуолью, кариорексису и полному кариолизису. Для большей части участников обследования после приема препарата "Helvesana" отмечено улучшение цитогенетического статуса, причем, для 7 человек – значительное улучшение.
2. В контрольной группе доноров при сравнении средних значений показателей отмечена тенденция к улучшению цитогенетического статуса ко второму сроку обследования, однако наблюдаемые изменения статистически не достоверны.
3. При сравнении индивидуальных данных установлено, что прием препарата «Helvesana», улучшил цитогенетический статус большей части индивидов в основной группе (15 из 20), ухудшение статуса выявлено только у пяти человек, тогда как в контрольной группе улучшение отмечено у 7 человек из 20, ухудшение – у 8 человек.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Бочков Н.П., Катосова Л.Д. Генетический мониторинг популяций человека при реальных химических и радиационных нагрузках // Вестник РАМН.- 1992.- №4.- С.10–14.
2. Дружинин В.Г. Хромосомные нарушения у населения крупного промышленного региона: пространственно-временной цитогенетический мониторинг // Автореф. дисс. д.б.н. – М.-2003. – 44 с.
3. Дурнев А.Д. Генетическая токсикология // Вестник РАМН.-2011.-№9.-С.35–43.
4. Дурнев А.Д. Методологические аспекты исследований по модификации химического мутагенеза // Бюлл. экспериментальной биологии и медицины. -2008.-Т.146.-№9.- С.281–287.
5. Дурнев А.Д. Модификация мутагенного процесса в клетках человека // Вестник РАМН.-2001.-№10.-С.70–76.
6. Дурнев А.Д., Серединин С.Б. Мутагены: скрининг и фармакологическая профилактика воздействия. М.-1998.- 160 с.
7. Зайцева И.П. Влияние обогащения рационов питания витамино-минеральным комплексом в сочетании с адаптогенами на обеспеченность железом, медью и марганцем и иммунную реактивность у студентов-спортсменов//Вестник восстановительной медицины. – 2013.- №6(58). – С.80–83.
8. Мазо В.К., Коденцова В.М., Вржесинская О.А., Пенева В.В. Микронутриенты-антиоксиданты в составе обогащенных и функциональных пищевых продуктов//Вестник восстановительной медицины. – 2013.- №2(54). – С. 55–58.
9. Аксенова В.И., Шарипова М.М., Извольская М.С., Воронова С.Н., Василенко А.М. Влияние фитопрепаратов на гуморальный иммунный ответ// Вестник восстановительной медицины. – 2012.- №6(52). – С. 19–21.
10. Герцик Ю.Г., Буравкова Л.Б. О необходимости анализа иммунологических и генетических факторов, влияющих на эффективность медицинской реабилитации//Вестник восстановительной медицины. – 2014.- №2(60). – С. 17–20.

