

Северо-Осетинский Государственный
Университет им. К.Л.Хетагурова
Биолого-Технологический факультет
Кафедра зоологии

Генетическая оценка безопасности лекарственного препарата цефтриаксона на фоне кадмия и его коррекция БАВ цикория



Докладчик:

студентка 4 курса

Датиева И.А.

Научный руководитель:

д.б.н. Чопикашвили Лидия

Васильевна

Владикавказ

2014

Актуальность проблемы

В настоящее время среда обитания человека переполнена генотоксикантами, с которыми человек сталкивается на вредном производстве (тяжелые металлы) и в медицине (лекарственные препараты).



Отечественными и зарубежными исследователями было доказано присутствие мутагенной активности у большинства широко распространенных медикаментов и последствия применения их непредсказуемы. Употребление таких препаратов, скорее всего способно привести к увеличению мутационного груза в человеческой популяции, частоте спонтанных выкидышей и прочим неблагоприятным вредоносным эффектам.



Тяжелые металлы оказывают не менее мощное мутагенное влияние на человеческий организм. Особенно следует выделить **кадмий** – один из самых ядовитых тяжелых металлов. Кадмий, поступая в организм в больших дозах провоцирует всевозможные токсические явления. По нормам СанПин он относится к высочайшему классу опасности, накапливается в организме, особенно в быстро делящихся половых или раковых клетках, воздействует на геном человека, вызывая мутации.

48



Cd

КАДМИЙ

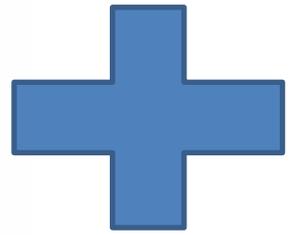
112,41



Злободневную проблему причины загрязнения кадмием окружающей среды нашей республики создают заводы цветной металлургии, в частности ОАО “Электроцинк”. В течение многих лет жители Северной Осетии страдают от воздействий пагубных выбросов, которые осуществляются заводом.

Неблагоприятная экологическая ситуация в городе содействует высокому скачку заболеваемости населения, как взрослого, так и детского. Особо важно отметить возрастающие патологии репродуктивной функции женщин, что проявилось увеличением различных опасных последствий при беременности и родах. Об этом свидетельствуют признаки, проявившиеся в росте показателей гибели плода, высокой частоте врожденных уродств и онкологических заболеваний.

В итоге, комплексное воздействие лекарств и металлов представляет существенную и неконтролируемую опасность для наследственности человека. Большое значение имеет тот факт, что лекарства и металлы при отдельном и при комбинированном воздействии по-разному могут проявлять генетическую активность.



В чем особенность нашей работы?

Изучение комплексного воздействия лекарств и металлов мы приводим потому, что металлы, как загрязнители окружающей среды повсюду сопровождают человека, вызывая модификацию экспрессии генов. Выявление причинной связи индуцированных мутаций с возникновением злокачественных новообразований, врожденных пороков развития, наследственных и многих других заболеваний обосновали необходимость изучения мутагенеза и поиска способов защиты человека от мутагенных воздействий.

Мы изучали цитогенетическую активность лекарства цефтриаксона на фоне воздействия Cd (кадмий) как широко распространённого экополлютанта окружающей среды, который сопровождает человека.

Суть наших исследований состоит в том, чтобы изучить, какие взаимоотношения в эукариотическом организме складываются между ДНК, лекарством и кадмием как загрязнителем окружающей среды.

В современной литературе не раз рассматривался вопрос о поиске и изучении антимуtagens. Их использование снизит риски развития онкологий, врожденных уродств, наследственных заболеваний, которые обусловлены мутациями. Такими антимутгенными средствами могут стать биологически активные добавки из лекарственных растений.



Лекарственные растения на сегодняшний день представляют немалый интерес, так как биологически активные вещества, содержащиеся в лекарственных растениях обладают низкой токсичностью, практически не вызывают аллергических реакций и побочных эффектов. Некоторые биологически активные вещества обладают свойством замедлять рост и развитие злокачественных опухолей, а ряд БАВ-ов и вовсе способны целиком и полностью подавить опухоли.. **Именно поэтому нашей актуальной задачей на сегодняшний день является поиск средств из растений, которые были бы способны оказывать защитное профилактическое корректирующее воздействие на генетические структуры человека от вредоносных генотоксикантов.**

Цели

Цели нашей работы -
изучение генетического
эффекта
лекарственного
препарата
«Цефтриаксон» на
фоне йодида кадмия в
тест-системе *Dr.*
Melanogaster и
осуществление поиска
путей его коррекции с
помощью БАВ цикория
обыкновенного.



Задачи

Провести сравнительный анализ генетической активности:

- цефтриаксона
- кадмия
- БАВ цикория

В отдельности и в комплексах:

- цефтриаксон +цикорий
- цефтриаксон+кадмий
- цефтриаксон+кадмий+цикорий



Научная новизна

Научная новизна нашей работы заключается в том, что впервые в результате наших исследований будет изучена генетическая активность лекарственного препарата «Цефтриаксона» на фоне экополлютанта окружающей среды кадмия и возможные пути их коррекции с помощью БАВ цикория.



Практическая значимость:

Практическая значимость данного исследования заключается в том, что полученные данные могут служить для широкого применения БАВ «цикория обыкновенного» как антимутагена для сохранения генетического здоровья населения в нынешних неблагоприятных экологических условиях.



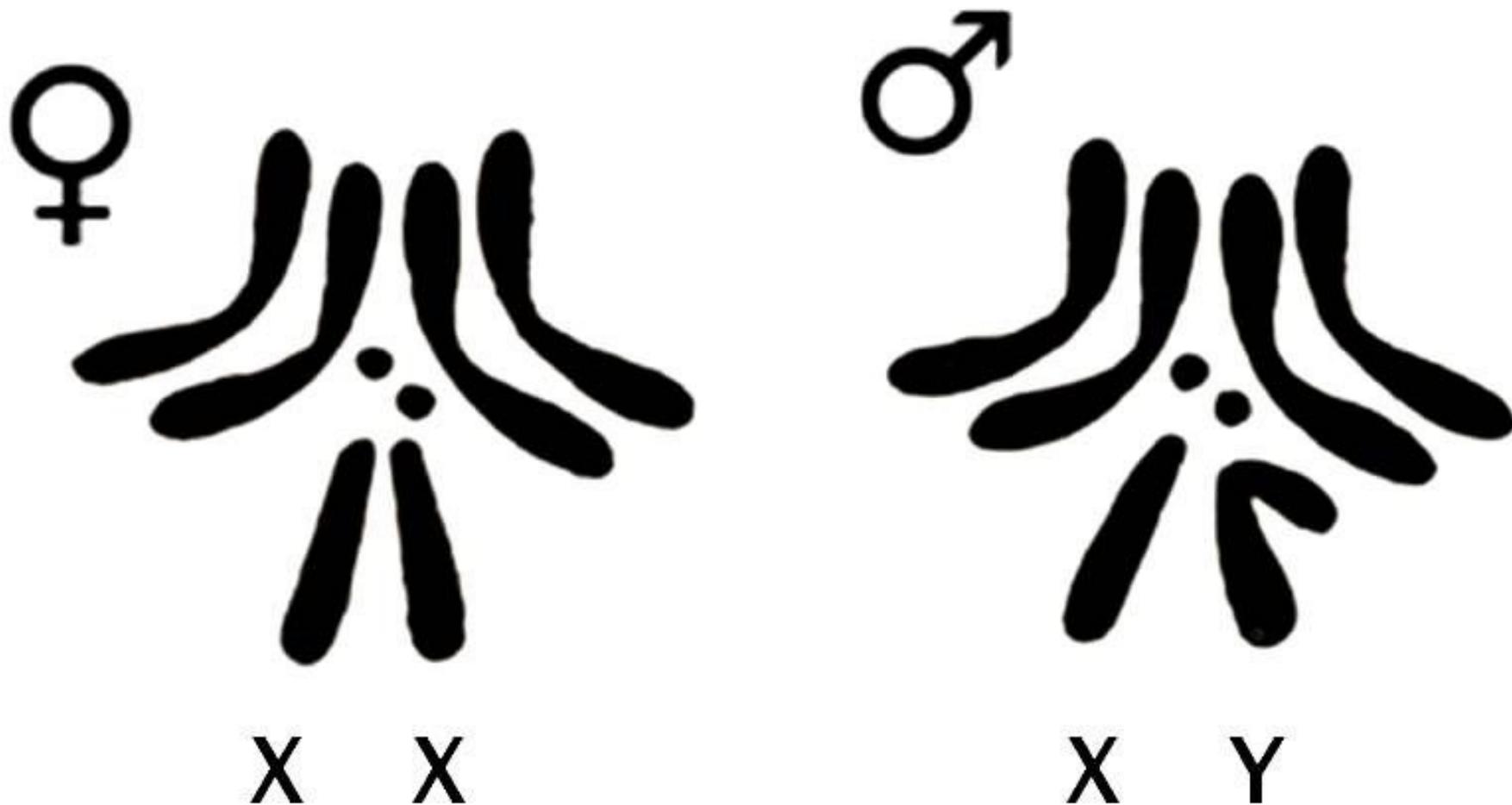
Материалы и методы исследования



В качестве модели исследования для определения эффективности действующего препарата была использована дикая линия *Dr. Melanogaster*

Мушки дрозофилы – весьма подходящий объект генетических опытов потому-что имеют маленький период становления от яйца до взрослой особи, обладает высокой плодовитостью, малым количеством хромосом

Хромосомные наборы самки и самца плодовой мушки (*Drosophila melanogaster*).



