УДК 571.27 + 615.838

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ РЕПАРАТИВНЫХ МЕТОДИК НА УРОВЕНЬ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРЕПАРАТОВ СЕРИИ «DR.NONA» (ИЗРАИЛЬ)

Лопатина А.Б.

ГОУ ВПО Пермский национальный исследовательский политехнический университет, Пермь, e-mail: panachev@pstu.ru

Данное исследование проведено для оценки эффективности восстановительного влияния репаративных методик на уровень внеклеточной ДНК с использованием препаратов серии «Dr.Nona» (Израиль). С этой целью были исследованы спортсмены после соревнований, у которых оценивали уровень внеклеточной ДНК. Повышение уровня внеклеточной ДНК в плазме крови является маркером гибели клеток, что связано со стрессом соревновательной деятельности и микротравматизацией тканей. Для контроля исследование внеклеточной ДНК проводили у спортсменов, которые не принимали участие в соревнованиях. Через 10 дней проведения восстановительных мероприятий у всех спортсменов второй, третьей, четвертой и пятой групп, было зафиксировано снижение повышенного после соревнований, уровня внеклеточной ДНК. Однако самое значительное и выраженное снижение повышенного уровня внеклеточной ДНК зафиксировано у спортсменов пятой группы, спортсмены которой принимали ДНК – регенерирующие препараты серии «Dr.Nona» (Израиль), что обусловлено их специфическим воздействием на синтез нуклеиновых кислот.

Ключевые слова: ДНК, антиоксиданты, восстановление, препараты серии «Dr.Nona» (Израиль)

THE EFFECTIVENESS OF THE REDUCING EFFECT OF DIFFERENT TYPES OF REPAIR TECHNIQUES TO THE LEVEL OF EXTRACELLULAR DNA USING «DR.NONA» SERIES OF DRUGS (ISRAEL)

Lopatina A.B.

Perm National Research Polytechnic University, Perm, e-mail: panachev@pstu.ru

This study was conducted to evaluate the effectiveness of the reducing effect of reparative techniques at the level of extracellular DNA using «Dr.Nona» series of drugs (Israel). To this end, the athletes were examined after the event in which the extracellular DNA levels were assessed. Increase of extracellular DNA in blood plasma is a marker of cell death that is associated with the stress of competitive activity and micro-traumas tissues. To control the extracellular DNA study conducted in athletes who did not take part in the competition. After 10 days of recovery programs for all athletes second, third, fourth and fifth groups were recorded decline increased after the competition, the level of extracellular DNA. However, the most significant and marked reduction of elevated levels of extracellular DNA recorded in the fifth group of athletes, which athletes took DNA – regenerating drugs «Dr. Nona» series (Israel), due to their specific effects on the synthesis of nucleic acids.

Keywords: DNA, antioxidants, restore, «Dr.Nona» series of drugs (Israel)

Многие виды патологии приводит к гибели клеток в организме, что приводит к циркуляции в плазме или сыворотке крови фрагментов внеклеточной ДНК, которая, как показывает ряд исследований [2], является маркером гибели клеток организма. Такими травмирующими состояниями являются любые повреждающие факторы: стресс, ишемия, травматизация тканей, или сочетание этих факторов. Выброс внеклеточной ДНК характерен для любого вида стресса, в том числе и психо-эмоционального, ишемической болезни сердца, включая острый инфаркт миокарда, при котором уровень внеклеточной ДНК повышается в 12 и более раз по сравнению с подобным нормального здорового человека [4].

Однако, при накоплении в крови значительных количеств внеклеточной ДНК, в организме активируются механизмы, направленные на удаление из кровообращения внеклеточной ДНК. Так, при ОИМ одновременно с увеличением концентрации внеклеточной ДНК, в крови наблюдается значительное возрастание эндонуклеазной активности, приводящее к деградации внеклеточной ДНК. Низкомолекулярные фрагменты внеклеточной ДНК реутилизируются клетками или выводятся почками. Наряду с этим, внеклеточной ДНК может выводиться из организма в виде иммунных комплексов с антителами, которые, как известно, вырабатываются к фрагментам внеклеточной ДНК. При развитии длительного хронического процесса, например, при ишемической болезни сердца (ИБС), не осложненной ОИМ, концентрация внеклеточной ДНК не всегда является маркером уровня гибели клеток организма, поскольку активированные системы элиминации снижают количество циркулирующей в организме внеклеточной ДНК, даже если уровень гибели клеток увеличен по сравнению с нормой [3].

