

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ НА КЛЕТКИ БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ ШКОЛЬНИКОВ С ПОМОЩЬЮ МИКРОЯДЕРНОГО ТЕСТА

Баранов Д.Ю. Email: Baranov663@scientifictext.ru

Баранов Денис Юрьевич – магистрант,
кафедра физики,

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования
Севастопольский государственный университет, г. Севастополь

Аннотация: изучение влияния факторов различного происхождения на человеческий организм с помощью микроядерного теста является перспективным направлением развития науки. Работа посвящена исследованию состояния генетического аппарата школьников, отдыхающих в ФГБОУ «Артек» и, как следствие, определению испытуемых, наиболее подверженных смене обстановки. Приготовлены микропрепараты для проведения микроядерного теста. Методом световой микроскопии был проведен анализ количества и характера ядерных нарушений. Проведена сравнительная характеристика и интерпретация полученных результатов.

Ключевые слова: световая микроскопия, микроядерный тест, клетки буккального эпителия.

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF DIFFERENT FACTORS ON BUCCAL CELLS OF SCHOOLCHILDREN BY USING MICRONUCLEUS TEST Baranov D.Yu.

Baranov Denis Yurievich – Undergraduate,
DEPARTMENT OF PHYSICS,

FEDERAL STATE AUTONOMOUS EDUCATIONAL INSTITUTION OF HIGHER PROFESSIONAL EDUCATION
SEVASTOPOL STATE UNIVERSITY, SEVASTOPOL

Abstract: the study of factors influence on human body by using micronucleus test is a promising area of science. The research is devoted to investigation of the consequences of staying students in ICC "Artek" on their genetic apparatus. Microscope slides were prepared to conduct micronucleus test. Then quantity and quality of abnormal cells were identified by using light microscopy. In the end, comparative characteristics and objective interpretation of the results was carried out.

Keywords: light microscopy, micronucleus test, buccal cells.

УДК 576.08:575.224

Введение. Человеческий организм постоянно находится под воздействием множества факторов окружающей среды, имеющих как естественное (абиотические и биотические факторы), так и антропогенное происхождение. Человек не всегда может ощущать их воздействие на себе, но на клеточном уровне оно отражается практически сразу. В настоящее время активно изучается влияние факторов различной этиологии (антропогенного загрязнения, профессиональных болезней, различных видов излучения, образа жизни, ряда заболеваний, стресса и пр.) на генетический аппарат человека с помощью микроядерного теста буккального эпителия. Обсуждаются последствия влияния психоэмоционального стресса на генетическую систему организма. В тоже время, этот вопрос остается не до конца изученным.

Дети среднего и старшего школьного возраста могут быть подвержены стрессу по всевозможным причинам. К наиболее распространенным относятся:

- необходимость заниматься внеурочной деятельностью, в т.ч. хобби;
- абиотическое воздействие, вызванное переменой климата;
- неблагоприятная психологическая обстановка в семье и классе;
- смена места жительства либо учебного заведения;
- нахождение в больнице, образовательном учреждении, детском оздоровительном лагере без присутствия родителей.

Исследование проводилось в рамках программы «Физика живых систем», реализуемой ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет» в ФГБОУ «Артек». В работе проведено исследование состояния генетического аппарата школьников, отдыхающих в «Артеке», и как следствие, определение испытуемых, наиболее подверженных смене обстановки.

Материалы и методы. Микроядерный тест клеток буккального эпителия ротовой полости появился сравнительно недавно [1] и стал одним из широко применяемых методов оценки генетического гомеостаза организма человека и животных, скрининга химических соединений и физических факторов

на генотоксичность. Это обусловлено тем, что микроядерный тест является быстрым, легким, не травматичным, рентабельным, позволяющим проводить неограниченное число обследований в течение жизни, не требующим специального оборудования для культивации клеток [2,3].

Исследование проводилось на 10 школьников, отдыхающих в Артеке. Возраст испытуемых – от 11 до 14 лет. Каждый донор проводил самостоятельно сбор клеток с внутренней стороны щеки с помощью пластиковой одноразовой палочки. Клетки окрашивали в течение 10 мин красителем «Азур-эозин по Романовскому-Гимза». Далее промывали дистиллированной водой и просушивали. В конечном счете, клетки просматривались под микроскопом МикМед-6 с увеличением 400 (рис. 1). У каждого донора было рассмотрено более 500 отдельно лежащих клеток.

