

**Изучение активности препарата Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм в тесте на индукцию абберраций хромосом в культуре лимфоцитов периферической крови человека *in vitro* без и с метаболической активацией.**

Болтина И.В.\*, Николаенко А.Н.\*\*

\*Институт экогигиены и токсикологии им. Л.И. Медведя МОЗ Украины

\*\*ЧП “Лаборатория Эрбис”

Спонтанный мутационный процесс, постоянно идущий в природе, является одним из движущих сил эволюции и источником получения исходного материала для селекции, но как правило, этот процесс характеризуется невысокими темпами. В 20-х годах нашего столетия стала очевидной возможность интенсификации процесса наследственной изменчивости путем воздействия на генетический аппарат физико-химическими факторами. Зародился экспериментальный мутагенез. Разработка этой проблемы показала возможность регуляции мутационного процесса не только в направлении увеличения темпов спонтанного мутирования, но и возможность снижения его темпов путем воздействия на организм химическими факторами. Novick, Szilard (1952) показали, что введение в среду для проращивания бактерий химических соединений, относящихся к классу пуриновых нуклеозидов, приводит к значительному снижению уровня спонтанной мутабельности. Это явление получило название антимутагенеза, а вещества, обладающие указанными свойствами, стали называться антимутагенами [1]

Помимо эффективности защитного действия антимутагена, следует учитывать еще ряд параметров: фармакокинетические, токсические характеристики вещества, возможность его сочетания с модифицируемым агентом у человека и другие характеристики, обязательные при разработке каждого лекарственного средства. Особенно важными представляются доклиническая оценка безопасности антимутагена, включающая исследования его токсичности, мутагенности, эмбриотоксичности, тератогенности, иммунотоксичности, и изучение совместимости протектора и мутагена как с точки зрения задач фармакологии, если речь идет о мутагенном лекарстве, так и с позиций безвредности при профилактике мутагенеза у здоровых людей. Во всех случаях абсолютно необходимо, чтобы эффект антимутагена был подтвержден на этапе клинических испытаний. Для этой цели логично использовать учет хромосомных абберраций в клетках периферической крови. Именно так было подтверждено антимутагенное действие бемитила по отношению к диоксину и показан антимутагенный эффект аскорбиновой кислоты на рабочих, подвергающихся влиянию мутагенных производственных факторов [2].

Изучение активности препарата Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм, которое являлось **целью работы**, состояло из следующих этапов:

- Изучение мутагенной активности препарата без и с метаболической активацией
- Изучение действия препарата совместно с мутагенами: Митомицином и Циклофосфаном на культуру лимфоцитов периферической крови *in vitro*.
- Изучение активности препарата при действии на культуру лимфоцитов периферической крови *in vitro* больных фибромиомами без и с метаболической активацией.

Препарат Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм представляет собой молекулярный комплекс небелковых природных органических соединений негормональной природы животного происхождения в растворе натрия хлорида изотонического 0,9 % и содержит низкомолекулярные, термостабильные компоненты клеточных мембран клеток эмбриональной ткани куриных или утиных зародышей, в том числе: пептиды (28,0 – 60,0 %), аминокислоты (0,5 – 31,5 %), углеводы (16,0 – 25,0 %), липиды и нуклеотиды (0,5 – 17,0 %). Сухой вес препарата от 11 до 17 мг/мл.

Главным действующим началом препарата, определяющим специфическую терапевтическую эффективность, являются пептиды с молекулярной массой 5 – 7 кДа, что подтверждается результатами анализа биологической активности фракций, полученных методом ультрафильтрации на мембранах, согласно молекулярным массам компонентов препарата.