Геном дрозофилы меланогастер содержит 4 пары хромосом: X/Y пара и три аутосомы, маркируемых как 2, 3 и 4. Кариотип: 8 хромосом ($2n$)



♀

茶

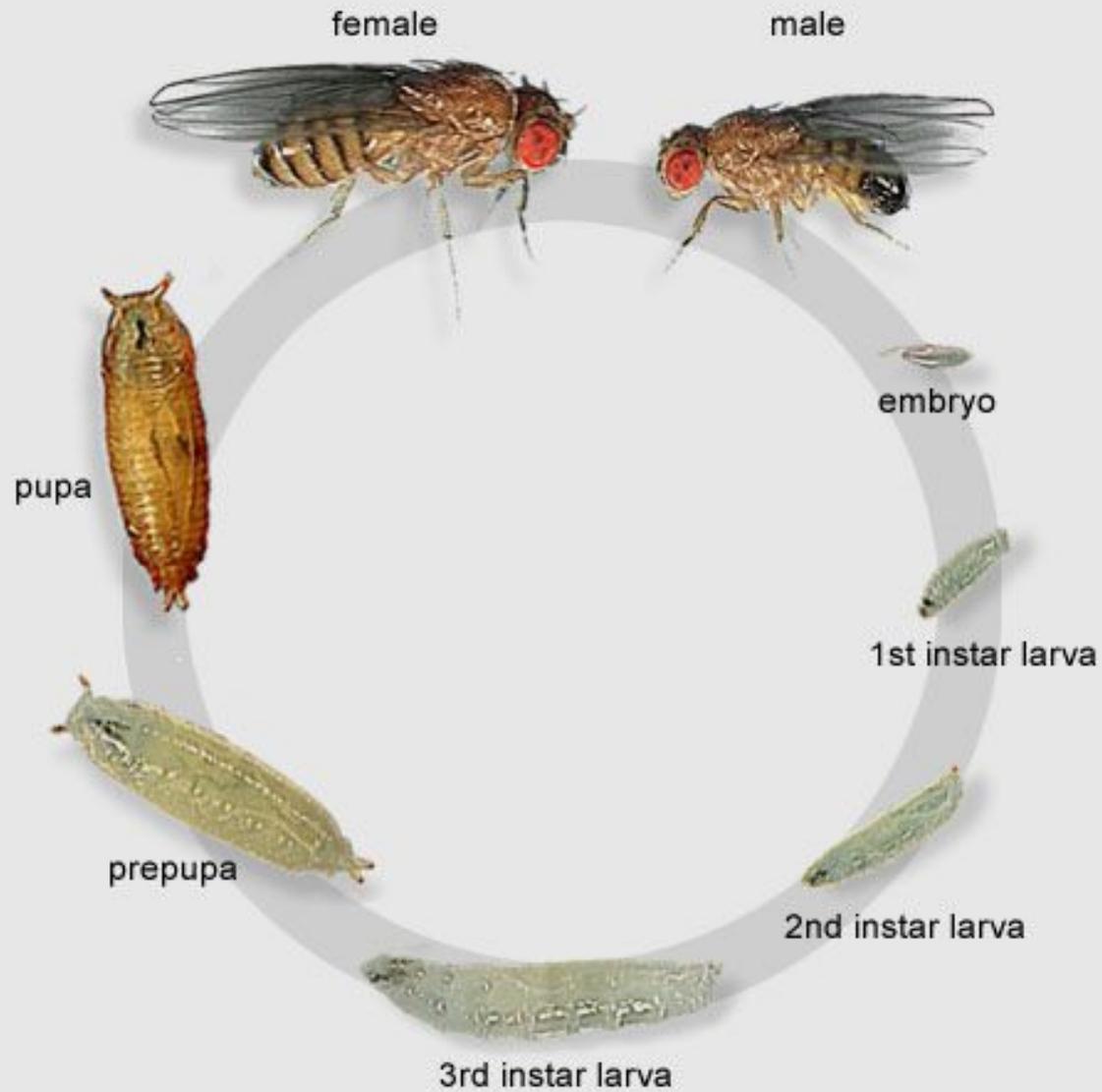


♂

茶

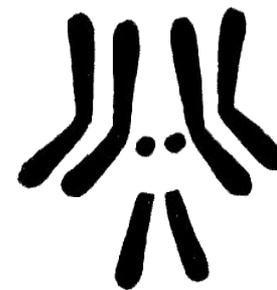
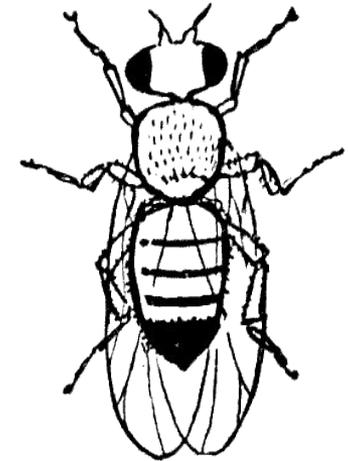
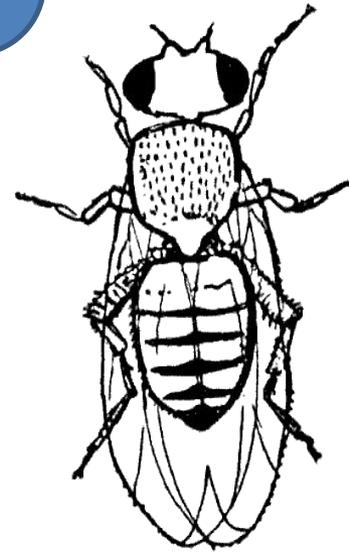


The life cycle of *Drosophila melanogaster*

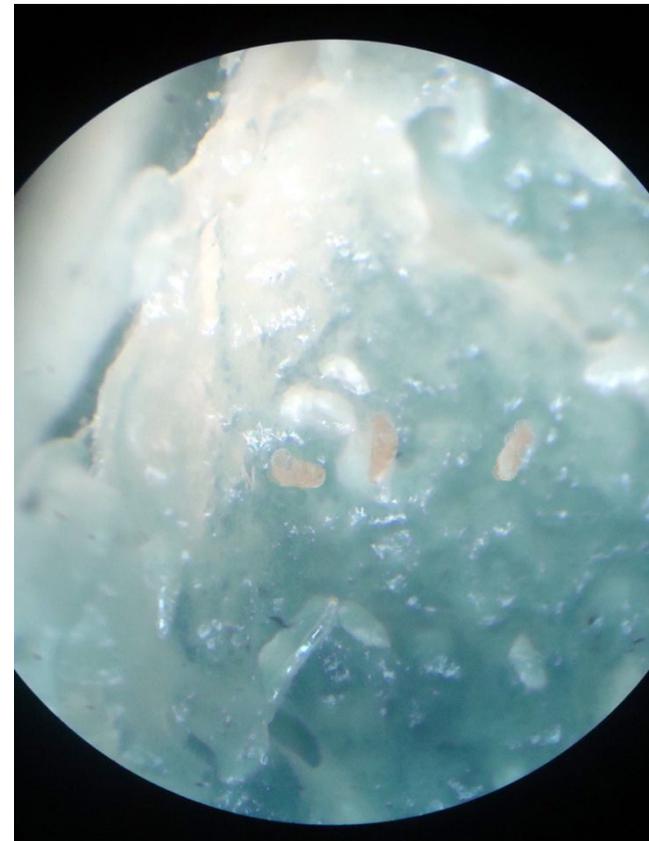
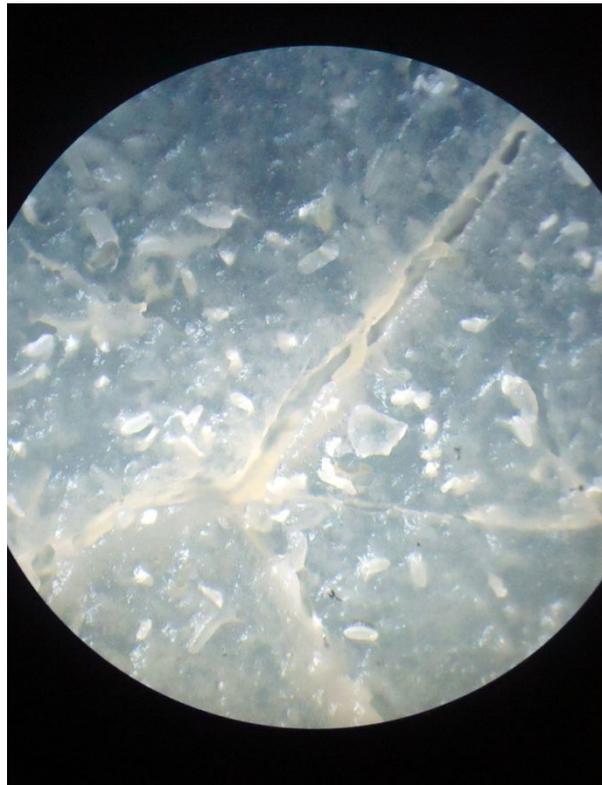
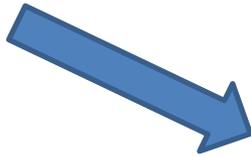


Материалы и методы исследования..

Для поставленных целей использовали методику учёта доминантных леталей (ДЛМ), которая позволяет изучить влияние исследуемых веществ на половые клетки, плодовитость, отследить возникающие летальные мутации у *Dr.melanogaster* под действием ксенобиотиков окружающей среды. Для оценки параметра плодовитости определяли общее количество нормальных и неразвившихся яиц. Неразвившиеся яйца принято называть доминантными летальными мутациями (ДЛМ)



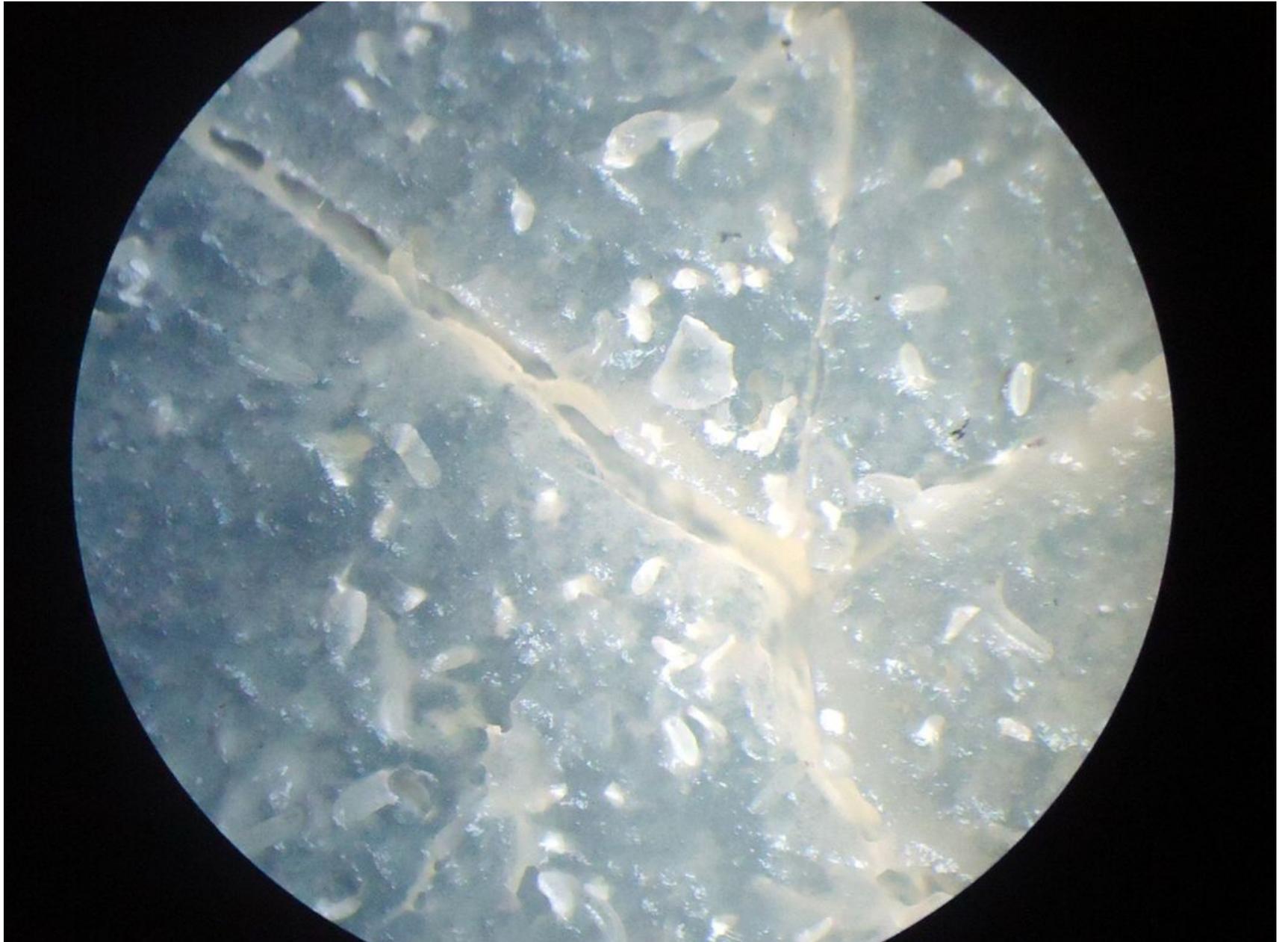
жёлтые яйца – ранние ДЛМ, учтённые в первые 12 -24 часа, и поздние доминантны (ПДЛ) – коричневые яйца через 24-48 часов.