11. Колесов С.А., Блинова Т.В., Рахманов Р.С., Страхова Л.А., Умнягина И.А., Хайров Р.Ш. Особенности витаминно-минеральной насыщенности организма хоккеистов высшей квалификации в соревновательный период их спортивной деятельности//Спортивная медицина: наука и практика. – 2018.- Т8,№18. – С.59–64.
12. Воронков А.В., Поздняков Д.И., Руковицина В.М., Оганесян Э.Т. Некоторые аспекты безопасности и фармакологической эффективности (влияние на мышечную дисфункцию) новых производных хромон-3-альдегида // Спортивная медицина: наука и практика. – 2018. – Т8,№3. – С.65–71.
13. Балыкова Л.А., Ивьянский С.А., Пиксайкина О.А., Ефимова Ю.А. Обоснование использования L-карнитина в спортивной медицине//Спортивная медицина: наука и практика. – 2011.-№1. – С.26–34.
14. Методические рекомендации «Оценка цитологического и цитогенетического статуса слизистых оболочек полости носа и рта у человека» (Беляева Н.Н., Сычева Л.П., Журков В.С. и др.). 2005.- М.- 37 с.
15. Оценка цитологического и цитогенетического статуса слизистых оболочек полости носа и рта у человека. Методические рекомендации. Утверждены Председателем НС РАМН и МЗ и СР России по экологии человека и гигиене окружающей среды. М., 2005
16. Полиорганный микроядерный тест в эколого-гигиенических исследованиях. (Под редакцией академика РАМН Ю.А.Рахманина и д.б.н. Л.П.Сычевой). // М.: Гениус, 2007. –312 с.
17. «Способ неинвазивной диагностики цитогенетического и цитотоксического действия факторов окружающей среды на организм человека». Изобретение №2292027, зарегистрировано в Государственном реестре изобретений РФ 20 января 2007 по заявке №2005108225.
18. Сычева Л.П. Биологическое значение, критерии определения и пределы варьирования полного спектра кариологических показателей при оценке цитогенетического статуса человека.// Медицинская генетика.-2007.-№11.-С.3–11.
19. Юрченко В.В., Подольная М.А., Ингель Ф.И. и др. Микроядерный метод на клетках буккального эпителия.//В кн. Полиорганный микроядерный тест в эколого-гигиенических исследованиях. Под ред. Ю.А. Рахманина и Л.П. Сычевой. – М. Гениус.- 2007.- С.220–268.
20. Юрченко В.В., Сычева Л.П., Ревазова Ю.А., Ревич Б.А., Журков В.С. Анализ частоты микроядер и ядерных аномалий в эпителиальных клетках слизистой щęki у женщин, контактирующих с диоксинами. // Токсикологический вестник.-2000.- №3 – С.2–6.
21. Aardema M.J., Albertini S., Arni P. et al. Aneuploidy: a report of an ECETOC task force.// Mutat Res.- 1998.-V.410, N1.-P.3–79.
22. Andreassi M.G., Barale R., Iozzo P., Picanj E. The association of micronucleus frequency with obesity, diabetes and cardiovascular disease. // Mutagenesis.-2011.-V.26, N1.-P.77–83.
23. Bonassi S., El-Zein R., Bolognesi C., M.Fenech. Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes and cancer risk: evidence from human studies.// Mutagenesis.-V.26,N1/-P.93–100.
24. Bonassi S., L. Hagmar, U. Stromberg, A.H. Montagud, H. Tinnerberg, A. Forni, P.Heikkila, S. Wanders, P. Wilhardt, I.L. Hansteen, L.E. Knudsen, H. Norppa. Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer independently of exposure to carcinogens. European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health.// Cancer Res.- 2000.-V.60.- P.1619–1625.
25. Fenech M. The Genome Health Clinic and Genome Health Nutrigenomics concepts: diagnosis and nutritional treatment of genome and epigenome damage on an individual basis.// Mutagenesis.-2005-V.20, N4.-P.255–269.
26. Fenech M., Holland N., Zeiger E. et al. The HUMN and HUMNXL international collaboration projects on human micronucleus assays in lymphocytes and buccal cells – past, present and future.//Mutagenesis.-2011.-V.26, N1.-P.239–245.
27. Holland N., Bolognesi C., Kirsch-Volders M. et al. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: The HUMN project perspective on current status and knowledge gaps.//Mutation Res.-2008.-V.659.-N1–2.-P.93–108.
28. Lal A., Ames B. Association of chromosome damage detected as micronuclei with hematological diseases and micronutrient status.//Mutagenesis.-V.26, N1.-P.
29. Migliore L., Coppede F., Fenech M, Thomas P. Association of micronucleus frequency with neurodegenerative diseases. //Mutagenesis.-V.26., N1.- P.85–92.
30. Thomas P., Holland N., Bolognesi C., Kirsch-Volders M., Bonassi S., Zeiger E., Knasmueller S., Fenech M. Buccal micronucleus cytome assay// Nat. Protoc. 2009.- V.4.-P.825–837.
31. Tolbert P.E., Shy C.M., Allen J.W. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. //Mutat Res.- 1992.-V.271, N1.-P.69–77.
32. Труханов А.И., Скакун С.Г., Гречко А.В. Современная роль персонализированной цифровой медицины в развитии медицинской реабилитации//Вестник восстановительной медицины. – 2018.- №1(83). – С.2–13.