**Материалы и методы.** Лимфоциты периферической крови культивировали соответственно общепринятому методу Хангерфорда [3] на протяжении 52 часов с модификациями, принятыми в лаборатории [4], что позволяло исследовать клетки первого митоза. В эксперименте использовали культуру лимфоцитов, полученную от практически здорового донора - женщины 36 лет, которая не принимала медицинских препаратов и не проходила в течение года рентгенологических исследований. Отбор метафазных пластинок для цитогенетического анализа, классификация и метод подсчета aberrаций хромосом были общепринятыми [5,6], но анеуплоидные клетки подсчитывали с модификациями, принятыми в лаборатории [7]. Для цитогенетического анализа использовали метафазные пластинки без перекрещиваний хромосом, которые содержали  $46 \pm 2$  хромосомы – для фоновой частоты aberrаций и от 24 до 93 хромосом – для количества анеуплоидных клеток. Учитывали aberrации хроматидного и хромосомного типов. Пробелы отмечали, но в число aberrаций не включали. Проводили анализ зашифрованных препаратов, окрашенных рутинным методом. В каждой концентрации анализировали не менее 100 метафаз.

Исследуемый препарат (Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм) в экспериментах по изучению его мутагенной активности вносили в культуру за 24 часа до окончания инкубации в концентрациях 0,1; 0,01; 0,001; 0,0001 мл действующего вещества (ампулы). Все рабочие концентрации готовились непосредственно перед внесением их в культуру.

В качестве положительного контроля в эксперименте без метаболической активации использовали Митомизин – С в концентрации 10 мкг/мл.

В качестве положительного контроля в эксперименте с метаболической активацией использовали Циклофосфан в концентрации 20 мкг/мл. Микросомальную активирующую смесь для этого исследования готовили согласно с рекомендациями В.N. Ames [8].

Статистическую обработку проводили согласно критериям Стьюдента и на персональном компьютере по пакету программ Microsoft Excel.

## Результаты и обсуждение

В экспериментах по изучению мутагенной активности препарата Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм *in vitro* в культуре лимфоцитов периферической крови без и с метаболической активацией оценивали: частоту метафаз с абберациями, общее количество и типы аббераций. Полученные результаты представлены в таблицах 1- 2.

Таблица 1.

Частота и распределение метафаз с абберациями хромосом в культуре лимфоцитов периферической крови при действии препарата Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм в эксперименте без метаболической активации.

Исследуемое вещество	Количество			Частота метафаз с абберациями, (M ± m), %	Типы аббераций		
	метафаз	метафаз с абберациями	аббераций		о.ф	об	п.ф
<b>Контроли</b>							
Контроль	200	2	2	1,0 ± 0,9	2		
Митоминин – С (положительный контроль)	100	18	21	18,0 ± 3,8*	15	3	3
<b>Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм</b>							
0,1 мл	200	6	7	3,0 ± 1,2	4	3	
0,01 мл	135	3	3	2,2 ± 1,3	3		
0,001 мл	200	5	5	2,5 ± 1,0	4		1
0,0001мл	200	4	4	2,0 ± 0,9	3		1

Примечания: \* p<0,001

о.ф -	Одиночные фрагменты (хроматидные делеции)	п.ф	парные фрагменты (хромосомные делеции)
об	Обмены		

Исследование активности препарата Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм в различных концентрациях показало, что ни в одной из исследуемых концентраций препарат не индуцировал статистически достоверного увеличения количества аббераций по сравнению с уровнем контрольной культуры. Но следует отметить, что в концентрации 0,01 мл наблюдалось снижение митотической активности лимфоцитов.

Абберации хромосом представлены одиночными, парными фрагментами и обменами. Спектр смещен в сторону аббераций хроматидного типа, что согласно литературным данным, может быть объяснено действием реагентов химической природы [9-11].

При действии на культуру лимфоцитов известного мутагена Митоминина-С, который использовался в качестве положительного контроля, установлено достоверное повышение частоты аббераций хромосом и смещение спектра аббераций хромосом в сторону образования аббераций хроматидного типа, что подтверждает адекватность применения данной тест-системы для изучения цитогенетической активности химических мутагенов.

