

## ЦИТОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 612.014.2.064:613.841.086

Дерюгина А.В.<sup>1</sup>, Иващенко М.Н.<sup>2</sup>, Игнатьев П.С.<sup>3</sup>, Самоделкин А.Г.<sup>2</sup>, Белов А.А.<sup>4</sup>, Гуцин В.А.<sup>2</sup>

### ОЦЕНКА ГЕНОТОКСИЧНЫХ ЭФФЕКТОВ В БУККАЛЬНОМ ЭПИТЕЛИИ ПРИ НАРУШЕНИЯХ АДАПТАЦИОННОГО СТАТУСА ОРГАНИЗМА

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», кафедра физиологии и анатомии, 603950, Нижний Новгород, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия» Министерства сельского хозяйства РФ, кафедра физиологии и биохимии животных, 603107, Нижний Новгород, Россия;

<sup>3</sup>АО «Производственное объединение «Уральский оптико-механический завод им. Э.С. Яламова», 620100, Екатеринбург, Россия;

<sup>4</sup>ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава РФ, 603081, Нижний Новгород, Россия

*Одним из методов оценки адаптационного статуса организма и ксеногенной интоксикации является цитоморфологическое исследование буккального эпителия. Изучение реактивности клеток буккального эпителия используют для получения информации о генетических изменениях в клетках человека, что крайне необходимо для принятия грамотных решений по вопросам охраны здоровья населения. При курении наблюдается напряжение механизмов адаптации и значительно повышается риск развития цитогенетических нарушений в клетках эпителия слизистой оболочки полости рта. Проведено исследование морфологии буккальных эпителиоцитов курящих юношей. В цитограмме выявлено достоверное снижение числа нормальных клеток, увеличение доли клеток с различными цитогенетическими изменениями. Более чем в два раза чаще встречаются клетки с микроядрами, что является интегративным показателем генетических нарушений в интерфазе. Из клеток с признаками завершения деструкции ядра у курящих достоверно чаще регистрируются клетки с кариорексисом.*

*Результаты микроядерного теста являются неблагоприятным прогностическим признаком, свидетельствуют о высокой степени генотоксичности табачного дыма, могут говорить о нарушении цитогенетического гомеостаза и снижении адаптационного резерва организма.*

**Ключевые слова:** буккальный эпителий, табачный дым, микроядерный тест, апоптоз, цитоморфология.

**Для цитирования:** Дерюгина А.В., Иващенко М.Н., Игнатьев П.С., Самоделкин А.Г., Белов А.А., Гуцин В.А. Оценка генотоксичных эффектов в буккальном эпителии при нарушениях адаптационного статуса организма. Клиническая лабораторная диагностика. 2018;63 (5): 290-292. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-5-290-292>

*Deryugina A.V.<sup>1</sup>, Ivashchenko M.N.<sup>2</sup>, Ignatiev P.S.<sup>3</sup>, Samodelkin A.G.<sup>2</sup>, Belov A.A.<sup>4</sup>, Gushchin V.A.<sup>2</sup>*

THE EVALUATION OF GENOTOXIC EFFECTS IN BUCCAL EPITHELIUM UNDER DISORDERS OF ADAPTION STATUS OF ORGANISM

<sup>1</sup>The Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Lobachevsky State university of Nizhny Novgorod", 603950, Nizhny Novgorod, Russia

<sup>2</sup>The Federal State Budget Educational Institution of Higher Education "The Nizhny Novgorod State Agricultural Academy" of Minselkhoz of Russia, 603950, Nizhny Novgorod, Russia

<sup>3</sup>The Joint-Stock Company "The Production Association "The E.S. Yalamov Ural Optical Mechanical Plant", 620100, Yekaterinburg, Russia

<sup>4</sup>The Federal State Budget Educational Institution of Higher Education "The Nizhny Novgorod State Medical Academy" of Minzdrav of Russia, 603081, Nizhny Novgorod, Russia