REFERENCES:

1. Bochkov N.P., Katosova L.D. Geneticheskij monitoring populjacij cheloveka pri real'nyh himicheskij i radiacionnyh nagruzkah.//Vestnik RAMN.- 1992.- №4.- S.10–14.
2. Druzhinin V.G. Hromosomnye narushenija u naselenija krupnogo promyshlennogo regiona: prostranstvenno-vremennoj citogeneticheskij monitoring. //Avtoref.diss. d.b.n. – М.-2003. – 44 s.
3. Durnev A.D. Geneticheskaja toksikologija.// Vestnik RAMN.-2011.-№9.-S.35–43.
4. Durnev A.D. Metodologicheskie aspekty issledovanij po modifikacii himicheskogo mutageneza.//Bjull. jeksperimental'noj biologii i mediciny.-2008.- T.146.-№9.- S.281–287.
5. Durnev A.D. Modifikacija mutagenogo processa v kletkah cheloveka. //Vestnik RAMN.-2001.-№10.-S.70–76.
6. Durnev A.D., Seredinin S.B. Mutageny: skringing i farmakologicheskaja profilaktika vozdejstvija. М.-1998.- 160 s.
7. Zajceva I.P. Vlijanie obogashhenija racionov pitanija vitamino-mineral'nyh kompleksom v sochetanii s adaptogenami na obespechennost' zhel-ezom, med'ju i margancem i immunnuju reaktivnost' u studentov-sportsmenov//Vestnik vosstanovitel'noj mediciny. – 2013.- №6(58). – S.80–83.
8. Mazo V.K., Kodencova V.M., Vrzhesinskaja O.A., Peneva V.V. Mikronutrienty-antioksidanty v sostave obogashhenij i funkcional'nyh pishhevij produktov//Vestnik vosstanovitel'noj mediciny. – 2013.- №2(54). – S. 55–58.
9. Aksenova V.I., Sharipova M.M., Izvol'skaja M.S., Voronova S.N., Vasilenko A.M. Vlijanie fitopreparatov na gumoral'nyj immunnij otvet//Vestnik vosstanovitel'noj mediciny. – 2012.- №6(52). – S. 19–21.
10. Gercik Ju.G., Buravkova L.B. O neobходимosti analiza immunologicheskij i geneticheskij faktorov, vlijajushhij na jeffektivnost' medicinskoj rehabilitacii//Vestnik vosstanovitel'noj mediciny. – 2014.- №2(60). – S. 17–20.
11. Kolesov S.A., Blinova T.V., Rahmanov R.S., Strahova L.A., Umnjagina I.A., Hajrov R.Sh. Osobennosti vitaminno-mineral'noj nasyshhennosti organizma hokeistov vysshej kvalifikacii v sorevnovatel'nyj period ih sportivnoj dejatel'nosti//Sportivnaja medicina: nauka i praktika. – 2018.- Т8,№18. – S.59–64.
12. Voronkov A.V., Pozdnjakov D.I., Rukovicina V.M., Oganessian Je.T. Nekotorye aspekty bezopasnosti i farmakologicheskij jeffektivnosti (vlijanie na myshechnuju disfunkciju) novyh proizvodnyh hromon-3-al'degida//Sportivnaja medicina: nauka i praktika. – 2018. – Т8,№3. – S.65–71.
13. Balykova L.A., Ivjanskij S.A., Piksajkina O.A., Efimova Ju.A. Obosnovanie ispol'zovanija L-karnitina v sportivnoj medicine//Sportivnaja medicina: nauka i praktika. – 2011.-№1. – S.26–34.
14. Metodicheskie rekomendacii «Ocenka citologicheskogo i citogeneticheskogo statusa slizistyh obolochek polosti nosa i rta u cheloveka» (Beljaeva N.N., Sycheva L.P., Zhurkov V.S. i dr.). 2005.- М.- 37 с.
15. Ocenka citologicheskogo i citogeneticheskogo statusa slizistyh obolochek polosti nosa i rta u cheloveka. Metodicheskie rekomendacii. Utverzhdeny Predsedatelem NS RAMN i MZ i SR Rossii po jekologii cheloveka i gigiene okruzhajushhej sredy. М., 2005
16. Poliorgannyj mikrojadernyj test v jekologo-gigienicheskij issledovanijah. (Pod redakciej akademika RAMN Ju.A.Rahmanina i d.b.n. L.P.Sychevoj). // М.: Genius, 2007. –312 s.

