

Биология

УДК 576.351:667.51

Н. С. ВАРДАЗАРЯН

ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТА И ПОЛА НА СПОНТАННЫЙ УРОВЕНЬ МИКРОЯДЕР В ЭКСФОЛИАТИВНЫХ КЛЕТКАХ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ ЗДОРОВЫХ ЛИЦ АРМЯНСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Работа посвящена изучению вопроса о влиянии пола и возраста на спонтанный уровень цитогенетических повреждений, регистрируемых микроядерным методом, в эксфолиативных клетках ротовой полости здоровых некурящих армян. Показано, что повышенные уровни микроядер наблюдаются у женщин и лиц старших возрастных групп, в отличие от мужчин и представителей младших возрастных групп.

Микроядерный анализ (МЯ-анализ) в эксфолиативных клетках ротовой полости человека является признанным современным тестом на мутагенность, который практически осуществляется путем подсчета количества микроядер в эксфолиативных клетках (ЭК) ротовой полости человека. Микроядра (МЯ) есть результат отставания в процессе клеточного деления отдельных хромосом или ацентрических фрагментов.

При сравнении результатов, полученных при регистрации уровней МЯ (как спонтанных, так и индуцированных) в разных исследуемых группах, возникает вопрос: возможно ли сопоставлять результаты МЯ-анализа, полученные на представителях разного пола и возраста? Это положение в литературе интерпретируется неоднозначно. Некоторые авторы [1] считают несущественными половозрастные различия уровней МЯ в ЭК. Отсюда можно было бы полагать, что при подборе исследуемых и контрольных групп эти факторы не заслуживают особого внимания. Однако имеются также данные [2, 3], свидетельствующие о некоторых различиях для уровня МЯ в ЭК по полу и возрасту, и, следовательно, необходимо корректировать исследуемые и контрольные группы по таким факторам.

Доказательством актуальности этой проблемы стало создание специального международного проекта для всестороннего исследования данного вопроса, который действует и по сей день (Human Micronucleus Project).

Пользуясь обстоятельством, что в процессе научных изысканий нами накоплено большое количество необходимого материала, было решено провести исследование данной проблемы на здоровых лицах армянской популяции обоих полов и разных возрастов.

Материалы и методы исследования. Для изучения вопроса о влиянии пола на уровни МЯ и ядерных аномалий в ЭК ротовой полости забирались соответствующие мазки у 14 здоровых некурящих мужчин (средний возраст всей группы – 45,64 лет) и 14 здоровых некурящих женщин (средний возраст всей группы – 46,07 лет).

Для исследования вопроса о влиянии возраста на уровни МЯ и ядерных аномалий в ЭК ротовой полости забирались мазки у здоровых некурящих женщин (60 человек) разных возрастов (средний возраст – 30,38 лет).

Ко всем исследованным лицам был применен метод анализа МЯ в ЭК слизистой ротовой полости, предложенный Стихом (Stich) в 1982.

С внутренней стороны щеки и нижней губы смоченным в воде деревянным шпателем соскабливались клетки, которые наносились на предметное стекло. Высушенные на воздухе мазки фиксировались в смеси этилового (метилового) спирта и ледяной уксусной кислоты в соотношении 3:1. Препараты окрашивали по реакции Фельгена при обработке в 1*N* растворе HCl комнатной температуры с последующим гидролизом в 1*N* HCl при 60°C, затем снова помещали в раствор 1*N* HCl комнатной температуры. Красили в реактиве Шиффа с последующей подкраской лихтгрюном. От каждого индивида в зависимости от качества препарата изучались от 500 до 2000 клеток, затем результаты пересчитывали на 1000 клеток (%). Кроме учета количества МЯ и клеток с микроядрами (КМЯ), был предложен учет следующих ядерных аномалий: бинуклеатов (БН), конденсированного хроматина (КХ), кариорексиса (КР), пикноза (Пик), кариолизиса (КЛ) и феномена «сломанное яйцо» (СЯ). Статистический анализ количества МЯ и ядерных аномалий проводили с использованием U-теста Манна-Уитни (Mann-Whitney).

Корреляционный анализ осуществляли с помощью компьютерного пакета «Statgraphics Plus».