Спортивная тренировка, особенно спортивная тренировка спортсменов высокого класса, является с одной стороны фактором, ведущим организма к наработке нового функционального состояния, более высокого уровня, а с другой стороны, применение околопредельных нагрузок является, прежде всего для организма разрушительным фактором, восстановление после которых, может занять длительное время. Чем более длительное время требуется организму спортсмена на восстановление, тем более высок риск утомления и истощения приспособительных механизмов. При условии того, что длительное время нахождения высоких концентраций внеклеточной ДНК в плазме крови активирует механизмы антигенной защиты, которые при определенных условиях разрегулироваться и функционировать с гиперфункцией, что чревато развитием аутоиммунных заболеваний, то скорейшее снижение повышенного уровня внеклеточной ДНК, является важной и актуальной задачей.

В настоящее время мало известно препаратов, влияющих непосредственно на восстановление ДНК и ее составляющих. Также мало известно методик, регулирующих неспецифические механизмы защиты, адаптационные процессы, процессы гомеостаза, обеспечивающие постоянство внутренней среды и гармоничную работу механизмов пролиферации и гибели клеток, а также процессов анаболизма и катаболизма. Предположительно, одними из таких препаратов, влияющих на регуляцию процессов восстановления на всех уровнях организма: молекулярном, субклеточном, клеточном, тканевом, системном и организменном, являются препараты серии «Dr.Nona» (Израиль), механизм действия которых, основан на нормализации синтеза нуклеиновых кислот, что в конечном итоге обеспечивает гармонизацию восстановительных процессов на всех уровнях от молекулярного до организменного.

Цель данной работы заключается в проверке гипотезы о восстановительном влиянии препаратов Dr.Nona (Израиль) на механизмы пролиферации и гибели клеток, что проявляется в снижении повышенного уровня внеклеточной ДНК в организме под воздействием различным факторов.

Поскольку изучение ДНК, ее состава, свойств и способов поведения в различных условиях, занимает все более актуальные и приоритетные позиции в современной науке, то развивается и сфера науки, уделяющая основное внимание изучению механизмов репарации ДНК и созданию препаратов, в основе своей заключающие такой механизм действия, который бы способствовал репарации регенерации ДНК. Одними из таких веществ являются препараты серии «Dr.Nona» (Израиль), в основе которых находится биоорганоминеральный комплекс Мертвого моря, который активирует программу репарации ДНК.

Учитывая тот важный фактор, что благодаря своему химическому составу Мертвое море обладает целебными свойствами, но в то же время бальнеотерапия в его водах и климатотерапия на его берегах доступна не всем и сопровождается необходимостью соблюдений мер предосторожности, учеными клиники «LENOM» (Израиль) разработан комплекс DN-1, включающий в себя гомогенат красных галобактерий (галофильных архебактерий), выделенных из воды Мертвого моря и его химические элементы. Также синтезирован модифицированный вариант комплекса DN-1 – DN-1м [8].

С помощью циклической вольтометрии показано, что гомогенат содержит гидрофильные и липофильные низкомолекулярные антиоксиданты. При анализе этого материала было выявлено наличие в нем большого количества каротеноидов, известных в качестве веществ, обладающих высокой антиоксидантной и противораковой активностью. На основании этих данных DN-1 и DN-1м были тестированы на их противораковую активность на культивируемых клетках аденокарциномы мышей (EMT-6).

Клеточную пролиферацию и выживание определяли MTS-способом для живых клеток. DN-1 и DN-1м использованы в 0,3–3 % растворах сырого гомогената, приготовленного в 7,5 %-м растворе соли (NaCl) – для DN-1 и 5 %-м – для DN-1м. Оба гомогената были цитотоксичны для раковых EMT-6 клеток, причем токсичность возрастала с увеличением концентрации гомогената. Не найдено никакого влияния гомогенатов на пролиферацию этих EMT-6 клеток.