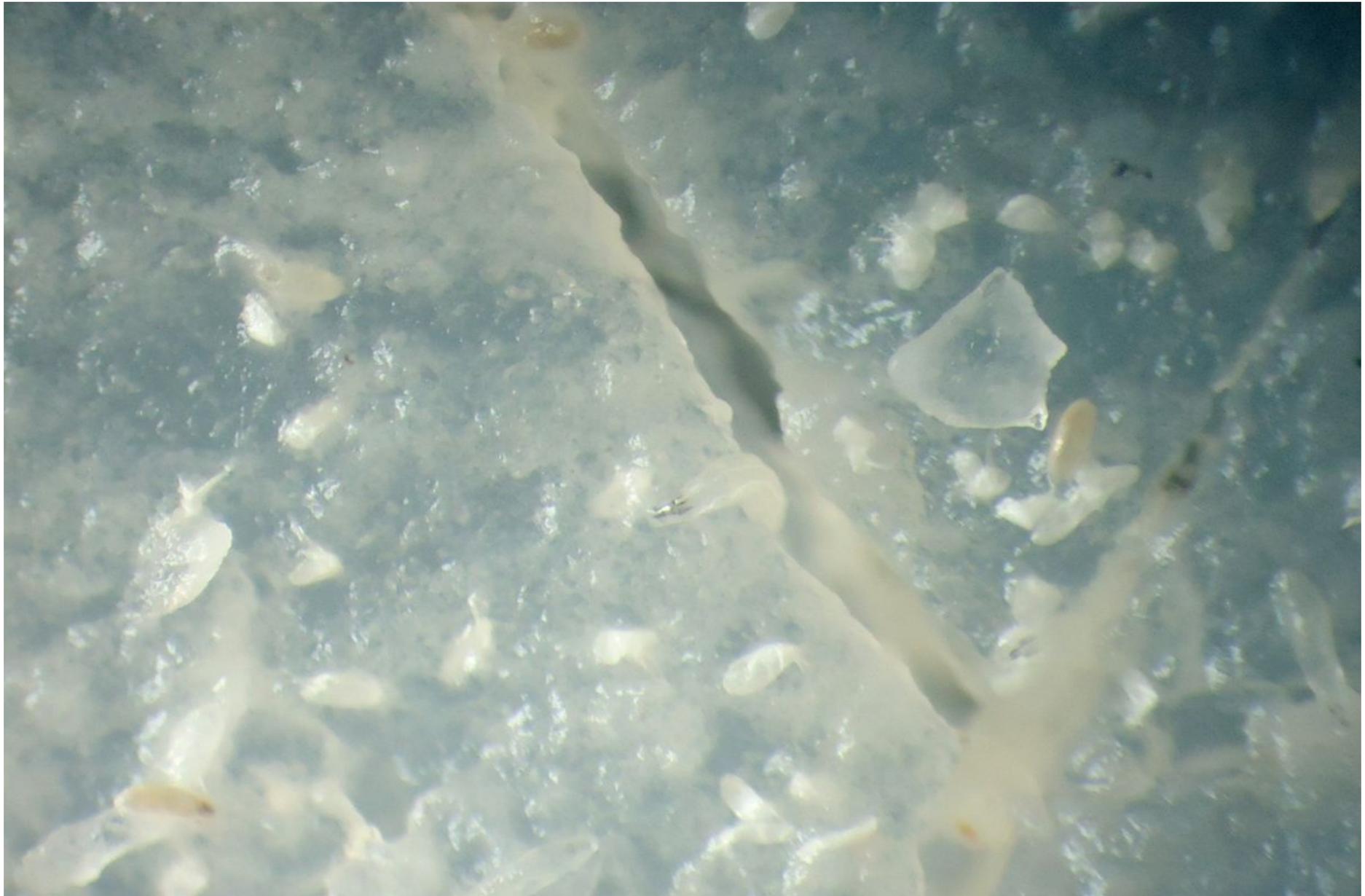
Жёлтые яйца – эмбрионы, погибшие в первые часы развития (гастроляция).
Коричневые – летальные эмбрионы, представляющие собой результат повреждений, ведущие к поздней смерти эмбрионов, как правило, это хромосомные нарушения



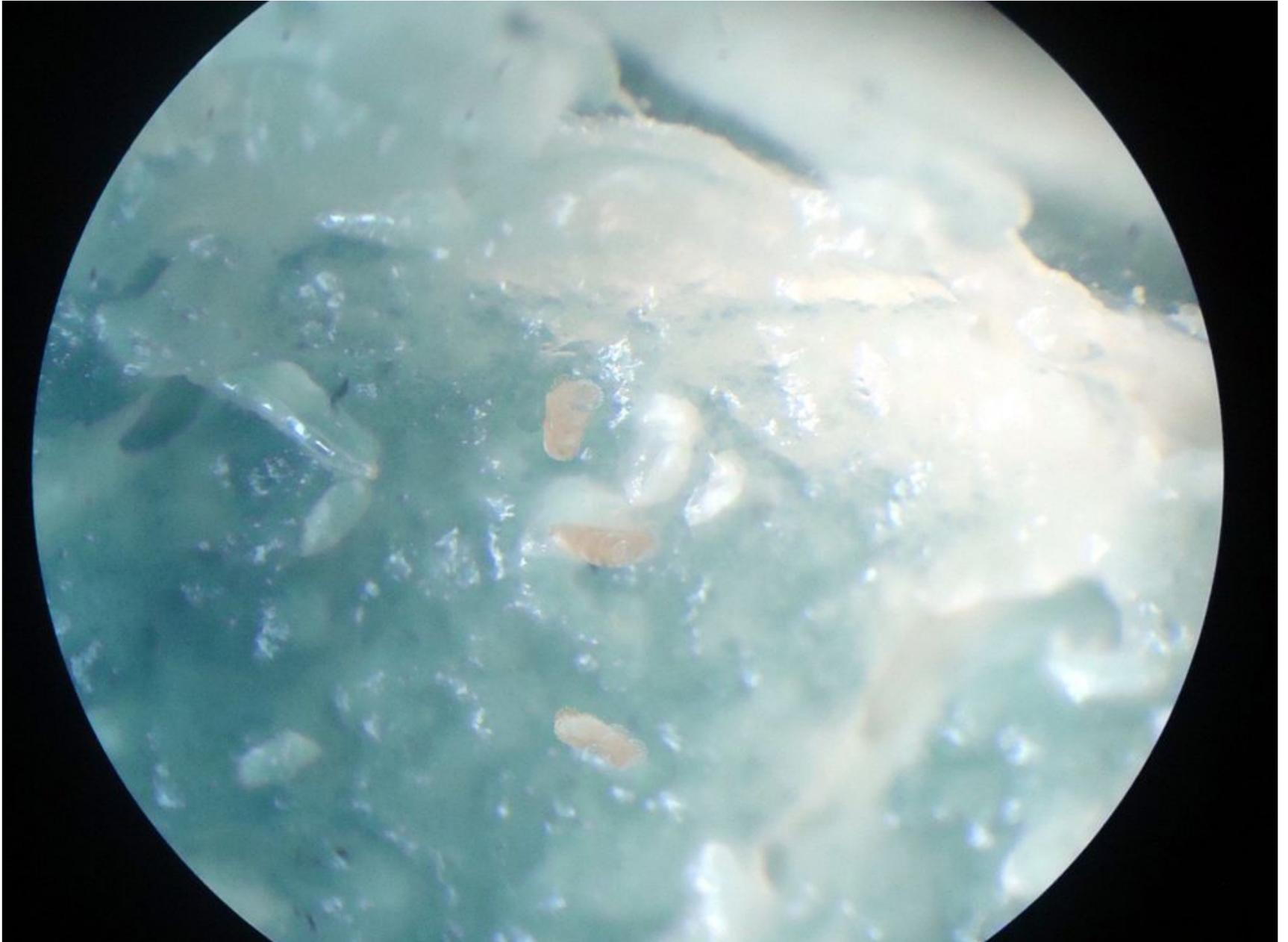
Белые яйца



Жёлтые яйца



Коричневые яйца





**В нашей работе
исследовались следующие
препараты:**

1) Лекарственный
препарат Цефтриаксон

2) Тяжелый металл
йодид кадмия

3) БАВ цикория
обыкновенного



Характеристика используемого лекарственного препарата «Цефтриаксон»

Цефалоспориновый антибиотик 3-го поколения. Отличается широким спектром действия. Для препарата характерна ярко выраженная бактерицидная активность, которая обуславливается угнетением процессов синтеза, проходящих в бактериях. Показания к применению : инфекционные и бактериальные поражения органов;

Показания

Бактериальные инфекции, вызванные чувствительными микроорганизмами: инфекции органов брюшной полости (перитонит, воспалительные заболевания желудочно-кишечного тракта, желчевыводящих путей, в том числе холангит, эмпиема желчного пузыря), Профилактика послеоперационных инфекций. Инфекционные заболевания у лиц с ослабленным иммунитетом.



Характеристика используемого лекарственного препарата «Цикория обыкновенного».



Настой травы цикория обыкновенного – оказывает антимикробное, вяжущее, желчегонное, мочегонное, ионизирующее действие.