Результаты и их обсуждение. При сравнении соответствующих уровней МЯ и ядерных аномалий в ЭК ротовой полости 14 здоровых некурящих мужчин и 14 женщин одинакового возраста (в среднем 45,64 и 46,07 лет соответственно) были получены следующие результаты (см. рис. 1): у женщин уровни КМЯ ($2,24 \pm 0,25$ и $1,36 \pm 0,16$ соответственно), МЯ ($3,70 \pm 0,82$ и $1,64 \pm 0,21$ соответственно) и КХ ($7,79 \pm 1,07$ и $4,39 \pm 0,62$ соответственно) значимо выше. Следовательно, предположения о существенных различиях в уровнях МЯ и ядерных аномалий в ЭК ротовой полости здоровых мужчин и женщин подтверждаются. Полученные нами данные по уровню МЯ в ЭК совпадают с таковыми для микроядер в лимфоцитах [2, 4], которые показали, что мужчины имеют в лимфоцитах уровень МЯ меньший, чем женщины.

Вторая часть нашего исследования была посвящена вопросу о влиянии возраста на уровни МЯ и ядерных аномалий в ЭК.

Данные по изменениям уровней МЯ и ядерных аномалий в разных возрастных группах здоровых женщин, представленные на рис. 2, следующие.

1. Уровень КМЯ коррелирует с возрастом ($r=+0,40$). В группе 20–29 лет наблюдались его минимальные (min) значения, а в группе 60–69 – максимальные (max), причем уровень КМЯ был значимо выше ($p<0,05$) в группах 50–59 и 60–69 лет, чем в группе 20–29 лет.

2. Уровень МЯ коррелирует с возрастом ($r=+0,47$): от min в группе 20–29 лет он постепенно повышается до max в 40–49 лет, при этом значимо выше ($p<0,05$) в группах 50–59 и 60–69 лет по сравнению с таковым в группе 20–29 лет.

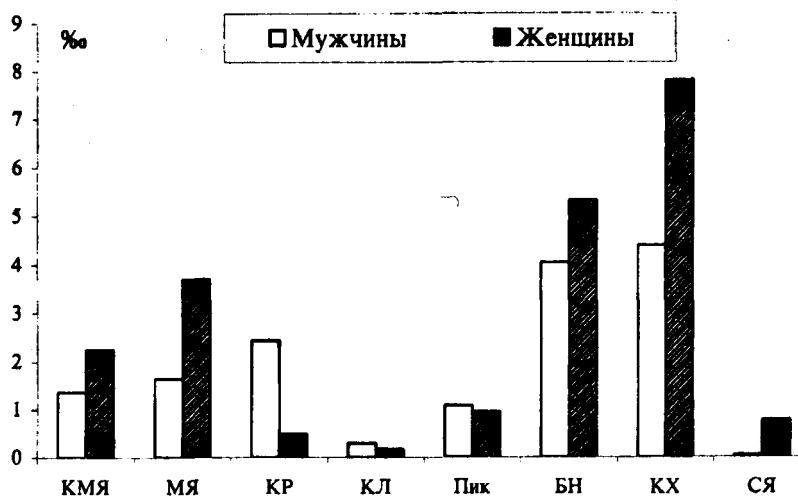


Рис. 1. Уровни микроядер и ядерных аномалий в эксфолиативных клетках ротовой полости здоровых некурящих мужчин и женщин.

3. Уровень КР, в отличие от таковых КМЯ и МЯ, с возрастом снижается ($r=-0,33$), и в группе 20–29 лет значимо выше ($p<0,05$) по сравнению с соответствующими значениями в группах 50–59 и 60–69 лет.

4. Уровень КЛ не коррелирует с возрастом: от max в группе 10–19 лет он понижается до min в группе 40–49 лет и снова повышается в группе 60–69 лет (изменения не были значимы).

5. Уровень Пик не коррелирует с возрастом и имеет два пика значений – в возрасте 10–19 лет и 60–69 лет, в остальных группах колеблется без особой разницы вокруг более низких значений (изменения не были значимы).

6. Уровень БН не коррелирует с возрастом и имеет три пика значений: два – в группах 10–19 и 30–39 лет, и третий (самый высокий) – в группе 60–69 лет (значимой разницы не было).

7. Изменения уровня КХ дают картину, сходную с распределением КМЯ: он постепенно повышается от min в возрасте 20–29 лет до max в

возрасте 60–69 лет (со значимой разницей между ними), однако КХ не коррелирует с возрастом.

8. Уровень СЯ коррелирует с возрастом ($r=+0,28$). Максимальное значение приходится на 60–69 лет, имеется небольшое повышение уровня и в группе 30–39 лет (различия не были значимы).

