

УДК 576.08:575.224

МИКРОЯДЕРНЫЙ ТЕСТ БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ ЧЕЛОВЕКА: ПРОБЛЕМЫ, ДОСТИЖЕНИЯ, ПЕРСПЕКТИВЫ

В.Н. КАЛАЕВ, В.Г. АРТЮХОВ, М.С. НЕЧАЕВА

Воронежский государственный университет

E-mail: Dr_Huix@mail.ru

Проанализированы статьи российских и зарубежных авторов за 2000–2012 гг., посвященные проблемам применения, анализа и интерпретации результатов микроядерного теста буккального эпителия человека. Описаны ядерные аномалии, обнаруживаемые в клетках слизистой оболочки ротовой полости. Обобщены работы, посвященные анализу влияния методики проведения микроядерного теста (окрашивания, взятия соскоба) на его результаты. В виде схемы суммированы современные представления о факторах различной этиологии, индуцирующих возникновение аберраций ядра: пол, возраст, генотип, психофизиологические характеристики, иммунный статус, заболевания различной этиологии, антропогенное загрязнение окружающей среды, климато-географические условия, ионизирующие и неионизирующие излучения, химические соединения (лекарственные препараты, биологически активные добавки, андрогенные стероиды и др.), зубные пломбы, профессиональные вредности, алкоголизм, употребление табачных смесей). Обозначены проблемы и нерешенные вопросы, связанные с особенностями применения микроядерного теста.

Ключевые слова: буккальный эпителий, морфологические аномалии ядра, микроядерный тест.

Введение. Микроядерный тест буккального эпителия ротовой полости появился сравнительно недавно (в 80-х годах XX века [1]) и быстро стал одним из самых широко используемых методов для оценки генетического гомеостаза организма, скрининга химических соединений и физических факторов на генотоксичность. Это обусловлено тем, что микроядерный тест клеток слизистой оболочки ротовой полости достаточно быстр, легок, нетравматичен, экономически выгоден, позволяет проводить прижизненный скрининг обследуемых лиц неограниченное число раз, не требует специального оборудо-

вания для культивирования клеток [2, 3]. И несмотря на появление в последние десятилетия новых молекулярно-генетических методов, микроядерный тест не только не уступает своих позиций, но и продолжает активно применяться.

Однако в исследованиях с использованием микроядерного теста буккального эпителия еще не выработана единая стандартная методика и подход к трактовке данных эксперимента, что ведет зачастую к диаметрально противоположным выводам относительно полученных результатов.

Мы предприняли попытку суммировать работы отечественных и зарубежных авторов за последние 12 лет и результаты собственных исследований, посвященные микроядерному тесту буккального эпителия человека, с целью обобщения и систематизации накопленных к настоящему времени сведений. Проанализировано также влияние методики проведения и факторов экзо- и эндогенной природы на результаты микроядерного теста слизистой оболочки полости рта человека.

Методика проведения микроядерного теста буккального эпителия и ее влияние на получаемые результаты. Слизистая оболочка внутренней поверхности щеки человека представлена многослойным плоским неороговевающим эпителием, который обновляется за счет деления базального слоя. Базальные клетки в процессе созревания постепенно выходят в поверхностный слой, который используется при анализе. Микроядра образуются именно в базальном слое. Время, которое необходимо для выхода клеток в верхний слой, индивидуально и зависит от характера воздействия на организм. Nersesyan et al. [4] считают, что клетки буккального эпителия выходят в верхний пласт через 10–14 дней и следовательно результат можно наблюдать не раньше чем через 10 дней. Holland et al. [5] придерживаются мнения, что влияние воздействия фактора на частоту нарушений видно через 5–7 дней. Юрченко и соавт. [3, 6] пишут о том, что начало подъема частоты встречаемости микро-

© В.Н. КАЛАЕВ, В.Г. АРТЮХОВ, М.С. НЕЧАЕВА, 2014

ядер в мазках буккальных эпителиоцитов наблюдается не ранее чем через 3 сут после воздействия с пиком около 7 сут и снижается до фонового уровня в течение 2–3 недель. Поповой с соавт. [7] также отмечен рост числа клеток с микроядрами на 3–4-й день после стрессового воздействия. Таким образом, аберрантным буккальным эпителиоцитам необходимо в среднем около недели для созревания и выхода в поверхностный слой эпителия.

Юрченко с соавт. [6, 8] показали, что на частоту клеток с микроядрами и на качество препаратов также влияет техника взятия соскоба – щеточкой или шпателем. При использовании шпателя в соскоб чаще попадают молодые клетки с непрерывным гладким краем ядра, так как шпатель проникает в эпителий более глубоко, и препараты получаются более качественными. При использовании шпателя встречается большее число клеток с аномалиями. Исходя из полученных результатов, автор отмечает важность стандартного выполнения этой процедуры.

Одной из серьезных проблем микроядерного теста является то, что исследования проводятся с использованием различных ядерных красителей. Это может отразиться на результатах проводимых экспериментов. Нами установлен факт влияния типа красителя (орсеина, светлого зеленого, метиленового синего, азур-эозина по Романовскому-Гимза) на частоту встречаемости клеток с аномалиями ядра в буккальном эпителии человека. Показано, что оптимальным красителем является азур-эозин по Романовскому-Гимза, так как он позволяет получить самые качественные препараты для микроскопического исследования, выявить наибольшее количество нарушений и в достаточной мере раскрывает их спектр [9, 10]. Большинство зарубежных авторов рекомендуют окрашивать препараты по Фельгену [5, 11, 12], так как при этом возможно применение флюоресцентной и световой микроскопии, и такое окрашивание позволяет исключить артефакты. Nersesyan et al. [13, 14] также указывают на то, что способ окрашивания препарата оказывает влияние на результат. Авторы разделяют методы окрашивания на неспецифические (красители Гимза, Май-Грюнвальд-Гимза) и ДНК-специфические (окрашивание по Фельгену, акридиновым оранжевым) и утверждают, что использование неспецифических красителей ведет к ложным результатам. Ауад et al. [15] сравнили красители Папаниколау и Май-Грюнвальд-Гимза и выявили преимущество окрашивания по Папаниколау. Таким образом, наиболее приемлемым является окрашивание цитологических препаратов ДНК-специфическими красителями, однако в случае отсутствия возможности использовать ДНК-специфические красители можно рекомендовать окрашивание азур-эозином по Романовскому-Гимза, так как этот краситель позволяет получить достаточно качественные,

пригодные для просмотра препараты и выявить наибольшее число ядерных нарушений [9, 10].

На основании проанализированных литературных источников методику изготовления препаратов, используемую разными авторами, можно привести к следующему единому образцу: 1) перед приготовлением препаратов испытуемые прополаскивают рот водой; 2) стерильным шпателем, предварительно обработанным спиртом, делается соскоб слизистой оболочки щек выше линии смыкания зубов; 3) взятый материал наносят на стекло и высушивают на воздухе; 4) окрашивают красителем; 5) проводят анализ от 1000 до 3000 отдельно лежащих, с непрерывными краями, клеток. Описанная методика, за исключением способа окрашивания, сходна у большинства авторов. Некоторые исследователи [16–20] не сразу наносят мазки на стекло, а шпатель несколько раз ополаскивают в буферном растворе, затем клетки осаждают центрифугированием, надосадочную жидкость удаляют, осадок промывают буферным раствором и распределяют на предметные стекла. Затем препараты высушивают, фиксируют и окрашивают. Мы считаем, что несмотря на хорошее качество получаемых препаратов, метод слишком длителен и трудоемок, седиментация приводит к потере и повреждению части клеток и могут возникнуть вопросы о сопоставимости полученных данных с большинством результатов по микроядерному тесту буккального эпителия человека.

Рассмотрим различные ядерные аномалии и природу их появления. Микроядра представляют собой ацентрические хромосомные фрагменты и отдельные целые хромосомы, «потерянные» во время митоза. Эти «потери» могут быть результатом апоптоза клетки и деструкции ядра, а также возникать при освобождении клетки от лишнего хроматина, образовавшегося после мутационного воздействия. За микроядро принимают хроматиновое тело округлой или овальной формы с гладким непрерывным краем, размером не более 1/3 ядра, лежащее отдельно от последнего, не преломляющее свет и имеющее интенсивность окрашивания и рисунок хроматина, как у основного ядра, и находящееся в одной с ним плоскости. Микроядра встречаются в буккальных эпителиоцитах не только после негативного воздействия на организм, но и у здоровых индивидов. При патологических состояниях уровень микроядер увеличивается. Средняя частота микроядер у здорового человека 18–45,7 лет равна 0,63–0,64 % [21]. По мнению Юрченко с соавт. [22] этот показатель составляет 0,33 %. В исследованиях Буториной с соавт. [23] у детей в возрасте 3–7 лет средняя частота встречаемости клеток с микроядрами равна $1,1 \pm 0,2$ %, а в работе Беляевой с соавт. [24] у детей в возрасте 5–8 лет фоновый уровень микроядер установлен в диапазоне $0,42 \pm 0,25$ %.