48 Кадмий

Cd

112,411

$4d^{10}5s^2$

Характеристика кадмия

Йодид кадмия – в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ на 100 гр питательной среды в течение 3-х суток

Кадмий — элемент двенадцатой группы пятого периода периодической системы химических элементов Д. И. Менделеева, с атомным номером 48. Обозначается символом Cd (лат. Cadmium). Простое вещество кадмий (CAS-номер: 7440-43-9) при нормальных условиях — мягкий ковкий тягучий переходный металл серебристо-белого цвета. Устойчив в сухом воздухе, во влажном на его поверхности образуется плёнка оксида, препятствующая дальнейшему окислению металла.

48



Cd

КАДМИЙ

112,41

Варианты эксперимента

1 группа

**Негативный
контроль**

7 суток



2 группа

Позитивный контроль № 1

Cd - $1 \cdot 10^{-5} \text{M}$

3 суток

3 группа

Позитивный контроль № 2

**Цефтриаксон -
0,008 мг на 100 г**

3 суток



4 группа

**Цикорий – 0,3
мл на 100 г**

7 суток

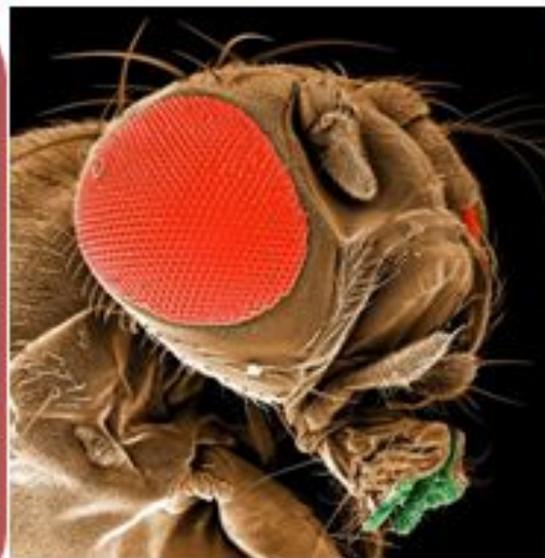
**Всего в работе было поставлено 4
контрольных и 7 экспериментальных
типов опытов:**

Варианты эксперимента

5 группа

Cd + Цикорий

3+7 суток



6 группа

Цикорий + Cd

7+3 суток

7 группа

Цикорий +
Цефтриаксон

7+3 суток



8 группа

Цефтриаксон
+ Цикорий

3+7 суток

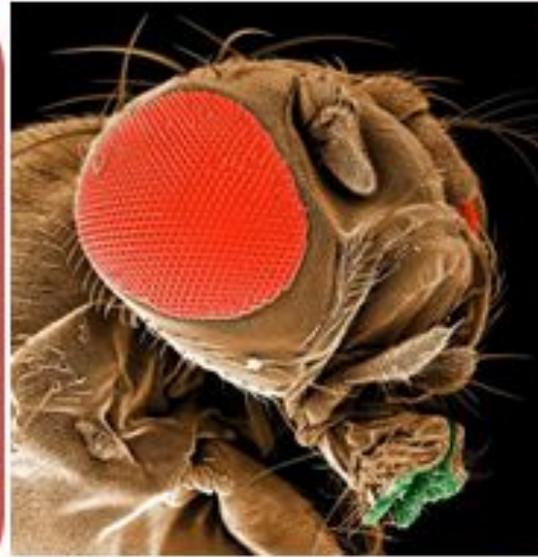
Варианты эксперимента

9 группа

Позитивный контроль № 3

Cd +
Цефтриаксон

3+3 суток



10 группа

Цикорий + Cd
+
Цефтриаксон

7+3+3 суток

11 группа

Cd +
Цефтриаксон
+ Цикорий

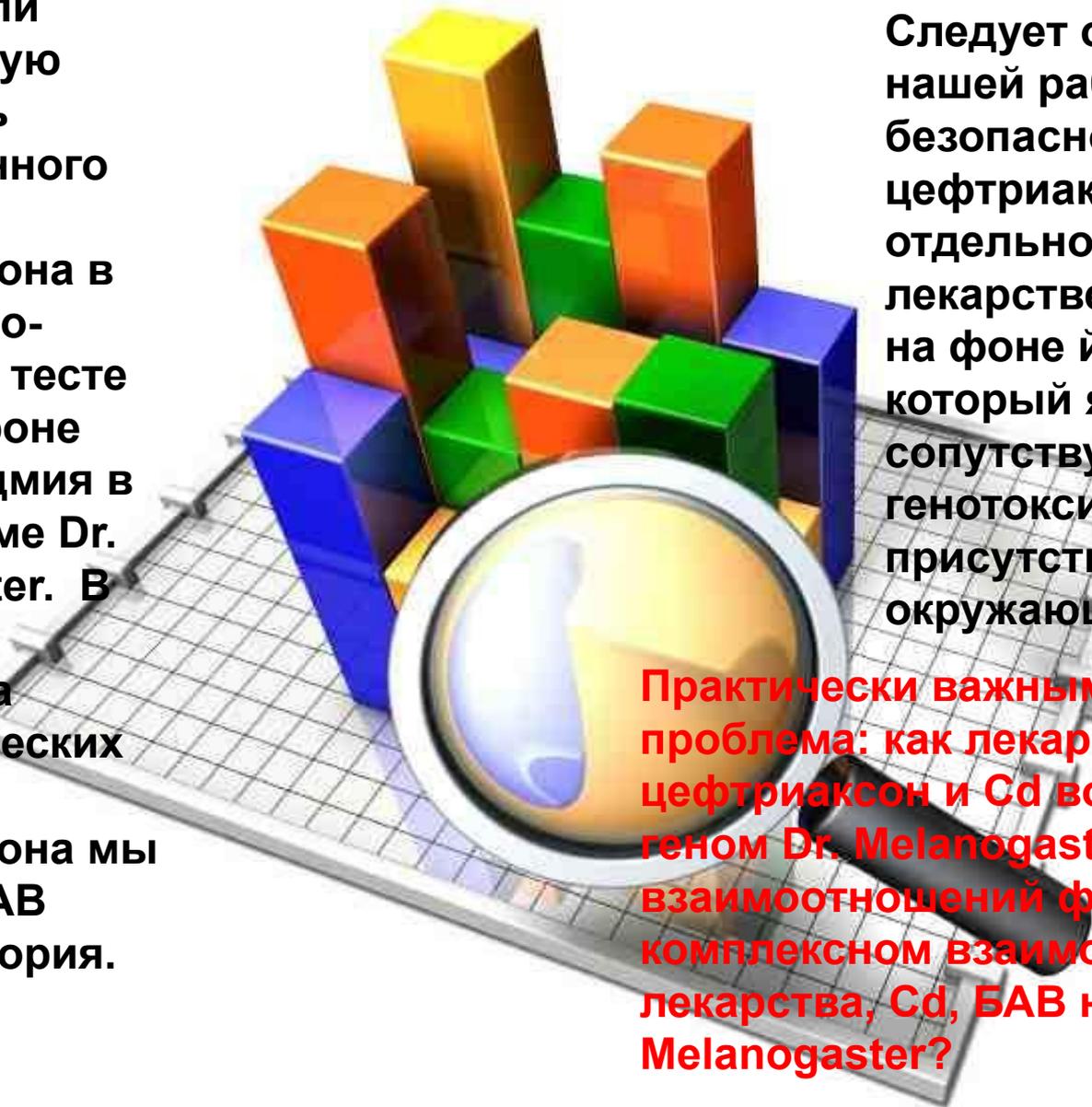
3+3+7 суток

Обсуждение результатов.

Мы изучили генетическую активность лекарственного препарата цефтриаксона в доминантно-летальном тесте (ДЛМ) на фоне йодида кадмия в тест-системе *Dr. Melanogaster*. В качестве ингибитора экогенетических эффектов цефтриаксона мы изучили БАВ настоя цикория.

Следует отметить, что в нашей работе генетическая безопасность цефтриаксона изучалась отдельно как лекарственный препарат, и на фоне йодида кадмия, который является сопутствующим человеку генотоксикантом, присутствующий в окружающей среде.

Практически важным становится проблема: как лекарство цефтриаксон и Cd воздействуют на геном *Dr. Melanogaster*. Какие формы взаимоотношений формируются при комплексном взаимодействии лекарства, Cd, БАВ на геном *Dr. Melanogaster*?



В позитивном контроле № 1 йодид кадмия (2ВЭ, позитивный контроль № 1) оказывает влияние на сперматогенез дрозофилы, он детерминировал в $1,36 \pm 0,48$ % леталей, что в 2,72 раза больше по сравнению с негативным контролем ($0,5 \pm 29$), коэффициент плодовитости – 0,98, количество коричневых яиц больше (5), чем желтых (3), т.е. РЭЛ составляют $0,51 \pm 0,29$ %, ПЭЛ - $0,85 \pm 0,38$ %. Следовательно, кадмий обладает выраженной мутагенной активностью, что не раз доказывали многочисленные исследования.