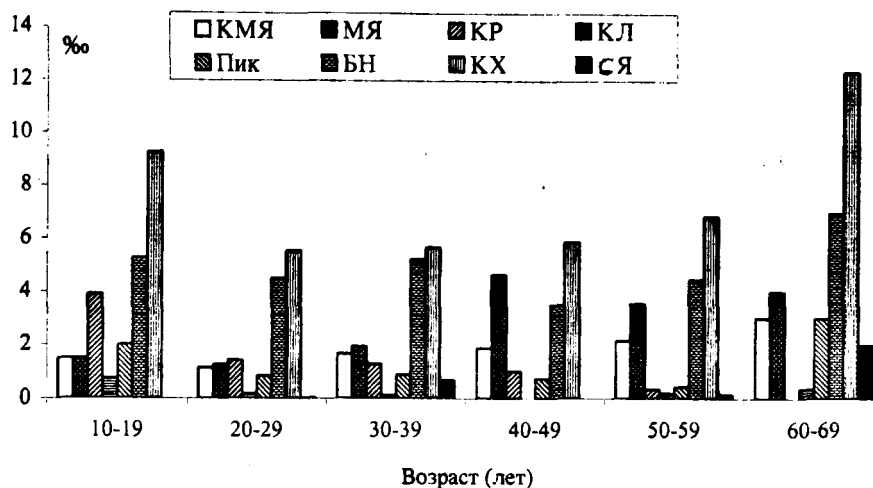


Рис. 2. Уровни микроядер и ядерных аномалий в эксфолиативных клетках ротовой полости здоровых некурящих женщин разных возрастных групп.

Таким образом, видно, что у здоровых женщин в ЭК ротовой полости уровень КМЯ и некоторых ядерных аномалий коррелирует с возрастом, что хорошо согласуется с литературными данными. Так, в [2, 4, 5] при обследовании большого числа здоровых лиц разного пола и возраста установлено, что у старых людей (80–113 лет) средний уровень aberrантных лимфоцитов периферической крови повышен по сравнению с таковым у более молодых. Сходная картина наблюдается и для МЯ в лимфоцитах.

Из полученных нами результатов следует практический вывод: при любого рода исследованиях с использованием МЯ-теста в ЭК ротовой полости необходимо корректировать как контрольные, так и исследуемые группы по возрасту и полу.

Кафедра генетики и цитологии

Поступило 24.09.2003

ЛИТЕРАТУРА

1. Fenech M., Holland N., Chang W.P., Zeiger E., Bonassi S. – *Mutat. Res.*, 1999, v. 428, p. 271–283.
2. Bonassi S., Fenech M., Lando C., Lin Y., Ceppi M. et al. – *Environ. Molec. Mutagenesis*, 2001, v. 37, p. 31–45.

3. Chakrabarty R.H., Dutta K. – Eur. J. Gynecol. Oncol., 1988, v. 9, № 5, p. 370.
4. Bolognesi C., Lando C., Forni A., Landini E., Scarpato R., Migliore L., Bonassi S. – Age and Ageing., 1999, v. 28, p. 393–397.
5. Kóteles G.J., Bojtor I., Szirmai S., Bérces J., Ótos M. – Mutat. Res., 1993, v. 319, p. 267–271.

Ն. Ս. ՎԱՐԴԱԶԱՐՅԱՆ

ՏԱՐԻՔԻ ԵՎ ՍԵՆԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՀԱՅԿԱԿԱՆ
ՊՈՊՈՒԼՅԱՑԻԱՅԻ ԱՌՈՂՁ ԱՆՁԱՆՑ ԲԵՐԱՆԻ ԽՈՌՈՉԻ
ԷՔՍՖՈԼԻԱՏԻՎ ԲՋԻՋ ՆԵՐՈՒՄ ՄԻԿՐՈԿՈՐԻՉՆԵՐԻ ՄՊՈՆՏԱՆ
ՄԱԿԱՐԴԱԿԻ ՎՐԱ

Ամփոփում

Աշխատանքը նվիրված է առողջ չծխող հայ կանանց և տղամարդկանց սեռի և տարիքի ազդեցությանը նրանց բերանի խոռոչի էքսֆոլիատիվ բջիջներում բջջազենետիկական խաթարումների սպոնտան մակարդակների վրա միկրոկորիզային մեթոդով: Ցույց է տրված, որ կանանց և ավագ խմբերի ներկայացուցիչների դեպքում դիտվում է միկրոկորիզների մակարդակների բարձրացում ի տարբերություն տղամարդկանց և կրտսեր խմբերի ներկայացուցիչների:

N. S. VARDAZARYAN

THE INFLUENCE OF AGE AND GENDER ON THE LEVEL OF
MICRONUCLEI IN THE EXFOLIATED ORAL MUCOUS CELLS IN
HEALTHY PERSONS OF ARMENIAN POPULATION

Summary

Influence of age and gender on the levels of cytogenetic disturbances in exfoliated oral mucous cells of healthy non-smoking Armenians by means of micronucleus assay is analysed. It is revealed the increase of the micronuclei levels of women (compared with men) and of older persons (compared with younger ones).