*The cyto-morphologic analysis of buccal epithelium is one of technique of evaluation of adaptation status of organism and xenogeneic intoxication. The analysis of reactivity of cells of buccal epithelium is used to obtain information concerning genetic alterations in human cells that is extremely important for proper decision making related to issues of population health protection. The smoking results in manifestation of tension of adaptation mechanisms and significant increasing of risk of development cytogenetic disorders in cells of buccal epithelium of oral cavity. The study was carried out concerning morphology of buccal epithelial cells of smoking youths. The cytogram demonstrated a reliable decreasing of number of normal cells and increasing of percentage of cells with various cytogenetic alterations. The cells with micro-nuclei are observed twice more often that can be considered as an integral indicator of genetic disorders in inter phase. In smokers, among cells with signs of completion of nucleus destruction the cells with karyorrhesis are registered reliably more often. The results of micro-nucleus test are an unfavorable prognostic indication testifying high degree of genotoxicity of tobacco smoke and meaning a disorder of cytogenetic homeostasis and decreasing of adaptation reserve of organism.*

**Keywords:** buccal epithelium; tobacco smoke; micro-nucleus test; apoptosis; cytomorphology.

**For citation:** Deryugina A.V., Ivashchenko M.N., Ignatiev P.S., Samodelkin A.G., Belov A.A., Gushchin V.A. The evaluation of genotoxic effects in buccal epithelium under disorders of adaption status of organism. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2018; 63(5): 290-292. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-5-290-292>

**For correspondence:** Ivashchenko M.N., associate professor of the chair of Physiology and Biochemistry of Animals of the Federal State Budget Educational Institution of Higher Education "The Nizhny Novgorod State Agricultural Academy", e-mail: [mi11207@rambler.ru](mailto:mi11207@rambler.ru)

**Conflict of interests.** The authors declare absence of conflict of interests.

**Acknowledgment.** The study had no sponsor support.

Received 15.12.2017  
 Accepted 16.01.2018

**Введение.** Функциональные параметры зрелых клеток эпителия полости рта (в частности, буккального) регулируются факторами местного и центрального происхождения, и их состояние отражает характер дестабилизационных процессов на местном и системном (дистантном) уровнях [1]. Исследование микроядерного теста буккального эпителия является методом оценки адаптационного статуса организма и ксеногенной интоксикации. Кроме того, изучение реактивности клеток буккального эпителия используют для получения информации о генетических изменениях в клетках человека. Оценка генотоксичности различных эндогенных факторов крайне необходима для принятия грамотных решений по вопросам охраны здоровья населения [2].

Напряжение механизмов адаптации наблюдается при курении. Буккальный эпителий ротовой полости в силу своих анатомо-топографических особенностей первым подвергается воздействию курения. Различные компоненты, входящие в состав табачного дыма негативно влияют на строение, функции слизистой оболочки полости рта и рассматриваются как этиологические факторы предрака с последующей малигнизацией. Показано, что курение значительно повышает риск развития цитогенетических нарушений в клетках эпителия слизистой оболочки полости рта, перевода курящего из группы умеренного риска в группу высокого риска [3]. Цитоморфологически это выражается в двукратном повышении числа клеток с признаками нарушения процесса пролиферации и клеток с признаками деструкции по типу некроза. Однако данные исследования затрагивают лиц юношеского возраста со стажем курения до 5 лет [4]. Представляется крайне важным оценка генотоксических эффектов на организм человека длительного воздействия табачного дыма при курении, как фактора вызывающего значительные нарушения адаптационных процессов и причин многих тяжелых заболеваний.

Целью работы ставилось изучение влияния табакокурения на буккальные эпителиоциты юношей со стажем курения более 5 лет.

**Материал и методы.** В ходе проведенного исследования был выполнен микроядерный анализ буккального эпителия у 18 юношей. Экспериментальную группу составили девять юношей в возрасте от 20 до 26 лет со стажем курения 5-7 лет, которые выкуривали 10-12 сигарет в сутки. Контрольную группу составили девять некурящих юношей того же возраста. Забор материала производили в одно и то же время.