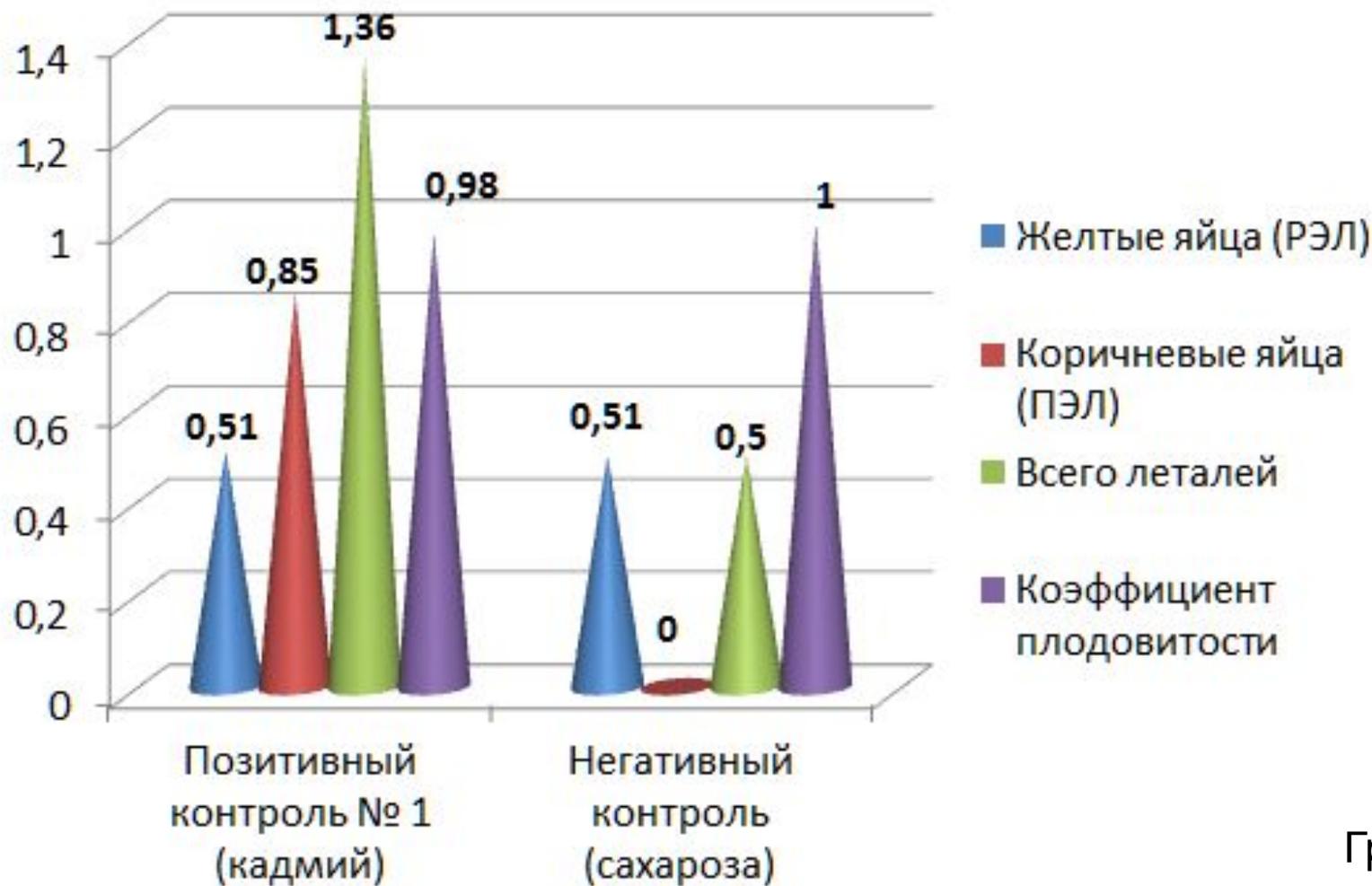
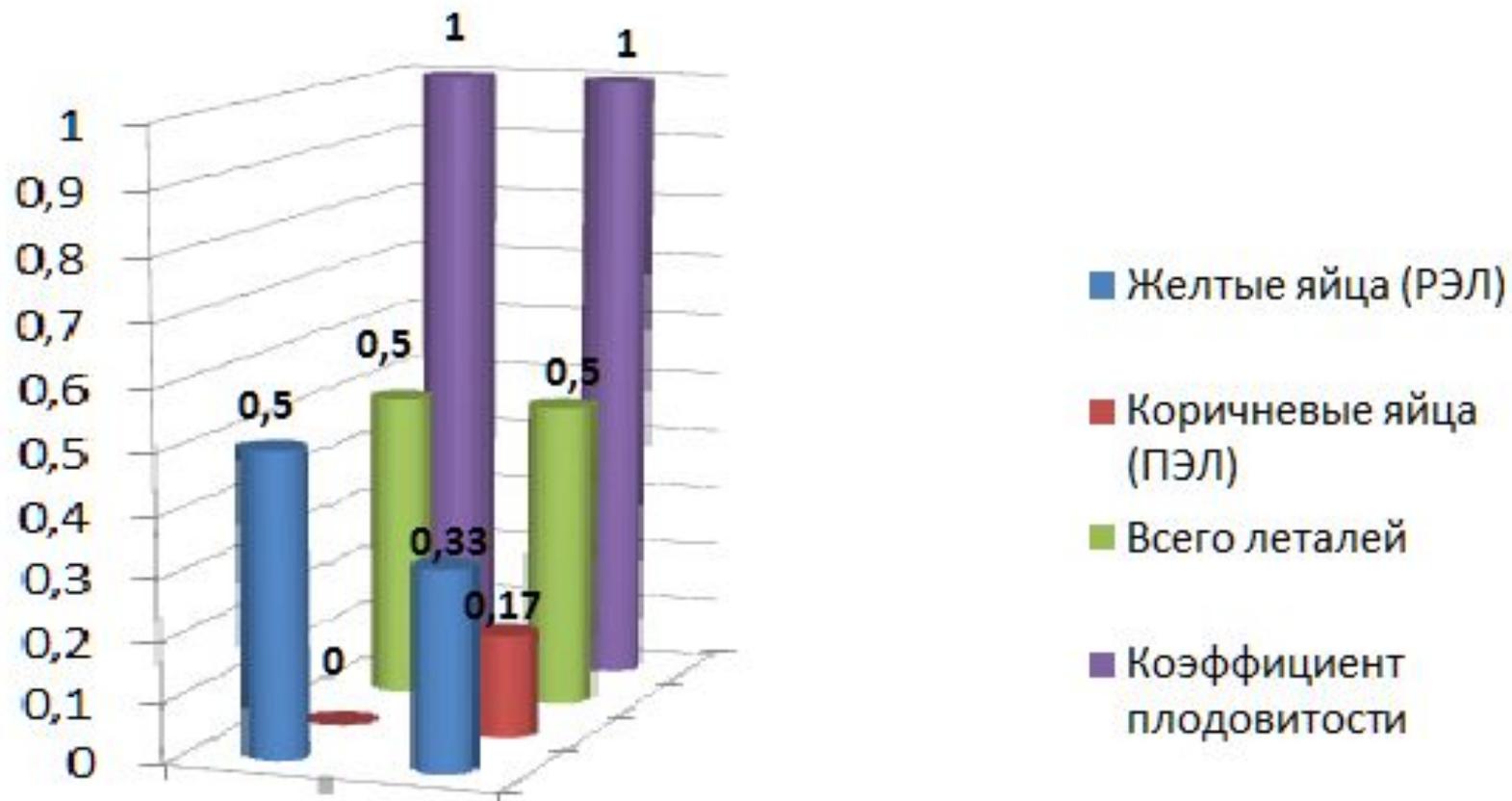


График № 1

Результаты применения терапевтической дозы БАВ цикория обыкновенного (ВЭ № 4) в течение 7 суток при моновоздействии не проявил ни мутагенных, ни антимутагенных свойств, т.к. коэффициент защиты равен 0, процент леталей не изменился по сравнению с негативным контролем ($0,5 \pm 0,29$), так же, как и коэффициент плодовитости (1). Количество желтых яиц ненамного больше (2), чем количество коричневых яиц (1), процент РЭЛ составляет $0,33 \pm 0,23$ % , ПЭЛ - $0,17 \pm 0,17$ %



1) Негативный контроль (Сахароза 5 %)
2) БАВ цикория

График № 2

В вар предобработки тер дозой БАВ цикория обычн на фоне мутагена тяж металла кадмия(6 ВЭ) наблюдается уменьшение процента леталей ($0,36 \pm 0,25\%$) и проявление высокого коэфф защиты (73,52%), что свидетельствует о антимутагенных свойствах цикория, коэффициент плодовитости снизился на 1,14 % по сравнению с вариантом эксперимента № 5. РЭЛ составляет $0,18 \pm 0,18\%$, ПЭЛ составляет $0,18 \pm 0,18\%$. Исходя из этого, мы видим, что ранее нейтральный настой цикория в случае встречи с мутагеном проявляет выраженные защитные свойства. В варианте пост-обработки кадмия настоем цикория (5ВЭ) наблюдается увеличение процента ДЛМ ($1,63 \pm 57$) в 1,18 раз при отсутствии коэффициента защиты по сравнению со вторым вариантом эксперимента ($1,36 \pm 0,48$). РЭЛ составляет $1,02 \pm 0,45\%$ ПЭЛ $0,61 \pm 0,35\%$. В данном варианте эксперимента (№5) мы наблюдаем явление комутагенности, которое проявляется при действии выраженного мутагена кадмия с антимутагеном – цикорием.