Средняя частота микроядер в исследованиях других авторов [25] составила $2,5 \pm 0,11 \%$, а Nersesyan et al. [4] говорят об 1–3 микроядрах на 1000 клеток. Различие данных, по-видимому, обусловлено несопадением методик при выполнении теста разными авторами.

В настоящее время большинство исследователей просматривают от 500 до 3000 клеток. Некоторые исследователи просматривают до 500 клеток [26–28], большинство ученых проводит анализ не менее 1000 [2, 29–32] и 2000 клеток [8, 21, 22, 33–35]. Martino-Roth et al. [36] и Holland et al. [5] советуют анализировать до 3000 клеток. Опираясь на приведенные данные по средней частоте встречаемости клеток с нарушениями у здоровых индивидумов (0,1–0,3%), на основании формулы Животовского (по [37]) для расчета минимального объема выборки, в которой будет присутствовать искомый объект

$$N = \frac{\ln(1 - P)}{\ln(1 - \pi)}$$

где P – вероятность наличия клеток с патологией в исследуемой выборке (0,95); π – частота клеток с патологией в генеральной совокупности (0,001–0,003), мы получили величину от 1000 до 3000 клеток.

В последнее десятилетие велись работы по расширению и дополнению микроядерного теста. Помимо микроядер, многие ученые стали анализировать и другие ядерные аномалии: протрузии [17, 30, 38–43], протрузии типа «разбитое яйцо» [8–10, 17, 33, 36, 44–55], протрузии типа «язык» [8–10, 17], протрузии типа «пузырек» [17], ядерные мосты [30, 43], наличие двух ядер в клетке [8, 17, 30, 33, 38–40, 43, 44, 46, 47, 49–60], наличие трех и более ядер в клетке [30, 38], насечки (или двоядные ядра, ядра с перетяжкой) [8–10, 17, 30, 38–43], ядра атипичной формы [17, 30, 32, 38, 40–43, 56], перинуклеарные вакуоли [8–10, 17, 43, 61], амитоз [8, 49, 50], вакуолизированные ядра [17, 30, 32, 40, 43], перфорированные ядра [56], инвагинацию ядерной мембраны [40], кариопикноз [8, 17, 30, 32, 38–40, 43–47, 49, 50, 55, 62, 63], кариолизис [8, 17, 30, 32, 33, 36, 38–40, 43, 45–47, 51, 53–55, 58–60, 63, 64], кариорексис [8, 17, 30, 32, 33, 36, 38–40, 43–47, 49–51, 53–55, 58–60, 62–64], конденсацию хроматина [8, 17, 30, 32, 43, 44, 47], апоптозные тела [8, 17, 32, 43].

Расширение спектра исследуемых аномалий ядра повышает специфичность метода (это составляло проблему ранее, так как не всегда можно было точно указать на природу мутаций), его чувствительность, что позволяет делать определенные прогнозы. Но, к сожалению, возможно в связи с тем, что дополнительные критерии стали учитываться в микроядерном тесте не так давно, единого мнения авторов по этому вопросу не наблюдается. Нет строгого перечня нарушений, которые стоит учитывать, и даже названия нарушений иногда не совпадают, поэтому

зачастую трудно понять, о какой аномалии идет речь. Следовательно, невозможно сопоставить и сравнить результаты, полученные разными авторами. Мы советуем определять ядерные аномалии согласно рекомендациям Юрченко с соавт. [3, 6] и Мейера с соавт. [17], так как эти авторы наиболее четко и подробно объясняют природу и особенности часто встречающихся ядерных аберраций.

Показателем генетических нарушений в интерфазных ядрах может быть сумма наблюдаемых протрузий. Протрузия типа «разбитое яйцо» выглядит как микроядро, связанное мостиком нуклеоплазмы, но мостик может соединять и близкие по размеру структуры. Протрузия типа «язык» представляет собой «яйцо» на двух мостиках нуклеоплазмы [6]. Протрузии подобно микроядрам могут быть образованы фрагментами хромосом или отставшими при нарушении веретена деления целыми хромосомами, ядерная оболочка вокруг которых соединена с оболочкой основного ядра. Есть предположение о том, что ядерные протрузии могут образовываться почкованием интерфазных ядер [65, 66]. По мнению Никифорова с соавт. [66], выполнившего свою работу на культуре лимфоцитов человека, подобные образования являются следствием близко расположенного микроядра, неразрывавшихся мостов и «маркерных хромосом с аномально удлиненными плечами». Мейер и соавт. [17] относят микроядра, протрузии типа «язык» и «разбитое яйцо» к цитогенетическим нарушениям. Перинуклеарная вакуоль является «впячиванием» кариолеммы (ядерной оболочки) с образованием округлой зоны обесцвеченной цитоплазмы и кариоплазмы в окрашенных клетках. Возникает она в результате образования вакуоли в перинуклеарном пространстве и считается надежным признаком некроза клетки. Указанное нарушение наблюдается при болезнях накопления, воспаления, а также после воздействия химических веществ и радиации [6]. Относит его к признакам ранней деструкции ядра [17]. Вакуолизация ядра – образование округлых неокрашенных полостей в ядре в результате лизиса хроматина [6]. Такое нарушение также относят к признакам ранней деструкции ядра [17]. Ядра с круговой насечкой имеют центральную или частично смещенную к одному из полюсов борозду, как бы перетягивающую ядро [6]. Аномалия образуется в процессе незавершенного митоза в результате повреждения веретена деления, при этом нарушена не только цитотомия, но и кариотомия. Двухядерная клетка – это клетка с двумя отдельно лежащими ядрами. Ее происхождение не связано с прямым взаимодействием генотоксиканта с ДНК, скорее это эффект воздействия на завершающие стадии клеточного деления. Для деления двухядерных клеток характерны нарушения митоза [3], которые являются показателем пролиферации [17]. Апоптоз отнесен к индикаторам генотоксичности, поскольку он

является основным механизмом элиминации клеток с генетическими повреждениями. На ранних стадиях апоптоз проявляется как конденсация хроматина в ядре, кариопикноз и кариорексис [3]. Кариопикноз — дегенеративное изменение ядра, сопровождающееся уменьшением его размера не менее чем в два раза, уплотнением, гомогенным и интенсивным окрашиванием. Кариорексис — дегенеративное изменение ядра в клетке, сопровождающееся распадом его на отдельные интенсивно окрашенные части с гомогенной структурой, которые после лизиса кариолеммы попадают в цитоплазму и подвергаются рассасыванию. Морфологически кариорексис представляет собой клетку с несколькими крупными или многочисленными мелкими плотными окрашенными фрагментами ядра в цитоплазме. Кариолизис — дегенеративное изменение ядра в клетке, сопровождающееся потерей способности к окрашиванию хроматина с последующим полным его исчезновением. Морфологически представляет собой клетку с гомогенной бледной окраской ядра и нечеткой, разрушающейся кариолеммой (ранняя стадия кариолизиса) или клетку с полным отсутствием окраски ядра, когда на фоне окрашенной цитоплазмы она имеет вид тени (полная стадия кариолизиса) [6]. Мейер и соавт. [17] относит кариорексис, кариолизис и кариопикноз к показателям завершения деструкции ядра. Кариолизис и вакуолизация ядра в свою очередь являются индикаторами исключительно токсического воздействия [3]. Наблюдаемые нарушения морфологии ядер у здоровых лиц можно связать со старением и естественной гибелью эпителиальных клеток ротовой полости [6]. На основании подсчета указанных нарушений Diler et al. [53] и Ramirez et al. [33] предлагают вычислять индекс репарации, отражающий динамику канцерогенеза, по формуле

$$RI = (KR + KL)/(MN + BE),$$

где RI — индекс репарации, KR — клетки с кариорексисом, KL — клетки с кариолизисом, MN — клетки с микроядрами, BE — клетки с протрузиями типа «разбитое яйцо».

Факторы, влияющие на частоту встречаемости клеток буккального эпителия с ядерными аберрациями. В последнее десятилетие ведется активная работа по изучению факторов, влияющих на стабильность генетического материала человека, с использованием микроядерного теста буккального эпителия.