Гомогенат усиливал летальное действие однократного облучения клеток в дозах 2, 4, 6 и 8 гр. Во всех экспериментах DN-1м был более эффективным, чем DN-1. Из всего этого можно заключить, что гомогенат красных галобактерий является цитотоксичным для клеток аденокарциномы мышей EMT-6, как интактных, так и облученных [10]. Проводимые в этом направлении дальнейшие исследования могут внести вклад в предотвращение и лечение рака, что также подтверждается нобелевскими лауреатами 2015 года по химии.

Данное наблюдение проходило в условиях соревновательной спортивной де-

ятельности, когда спортсменам высокого класса, непосредственно сразу после соревнований, проводилось исследование на предмет выявления уровня внеклеточной ДНК, количество которой повышалось непосредственно сразу после соревнований. В течение 10 дней после соревнований спортсмены проходили восстановительную программу, после чего вновь был исследован уровень внеклеточной ДНК, являющейся маркером повреждения и гибели клеток. Спортсмены были поделены на 5 групп, соответственно полу, возрасту, весовой категории, каждая из которых включала в себя 8 человек (по четверо мужчин и четверо женщин в каждой).

Для оценки достоверности результатов в исследовании также приняли спортсмены, готовившиеся к этим же соревнованиям, но не участвующие в них, то есть не испытывающие на себе стресса соревновательной нагрузки, но имеющие подобный уровень спортивной подготовленности. Эти спортсмены составили первую группу.

Ни у кого из спортсменов, принимавших участие в соревнованиях, не было зафиксировано спортивной травмы легкой, средней или тяжелой степени тяжести.

Однако, сама соревновательная деятельность подразумевает получение микротравм в момент выполнения соревновательной нагрузки, что и обусловливает повышение уровня внеклеточной ДНК непосредственно сразу после соревнований.

Спортсмены второй группы в течение 10 дней не принимали никаких специальных препаратов, восстановление же проходили согласно плана тренировочных и восстановительных мероприятий.

Спортсмены третьей группы в течение 10 дней принимали капсульный антиоксидант «Аевит» по 1 капсуле 1 раз в день утром после еды и 200 мл напитка неферментированного зеленого чая, приготовленного из расчета: 2 г чайного листа Camellia sinensis в 200 мл воды настоять в течение 1,5 минут при температуре 90 °С; обычные ванны с пресной водой индифферентной температуры, которые влияют на кровообращение вследствие давления на тело пациента значительной массы воды [1]. Способ проведения ванн: имеющуюся ванну, объемом 150-250 л испытуемые наполняли пресной водой температуры 35-37 °С и погружались в воду до уровня подбородка. Время приема ванной 12-15 минут. Процедуры проводили ежедневно, самостоятельно, в вечернее время, в течение 90 дней, ведя дневник самоконтроля [10]. После ванны для увлажнения на кожу тела наносили крем «Детский» ОАО «Свобода».

Участники четвертой группы в течение всего наблюдения принимали: капсульный антиоксидант «Аевит» по 1 капсуле 1 раз в день утром после еды и 200 мл напитка неферментированного зеленого чая, приготовленного из расчета: 2 г чайного листа Camellia sinensis в 200 мл воды настоять в течение 1,5 минут при температуре 90 °С; смешанные скипидарные ванны по схеме [5]: имеющуюся ванну, объемом 150-250 л, исследуемые наполняли пресной водой температуры 36-38 °С и добавляли смешанный скипидарный состав (белая скипидарная эмульсия и желтый скипидарный раствор в соотношении 1:1) по 10 мл. Время приема ванной 12-15 минут. Процедуры проводили ежедневно, самостоятельно, в вечернее время, в течение 10 дней, ведя дневник самоконтроля. Терпены, входящие в состав скипидара, оказывают местное раздражающее действие на кожу, что обусловливает активизацию микроциркуляции. Помимо этого, скипидарные ванны активируют выброс гистамина, который является мощным вазодилататором [9]. После ванны для увлажнения на кожу тела наносили крем «Детский» ОАО «Свобода».