17. «Sposob neinvazivnoj diagnostiki citogeneticheskogo i citotoksicheskogo dejstviya faktorov okruzhajushhej sredy na organizm cheloveka». Izobretenie №2292027, zaregistrirovano v Gosudarstvennom reestre izobretenij RF 20 janvarja 2007 po zajavke №2005108225.
18. Sycheva L.P. Biologicheskoe znachenie, kriterii opredelenija i predely var'irovanija polnogo spektra kariologicheskikh pokazatelej pri ocenke citogeneticheskogo statusa cheloveka. // Medicinskaja genetika.-2007.-№11.-S.3–11.
19. Jurchenko V.V., Podol'naja M.A., Ingel' F.I. i dr. Mikrojadernyj metod na kletkah bukkal'nogo jepitelija. // V kn. Poliorgannij mikrojadernyj test v jekologigigienicheskikh issledovanijah. Pod red. Ju.A. Rahmanina i L.P. Sychevoj. – M. Genius.- 2007.- S.220–268.
20. Jurchenko V.V., Sycheva L.P., Revazova Ju.A., Revich B.A., Zhurkov V.S. Analiz chastoty mikrojadernykh i jadernykh anomalij v jepitelial'nykh kletkah slizistoj shheki u zhenshhin, kontaktirujushhijh s dioksinami. // Toksikologicheskij vestnik.-2000.- №3 – С.2–6.
21. Aardema M.J., Albertini S., Arni P. et al. Aneuploidy: a report of an ECETOC task force. // Mutat Res.- 1998.-V.410, N1.-P.3–79.
22. Andreassi M.G., Barale R., Iozzo P., Picanj E. The association of micronucleus frequency with obesity, diabetes and cardiovascular disease. // Mutagenesis.-2011.-V.26, N1.-P.77–83.
23. Bonassi S., El-Zein R., Bolognesi C., M.Fenech. Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes and cancer risk: evidence from human studies. // Mutagenesis.-V.26, N1/-P.93–100.
24. Bonassi S., L. Hagmar, U. Stromberg, A.H. Montagud, H. Tinnerberg, A. Forni, P.Heikkila, S. Wanders, P. Wilhardt, I.L. Hansteen, L.E. Knudsen, H. Norppa. Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer independently of exposure to carcinogens. European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health. // Cancer Res.- 2000.-V.60.- P.1619–1625.
25. Fenech M. The Genome Health Clinic and Genome Health Nutrigenomics concepts: diagnosis and nutritional treatment of genome and epigenome damage on an individual basis. // Mutagenesis.-2005.-V.20, N4.-P.255–269.
26. Fenech M., Holland N., Zeiger E. et al. The HUMN and HUMNXL international collaboration projects on human micronucleus assays in lymphocytes and buccal cells – past, present and future. // Mutagenesis.-2011.-V.26, N1.-P.239–245.
27. Holland N., Bolognesi C., Kirsch-Volders M. et al. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: The HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. // Mutation Res.-2008.-V.659.-N1–2.-P.93–108.
28. Lal A., Ames B. Association of chromosome damage detected as micronuclei with hematological diseases and micronutrient status. // Mutagenesis.-V.26, N1.-P.
29. Migliore L., Coppede F., Fenech M., Thomas P. Association of micronucleus frequency with neurodegenerative diseases. // Mutagenesis.-V.26, N1.-P.85–92.
30. Thomas P., Holland N., Bolognesi C., Kirsch-Volders M., Bonassi S., Zeiger E., Knasmueller S., Fenech M. Buccal micronucleus cytome assay // Nat. Protoc. 2009.- V.4.-P.825–837.
31. Tolbert P.E., Shy C.M., Allen J.W. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. // Mutat Res.- 1992.-V.271, N1.-P.69–77.
32. Truhanov A.I., Skakun S.G., Grechko A.V. Sovremennaja rol' personificirovannoj cifrovoj mediciny v razvitii medicinskoj rehabilitacii // Vestnik vosstanovitel'noj mediciny. – 2018.- №1(83). – S.2–13.