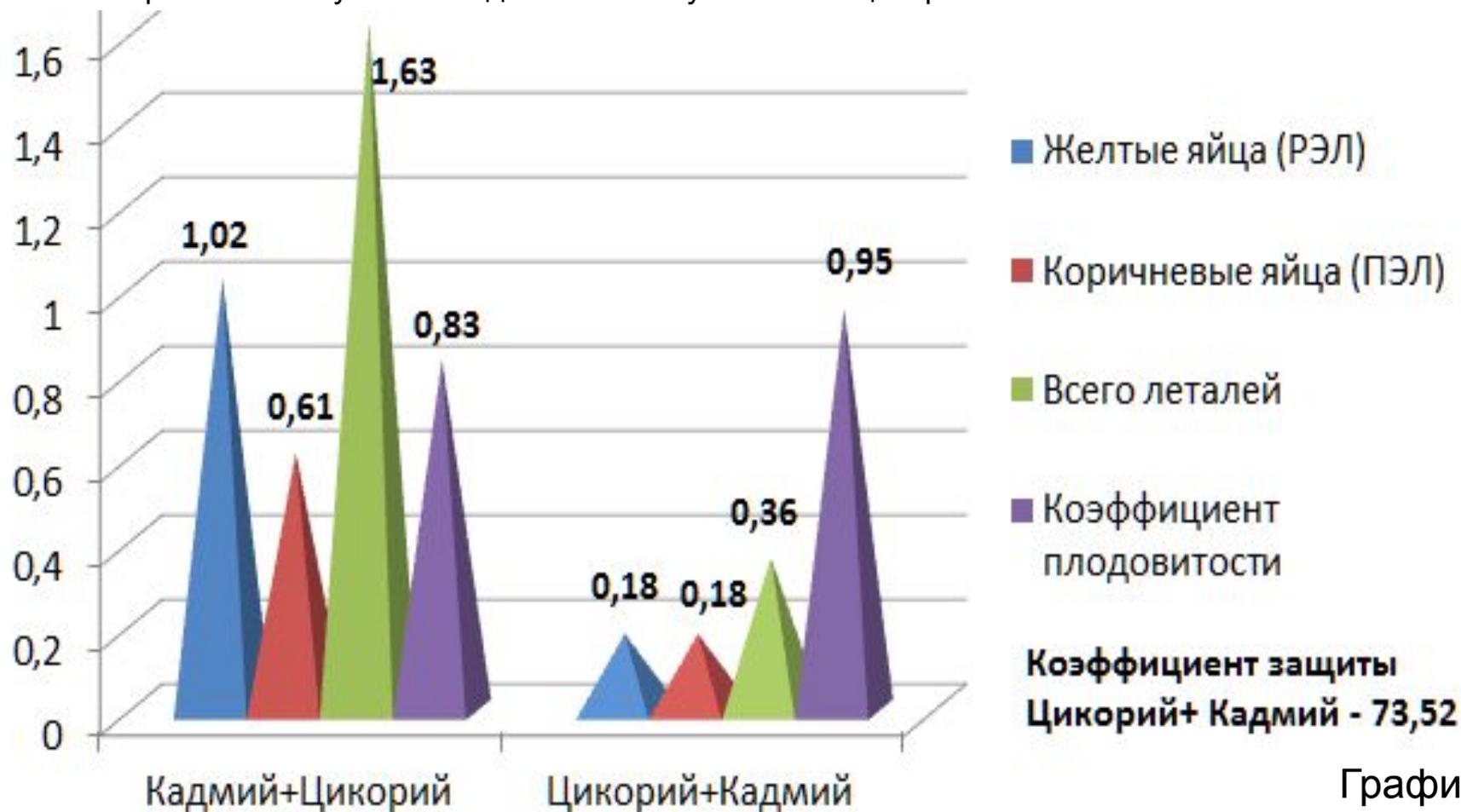


График № 3

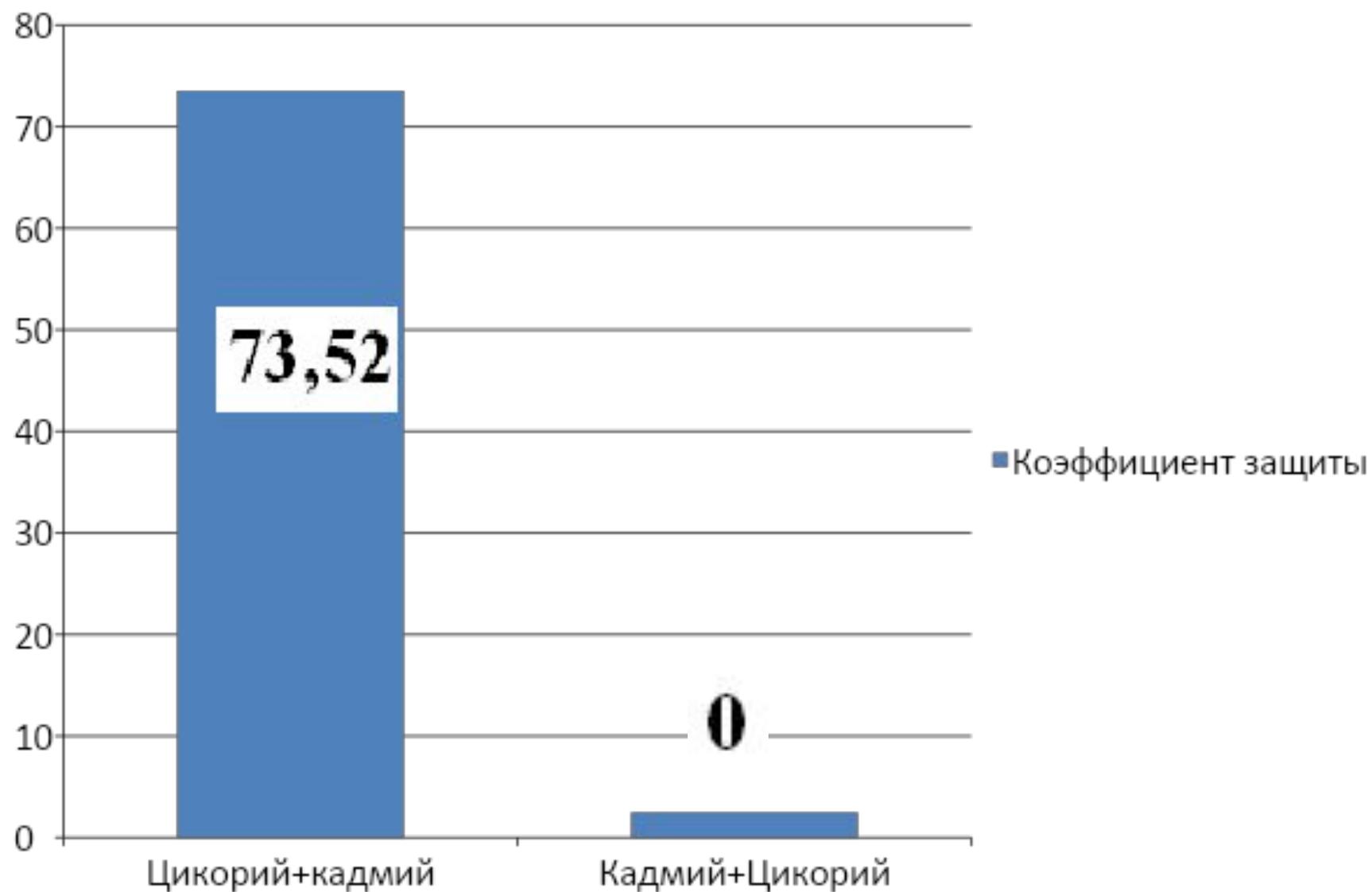


График № 3.1

В позитивном контроле № 3 при воздействии цефтриаксоном в течение 3-х суток выход леталей увеличивается в 4,78 раз по сравнению с негативным контролем и достигает $2,39 \pm 0,71$ %, что свидетельствует о наличии мутагенного эффекта у исследуемого лекарственного препарата. Количество желтых яиц составило 7, коричневых – 4, РЭЛ - $1,52 \pm 0,55$ %, ПЭЛ - $0,87 \pm 0,43$

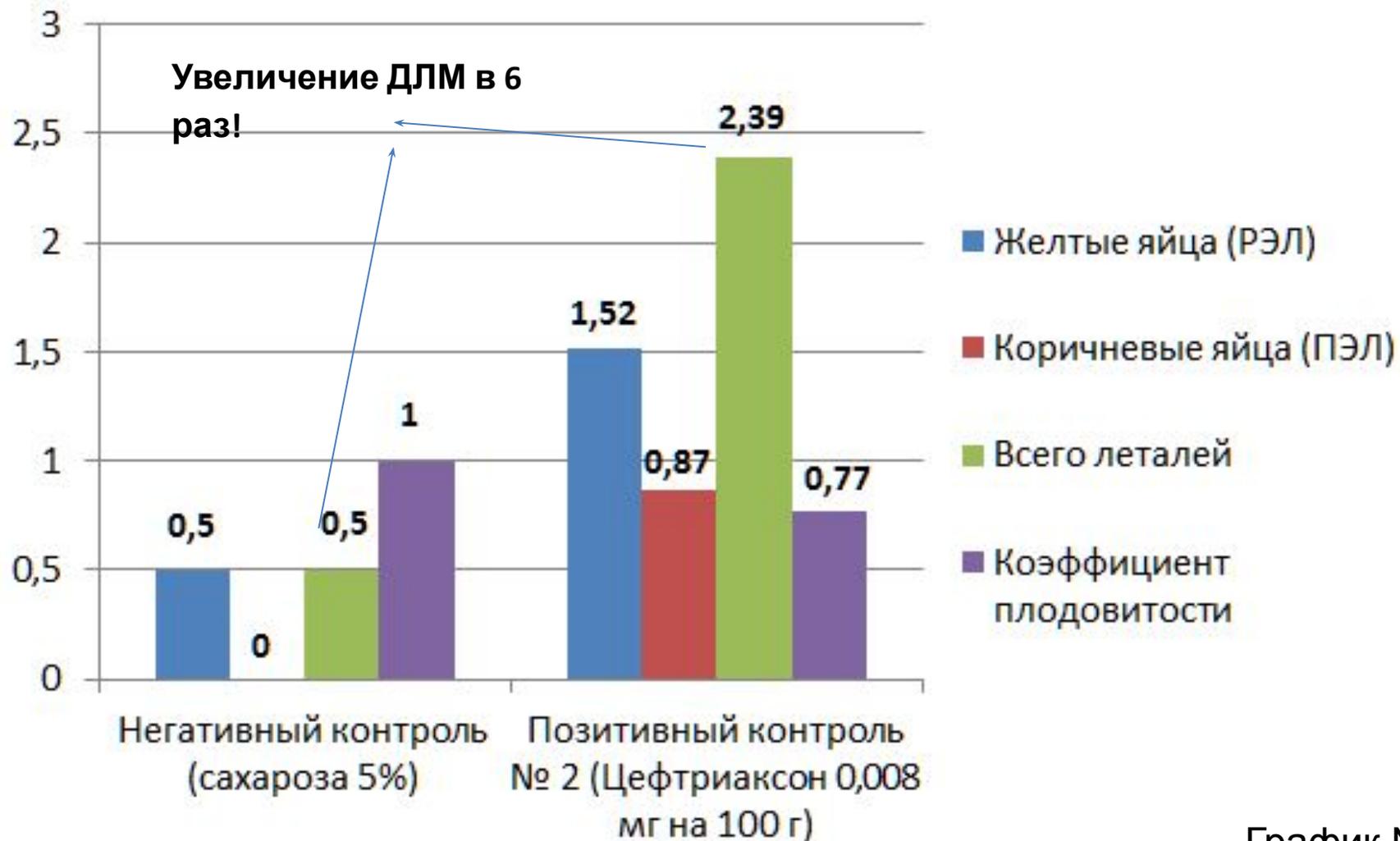


График № 4

В пост- и пред-обработке цефтриаксона цикорием наблюдается снижение процента леталей по сравнению с позитивным контролем № 2 в 0,45 и 0,14 раз, коэффициент плодovitости составляет 1,28 и 1,21, коэффициент защиты – 54,81% и 85,77%.