Участники пятой группы принимали препараты клиники «LENOM» (Израиль), производства фирмы «Dr. Nona»: перорально [6] антиоксидант «Оксин» по 2 капсулы утром после еды и 200 мл чая «Гонсин», приготовленного из расчета: 1 пакет чая настоять в течение 1,5 минут при температуре 90 °С в 200 мл воды; ванны с «Квартетом солей Мертвого моря» по схеме: имеющуюся ванну, объемом 150-250 л, наполняли пресной водой температуры 36-38 °С и добавляли 1 ст. ложку соли «Квартета солей Мертвого моря» клиники «LENOM» (Израиль). Время приема ванн 12-15 минут. Процедуры проводили ежедневно, самостоятельно, в вечернее время, в течение 10 дней, ведя дневник самоконтроля. Соль, растворенная в воде ванной, повышает плотность воды, которая становится слабосолевым раствором, что оказывает большее давление на микрососуды кожи и усиливает их сократительную способность и скорость кровотока. Показано, что бальнеологическое применение «Квартета солей» Мертвого моря эффективно ускоряет восстановление микроциркуляции. После приема ванны испытуемые наносили на кожу тела регенерирующий крем «Солярис» [9].

Полученные данные были обработаны с помощью пакета «Biostat».

Для настоящего исследования использовали сыворотку крови спортсменов. Сыворотку периферической крови получали

не позднее, чем через 3 часа после развития соревнований.

Определение концентрации внеклеточной ДНК в сыворотке проходило по следующей методике: к 0,5 мл сыворотки (для каждого образца – две параллельные пробы) добавляли 100 мкл лизирующего буфера (0,25 М ЭДТА, 5 % лаурилсаркозилат натрия) и РНКазу А (75 мкг/мл), инкубировали 1 час при 37 °С. Добавляли протеиназу К (200 мкг/мл) и инкубировали при 37 °С в течение 24–48 часов. Далее проводили стандартную процедуру фенольной экстракции. При хорошем протеиназном гидролизе обязательно должен отсутствовать белый осадок на границе раздела фаз, в противном случае выход вкДНК снижается. ДНК осаждали этанолом в присутствие носителя (tРНК E. coli) и 2 М ацетата аммония, осадок промывали 75 % водным раствором этанола. ВкДНК растворяли в 30 мкл воды. Измерение концентрации вкДНК проводили стандартным методом флуоресценции связанного с ДНК красителя Hoechst 33528 на приборе «LS 55» («PerkinElmer», Англия). Чтобы избежать влияния возможных белковых примесей на флуоресценцию вкДНК в комплексе с красителем, флуоресценцию измеряли до и после исчерпывающего гидролиза вкДНК ДНКазой 1. Относительная стандартная ошибка метода измерения концентрации составляет 3 %. Относительная стандартная ошибка определения концентрации вкДНК в сыворотке определяется, в основном, процедурой выделения ДНК и составляет 12 ± 5 % от измеряемой величины [4].

Результаты наблюдений приведены в таблице.

Исходно у всех спортсменов всех групп определен уровень внеклеточной ДНК. Для сравнения влияния соревновательной деятельности на процессы пролиферации и гибели клеток в момент выполнения физической нагрузки соревновательного уровня, проводилось сравнение спортсменов не соревновавшихся, со спортсменами, участвовавшими в соревнованиях.

Исходно у спортсменов, не участвовавших в соревнованиях, выявлен среднестатистический уровень внеклеточной ДНК в плазме крови, что свидетельствует о высоких приспособительных возможностях организма спортсменов. Чрез 10 дней уровень внеклеточной ДНК в плазме крови сохраняется примерно на тех же величинах.

У спортсменов, участвовавших в соревнованиях, непосредственно после соревнований, зафиксирован повышенный, по сравнению с уровнем внеклеточной ДНК у спортсменов первой группы, показатель маркера гибели клеток, что связано со стрессом проделанной соревновательной нагрузки и микротравматизацией тканей во время соревновательной деятельности.

Через 10 дней проведения восстановительных мероприятий у всех спортсменов второй, третьей, четвертой и пятой групп, было зафиксировано снижение повышенного после соревнований, уровня внеклеточной ДНК. Однако самое значительное и выраженное снижение повышенного уровня внеклеточной ДНК зафиксировано у спортсменов пятой группы, спортсмены которой принимали ДНК – регенерирующие препараты серии «Dr.Nona» (Израиль), что обусловлено их специфическим воздействием на синтез нуклеиновых кислот.