Наиболее широко изучено влияние на образование клеток с аномалиями ядра антропогенного загрязнения окружающей среды. В Центрально-Черноземном регионе проведены исследования, показавшие не только значимое увеличение числа клеток с микроядрами буккального эпителия человека [27, 67], но и корреляцию их с ядрышковыми характеристиками березы повислой, произрастающей в

тех же районах [68–72], что позволяет говорить о возможности экстраполяции на человека результатов мониторинга, выполненного на древесных растениях. Установлен высокий уровень корреляции между числом микроядер в буккальных эпителиоцитах человека и эритроцитах лягушки в зависимости от уровня загрязнения территории промышленными предприятиями Донецкой области [73]. Выявлена связь уровня клеток с микроядрами с антропогенным загрязнением в городах Республики Молдова [29, 74, 75]. При изучении цитогенетических нарушений у детей, обучающихся в Москве и Новгороде, было показано влияние загрязнения лишь на встречаемость клеток с кариорексисом. Наименьшая встречаемость клеток с указанным нарушением отмечалась в экологически чистом районе Новгорода [46]. Экологическое благополучие детей в Москве изучали и Юрченко с соавт. [76]. Они отметили различие встречаемости клеток с протрузией типа «язык», кариопикнозом, кариорексисом, кариолизисом, конденсацией хроматина. Беляева с соавт. [24, 77] установили корреляцию доли клеток с кариопикнозом и лизисом в слезистой оболочке детей, посещающих учебные заведения, с загрязнением разных округов Москвы. По данным тех же авторов [78] установлено, что район проживания вблизи целлюлозно-бумажного комбината г. Котласа можно считать неблагоприятным, так как у школьников, обучающихся неподалеку, повышена частота клеток с кариолизисом и протрузиями. Цитогенетические исследования, проведенные в крупном центре черной металлургии (г. Тула), показали повышение уровня клеток с микроядрами, протрузиями, насечками в буккальном эпителии детей в более загрязненном районе [38, 79]. Исследования, проведенные в разных по уровню загрязнения городах Днепропетровской области с высокой техногенной нагрузкой и интенсивно развитой металлургической, горнодобывающей, химической и другими видами промышленности, отходы которых представляют опасность для живых организмов, не показали влияния поллютантов на частоту клеток с микроядрами [26]. В г. Чапаевске провели оценку влияния экотоксикантов, содержащих диоксины, на частоту встречаемости клеток с нарушениями и отметили повышенную частоту клеток с пикнозом и кариорексисом у лиц, непосредственно контактирующих с диоксинами [22, 44]. Проведено исследование влияния диоксинов на женщин из сельских районов Вьетнама с различной степенью загрязненности. Отмечена корреляция доли клеток с микроядрами и перинуклеарными вакуолями и степенью контакта с диоксинами женщин, проживающих на загрязненной территории [56, 80]. Уровень цитогенетических повреждений у людей, проживающих на загрязненной диоксинами территории Вьетнама, изучали Коваленко с соавт. [40]. Они

показали увеличение числа клеток с вакуолизацией и кариолизисом ядра, но влияния загрязнения на частоту встречаемости других аномалий не выявили. Обнаружен повышенный уровень микроядер у жительниц сельских районов Армении по сравнению с жительницами Еревана, видимо, из-за влияния хлорорганических пестицидов, используемых в сельском хозяйстве [35]. Sailaja et al. [81] также отметили негативное влияние пестицидов на генетический аппарат человека. Pastor et al. [82, 83], Lucero et al. [16], в свою очередь, не выявили влияния пестицидов на сельскохозяйственных рабочих. Исследования, проведенные в Чеченской республике, представили убедительные доказательства неблагоприятного воздействия высоких уровней содержания нефтепродуктов в почве на здоровье детей, а именно – увеличение числа клеток с микроядрами, протрузиями, сдвоенными ядрами, перинуклеарными вакуолями в загрязненных районах [30, 84]. У военнослужащих, выезжающих в спецкомандировки в «горячие точки» Северного Кавказа, загрязненные нефтепродуктами, повышалась доля клеток с микроядрами по сравнению с контрольной группой, причем происходило это пропорционально частоте выездов в командировку, что авторы связывают с влиянием техногенного загрязнения местности и постоянного наличия высокого психоэмоционального напряжения [85]. Волкова и др. [32] сравнили встречаемость аномалий ядра у студентов, постоянно проживающих в городе, и у студентов, ранее до поступления проживавших в сельской местности. Оказалось, что частота ядер с кариопикнозом, кариорексисом выше в группах студентов, происходящих из сельской местности, при этом показатели уровня вакуолизации ядра, кариолизиса, конденсации хроматина и встречаемости апоптозных тел значительно выше у городских студентов. По частоте встречаемости клеток с микроядрами не выявлено достоверных различий в двух группах сравнения. В англоязычной статье этих авторов [43] описаны подобные исследования, но результаты оказались немного иными. У сельских жителей преобладали клетки с вакуолизированными ядрами и конденсированным хроматином, у городских – повышено число микроядер, протрузий, апоптозных тел, спаренных ядер, кариопикнозов в клетках. Из этого сделан вывод, что уровень нарушений в группе горожан выше из-за неблагоприятного эффекта среды, которая более мутагенна в Уфе. Несовпадение результатов вызывает некоторое недоверие. Изучение генетического состояния соматических клеток у детей школьного и дошкольного возраста Санкт-Петербурга показало влияние фактора загрязнения района только на дошкольников [21, 86, 87]. Сычева с соавт. [42] оценивали влияние загрязнений г. Коряжмы Архангельской области на детей старшего школьного возраста, проживающих на разном удалении от цел-

люлозно-бумажного комбината, и изменений кариологических показателей не выявили. Исследования, проводимые в г. Курск, не показали влияния выбросов аккумуляторных производств на цитогенетический статус детей, проживающих недалеко от них [88]. Vasudha Sambyal et al. [89] провели оценку цитогенетического статуса жителей индийской деревни, в которой используют воду, загрязненную тяжелыми металлами и сточными сбросами. Выяснилось, что доля микроядер не только повышена у обследуемых лиц, но и растет линейно с увеличением времени пребывания в деревне. Группа работ посвящена влиянию употребления питьевой воды, загрязненной мышьяком, на число aberrантных клеток в буккальном эпителии. Большая часть авторов отмечают повышенный уровень микроядер у лиц, контактирующих с мышьяком [90–93]. Гагошидзе и соавт. [94] установили повышенное количество клеток с микроядрами у детей, которые проживают на территориях, загрязненных мышьяком и его производными. Martinez et al. [95] утверждают, что употребление воды, содержащей мышьяк, не вызывает повышения доли цитогенетических повреждений. Ghosh et al. [96] проанализировали работы, посвященные влиянию мышьяка на кариологический статус клеток различных тканей: наибольшая чувствительность отмечена у лимфоцитов, но исследования на клетках буккального эпителия также имеют место.

Много работ посвящено влиянию профессиональных вредностей на лиц, связанных по роду деятельности с воздействием различных агентов. Анализ слизистой оболочки рта рабочих производства хлорорганических гербицидов, подвергающихся активному влиянию высокотоксичных веществ, которые обладают геным и канцерогенным действием на человека, показал высокий уровень клеток с микроядрами и аномалиями ядра, а также зависимость частоты ядерных аномалий от длительности и степени контакта с хлортоксикантами [49, 50, 97]. У лиц, проводящих работы с особо опасными химическими веществами, обследование показало высокий уровень цитогенетических нарушений [98]. Отмечено негативное влияние промышленной минеральной пыли на цитогенетическое состояние слизистых оболочек ротовой полости работников апатито-нифелиновой обогатительной фабрики [99]. В слизистой щеки у рабочих хризотил-асбестового производства также обнаружен повышенный уровень микроядер [100]. Установлено канцерогенное влияние трехвалентного хрома на работников кожевенного завода, что выражалось в повышенном уровне микроядер в буккальном эпителии рабочих [18, 55, 101]. Никель и хром, применяемые в гальванической промышленности, оказывают генотоксическое действие, выражающееся в высоких показателях частоты встречаемости у рабочих клеток с микроядрами, кариорексисом, кариолизисом, двумя ядрами,