График № 5

Коэффициент защиты

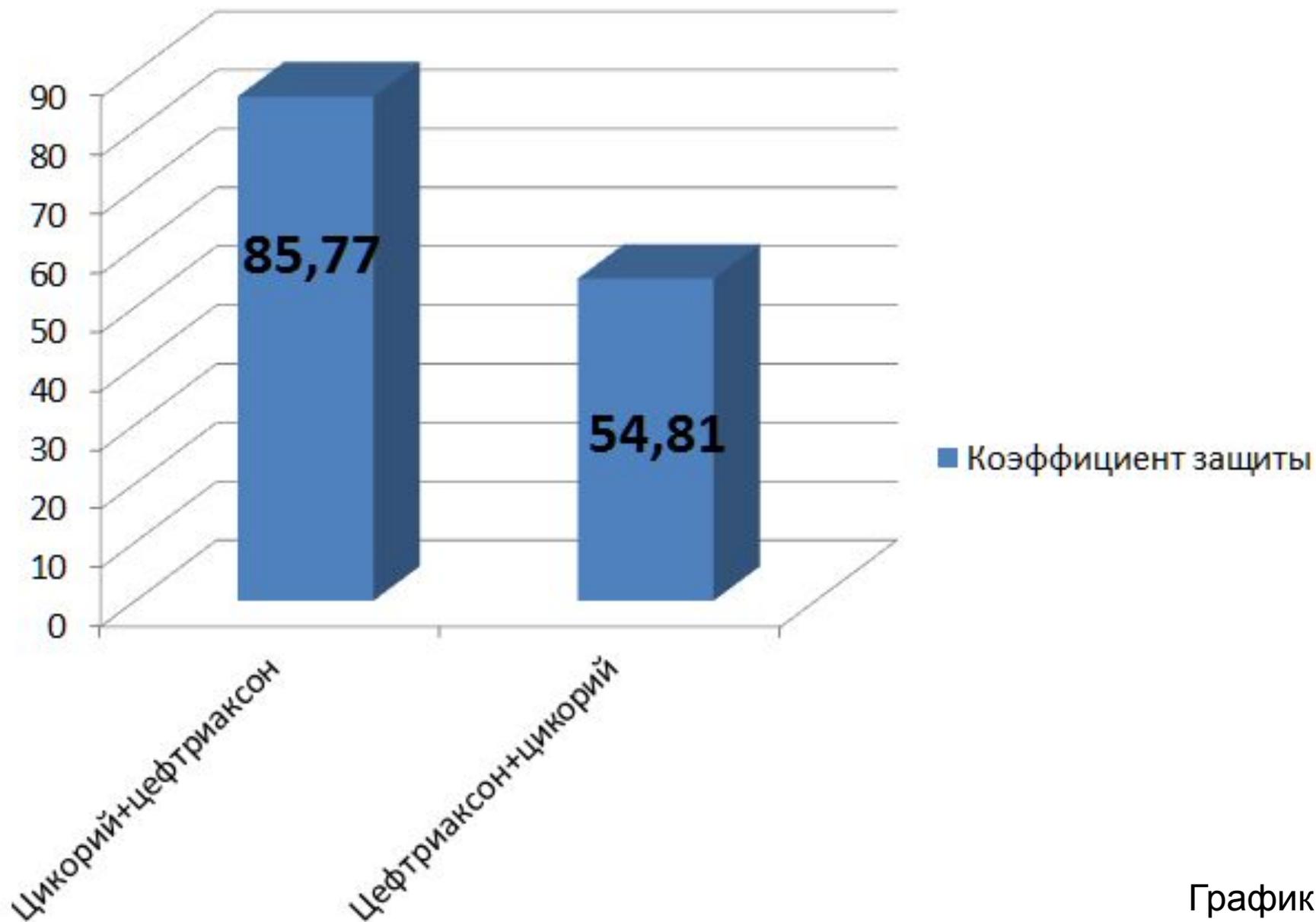


График № 6

В предобработке коэффициент защиты выше, чем в постобработке. Количество желтых и коричневых яиц в ВЭ № 7 составило одинаковое количество (1), ПЭЛ составило $0,17 \pm 0,17$ %, РЭЛ - $17 \pm 0,17$ %. В ВЭ № 8 количество желтых яиц больше (4), чем коричневых (2), РЭЛ- $0,72 \pm 0,36$ % составило, ПЭЛ - $0,36 \pm 0,25$ %. Все это свидетельствует об антимуtagenных свойствах цикория обыкновенного.

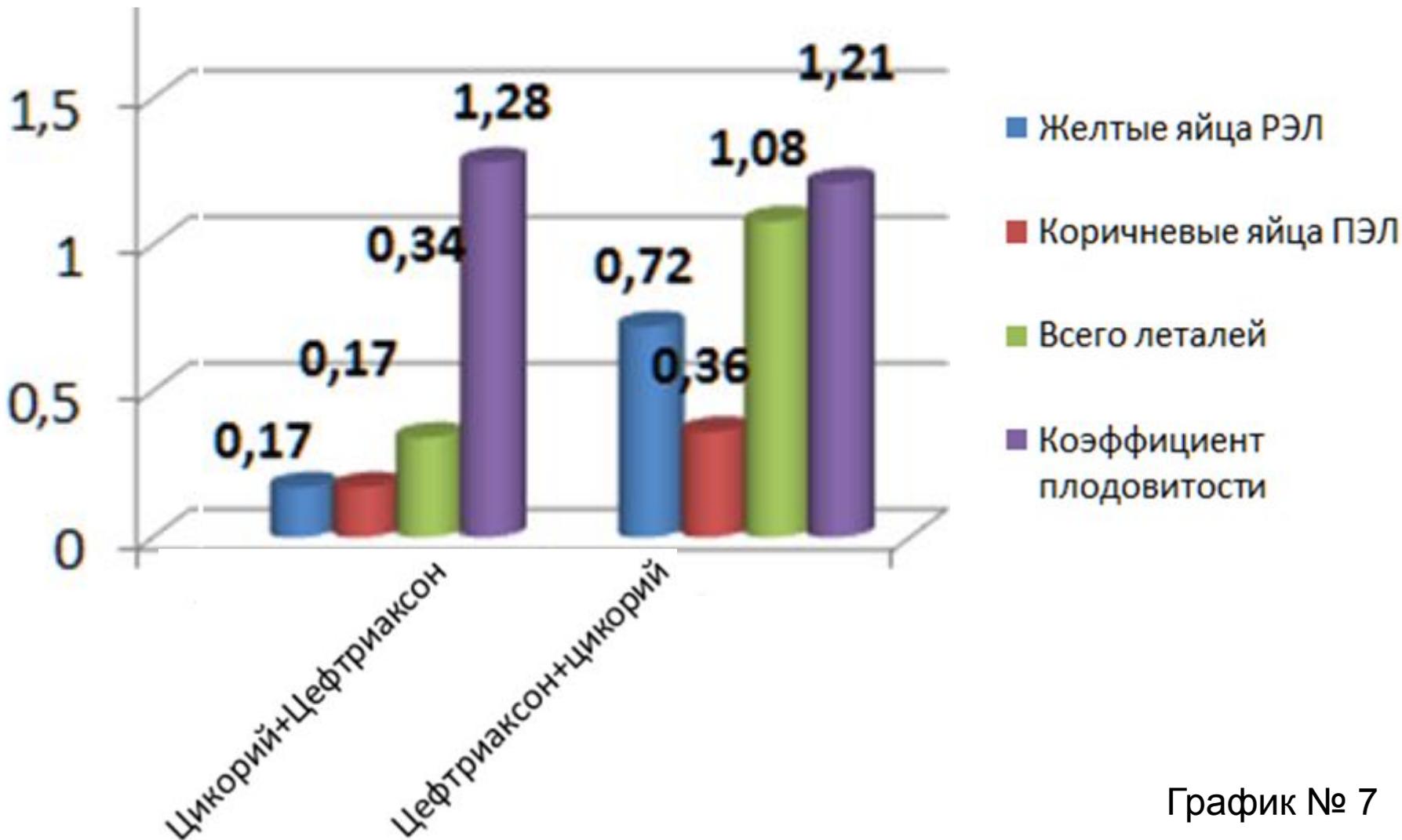


График № 7

В позитивном контроле № 3 при комбинированном воздействии лекарственного препарата Цефтриаксона (3сут) на фоне тяжелого металла (9ВЭ) наблюдается снижение выхода леталей ($2,14 \pm 0,67\%$) по сравнению с моновоздействием цефтриаксона ($2,39 \pm 0,71\%$) и увеличение леталей ($2,14 \pm 0,67\%$) по сравнению с моновоздействием кадмия ($1,36\%$). Коэффициент плодovitости (кадмий + цефтриаксон) повышен ($0,78$) по сравнению с моновоздействием цефтриаксона ($0,77$) и снижен по сравнению с моновоздействием кадмия ($0,98$). Количество желтых яиц составляет 2, коричневых - 8, РЭЛ- $0,43 \pm 0,30\%$ и ПЭЛ- $1,71 \pm 0,60\%$. Данные факты свидетельствуют об отсутствии синергизма

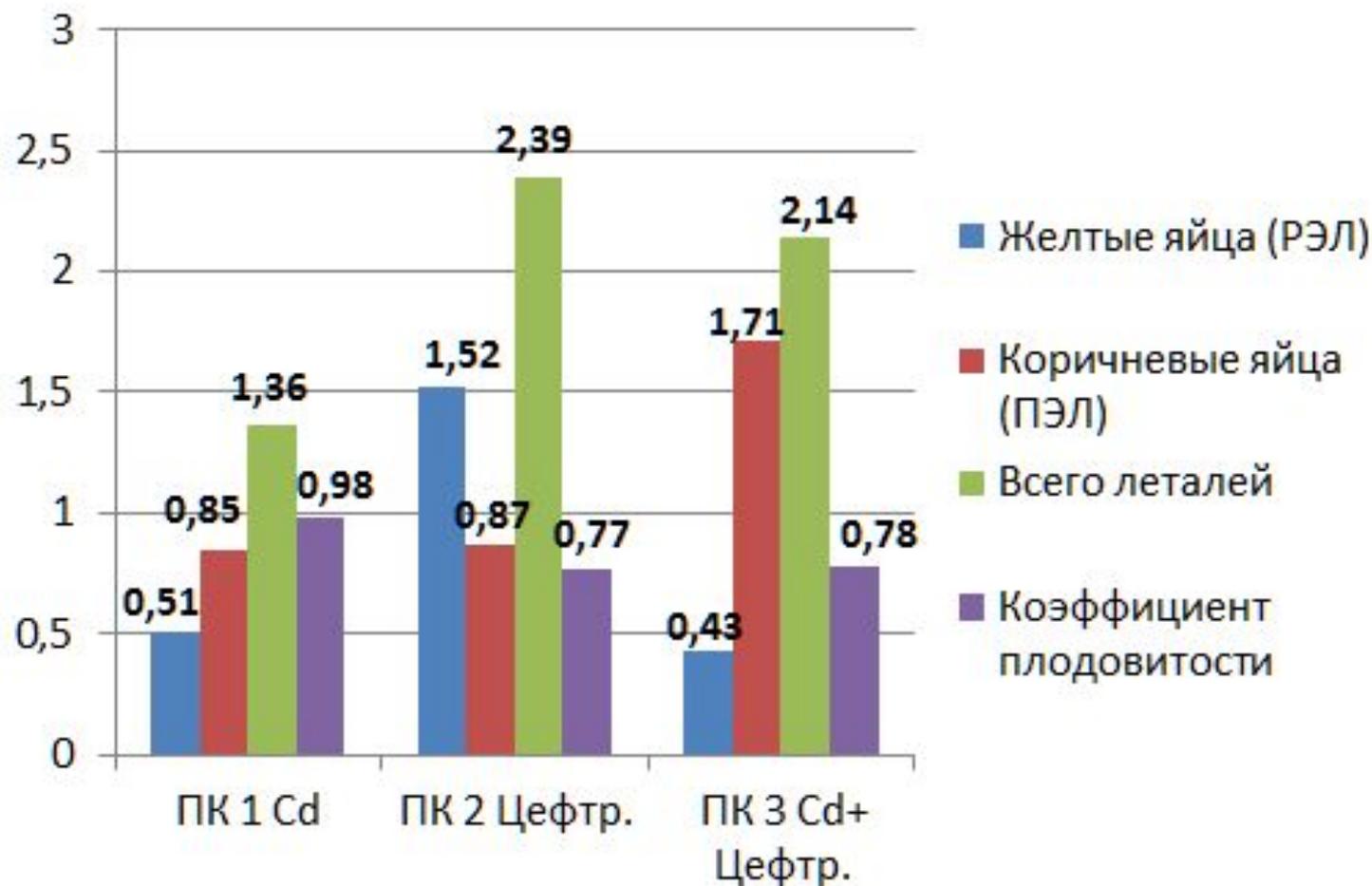


График № 8

В пост- и пред-обработке кадмия и цефтриаксона настоем цикория наблюдается снижение процента леталей в 0,18 и 0,26 раз по сравнению с позитивным контролем № 3, проявляется выраженный антимуtagenный эффект, коэффициент защиты составляет 81,78 и 73,36. В ВЭ № 10 количество желтых яиц составило – 1, коричневых – 1, РЭЛ - $0,20 \pm 0,20$ % ПЭЛ - $0,39 \pm 0,28$ % . В ВЭ №11 количество желтых яиц составило – 2, коричневых – 1, РЭЛ - $0,38 \pm 0,27$ % ПЭЛ - $0,19 \pm 0,19$ % .