Правильная оценка генетического риска зависит от полноты знания метаболизма исследуемого соединения в организме животных и человека и влияющих на этот процесс факторов, а также от полноты изучения его генетического потенциала. Большая часть мутагенов находится в среде в виде промутагенов. Для того, чтобы под влиянием этих

веществ возникла мутация, необходим ферментный процесс - их метаболическая активация [12]. Мутаген или его метаболиты, возникшие в результате действия микросомных ферментов клетки, проникают в клеточное ядро и вызывают первичные повреждения ДНК. Как только возникают первичные повреждения ДНК, включаются механизмы ее репарации, стремящиеся устранить возникший дефект. В тех случаях, когда репарационная система работает эффективно и безошибочно, первичный дефект структуры ДНК устраняется и застраивается. Мутация как таковая не возникает [13].

При тестировании химических веществ с неизвестной мутагенной активностью необходимо проводить исследования с метаболической активацией (при прямом или неизвестном мутагенном действии) [14] (табл. 2).

Таблица 2.

Частота метафаз с абберациями хромосом в культуре лимфоцитов периферической крови при действии препарата Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм в эксперименте с метаболической активацией.

Исследуемое вещество	Количество			Частота метафаз с абберациями, (M ± m), %	Типы аббераций		
	метафаз	метафаз с абберациями	аббераций		о.ф	об	п.ф
<b>Контроли</b>							
Контроль	200	2	2	1,0 ± 0,9	2		
Контроль S-9	200	3	3	1,5 ± 0,8	3		
Контроль Ко-факторы	200	3	3	1,5 ± 0,8	2		1
Циклофосфан (положительный контроль)	100	16	18	16,0 ± 3,6*	14	1	3
<b>Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм</b>							
0,1 мл	200	5	6	2,5 ± 1,0	5		1
0,01 мл	200	4	4	2,0 ± 0,9	3		1
0,001 мл	200	4	4	2,0 ± 0,9	4		
0,0001мл	200	4	4	2,0 ± 0,9	3		1

Примечания: \* p<0,001

о.ф -	Одиночные фрагменты (хроматидные делеции)	п.ф	парные фрагменты (хромосомные делеции)
об	Обмены		

Изучение влияния препарата Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм на индукцию аббераций хромосом в культуре лимфоцитов периферической крови *in vitro* с метаболической активацией показало, что ни в одной из исследуемых концентраций препарат не вызывал увеличения количества аббераций по сравнению с уровнем контрольных культур.

Абберации хромосом представлены одиночными и парными фрагментами.

При действии на культуру лимфоцитов известного мутагена Циклофосфана, который использовался в качестве положительного контроля, установлено достоверное повышение частоты аббераций хромосом и смещение спектра аббераций хромосом в сторону образования аббераций хроматидного типа, что подтверждает адекватность применения данной тест-системы для изучения цитогенетической активности химических мутагенов в эксперименте с метаболической активацией.

Таким образом, препарат Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм не проявляет мутагенной активности в тесте на индукцию aberrаций хромосом в культуре лимфоцитов периферической крови человека *in vitro* без и с метаболической активацией.

Так как препарат Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм является иммуномодулятором, гепатопротектором, была изучена его активность при совместном культивировании препарата Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм и мутагенов, которые выступали в качестве положительного контроля в исследованиях мутагенной активности препарата: Митомицина С и Циклофосфана в тесте на индукцию aberrаций хромосом в культуре лимфоцитов периферической крови человека *in vitro*.

Вместе с Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафармом, в каждый флакон был добавлен Митомицин С в концентрации 10 мкг/мл в эксперименте без метаболической активации (Табл. 3) и Циклофосфан в концентрации 20 мкг/мл в эксперименте с метаболической активацией (Табл. 4).

Таблица 3.

Частота aberrаций хромосом при действии препарата Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм совместно с Митомицином С на культуру лимфоцитов периферической крови без метаболической активации.

Исследуемое вещество	Количество		Средняя частота метафаз с aberrациями, (% ± m)
	проанализированных метафаз	метафаз с aberrациями	
<b>Контроли</b>			
Контроль	200	2	1,0 ± 0,9
Митомицин С (“чистая культура”)	100	18	18,0 ± 3,8
<b>Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм + Митомицин</b>			
0,1 мл	100	16	16,0 ± 3,6
0,01 мл	100	17	17,0 ± 3,7
0,001 мл	100	17	17,0 ± 3,7
0,0001 мл	100	16	16,0 ± 3,6

Исследование активности препарата Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм в различных концентрациях совместно с Митомицином С показало, что ни в одной из исследуемых концентраций препарат не индуцировал статистически достоверного уменьшения количества aberrаций по сравнению с “чистой культурой” – Митомицином С.