В исследование не включались молодые люди, страдающие соматической патологией, со стоматологическими проблемами, злоупотребляющие алкогольными

напитками, а также с неблагоприятным аллергоанамнезом.

Эпителий забирался шпателем с последующим переносом на предметное стекло и высушиванием при открытом доступе воздуха в течение 35 минут. Окраску материала проводили по Гимзе — Романовскому, с последующим микроскопическим анализом на микроскопе «Олимпус» при увеличении  $100 \times 1,5 \times 1,0$ . От каждого обследованного было проанализировано не менее 1000 нормальных эпителиоцитов.

На препаратах учитывали цитогенетические показатели (клетки с микроядрами и атипичной формой ядра), показатели пролиферации (двумя и более ядрами), показатели деструкции ядра.

Математическая обработка проведена методом вариационной статистики с расчетом среднего значения (M), ошибки средней (m) и определением достоверности различий по t-критерию Стьюдента. Статистический анализ полученных результатов выполняли с использованием программы Microsoft Exel и пакета прикладных программ Statistika версия 6.0.

**Результаты.** В таблице отображено среднее число клеток из 1000 учтенных в поле зрения, в том числе с выявленными патологиями ядра. В биоматериале экспериментальной группы выявлено статистически значимо меньше клеток нормы и больше клеток с разными признаками цитоморфологических патологий, чем у контрольной группы обследуемых. В частности, клеток с морфологически нормальными ядрами у курящих в три раза меньше, чем у некурящих.

Цитогенетические аномалии клеток буккального эпителия у представителей экспериментальной группы зарегистрированы чаще, чем у представителей контрольной группы ( $p < 0,05$ ). В первую очередь это касается клеток с микроядрами. Увеличение числа клеток

**Особенности цитоморфологии клеток буккального эпителия у курящих и некурящих лиц (среднее число клеток из 1000 учтенных в поле зрения)**

Цитоморфологические показатели	Экспериментальная группа	Контрольная группа
норма	95,11±19,07*	317,09±44,09
микроядерность	102,39±4,19*	58,68±7,49
атипичная форма ядра	74,29±4,42*	31,69±4,58
двужаберность	78,09±4,39*	47,51±5,07
вакуолизация ядра	49,38±5,28*	10,28±3,27
кариорексис	59,24±4,14*	30,77±5,90
кариопикноз	69,35±8,15	76,24±9,01
кариолизис	94,78±5,30	89,28±7,05

Примечание: \* – достоверное различие с показателями контрольной группы.

с микроядрами считается интегративным показателем генетических нарушений в интерфазных ядрах у лиц, подверженных генотоксическим и цитотоксическим воздействиям экзогенных факторов. По данным Д. А. Ильина [5], появление многоядерных клеток в организме является результатом слияния друг с другом нескольких клеток или результатом нарушения самого процесса цитотомии, что связано с влиянием стрессирующих факторов внешней среды. По данным Л. В. Китаевой [6], микроядра образуются в результате нарушения клеточного деления или фрагментации ядра. Причинами формирования микроядер могут служить воздействия тяжелых металлов, входящих в состав табачного дыма, в ряде работ, микроядерность рассматривается как ранний признак онкопроцесса [4].

Клетки с атипичной формой ядра встречались в цитограммах курящих в два раза чаще, чем у некурящих. Возможной причиной формирования атипичной формы ядра являются хромосомные мутации. Морфологические признаки нарушения пролиферации в полтора раза чаще отмечены в биоматериале представителей экспериментальной группы. Увеличение количества двуядерных клеток буккального эпителия, является результатом полиплоидизирующего ацитокINETического митоза, представляя собой естественный ответ на экотоксичность. Возрастание частоты встречаемости двуядерных клеток в буккальном эпителии по сравнению с контрольной группой свидетельствует о низкой эффективности работы механизма программируемой гибели клеток (апоптоза), призванного элиминировать дефектный генетический материал, что служит неблагоприятным прогностическим признаком [7] и может свидетельствовать о высокой степени генотоксичности табачного дыма.