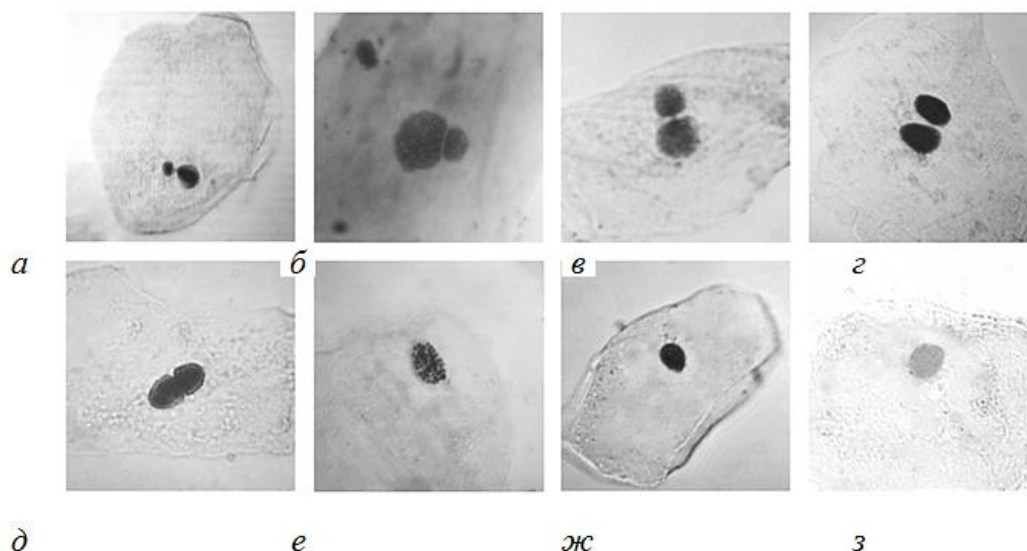


Рис. 1. Окрашенные клетки буккального эпителия с нарушениями: а) микроядро, б) протрузия типа «Разбитое яйцо», в) протрузия типа «Высунутый язык», г) двуядерная клетка, д) ядро с круговой насечкой, е) кариорексис, ж) кариопикноз, з) кариолизис

В исследовании рассматривались следующие типы ядерных аномалий: цитогенетические, пролиферационные и деструкционные.

К цитогенетическим показателям относятся:

- микроядро (маленькое дополнительное ядро рядом с основным);
- протрузии типа «разбитое яйцо» (ПРЯ) и «язык» (ПВЯ) очень схожи с микроядром, но связаны мостиками нуклеоплазмы с основным ядром.

Пролиферативные показатели (или показатели интенсивного деления) включают:

- двуядерные клетки, имеющие два отдельно лежащие ядра (результат воздействия на последние стадии деления клетки);
- ядра с круговой насечкой (возникают в процессе незаконченного деления).

К деструкционным показателям ядерных аномалий относят:

- кариопикноз (дегенеративное изменение ядра, сопровождающееся уменьшением размера не менее чем в 2 раза, интенсивным и гомогенным окрашиванием и уплотнением);
- кариорексис (сопутствует разрушению ядра на индивидуальные интенсивно окрашенные фрагменты с гомогенной структурой);
- кариолизис (модификация ядра клетки, сопровождающееся утратой хроматина способности окрашиваться и полного исчезновения).

Результаты и обсуждение. В таблице 1 приведены основные сведения об испытуемых, полученные с помощью анкетирования. Результаты исследований представлены в таблице 2.

Таблица 1. Общие сведения об испытуемых

Пол	№ п/п	Возраст	Вид деятельности
М	1	13	спорт, отличник
	2	13	спорт
	3	12	спорт, музыка
	4	14	программирование, физ.-мат.
	5	13	парусный спорт, командир отряда

Ж	6	11	танцы, отличница
	7	12	танцы, отличница
	8	12	танцы
	9	12	танцы, отличница
	10	12	танцы, отличница

Таблица 2. Результаты анализа микропрепаратов испытуемых (в %)

Вид ядерного нарушения	Число нарушений по номерам доноров										Всего
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Микроядро											0.00
ПРЯ							4.36				4.36
ПВЯ					3.85						3.85
Двухядерная	5.00	1.96	5.91	11.86	15.41	7.84	1.45		1.95	3.87	55.26
Кр. насечка	7.50				1.93						9.43
Кариопикноз		1.96	3.94		1.93			1.98	1.95	1.93	13.69
Кариорексис	7.50				5.78	3.92					17.20
Кариолизис	22.50	11.79	3.94								38.22
Общее кол-во	42.50	15.72	13.78	11.86	28.90	11.76	5.81	1.98	3.90	5.80	142.01

Из таблицы очевидно, что практически у всех доноров присутствуют двухядерные клетки. Возможно, это связано с процессами активного клеточного деления в юном возрасте испытуемых.