Эксперимент по совместному культивированию препарата Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм и Циклофосфана был проведен в двух повторностях из-за снижения митотической активности лимфоцитов (Табл. 4).

Таблица 4.

Частота aberrаций хромосом при действии препарата Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм совместно с Циклофосфаном на культуру лимфоцитов периферической крови с метаболической активацией

Исследуемое вещество	Количество		Средняя частота метафаз с aberrациями, (% ± m)	
	проанализированных метафаз	метафаз с aberrациями		
<b>Контроли</b>				
Контроль	200	2	1,0 ± 0,9	
Контроль S-9	200	3	1,5 ± 0,8	
Контроль Ко-факторы	200	3	1,5 ± 0,8	
Циклофосфан (“чистая культура”)	100	16	16,0 ± 3,6*	
<b>Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм + Циклофосфан</b>				
0,1 мл	1 эксперимент	75	2	2,6 ± 1,8**
	2 эксперимент	50	1	2,0 ± 1,9**
0,01 мл	1 эксперимент	55	1	1,8 ± 1,8**
	2 эксперимент	75	2	2,6 ± 1,8**

\* p<0,001 по сравнению с контролями S-9 и Ко-факторами

\*\* p<0,001 по сравнению с положительным контролем циклофосфаном.

Во всех концентрациях в двух повторах эксперимента наблюдается снижение митотической активности лимфоцитов. В двух высших концентрациях (0,1 и 0,01 мл) наблюдается снижение частоты aberrаций хромосом при совместном культивировании с Циклофосфаном по сравнению с “чистой культурой” Циклофосфана. В остальных более низких концентрациях (0,001 и 0,0001 мл) метафаз, пригодных для анализа найти не удалось.

Возможно, здесь играет роль метаболическая активация. То есть, препарат Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм может относиться, согласно классификации Г.Г. Порошенко, в основе которой лежит известная модификация Т. Kada, к метаболическим антимуутагенам.

В экспериментах с метаболической активацией задействованы цитохромы P=450. Известно, что активность системы цитохромов P=450 находится в антагонистических взаимоотношениях с уровнем иммунной защиты организма. А если это так, то повышения уровня иммунных сил организма должно автоматически снижать активность ферментов, участвующих в метаболической активации мутагенов, и, следовательно, выступать как антимуутагенный фактор по отношению к мутагенам, для которых такая активация необходима. Что касается цитохромов P=450, то в организме работают механизмы обратной связи, снижающие уровень этих ферментов при чрезмерном поступлении из окружающей среды ксенобиотиков, образующих токсичные метаболиты. Избыток таких метаболитов отрицательно воздействует на белки организма, в том числе и на цитохромы P=450, снижая их активность. Безусловно, этот механизм работает и по отношению к мутагенам, выступая одним из составляющих антимуутагенной системы организма [14]. То есть, не исключено, что препарат Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм ингибирует активность цитохрома P=450, повышая тем самым иммунитет организма.

Исходя из вышесказанного, было проведено изучение действия препарата Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм в концентрации 0,1 мг/мл на культуру лимфоцитов периферической крови больных фибромиомами. В экспериментах, которые были поставлены в двух модификациях – без и с метаболической активацией, оценивали частоту метафаз с aberrациями и количество анеуплоидных клеток.

Необходимое условие нормальной жизнедеятельности соматической клетки - сохранение диплоидного хромосомного набора. Этот процесс обеспечивается специальной генетической программой, направленной на предупреждение преждевременного расхождения хромосом – ведущую причину образования анеуплоидного кариотипа клетки [15], так как уровень анеуплоидии отражает состояние клеточного гомеостаза и может быть использован для оценки резервных возможностей организма [16].