причем наблюдалась корреляция числа нарушений со стажем работы [102]. Микроядерный анализ буккального эпителия выполнен у 50 работников кальциевого производства [53]. Частота клеток с микроядрами, протрузиями типа «разбитое яйцо», кариорексисом, кариолизисом, двумя ядрами оказалась достоверно выше у работников производства по сравнению с контрольной группой. Исследования ряда авторов посвящены влиянию бензола, а также продуктов испарения топлива и горения на рабочих автозаправочных станций. Все ученые отмечают вред, наносимый работникам бензоколонок. Çelik et al. [59] обнаружили значительно более высокий уровень клеток с микроядрами, кариорексисом, кариолизисом, двумя ядрами у рабочих бензозаправочных станций. Venites et al. [103], Sellappa et al. [104] также установили высокую частоту встречаемости клеток с микроядрами у работников автозаправочных станций. Rajkokila et al. [60] обнаружили повышенное число клеток с микроядрами, двумя ядрами, кариолизисом у обслуживающих бензоколонок, причем нарушений было больше у работников с длительным стажем. Исследования, которые проводились на студентах, контактирующих на занятиях по анатомии с формальдегидом, показали увеличение у обследованных уровня клеток с микроядрами [105], а также с протрузиями типа «разбитое яйцо» [48]. Интересные исследования провели на пожарных, которые в силу своей работы подвергаются массивному воздействию токсических продуктов горения и пиролиза, таких, например, как полициклические ароматические углеводы, угарный газ, двуокись азота, летучие органические составы. В результате у пожарных зафиксировано трехкратное превышение по сравнению с контролем числа клеток с микроядрами, увеличенное количество клеток с протрузиями типа «разбитое яйцо», пикнозом, конденсированным хроматином, кариорексисом, кариолизисом, причем ядерные нарушения более распространены у пожарных с длительным стажем [45]. Исследования, посвященные влиянию древесной пыли на плотников, показали повышенный уровень микроядер у обследованных лиц, что указывает на канцерогенное действие пыли [106]. У художников наблюдали повышенный уровень клеток с микроядрами и пониженный индекс репарации [51]. У парикмахеров отмечена высокая доля клеток с микроядрами, протрузиями типа «разбитое яйцо», перинуклеарными вакуолями, двумя ядрами. Видимо, это связано с генотоксическим действием веществ, которые используются при оказании парикмахерских услуг [52]. Повышение частоты микроядер обнаружено у работников операционных, в которых применяют газы для анестезии [107].

Активно изучается реакция организма на ионизирующее излучение. Серия исследований влияния сверхнормативных доз радона на детей, проживающих

в школе-интернате г. Таштагол Кемеровской области, показала повышенное число клеток с протрузиями, сочетанием микроядер с протрузиями, апоптозными телами, двумя ядрами, вакуолями, пикнотическими ядрами, что указывает на выраженное кластогенное воздействие радиационного фактора [17, 108, 109]. Колоскова [110] провела цитогенетическое обследование воспитанников дошкольных заведений г. Черновцы, расположенных на различном расстоянии от геотектонических разломов коры, где в почве определяется повышенное содержание дочернего продукта распада радона – свинца-210. Выявлены достоверно более высокие результаты микроядерного теста клеток буккального эпителия обследованных детей. Влияние рентгеновских лучей на число эпителиоцитов с микроядрами не обнаружено [63, 111]. Однако Angelieri et al. [63] выявили, что рентгеновское излучение, используемое стоматологами, увеличило долю других ядерных аномалий, таких как кариорексис, пикноз, кариолизис, из чего следует, что рентгеновские лучи обладают цитотоксическим действием.

В связи с широким использованием мобильных телефонов часть исследований посвящена изучению влияния излучений высокой частоты на людей. Rekhadevi et al. [112] отметили повышение уровня микроядер у людей, пользующихся мобильными телефонами, а Hintzsche et al. [113] влияния этого фактора на цитогенетический статус не обнаружили. Проблема, несомненно, требует к себе внимания, что связано с распространением мобильных телефонов и возможной потенциальной опасностью длительного их применения.

Изучено влияние на человека и окружающей среды как таковой. Афанасьева с соавт. [114] проследила связь индивидуальной и групповой динамики частот микроядер с изменением факторов окружающей среды: температуры, атмосферного давления, волнения моря у участников трансатлантического перехода (Севастополь – Украинская антарктическая станция «Академик Вернадский» – Севастополь). Но статистически значимой связи частот микроядер с этими параметрами отмечено не было. Нами проведена работа по выявлению последствий воздействия резкой смены климато-географических условий и социального стресса на генетический аппарат военнослужащих срочной службы. Наблюдался рост встречаемости аберрантных клеток в первые 2–3 месяца службы, а затем происходило постепенное снижение этого уровня, что связано с социальным стрессом и акклиматизацией. Выявлено, что адаптация к климато-географическим факторам происходит значительно медленнее, чем к изменившимся социальным условиям [31, 115]. Сезонные изменения встречаемости клеток с микроядрами установлены у детей 6–7 лет, проживающих в г. Ст. Оскол Белгородской области. Максимальное коли-

чество aberrаций отмечалось в августе и октябре, наименьшее — в мае, причем число клеток с нарушениями положительно коррелирует со вспышками на Солнце ($r_s = 0,580$; $P < 0,05$) [116].

Исследования влияния эмоционального состояния человека на цитогенетическую стабильность имеют важное теоретическое и прикладное значение, так как человек постоянно подвержен воздействию психологических стрессов как неотъемлемой части своего существования. Проанализирована также частота микроядер в клетках буккального эпителия и тревожность участников всеукраинских школьных олимпиад по биологии, и проведен корреляционный анализ между индивидуальными значениями частот микроядер и уровнями реактивной и личностной тревожности. Достоверная позитивная корреляция отмечена между частотой микроядер и высоким уровнем реактивной тревожности [117]. Проведенный нами анализ влияния психофизиологического состояния спортсменов на частоту встречаемости клеток с микроядрами показал увеличение числа aberrаций на 3–4-й день после соревнования, что свидетельствует о влиянии психоэмоционального состояния спортсмена перед выступлением и страха возможных травм, получаемых при проведении поединков, на стабильность генома [7].

Индивидуальная цитогенетическая реакция на различные факторы в значительной степени зависит от полиморфизма генов. Установлено, что мутации в гене, обеспечивающем репарацию AP-сайтов (APE1), значительно повышают риск формирования индуцированных радоном микроядер и ядерных протрузий в буккальных эпителиоцитах человека [108]. Лица, контактирующие с токсичными химикатами, более подвержены нарушению цитогенетического статуса, если у них встречается комбинация высокого уровня ферментов 1-й фазы и низкого уровня — 2-й фазы детоксикации ксенобиотиков [98]. Не обнаружена связь полиморфизма генов метаболизма ксенобиотиков с уровнем микроядер в буккальном эпителии, отмечен лишь находившийся на границе достоверности коэффициент частной регрессии только для одного предиктора — генотипа GSTT1 [118, 119]. Различия между людьми с аллельными вариантами GSTT1 и GSTP1 не выявлены [92]. Отмечено, что повышенная чувствительность к загрязнению среды ассоциирована с аллелем 1996G гена эксцизионной репарации оснований XRCC1 [84]. Выявлена связь между полиморфизмом генов репарации ДНК XRCC1399 и hOGG1326, играющих важную роль в развитии рака, с частотой встречаемости микроядер [20]. Индивиды, имеющие NAT110-гомозиготный генотип, характеризуются значимым увеличением числа клеток с протрузиями и двумя ядрами при курении [57]. Исследования, направленные на оценку эффекта циклофосамида и влияния полиморфизма

гена CYP2D6 на образование клеток с микроядрами у пациентов с системной волчанкой, не показали ассоциации аллеля CYP2D6 с индукцией микроядер [120].

Так как эффективность работы иммунной системы является одним из важнейших параметров, определяющих состояние всего организма, предприняты многочисленные попытки исследовать связь иммунитета с цитогенетическим статусом человека. Левински с соавт. [29] отметили связь между состояниями иммунитета и появлением цитогенетически aberrантных клеток и сделали вывод о том, что ослабленная иммунная система не распознает и не элиминирует генетически поврежденные эпителиоциты, что способствует накоплению поврежденных клеток и нарушению стабильности генетической системы организма. Бяхова [61] определила, что у детей с низким уровнем sIgA повышается частота клеток с цитогенетическими нарушениями на фоне снижения апоптогического индекса. Беляева с соавт. [121] выявила, что между состоянием иммунного и цитогенетического статуса существует высокая корреляционная связь ($r = 0,95–0,96$), которая в свою очередь находится в существенной корреляционной зависимости с заболеваемостью детей.