О нарушении естественной стимуляции процессов апоптоза буккальных эпителиоцитов путем воздействия цитотоксических и генотоксических экзогенных факторов свидетельствует признак завершения деструкции ядра - статистически значимое повышение количества клеток с кариорексисом у курящих юношей.

**Заключение.** Результаты микроядерного теста являются неблагоприятным прогностическим признаком и свидетельствуют о высокой степени генотоксичности табачного дыма при длительном курении (5 и более лет). Цитогенетические нарушения в буккальном эпителии у курящих лиц, могут говорить о нарушении цитогенетического гомеостаза, снижении адаптационного резерва и иммунного статуса организма, что, в свою очередь, может рассматриваться как состояние предболезни.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Цепов Л.М., Левченков Н.С., Золотарева О.Н. Цитогенетические показатели и электрокинетическая подвижность ядер клеток буккального эпителия в оценке состояния пародонта. *Стоматология*. 1999; 3: 7—8.
2. Левински М.В., Калаев В.Н., Буторина А.К. Анализ встречаемости клеток с микроядрами в буккальном эпителии и уровень сывороточных антител среди детского и взрослого населения, проживающего в различных районах города Кишинева. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2008; 2: 12-7.
3. Шилова Ю. Н. Профилактика заболеваний слизистой оболочки полости рта у курящих лиц с использованием озона: Дис. ... канд. мед наук. Новосибирск; 2007.
4. Молокова Ю. П. Особенности цитоморфологии буккального эпителия курящих лиц юношеского возраста. *Вестник МГОУ. Серия: Естественные науки*. 2017; 1: 21-30.
5. Ильин Д. А. *Многоядерные макрофаги*. Новосибирск: Наука; 2011.
6. Китаева Л.В., Михайлова И.А., Семов Д.М. Мукоциты с микроядрами и обсемененность кокковыми формами *Helicobacter pylori* в слизистой оболочке желудка человека. *Цитология*. 2008; 2: 160-4.
7. Петрашова Д.А., Белишева Н.К., Пелевина И.И. Генотоксические эффекты в буккальном эпителии горняков, работающих в условиях облучения природными источниками ионизирующего излучения. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2011; 13: 1792-6.

## REFERENCES

1. Tsepov L.M., Levchenkov N.S., Zolotareva O.N. Cytogenetic indices and the electrokinetic mobility of the nuclei of cells of buccal epithelium in the assessment of periodontal. *Stomatologija*. 1999; 3: 7—8. (in Russian)
2. Levinski M.V., Kalaev V.N., Butorina A.K. Analysis of frequency of cells with micronuclei in bukkaalno epithelium and the levels of serum antibodies among children and adults living in different parts of the city of Chisinau. *Kurskij nauchno-prakticheskij vestnik "Chelovek i ego zdorov'e"*. 2008; 2: 12-7. (in Russian)
3. Shilova Ju. N. Prevention of diseases of the mucosa of the oral cavity in smokers with ozone: Diss. [Profilaktika zabolevanij slizistoj obolochki polosti rta u kurjashhih lic s ispol'zovaniem ozona]. Dis. Novosibirsk; 2007. (in Russian)
4. Molokova Ju.P. Features, cytomorphy of buccal epithelium of smokers of teenagers. *Vestnik MGOU. Serija: Estestvennye nauki*. 2017; 1: 21-30. (in Russian)
5. Il'in D. A. *Multinucleated macrophages* [Mnogojadernye makrofa-gi]. Novosibirsk: Nauka; 2011. (in Russian)
6. Kitaeva L.V., Mihajlova I.A., Semov D.M. The mucosal with micronuclei and the colonization of coccal forms of *Helicobacter pylori* in the gastric mucosa of man. *Tsitologija*. 2008; 2: 160-4. (in Russian)
7. Petrashova D.A., Belisheva N.K., Pelevina I.I. Genotoxic effects in bukkaalno epithelium of miners working in conditions of exposure to natural sources of ionizing radiation. *Izvestija Samarskogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk*. 2011; 13: 1792-6. (in Russian)

Поступила 15.12.17

Принята к печати 16.01.18