На сегодняшнее время выявлена положительная корреляционная связь между общим количеством aberrантных (метафаз с нарушениями в хромосомах) и анеуплоидных клеток (увеличение числа хромосом в клетке не отвечает их точному числу в гаплоидном наборе  $n$ , например:  $2n+3$ ,  $2n+4$ ) количеством и характером клонов аномальных клеток в лимфоцитах периферической крови и типом и стадией опухолевого процесса у больных раком молочной железы и желудочно-кишечного тракта [17,18]. Таким образом, увеличенное количество анеуплоидных клеток может свидетельствовать о возникновении изменений в геноме человека (нестабильность генома) – и, также, может быть дополнительным критерием возможности диагностирования опухолевого процесса в организме.

Полученные результаты представлены в таблицах 5- 6.

Таблица 5.

Модификация препаратом Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм культур лимфоцитов периферической крови больных фибромиомами без метаболической активации.

№	Контроль				Эрбисол <sup>®</sup> Ультрафарм			
	Всего		Частота		Всего		Частота	
	метафаз	Клеток с aberrациями	метафаз с aberrациями (% ± m)	анеуплоидных клеток %	метафаз	Клеток с aberrациями	метафаз с aberrациями (% ± m)	анеуплоидных клеток %
1	180	7	3,8 ± 1,4	20,0	160	5	3,1 ± 1,3	16,3
2	120	4	3,3 ± 1,6	14,5	75	2	2,6 ± 1,8	16,0
3	135	6	4,4 ± 1,7	18,5				
4	180	5	2,7 ± 1,2	14,5				
5	135	3	2,2 ± 1,2	12,5	200	7	3,5 ± 1,3	19,0
6	200	7	3,5 ± 1,3	20,5	200	6	3,0 ± 1,2	15,5
7	200	5	2,5 ± 1,1	13,5	100	3	3,0 ± 1,7	13,0
8	170	5	2,9 ± 1,2	14,1	125	3	2,4 ± 1,4	14,7
9	200	7	3,5 ± 1,3	17,0	150	5	3,3 ± 1,4	16,5
10	200	7	3,5 ± 1,3	15,0	200	6	3,0 ± 1,2	16,0
11	200	6	3,0 ± 1,2	16,5	100	4	4,0 ± 1,9	15,5
12	160	5	3,1 ± 1,3	12,5				
13	200	6	3,0 ± 1,2	16,5	200	7	3,5 ± 1,3	17,0
14	200	6	3,0 ± 1,2	21,0	200	6	3,0 ± 1,2	15,5
15	200	6	3,0 ± 1,2	16,0				
<b>Σ</b>	<b>2680</b>	<b>85</b>	<b>3,2 ± 0,3</b>	<b>16,2</b>	<b>1710</b>	<b>54</b>	<b>3,1 ± 0,4</b>	<b>15,9</b>

При действии препарата Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм на культуру лимфоцитов периферической крови, полученных у больных фибромиомами без метаболической активации не отмечалось статистически достоверного снижения частоты aberrаций хромосом и уровня анеуплоидных клеток. Наблюдалось снижение митотического индекса в ряде культур, которые были модифицированы препаратом Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм.

Таблица 6.

Модификация препаратом Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм культур лимфоцитов периферической крови больных фибромиомами с метаболической активацией.