Микроядерный тест буккального эпителия может быть использован в клинической практике для выявления ранних форм многих заболеваний. Рыбалкина [122] у больных ветряной оспой установила увеличение числа клеток с кариопикнозом, кариорексисом, кариолизисом, вакуолизацией ядра, инвагинацией кариолеммы (вероятно, согласно рекомендациям Юрченко с соавт. [6] это нарушение можно назвать перинуклеарной вакуолью). Исследования влияния болезни Альцгеймера на цитогенетический статус не выявили повышения числа клеток с нарушениями [47]. У больных параноидальной шизофренией с непрерывным типом течения отмечается постепенное снижение уровня aberrантных клеток в ответ на комплексную терапию вследствие выраженного антистрессового действия применяемых препаратов [123]. У детей, больных хроническим тонзиллитом, средние частоты клеток с микроядрами, двумя ядрами, кариорексисом, кариолизисом были выше, чем в контрольной группе [58]. Достоверно повышен уровень цитогенетических нарушений (суммарная доля клеток с микроядрами и протрузиями) и показателей апоптоза (сумма клеток с кариопикнозом, кариолизисом, кариорексисом, перинуклеарными вакуолями) у детей с atopической бронхиальной астмой. Более выраженные изменения отмечены в период обострения и при тяжелом течении заболевания [61, 79]. Установлена корреляция между количеством клеток с микроядрами и частотой возникновения острых респираторных заболеваний у детей [124]. Патологии желудочно-кишечного тракта намного повышают

вероятность обнаружения микроядер в эпителиоцитах слизистой оболочки полости рта [34]. Онкологические заболевания в последнее время являются одной из основных причин инвалидизации и смертности лиц трудоспособного возраста вследствие несвоевременной диагностики злокачественного процесса. Микроядерный тест может быть полезен в ранней диагностике рака, вследствие чего ведутся работы по исследованию влияния наличия онкозаболевания и предраковых состояний на число эпителиоцитов с нарушениями. С помощью микроядерного теста выявлен повышенный уровень числа клеток с микроядрами у больных раком легких, желудка, прямой кишки до лучевой и химиотерапии по сравнению со здоровыми людьми, причем больше всего клеток с микроядрами зафиксировали при раке легких [125]. При раке молочной железы увеличивался уровень частоты клеток с микроядрами, протрузиями, суммарного показателя микроядер и протрузий, с двумя ядрами, сдвоенным ядром, а также установлено снижение показателей апоптоза (кариорексиса, кариолизиса, кариопикноза) у больных по сравнению со здоровыми людьми. У пациентов, которым была сделана операция по удалению опухоли, через 6 месяцев снижалось число клеток с микроядрами и двумя ядрами по сравнению с этими показателями у первичных больных [39]. При раке желудочно-кишечного тракта увеличивалась доля клеток с микроядрами и протрузиями. После радикального лечения происходило снижение уровня этих показателей [126]. Nersesyan et al. [127] установили повышенное число клеток с микроядрами у больных раком легкого, груди, шейки матки I и II стадии. Полученные данные указывают на возможность использования ядерных аберраций в качестве маркеров озлокачествления. Большое внимание зарубежные авторы уделяют карциноме (раку) ротовой полости, развивающейся из эпителиальной ткани. Все ученые отмечают повышенный уровень микроядер у больных карциномой [33, 128–132] и в предраковом состоянии [130, 133, 134], причем после операции снижается число микроядер [133] и увеличивается доля клеток с микроядрами по мере приближения к области поражения [33]. При незлокачественной опухоли также наблюдается высокая доля клеток с микроядрами [130]. Предшественником карциномы может служить красный плоский лишай ротовой полости — это хроническое воспалительное неинфекционное заболевание, которое вызывает поражение тканей слизистой оболочки рта, языка и/или десен. Исследования этого заболевания выявили увеличение доли клеток с микроядрами у лиц, страдающих красным лишаем [135]. Кариес не оказывает влияния на частоту встречаемости эпителиоцитов с микроядрами [99]. Исследования пародонтита не выявили его влияния на цитогенетический статус, однако показано совместное влияние

стадии заболевания и пола на частоту клеток с микроядрами (большая генетическая нестабильность отмечается у лиц мужского пола) [136].

Оценить влияние половой принадлежности на стабильность генетического аппарата с использованием микроядерного теста буккального эпителия пытались многие ученые. В части работ не выявлено влияния пола на цитогенетический статус и чувствительность клеток к различным факторам [20, 29, 38, 94, 112, 127]. Nersesyan [137] проанализировал девять статей за 2006 г., посвященных влиянию пола на кариологические показатели [13, 46, 69, 81, 92, 103, 107, 125, 138]. В восьми публикациях не прослежено связи между полом обследуемых лиц и уровнем микроядер в клетках буккального эпителия. Только в работе Benites et al. [103] отмечено повышенное число клеток с микроядрами у представителей мужского пола. Часть проанализированных нами работ указывают на большую чувствительность и высокую долю клеток с нарушениями у лиц мужского пола [34, 60, 103]. Буторина с соавт. [23] также определила большую чувствительность к загрязняющим факторам среды у мальчиков, поэтому авторы рекомендуют проводить цитогенетический мониторинг с использованием буккального эпителия ротовой полости на выборке лиц мужского пола. Rickes et al. [52], напротив, отметили большее количество клеток с микроядрами, двумя ядрами, протрузиями типа «разбитое яйцо» у женщин. Калаев с соавт. [99] также выявили большую чувствительность к генотоксикантам у женщин. Соболев с соавт. [25, 117] оценивали различие частоты микроядер в возрастном диапазоне от 14 до 18 лет и отметили неодинаковую динамику для юношей и девушек. У юношей число микроядер повышено в 15 лет, а затем снижается, у девушек рост числа микроядер продолжается до 16 лет, а затем число нарушений снижается, причем в 16 лет число микроядер у девушек достоверно превышало аналогичный показатель у юношей. Эти различия авторы связывают с процессами роста и гормональными перестройками, сопровождающими процесс полового созревания. Таким образом, все авторы сходятся во мнении о том, что выборку лучше формировать из людей одного пола, и различия между полами обусловлены гормональным влиянием.

Исследовано влияние возраста на число аномальных клеток в слизистой щеки человека, но единого мнения также не наблюдается. В серии работ не было отмечено влияния этого фактора [8, 16, 36, 38, 81, 107, 112]. Группе исследователей удалось установить влияние возраста на цитогенетический статус. У взрослых (лица трудоспособного возраста) число микроядер в эпителиальных клетках выше, чем у подростков (школьники 14–15 лет), что отражает связанное с возрастом снижение способности к репарации [73]. Рост числа аномальных ядер

с возрастом также подтвердили Sellappa et al. [18] и Vasudevan et al. [101]. Ramirez et al. [33], напротив, отметили уменьшение числа клеток с микроядрами при увеличении возраста, вероятно из-за замедления пролиферации клеток. Буторина с соавт. [23] выявила отрицательную зависимость между частотой встречаемости микроядер и возрастом детей (от 3 до 6 лет). Авторы связывают это с тем, что в младшем возрасте активно идет клеточное деление, обеспечивающее ростовые процессы, а делящиеся клетки сильнее подвержены действию мутагенных факторов.

Большой пласт работ посвящен влиянию вредных привычек на кариологические показатели буккального эпителия. То что курение, алкоголизм, жевание табачных смесей оказывают негативное влияние на организм — бесспорно, в связи с чем возникает вопрос о влиянии этих привычек на цитогенетический статус. Все авторы, изучающие влияние алкоголя, отметили повышенную долю аберрантных клеток у людей, употребляющих спиртные напитки [18, 33, 36, 55, 60, 101]. В оценке влияния курения на слизистые ротовой полости мнения разошлись. Часть авторов отмечают повышенное число клеток с аномалиями у курящих [18, 34, 51, 55, 59, 60, 83, 99, 101, 104, 130, 139, 140]. В своем обзоре Proia et al. [141] пришли к выводу о положительной ассоциации курения с числом клеточных нарушений в слизистой щеки. Нами проведено сравнение частоты встречаемости микроядер в буккальном эпителии у детей, проживающих в семьях, где есть курящие члены, и в семьях, в которых курящих нет. Положительная корреляция наблюдалась между уровнем клеток с микроядрами у детей и фактором «курящие члены семьи»: $r_s = 0,28$ ($P < 0,001$), в связи с чем сделан вывод о неблагоприятных последствиях «пассивного курения» и мутагенности табачного дыма [142]. Но Martino-Roth et al. [36], Angelieri et al. [63], Nersesyán et al. [13] не обнаружили влияния курения на цитогенетические показатели. Употребление жвачных смесей с листьями бетеля, табака, орехов пальмы катеху является пагубной привычкой наряду с алкоголизмом и курением. Sellappa et al. [19, 20], Juoti et al. [143] выявили повышенный уровень микроядер у людей, жующих табачные смеси. Wu et al. [139], напротив, отметили снижение числа клеток с микроядрами у лиц, злоупотребляющих табачными смесями. В одной из работ Sellappa et al. [144] не установили существенных различий между средними процентными долями клеток с микроядрами в буккальном эпителии «жующей» и контрольной групп в отличие от других статей этих авторов, посвященных упомянутой проблеме [19, 20]. Ведет к повышению числа клеток с микроядрами и нюханье табачных смесей [19]. Изучали совместное действие вредных привычек на число нарушений в буккальном эпи-