На диаграмме (рис. 2, а) показано распределение клеточных нарушений по типам. Видно, что среди общего количества наибольшая доля у двухядерных клеток, относящихся к пролиферативным показателям. Также чаще, чем другие, встречаются клетки с кариолизисом и кариопикнозом, относящиеся к деструкционной группе.

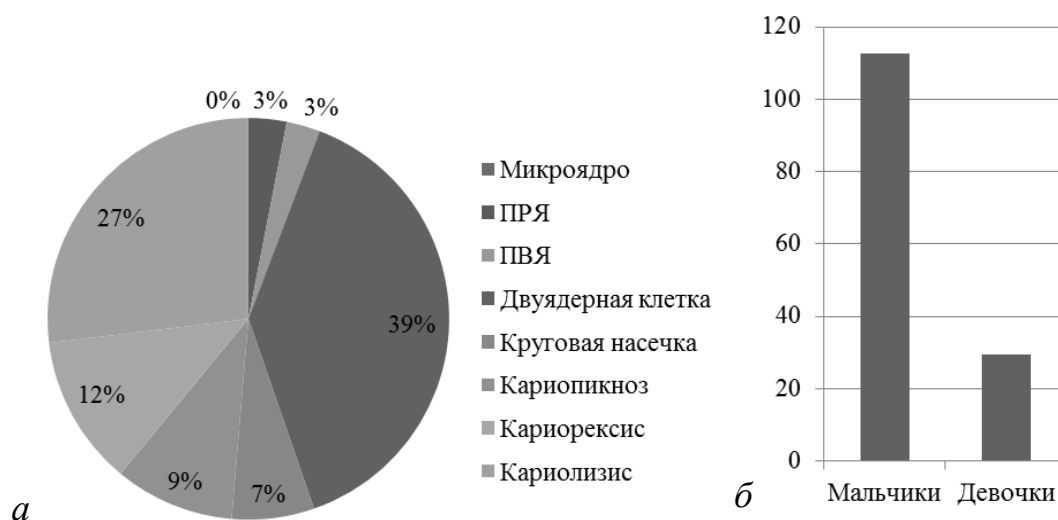


Рис. 2. Количество нарушений разных типов от общего числа нарушений для всех доноров (а); гистограмма нарушений у мальчиков и девочек (б)

Из гистограммы (рис.2, б) видно, что у девочек выявлено меньше нарушений, чем у мальчиков.

Наибольшее количество нарушений было обнаружено у мальчика с плохим самочувствием (табл.2, №1).

Также большое количество нарушений нашли у командира отряда (табл. 2, № 5), что может быть связано с дополнительной нагрузкой и его ответственным отношением к делу.

Интересно отметить, что меньше всего нарушений у девочек, которые занимаются танцами. Возможно, это является следствием того, что они привыкли к быстрой смене обстановки и выступлениям перед публикой. Т.о., они более стрессоустойчивые, чем другие дети.

Полученные данные вносят вклад в решение задачи оптимизации психофизиологического состояния детей, отдыхающих в детских лагерях. Результаты данной работы могут быть учтены при создании методик снижения риска эмоциональных срывов детей.

Список литературы / References

1. *Sarto F.* The micronucleus assay in exfoliated cells of the human buccal mucosa / F. Sarto, S. Finotto, I. Giacomelli // *Mutagenesis*, 1987. Vol. 2. № 1. P. 11–17.
2. *Калаев В.Н.* Микроядерный тест буккального эпителия ротовой полости человека: монография / В.Н. Калаев, М.С. Нечаева, Е.А. Калаева; Воронежский государственный университет. Воронеж: Издательский дом ВГУ, 2016. 136 с.
3. *Калаев В.Н.* Исследование влияния магнитных бурь на состояние клеток буккального эпителия человека / В.Н. Калаев, Д.Ю. Баранов, В.А. Гаврилова, А.О. Лантушенко // *Актуальные вопросы биологической физики и химии*, 2018. Том 3. № 4. С. 906-909.
- 4.