№	Контроль				Эрбисол <sup>®</sup> Ультрафарм			
	Всего		Частота		Всего		Частота	
	метафаз	Клеток с абберациями	метафаз с абберациями (% ± m)	анеуплоидных клеток %	метафаз	Клеток с абберациями	метафаз с абберациями (% ± m)	анеуплоидных клеток %
1	180	7	3,8 ± 1,4	20,0	200	5	2,5 ± 1,1	14,0
2	120	4	3,3 ± 1,6	14,5	130	2	1,5 ± 1,1	14,0
3	135	6	4,4 ± 1,7	18,5	140	2	1,4 ± 0,9	16,4
4	180	5	2,7 ± 1,2	14,5	85	1	1,2 ± 1,1	15,2
5	135	3	2,2 ± 1,2	12,5	75	1	1,3 ± 1,3	12,5
6	200	7	3,5 ± 1,3	20,5	90	1	1,1 ± 1,0	11,1
7	200	5	2,5 ± 1,1	13,5	180	3	1,6 ± 0,9	11,0
8	170	5	2,9 ± 1,2	14,1	120	2	1,6 ± 1,1	13,2
9	200	7	3,5 ± 1,3	17,0	155	4	2,5 ± 1,2	12,5
10	200	7	3,5 ± 1,3	15,0	130	3	2,3 ± 1,3	10,9
11	200	6	3,0 ± 1,2	16,5	160	4	2,5 ± 1,2	11,3
12	160	5	3,1 ± 1,3	12,5	200	3	1,5 ± 0,8	9,5
13	200	6	3,0 ± 1,2	16,5	140	2	1,4 ± 0,9	12,1
14	200	6	3,0 ± 1,2	21,0	200	4	2,0 ± 0,9	15,3
15	200	6	3,0 ± 1,2	16,0	150	2	1,3 ± 0,9	12,0
<b>Σ</b>	<b>2680</b>	<b>85</b>	<b>3,2 ± 0,3</b>	<b>16,2</b>	<b>2155</b>	<b>39</b>	<b>1,7 ± 0,2*</b>	<b>12,7*</b>

\* p < 0,001

При действии препарата Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм на культуру лимфоцитов периферической крови, полученных у больных фибромиомами в эксперименте с метаболической активацией установлено статистически достоверное снижение частоты аббераций хромосом и уровня анеуплоидных клеток, что в очередной раз подтверждает способность препарата Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм предупреждать возникновение изменений в геноме человека и обеспечивать его стабильность.



## Выводы.

1. Препарат Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм не проявляет мутагенной активности в тесте на индукцию aberrаций хромосом в культуре лимфоцитов периферической крови человека *in vitro* без и с метаболической активацией.
2. Исследование активности препарата Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм при совместном культивировании с веществами, которые выступали в качестве положительного контроля в исследованиях мутагенной активности препарата: Митомицина С и Циклофосфана в тесте на индукцию aberrаций хромосом в культуре лимфоцитов периферической крови человека *in vitro* показало, что:
  - ни в одной из исследуемых концентраций при совместном культивировании препарата и Митомицина С, не наблюдалось статистически достоверного уменьшения количества aberrаций по сравнению с “чистой культурой” – Митомицином С.
  - при инкубации препарата Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм совместно с Циклофосфаном установлено снижение частоты aberrаций хромосом по сравнению с действием “чистой культурой” – Циклофосфаном.
3. В культурах лимфоцитов периферической крови больных фибромиомами, инкубированных *in vitro* с метаболической активацией совместно с препаратом Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм, наблюдается статистически достоверное снижение частоты aberrаций хромосом и количества анеуплоидных клеток, что может свидетельствовать о способности препарата Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм предупреждать возникновение изменений в геноме человека и обеспечивать его стабильность.
4. Препарат Эрбисол<sup>®</sup>Ультрафарм является метаболическим антимуагеном, так как антимуагенный эффект препарата наблюдается только в экспериментах с метаболической активацией: снижение частоты aberrаций хромосом по сравнению с действием “чистой культуры” – Циклофосфана; достоверное снижение частоты aberrаций хромосом и количества анеуплоидных клеток при добавлении препарата в культуру лимфоцитов периферической крови больных фибромиомами.

Препарат Ербісол<sup>®</sup>Ультрафарм є метаболічним антимуагеном, оскільки антимуагенний ефект його спостерігається тільки в експериментах з метаболічною активацією: зниження частоти aberrацій хромосом порівняно з дією “чистої культури” – Циклофосфану; достовірне зниження частоти aberrацій хромосом та кількості анеуплоїдних клітин при додаванні препарату до культур лімфоцитів периферичної крові хворих на фіброміоми *in vitro*.

The preparation Erbisol<sup>®</sup>Ultrafarm is metabolic antimutagene. The effect of antimutagene observe in the experiment with metabolic activity: decrease of chromosomes aberrations` frequency in action Cyclofosfane; the statistically authentic decrease of chromosomes aberrations` frequency and cells aneuploidy`s of the peripheral blood patients with fibroid by add preperation *in vitro*.