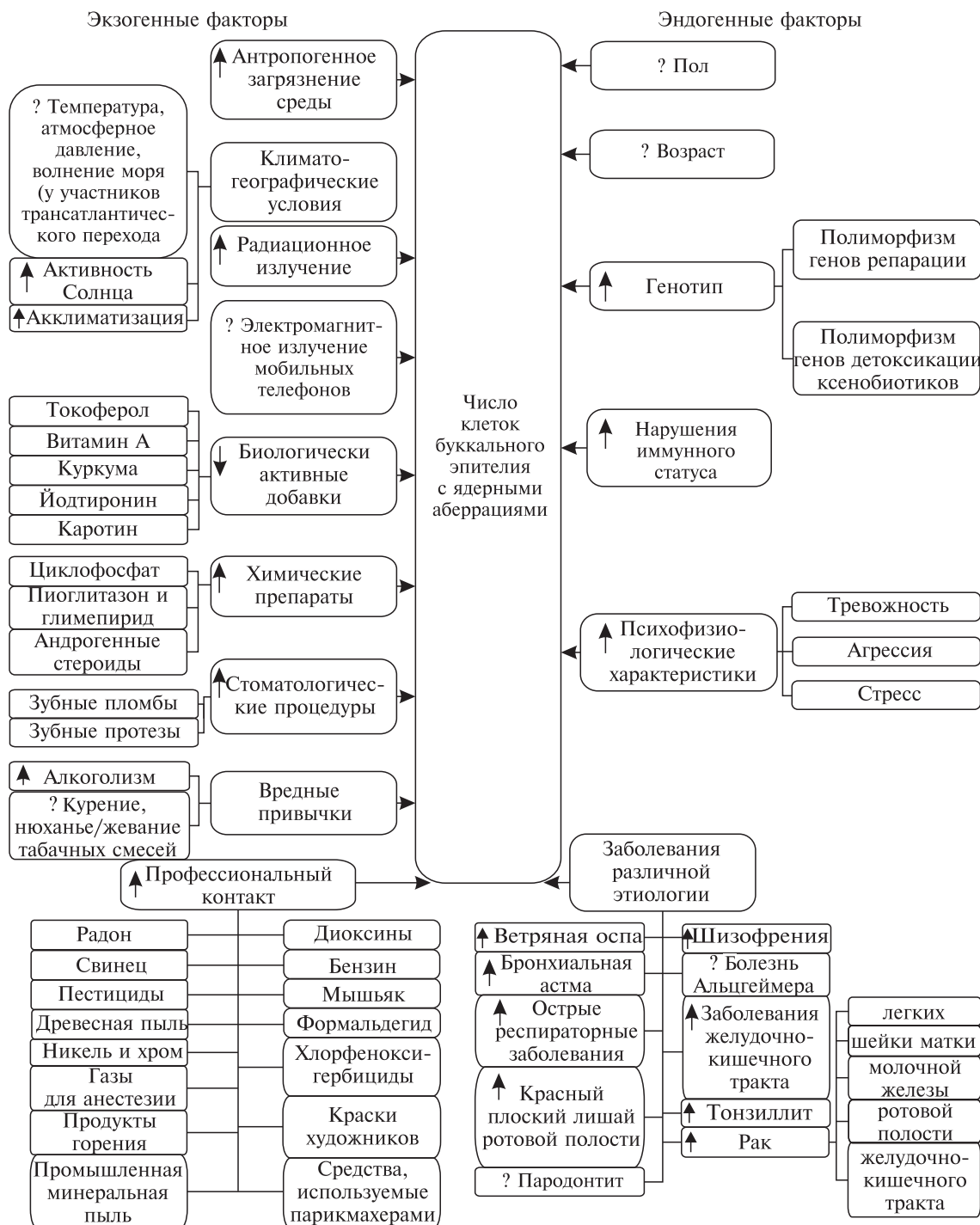
телии. Синергическое действие алкоголя и курения вызывало увеличение доли клеток с микроядрами [18, 60, 101, 112]. У курящих, пьющих и жующих табачные смеси испытуемых также отмечен повышенный уровень микроядер [104]. Martino-Roth et al. [36] выявили, что непьющие, но курящие испытуемые имеют более низкий уровень числа клеток с микроядрами, чем некурящие алкоголики.

Исследовано влияние некоторых химических препаратов на число клеточных нарушений. Потребление анаболических андрогенных стероидов спортсменами приводило к увеличению доли клеток с микроядрами в слизистой ротовой полости в течение третьей недели приема независимо от дозы и режима приема [145]. Повышенную частоту микроядер обнаружили у людей, больных диабетом, которые использовали комбинацию лекарственных препаратов — пиоглитазона и глимепирида [28]. Прием циклофосфата больными системной красной волчанкой повышал число клеток с микроядрами в буккальном эпителии [120].

Были выявлены препараты, снижающие число клеток с микроядрами. Биоактивные добавки (витамин Е, витамин А, куркума, йодтиронин, каротин) понижают уровень аберрантных клеток [146]. Отмечено уменьшение доли клеток с микроядрами при приеме природных адаптогенов (витаминные комплексы, гуминовые препараты, фитопрепараты) [26].

Изучали также роль стоматологических процедур в формировании клеток с нарушениями. Применение пломб из цемента и мономеров вызывало повышение числа микроядер у детей 2–12 лет [147]. На увеличение частоты клеток с микроядрами в буккальном эпителии человека влияют зубные протезы. Егерова и др. [148] выявили существование двух групп людей с разной реакцией ядерного аппарата на ортодонтическое вмешательство: группа с явным возрастанием аберрантных клеток и группа, у которой число таких клеток не меняется или возрастает незначительно.

Заключение. Таким образом, в настоящее время исследовано влияние пола, возраста, генотипа (полиморфизм генов репарации, ферментов детоксикации ксенобиотиков), антропогенного загрязнения окружающей среды (влияние антропогенного воздействия на людей, проживающих в различных районах г. Воронежа, Центрально-Черноземного региона, Кузбасса, Москвы, Санкт-Петербурга, Коряжмы, Курска, Новгорода, Чапаевска, Котласа, Тулы, Уфы, Республики Молдова, Чеченской республики, Донецкой области, Днепропетровской области, районах Вьетнама, Армении), показано серьезное воздействие профессиональных вредностей на человека (хлорфеноксигербицидов, диоксинов, радона, особо опасных химических веществ, свинца, бензина, формальдегида, мышьяка, пестицидов, продуктов горения, древесной пыли, химических ве-



? – влияние фактора недостоверно или вызывает споры среди исследователей;
 ↑ – увеличение числа ядерных нарушений под действием фактора;
 ↓ – уменьшение числа ядерных нарушений под действием фактора

Факторы, влияющие на частоту встречаемости клеток буккального эпителия с ядерными aberrациями

ществ, используемых парикмахерами, красок художников, промышленной минеральной пыли, трехвалентного хрома, газов для анестезии). Увеличивалось число клеток с микроядрами и при использовании мобильных телефонов. Отмечалось влияние климато-географических условий (температуры, атмосферного давления, волнений моря, солнечной активности, акклиматизации).

При заболеваниях различной этиологии (ветряной оспе, раке желудочно-кишечного тракта, молочной железы, легких, шейки матки, ротовой полости, заболеваниях желудочно-кишечного тракта, бронхиальной астме, острых респираторных заболеваниях, красном плоском лишае ротовой полости, болезни Альцгеймера, шизофрении, тонзиллите, пародонтите) повышалась цитогенетическая нестабильность в буккальном эпителии. Происходило изменение ядерного аппарата под действием лекарственных препаратов (пиоглитазона и глимепирида, циклофосфамида), андрогенных стероидов, зубных пломб, зубных протезов. Отмечено также влияние иммунного статуса человека, генотипа, психофизиологических характеристик (агрессия, тревожность, социальный стресс), вредных привычек (курение, употребление спиртных напитков, жевание и нюханье табачных смесей) на встречаемость аберрантных клеток в эпителиоцитах. Есть данные, что прием биологически активных добавок (витаминов А и Е, куркумы, йодтиронины, каротина) снижает уровень микроядер в клетках буккального эпителия. Исследовано влияние различных методик микроядерного теста (окрашивания, взятия соскоба) на его результаты.

На основании настоящего обзора создана схема, отражающая влияние факторов эндо- и экзогенной природы на частоту встречаемости буккальных эпителиоцитов с аберрациями (рисунок).

Таким образом, микроядерный тест буккального эпителия человека является весьма перспективным методом для применения при проведении фундаментальных и прикладных исследований. Стандартизация методики проведения микроядерного теста (выбор оптимального красителя, способ взятия материала для исследования и приготовления микропрепаратов) и описания обнаруженных аномалий (установление строгого перечня регистрируемых нарушений) даст возможность адекватно сравнивать и использовать результаты, полученные в разных лабораториях, устранить разночтения при их интерпретации. Несомненно, это приведет к расширению и углублению путей использования упомянутого метода исследования, будет способствовать его внедрению в качестве рутинной процедуры в клинической практике, мониторинговых исследованиях состояния окружающей среды, оценке профессиональных рисков и смежных областях науки, позволит выявить новые факторы, влияющие на цитогенетический статус человека.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках государственного задания ВУЗам в сфере научной деятельности на 2014–2016 гг. проект № 1035.