РЕЗЮМЕ

Механизм действия многих мутагенов является прооксидантным, в качестве антимутагенов стали изучать витамины, обладающие антиоксидантным действием, например, витамины А и С. Основным методом оценки цитогенетического статуса человека является анализ частоты хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови. Однако, в качестве альтернативы для оценки хромосомных повреждений все чаще применяют неинвазивный (без взятия крови) микроядерный метод на эпителиальных клетках слизистой щеки. В данной работе проведено изучение влияния приема рекомендуемых профилактических доз препарата “Helvesana”, обладающего антиоксидантными и адаптогенными свойствами, на здоровье человека по показателям цитогенетического статуса и клеточной кинетики соматических клеток (буккальных эпителиоцитах). В качестве одного из механизмов индукции мутаций в клетках организма рассматривается внутриклеточное образование свободных радикалов под воздействием химических, физических или биологических факторов. Исследование проведено с использованием инновационного неинвазивного полиоргано-кариологического теста ПКТ, позволяющего учитывать широкий спектр цитогенетических показателей, показателей пролиферации и деструкции ядра клеток. При сравнении кариологических показателей буккального эпителия доноров до и после приема препарата “Helvesana” отмечена тенденция к снижению частоты клеток с цитогенетическими нарушениями, показателей пролиферации и нормализация состояния буккального эпителия по показателям деструкции ядра. Статистически достоверные отличия выявлены по доле клеток с перинуклеарной вакуолью, кариорексису и полному кариолизису. Для большей части участников обследования после приема препарата “Helvesana” отмечено улучшение цитогенетического статуса. В рамках новой парадигмы профилактики заболеваний, основанной на персонализированном предотвращении повреждений ДНК, на повестке дня стоит вопрос о внедрении микроядерного теста для оценки эффективности и безопасности применения природных и синтетических антимутагенов.

Ключевые слова: Мутагены, витамины, хромосомные aberrации, антиоксиданты, адаптогены, цитогенетический статус, буккальные эпителиоциты, кариологический тест, перинуклеарная вакуоль, кариорексис, кариолизис, свободные радикалы, микроядерный тест, генетический статус.

ABSTRACT

The mechanism of action is many mutagens prooxidant as antimutagens began studying vitamins having an antioxidant action, such as vitamins A and C. The basic method of evaluation of the status of a human cytogenetic analysis of chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes. However, as an alternative to assess chromosomal damage are increasingly using non-invasive (no blood sampling) micronucleus method in the epithelial cells of the buccal mucosa. In this work to study the influence reception recommended preventive doses “Helvesana”, having antioxidant and adaptogenic properties Ratios cytogenetic status and cell kinetics of somatic cells on human health (buccal epithelial cells). As one of the mechanisms for the induction of mutations in cells treated organism intracellular free radical formation under the influence of chemical, physical or biological factors. The study was conducted using an innovative non-invasive test multiple organ

kariologichnskogo FCT, allowing to take into account a wide range of cytogenetic indices, indices of proliferation and destruction of cell nuclei. When comparing figures karyological buccal donor before and after drug administration "Helvesana" the tendency to reduce the frequency with cytogenetic impaired cell proliferation and indices normalization condition buccal Ratios nucleus degradation. Statistically significant differences were revealed for the proportion of cells with a perinuclear vacuole, and karyorrhexis karyolysis complete. For most of the participants in the survey after ingestion "Helvesana" marked improvement of cytogenetic status. The new disease prevention paradigm based on the personalized prevention of DNA damage, on the agenda is the question of the implementation of micronucleus test to assess the efficacy and safety of natural and synthetic antimutagens.

Keywords: Mutagens, vitamins, chromosomal aberration, antioxidants, adaptogens cytogenetic status, buccal epithelial cells, karyological test perinuclear vacuole, karyorrhexis, karyolysis, free radicals, micronucleus test, the genetic status.

Контакты:

Бурбина Анастасия Владимировна. E-mail: medpower@yandex.ru