## Литература.

1. Алекперов Р.У. Антимутагенез. Теоретические и практические аспекты. //М. – Изд. “Наука”. – 1984. – 99с.
2. Дурнев А.Д., Середенин С.Б. Фармакологические проблемы поиска и применения антимутагенов //Вестник РАМН. – 1993. - № 1. – С. 19 – 26.
3. Hungerford D.A. Leucocytes cultured from small inocula of whole blood and preparation methaphase chromosomes by treatment with hypotonic KCl // Stain Techn. - 1965. - Vol. 40. - P. 333-338
4. Болтина И.В., Кравчук А.П. Метод изучения мутагенной активности веществ (метафазного анализа aberrаций хромосом в культуре лимфоцитов периферической крови человека) in vitro с метаболической активацией //Свідоцтво про державну реєстрацію прав автора на твір. - ПА № 4301. – 2001
5. Evans.H.J Human peripheral blood lymphocytes for the analysis of chromosome aberrations in mutagen test. // Handbook of mutagenicity test procedurs, second edition. Elsever Sci.Pub. -1984. - P. 405-427
6. Захаров А.Ф., Бенюш В.А., Кулешов Н.П. и др. Хромосомы человека: Атлас. - М.:Медицина. - 1982. - 264 с.
7. Болтина И.В. Метод подсчета анеуплоидных клеток при метафазном анализе aberrаций хромосом в культуре лимфоцитов периферической крови человека //Свідоцтво про державну реєстрацію прав автора на твір. - ПА № 8745. – 2003.
8. Maron D.M., Ames B.N., Revised methods for the Salmonella mutagenicity test //Mutat. Res. – 1983. – 113. - P. 173 – 215.
9. Куринный А.И. Влияние некоторых производных дитиокарбаминовой кислоты на хромосомы соматических клеток млекопитающих: Автореферат дис. кандидата биол. наук: 03.00.17 / Киев. Ин-т зоологии. К., 1972. –29 с.
10. Братівник Л.І. Оцінка мутагенної активності регуляторів росту рослин в культурі лімфоцитів людини // Тези доповіді II з’їзду медичних генетиків України - Львів. - 1995. – С. 24.
11. Пилинская М.А. Частота aberrаций хромосом у работников теплиц и чувствительность их лимфоцитов in vitro к цитогенетическому действию диматифа // Цитология и генетика. – 1985. - т. 19. - № 2. - С. 124 – 128
12. Порщенко Г.Г., Абилев С.К. Антропогенные мутагены и природные антимутагены// Итоги науки и техники. Общая генетика. – 1988. – т. 12 . – 205 с.
13. Порошенко Г.Г. Антимутагены: подходы к классификации и перспектива поиска активных соединений //Вестник РАМН. – 1995. - № 1. – С. – 38 – 41.
14. Руководство по краткосрочным тестам для выявления мутагенных и канцерогенных химических веществ. - ВОЗ. Женева. - 1989. – 210 с.
15. Акопян Г.Р. Аномальне розходження хромосом при гемобластозах у дітей //Тези доповіді науково-практичної конференції Проблеми онкогенетики: наукові та прикладні аспекти. – Київ. - 2002. – С. 4.
16. Дружинин В.Г., Минина В.И., Мокрушина Н.В. Цитогенетические нарушения у рабочих коксохимического производства //Медицина труда и промышленная экология. – 2000. - № 10. – С. 22 – 24.
17. Monakhov A., Semiglazov V., Bregneva T. Cutogenetic markers in 100 % of blood lymphocytes in three members of the family with high predisposition to cancer development //J. Exp. Clin. Cancer Res. - 1995. – Vol. 14. – P. 265 – 269.
18. Monakhov A., Gulyaev A., Savoshkina I. et al Medicogenetic and cytogenetic study of a family with high predisposition to malignant diseases in gastrointestinal tract //J. Exp. Clin. Cancer Res. – 1997. – Vol. 16. – P. 385 – 388.