MICRONUCLEUS TEST OF HUMAN ORAL BUCCAL EPITHELIUM: PROBLEMS, PROGRESS AND PROSPECTS

V. Kalaev, V. Artyukhov, M. Nechaeva

Department of Genetics, Cytology and Bioengineering of Voronezh State University, Russia
E-mail: Dr_Huix@mail.ru

The articles by Russian and foreign authors for the period from 2000 to 2012, devoted to the problems of application, analysis and interpretation of the results of micronucleus test in human buccal epithelium has been analyzed in the review. Nuclear abnormality founding in the cells of the oral mucosa has been described. The paper summarizes works devoted to the analysis of the influence of the micronucleus test methods (painting, taking scrapings) to its results. Modern opinions about the factors of different etiology (sex, age, genotype, psycho-physiological characteristics, immune status, diseases of different etiology, man-made pollution, climatic and geographical conditions, ionizing and nonionizing radiation, chemical compounds (drugs, dietary supplements, androgenic steroids, etc.), dental fillings, occupational exposures, alcohol, using tobacco blends) inducing the estimation of nuclear aberration has been summarized as a scheme. The problems and unresolved issues related to the peculiarities of micronucleus test has been noted.

МІКРОЯДЕРНИЙ ТЕСТ В БУКАЛЬНОМУ ЕПІТЕЛІЇ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ ЛЮДИНИ: ПРОБЛЕМИ, ДОСЯГНЕННЯ, ПЕРСПЕКТИВИ

В.М. Калаев, В.Г. Артюхов, М.С. Нечаева

В огляді проаналізовано статті російських і зарубіжних авторів за період з 2000 по 2012 рр., присвячені проблемам застосування, аналізу та інтерпретації результатів микроядерного тесту в буккальному епітелії людини. Описано ядерні аномалії, які виявляються в клітинах слизової оболонки ротової порожнини. Узагальнено роботи, присвячені аналізу впливу методики проведення микроядерного тесту (фарбування, взяття зскрібка) на його результати. У вигляді схеми підсумовано сучасні уявлення про фактори різної етіології (стать, вік, генотип, психофізіологічні характеристики, імунний статус, захворювання різної етіології, антропогенне забруднення навколишнього середовища, клімато-географічні умови, іонізуючі та неіонізуючі випромінювання, хімічні сполуки (лікарські препарати, біологічно активні добавки, андрогенні стероїди та ін.), зубні плом-

би, професійні шкідливості, алкоголізм, вживання тютюнових сумішей індукують виникнення аберацій ядра. Позначено проблеми та неврегульовані питання, пов'язані з особливостями застосування мікроядерного тесту.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sarto F., Finotto S., Giacomelli I., Mazzotti D. The micronucleus assay in exfoliated cells of the human buccal mucosa // *Mutagenesis*. – 1987. – 2, № 1. – P. 11–17.
2. Калаев В.Н., Карпова С.С. Цитогенетический мониторинг: методы оценки загрязнения окружающей среды и состояния генетического аппарата организма. – Воронеж, 2004. – 80 с.
3. Юрченко В.В. Цитогенетические нарушения в эпителии щеки человека при экспозиции генотоксикантами // *Токсикол. вестн.* – 2005. – № 6. – С. 14–21.
4. Nersesyan A.K., Ilin A.I. The micronucleus assay in exfoliated human cells : A mini-review of papers from the CIS // *Cytology and Genetics*. – 2007. – 41, № 2. – P. 115–124.
5. Holland N., Bolognesi C., Kirsch-Volders M. et al. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage : The HUMN project perspective on current status and knowledge gaps // *Mutat. Res.* – 2008. – 659, № 1/2. – P. 93–108.
6. Юрченко В.В., Подольная М.А., Ингель Ф.И. и др. Микроядерный тест на буккальных эпителиоцитах человека // *Полиорганный микроядерный тест в эколого-гигиенических исследованиях*. – М.: Гениус, 2007. – 312 с.
7. Попова И.Е., Калаев В.Н., Нестерова Л.Н. и др. Микроядерный анализ в буккальных эпителиоцитах спортсменов, занимающихся спортивными единоборствами, в свете данных об их психофизиологическом состоянии // *Физическая культура, спорт, здоровье в жизни молодежи : Сб. науч. статей Всерос. науч.-практ. конф.* – Воронеж, 2009. – С. 113–118.
8. Юрченко В.В., Кривоцова Е.К., Подольная М.А. и др. Использование микроядерного теста на эпителии слизистой оболочки щеки человека // *Гигиена и санитария*. – 2008. – № 6. – С. 53–56.
9. Калаев В.Н., Нечаева М.С., Карпова С.С. Частота встречаемости клеточных нарушений в буккальном эпителии человека в зависимости от типа цитологического красителя // *Фундаментальные науки и практика : Сб. науч. работ.* – Томск, 2010. – 1, № 4. – С. 153–154.
10. Калаев В.Н., Артюхов В.Г., Нечаева М.С. Частота встречаемости клеток с морфологически аномальными ядрами в буккальном эпителии человека при разных способах окрашивания // *Цитология*. – 2012. – 54, № 1. – С. 78–84.
11. Thomas P., Holland N., Bolognesi C. et al. Buccal micronucleus cytome assay // *Nature Protocols*. – 2009. – 4. – P. 825–837.
12. Bonassi S., Biasotti B., Kirsch-Volders M. et al. State of the art survey of the buccal micronucleus assay – a first stage in the HUMNXL project initiative // *Mutagenesis*. – 2009. – 24, № 4. – P. 295–302.
13. Nersesyan A., Kundi M., Atefie K., Schulte-Hermann R. Effect of staining procedures on the results of micronucleus assays with exfoliated oral mucosa cells // *Cancer Epidem. Biomarkers Prev.* – 2006. – 15, № 10. – P. 1835–1840.
14. Nersesyan A.K. Does cigarette smoking induce micronuclei in buccal cells? // *Amer. J. Clin. Nutr.* – 2006. – 84, № 4. – P. 946–947.
15. Ayyad S.B., Israel E., El-Setouhy M. et al. Evaluation of Papanicolaou stain for studying micronuclei in buccal cells under field conditions // *Acta Cytol.* – 2006. – 50, № 4. – P. 398–402.
16. Lucero L., Pastor S., Suárez S. et al. Cytogenetic biomonitoring of Spanish greenhouse workers exposed to pesticides: micronuclei analysis in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells // *Mutat. Res.* – 2000. – 464, № 2. – P. 255–262.
17. Мейер А.В., Дружинин В.Г., Ларионов А.В. Генотоксические и цитотоксические эффекты в буккальных эпителиоцитах детей, проживающих в экологически различающихся районах Кузбасса // *Цитология*. – 2010. – 52, № 4. – С. 305–310.
18. Sellappa S., Prathyumn S., Joseph S., Keyan K.S. Micronucleus test in exfoliated buccal cells from chromium exposed tannery workers // *Int. J. Biosci., Biochem. Bioinform.* – 2011. – 1, № 1. – P. 58–62.
19. Sellappa S., Balakrishnan M., Vellingiri B. Mixture of betel leaf, areca nut and tobacco chewing is a risk factor for cytogenetic damage in construction workers from south India // *Braz. J. Oral.* – 2009. – 8, № 3. – P. 145–148.
20. Sellappa S., Prathyumn S., Joseph S. et al. XRCC1399 and hOGG1326 Polymorphisms and Frequencies of Micronuclei, Comet and Chromosomal Aberrations among Tobacco Chewers: A South Indian Population Study // *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. – 2009. – 10, № 6. – P. 1057–1062
21. Маймулов В.Г., Якубова И.Ш., Суворова А.В. и др. Оценка частоты микроядер в эпителиоцитах слизистой оболочки полости рта у школьников в районах с различной интенсивностью загрязнения окружающей среды // *Научно-методические и законодательные основы обеспечения генетической безопасности факторов и объектов окружающей и производственной среды в целях сох-*