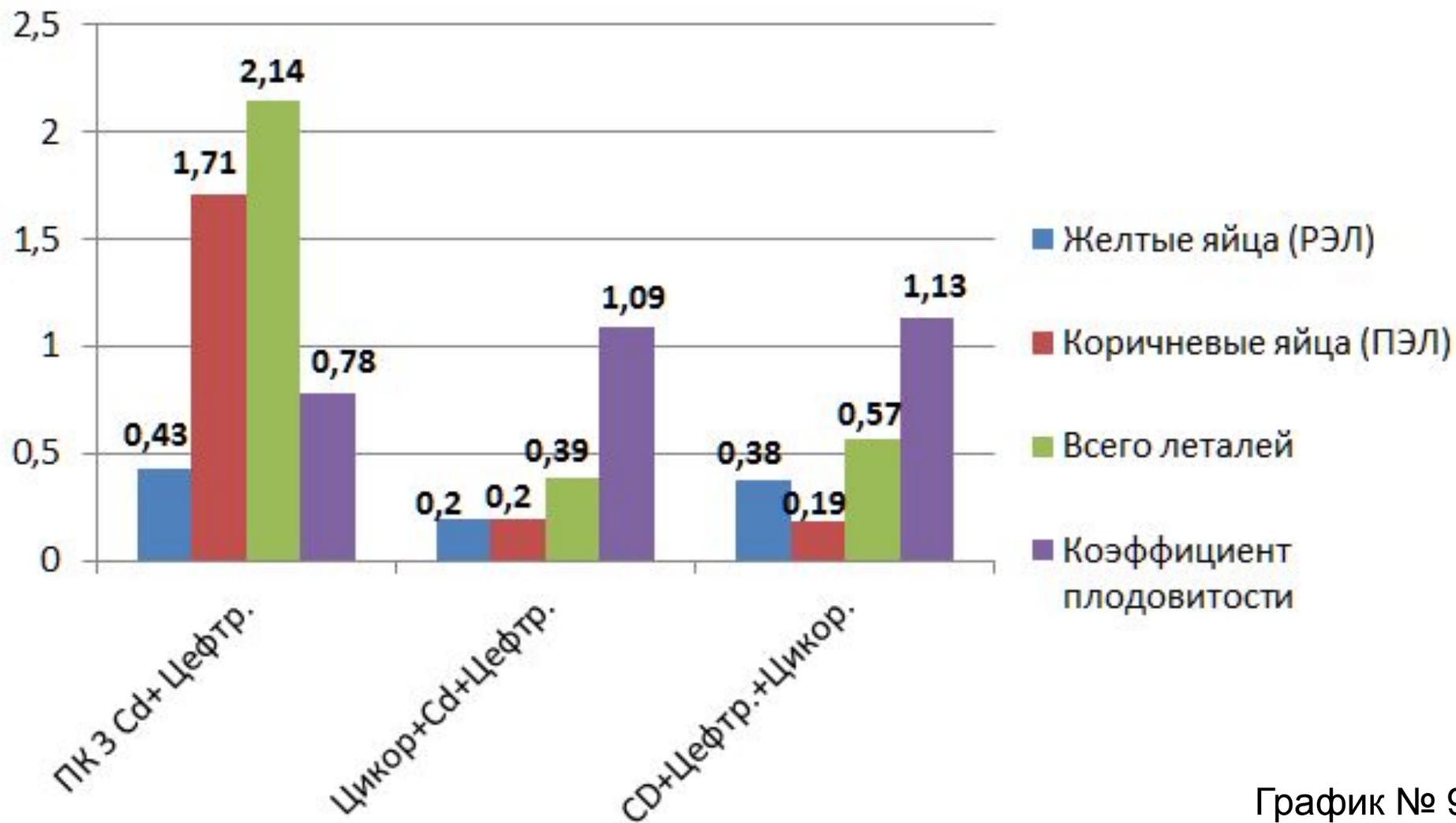


График № 9

Коэффициент Защиты

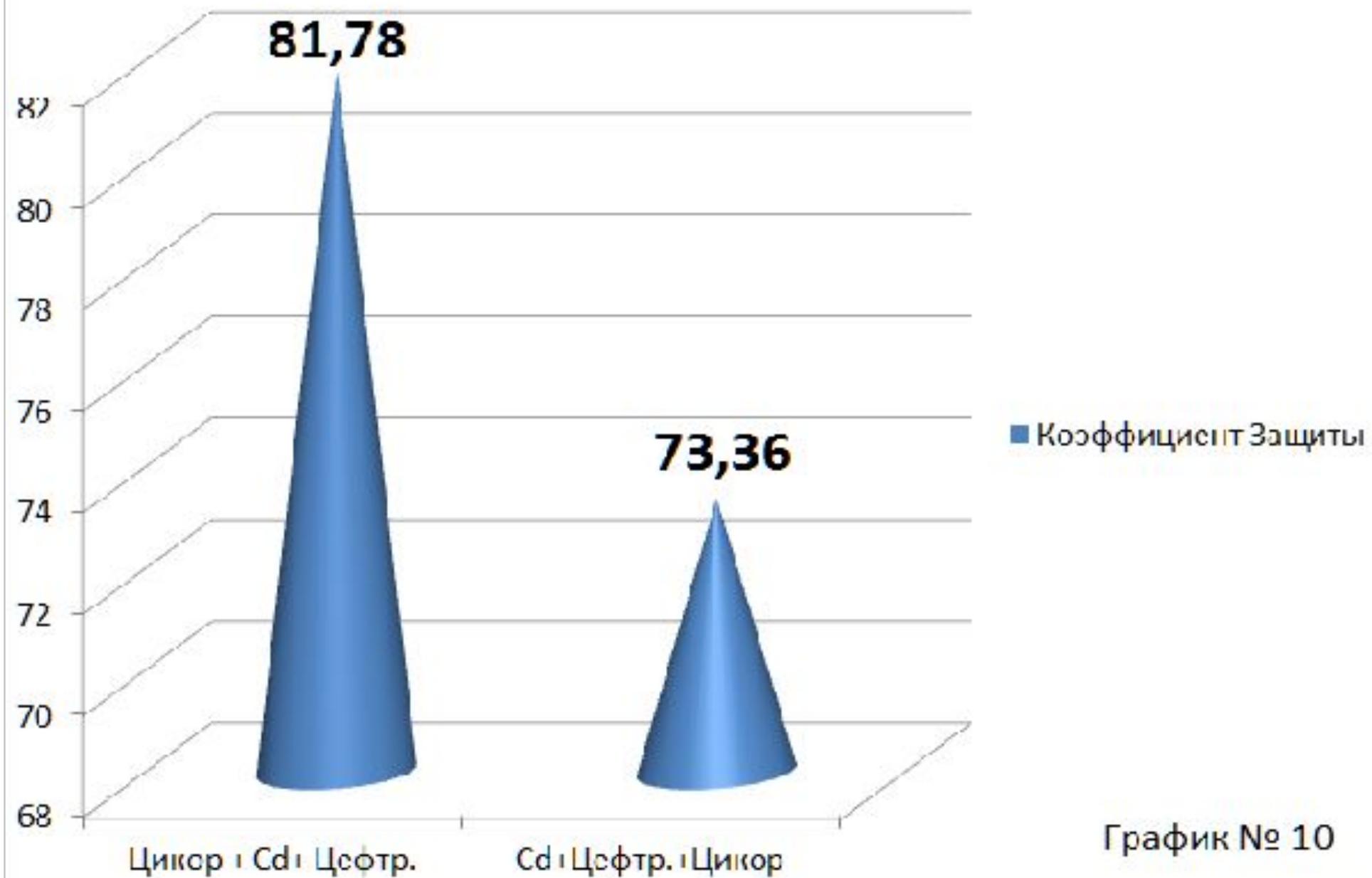


График № 10

Выводы:



1) Исследуемый лекарственный препарат «Цефтриаксон» в терапевтической дозе проявляет выраженные мутагенные свойства, увеличивая выход РЭЛ – данный вывод свидетельствует о том, что его использование при лечении больных молодых должно быть ограничено, т.к. может отразиться на их репродуктивной функции в дальнейшем.



Ценным выводом проведённых экспериментов является факт регистрации антимутагенных эффектов БАВ цикория на фоне воздействия цефтриаксона и Cd

2) Йодид кадмия в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ М – мутаген. Кадмий при пост-обработке цикорием проявил эффект комутагенности (5ВЭ)



3) Кадмий и цефтриаксон при бивоздействии не проявляют эффекта комутагенности и синергизма



4) Нами выявлен эффект комутагенности цикория при взаимодействии с кадмием (Cd) в варианте постобработки Cd цикорием, а предобработка Cd цикорием проявила защитный эффект 73,52%



5) При моновоздействии цикорий не проявляет ни мутагенных, ни антимутагенных свойств.



6) В пред- и пост обработке мутагенов цефтриаксона и кадмия цикорий проявляет выраженный антимуtagenный эффект, повышая коэффициент защиты и плодовитости (коэффициент защиты 81,78%, 73,36%, 1,09%, 1,13%).



Практическая рекомендация

Полученные материалы исследований дают возможность рекомендовать в качестве профилактического средства для защиты генетического здоровья населения, проживающего в условиях высокого антропогенного пресса настой цикория, который допустимо использовать в терапевтической дозе как антимуtagen в условиях загрязнения окружающей среды человека тяжелыми металлами и воздействием лекарственного препарата цефтриаксон.



Спасибо за внимание!