Динамика концентрации внеклеточной ДНК у практически здоровых испытуемых, у испытуемых контрольной группы, групп наблюдаемых, принимающих традиционные антиоксиданты, группы, принимающей антиоксиданты и скипидарные ванны и группы, принимающей препараты Dr.Nona (Израиль) исходно и через 10 дней от начала исследования

Дни исследования	Практически здоровые испытуемые	Контрольная группа	Группа, принимающая антиоксиданты	Группа, принимающая Скипидарные ванны	Группа, принимающая препараты Dr.Nona (Израиль)
Уровень внеклеточной ДНК в начале исследования, нг/мл	141 ± 42	267 ± 89	259 ± 90	263 ± 88	269 ± 91
Уровень внеклеточной ДНК через 10 дней от начала исследования, нг/мл	139 ± 36	231 ± 73	226 ± 64	242 ± 68	132 ± 58

Примечание. * $p < 0,05$ достоверность отличий между показателями исходно и через 10 дней от начала исследования.

Заключение данной работы может быть основано на проведенных работах по изучению механизма действия препаратов серии «Dr.Nona» (Израиль), показывающих их восстановительное влияние на ДНК, ее репарацию и активацию синтеза нуклеиновых кислот. Как показывают результаты проведенного исследования, препараты серии «Dr.Nona» (Израиль), более эффективны в применении по сравнению с традиционными антиоксидантами в сочетании с пресными или скипидарными ваннами, что подтверждает гипотезу о восстановительном влиянии препаратов серии «Dr.Nona» (Израиль) на ДНК.

Таким образом, результаты данного исследования показывают эффективность восстановительного влияния препаратов серии «Dr.Nona» (Израиль) на уровень внеклеточной ДНК после соревновательного стресса по сравнению с применением ряда других восстановительных методик.

Поскольку достоверных отличий в динамике исследуемых показателей у испытуемых всех групп не выявлено, но становится очевидным факт более значительного, по сравнению с первыми четырьмя группами, снижения количества внеклеточной ДНК у лиц, входящих в пятую группу, практикующих использование препаратов «Dr.Nona» (Израиль), то следует сделать выводы о необходимости проведения подобных исследований в рамках большого клинического исследования на выборке испытуемых превышающей представленную, что, в свою очередь, связано с определенными организационными сложностями. Такими сложностями могут быть и отсутствие наличия однородного контингента лиц, на которых можно было проводить подобное испытание и которые бы дали свое согласие на проведение подобного исследования. Помимо этого, проведение подобного исследования связано с его значительным удорожанием.

Список литературы

1. Абрамович С.Г., Адилов В.В., Антипенко П.В. и др. Физиотерапия: национальное руководство / Под ред. Г.Н. Пономаренко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 854 с.

2. Вейко Н.Н., Костюк С.В., Ермаков А.В., Калашникова Е.А., Рязанцева Т.А., Сперанский А.И. (2007) Бюлл. Экспер. Биол. Мед., 144, 277–282.

3. Вейко Н.Н., Спитковский Д.М. (2000) Радиационная биология. Радиоэкология, 40, С. 396–404.

4. Вейко Н.Н., Шубаева Н.О., Иванова С.М., Сперанский А.И., Ляпунова Н.А., Спитковский Д.М. (2006) Бюлл. Экспер. Биол. Мед., 143, 282–285.

5. Вейко Н.Н., Еголина Н.А., Радзивил Г.Г., Нурбаев С.Д., Косякова Н.В., Шубаева Н.О., Ляпунова Н.А. (2003) Мол. биология, 37, 409–419.

6. Залманов А.С. Тайная мудрость человеческого организма (глубинная медицина). – М.: Мол. гвардия, Дидакт, 1991 – 224 с.

7. Клиническая апробация препаратов фирмы «Dr. Nona International LTD». Отчеты учреждений исполнителей. – М.: РАДЭКОН, 1997 – 264 с.

8. Лопатина А.Б. Химическое обеспечение механизмов репарации ДНК микробиологических систем // Успехи современного естествознания. – 2015. – № 12. – С. 37–41.

9. Лопатина А.Б. Особенности химического состава Мертвого моря и свойства комплекса DN-1 // Успехи современного естествознания. – 2015. – № 11-2. – С. 149–152.

10. Лопатина А.Б. Оценка эффективности применения капилляротерапии с помощью препаратов клиники «LENOM» (Израиль) для восстановления барьерной функции капилляров // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 6; URL: http://www.science-education.ru/130-22771.

11. Пономаренко Г.Н. Физические методы лечения: Справочник. – СПб., 1999. – 234 с.