- ранения здоровья человека : Материалы объединенного Пленума Научных советов Минздравсоцразвития РФ и РАМН по экологии человека и гигиене окружающей среды и по медико-экологическим проблемам здоровья работающих. – М., 2010. – С. 108–109.
22. Юрченко В.В., Сычева Л.П., Ревазова Ю.А. и др. Анализ частоты микроядер и ядерных аномалий в эпителиальных клетках слизистой щеки у женщин, контактирующих с диоксинами // Токсикол. вестн. – 2000. – № 3. – С. 2–6.
 23. Буторина А.К., Калаев В.Н., Карпова С.С. Влияние пола и возраста детей на частоту встречаемости микроядер в буккальном эпителии ротовой полости // Вестн. ВГУ. Сер. Химия. Биология. – 2000. – № 2. – С. 143–145.
 24. Беляева Н.Н., Мухамбетова Л.Х., Петрова И.В. и др. Медико-биологические критерии оценки влияния загрязнения окружающей среды на здоровье населения // Гигиена и санитария. – 2003. – № 6. – С. 77–79.
 25. Sobol' M.V., Bezrukov V.F. Frequency of micronuclei in the cells of buccal epithelium in Ukrainian schoolchildren of various age and sex // Cytology and Genetics. – 2007. – 41, № 4. – P. 243–244.
 26. Горовая А.И., Климкина И.И. Использование цитогенетического тестирования для оценки экологической ситуации и эффективности оздоровления детей и взрослых природными адаптогенами // Цитология и генетика. – 2002. – 36, № 5. – С. 21–25.
 27. Карпова С.С., Калаев В.Н., Трофимова В.А. и др. Микроядерный тест в буккальном эпителии детей, проживающих в районах Центрально-Черноземного региона с различным уровнем антропогенного загрязнения окружающей среды // Актуальные проблемы медицины и биологии : Сб. науч. работ Сиб. гос. мед. ун-та. – Томск, 2003. – 2. – С. 58–62.
 28. Shaik N.A., Shaik J.P., Ali S. et al. Increased frequency of micronuclei in diabetes mellitus patients using pioglitazone and glimepiride in combination // Food Chem. Toxicol. – 2010. – 48, № 12. – P. 3432–3435.
 29. 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 // Человек и его здоровье : Курский науч.-практ. вестн. – 2008. – № 2. – С. 12–17.
 30. Джамбетова П.М., Молочаева Л.Г., Махтиева А.Б., Сычева Л.П. Оценка влияния загрязнения почв нефтепродуктами на цитогенетический статус и показатели апоптоза в клетках буккального эпителиа у детей // Экол. генетика человека. – 2009. – 7, № 4. – С. 34–40.
 31. Калаев В.Н., Игнатова И.В., Артемова О.В., Карпова С.С. Изменение частоты встречаемости клеток с микроядрами в буккальном эпителии военнослужащих в течение года // Актуальные проблемы охраны здоровья лиц молодого возраста. – Брянск, 2010. – С. 128–134.
 32. Волкова А.Т., Викторова Т.В. Анализ встречаемости аномальных клеток буккального эпителиа среди студентов первого курса БГМУ // Научно-методические и законодательные основы обеспечения генетической безопасности факторов и объектов окружающей и производственной среды в целях сохранения здоровья человека : Материалы объединенного Пленума Научных советов Минздравсоцразвития РФ и РАМН по экологии человека и гигиене окружающей среды и по медико-экологическим проблемам здоровья работающих. – М., 2010. – С. 43–44.
 33. Ramirez A., Saldanha P.H. Micronucleus investigation of alcoholic patients with oral carcinomas // Genet. Mol. Res. – 2002. – 1, № 3. – P. 246–260.
 34. Голубь А.А., Чемикосова Т.С., Гуляева О.А. Выявление микроядер в эпителии слизистой оболочки полости рта у курящих студентов // Проблемы стоматологии. – 2010. – 1, № 6. – С. 7–9.
 35. Майранетян А.Х., Залинян Г.Г., Татевосян Н.С. и др. Микроядерный тест как индикатор эффекта действия хлорорганических пестицидов // Уч. зап. Ереван. гос. ун-та. – 2008. – 2, № 216. – С. 153–155.
 36. Martino-Roth M.G., Viugas J., Amaral M. et al. Evaluation of genotoxicity through micronuclei test in workers of car and battery repair garages // Genet. Mol. Biol. – 2002. – 25, № 4. – P. 495–500.
 37. Ивантер Э.В., Коросов А.В. Введение в количественную биологию. – Петрозаводск : Петрозавод. гос. ун-т, 2000. – 319 с.
 38. Бяхова М.М., Сычева Л.П., Журков В.С. и др. Кариологические и иммунологические показатели у детей в условиях различного загрязнения атмосферного воздуха // Гигиена и санитария. – 2010. – № 3. – С. 9–11.
 39. Бяхова М.М., Сычева Л.П., Журков В.С. Исследование цитогенетических показателей, показателей пролиферации и апоптоза в эксфолиативных клетках буккального и назального эпителиа у больных раком молочной железы до и после радикального лечения // Новые технологии в диагностике и лечении рака молочной железы и меланомы кожи : Материалы науч.-практ. конф. – М., 2010. – С. 7.
 40. Коваленко М.А., Сычева Л.П., Умнова Н.В. и др. Цитогенетические и кариологические показатели

- в эксфолиативных клетках людей, проживающих на загрязненных диоксинами территориях // Научно-методические и законодательные основы обеспечения генетической безопасности факторов и объектов окружающей и производственной среды в целях сохранения здоровья человека : Материалы объединенного Пленума Научных советов Минздравсоцразвития РФ и РАМН по экологии человека и гигиене окружающей среды и по медико-экологическим проблемам здоровья работающих. – М., 2010. – С. 88–89.
41. Сычева Л.П., Журков В.С., Ревазова Ю.А. Цитогенетический статус эксфолиативных клеток человека как биомаркер генотоксического, цитотоксического и канцерогенного действия факторов окружающей среды // Съезд генетиков и селекционеров, посвященный 200-летию со дня рождения Ч. Дарвина : Тез. докл. – М., 2009. – 2. – С. 352.
 42. Сычева Л.П., Иванов С.И., Коваленко М.А. и др. Цитогенетический статус детей, проживающих вблизи целлюлозно-бумажного комбината // Гигиена и санитария. – 2010. – № 1. – С. 7.
 43. Volcova A.T., Zagidullina S.R., Sabitova E.R., Potapova I.A. The analysis of kariological indices of buccal epithelium samples taken from urban and rural men. – <http://tele-conf.ru/telekonferentsiya-5-iyun-2011>.
 44. Ревазова Ю.А., Журков В.С., Жученко Н.А. и др. Диоксины и медико-генетические показатели здоровья населения города Чапаевска // Гигиена и санитария. – 2001. – № 6. – С. 11–15.
 45. Ray M.R., Basu C., Mukherjee S. et al. Micronucleus frequencies and nuclear anomalies in exfoliated buccal epithelial cells of firefighters // Int. J. Hum. Genet. – 2005. – 5, № 1. – P. 45–48.
 46. Алещенко А.В., Алчинова И.Б., Дмитриева О.С. и др. Использование цитогенетического метода исследования буккального эпителия и метода лазерной корреляционной спектроскопии для мониторинга нарушений в организме детей // Цитология. – 2006. – 48, № 2. – С. 169–171.
 47. Thomas P., Hecker J., Faunt J., Fenech M. Buccal micronucleus cytome biomarkers may be associated with Alzheimer's disease // Mutagenesis. – 2007. – 22, № 6. – P. 371–379.
 48. Wunnapuk K., Ruangyuttikarn W., Anusri Y., Prapantontol T. Increase in epithelial buccal cell micronuclei in students exposed to embalming solution vapor // Chiang Mai Med. J. – 2008. – 47, № 3. – P. 115–123.
 49. Чемикосова Т.С., Гуляева О.А., Голубь А.А. Метод ранней диагностики мутагенного и канцерогенного воздействия профессионального токсического фактора // Институт стоматологии : Науч.-практ. журнал. – 2009. – № 4. – С. 70–71.
 50. Чемикосова Т.С., Камалова О.А., Ибрагимова З.Н. Состояние слизистой оболочки рта у лиц, профессионально контактирующих с хлорфенокси-гербицидами // Стоматология. – 2004. – № 1. <http://www.mediasphera.ru/journals/stomo/261/3956/>
 51. Celik A., Diler S.B., Eke D. Assessment of genetic damage in buccal epithelium cells of painters: micronucleus, nuclear changes, and repair index // DNA and Cell Biol. – 2010. – 29, № 6. – С. 277–284.
 52. Rickes L.N., Alvarengo M.C., Souza T.M. et al. Increased micronucleus frequency in exfoliated cells of the buccal mucosa in hairdressers // Genet. Mol. Res. – 2010. – 9, № 3. – P. 1921–1928.
 53. Diler S.B., Çelik A. Cytogenetic biomonitoring of carpet fabric workers using micronucleus frequency, nuclear changes, and the calculation of risk assessment by repair index in exfoliated mucosa cells // Cell Biol. – 2011. – 30, № 10. – P. 821–827.
 54. Diler S.B., Ergene S. Nuclear anomalies in the buccal cells of calcite factory workers // Gen. Mol. Biol. – 2010. – 33, № 2. – P. 374–378.
 55. Sudha S., Kripa S.K., Shibily P., Shyn J. Elevated frequencies of micronuclei and other nuclear abnormalities of chrome plating workers occupationally exposed to hexavalent chromium // Iran. J. Cancer Prev. – 2011. – 4, № 3. – P. 119–124.
 56. Жулева Л.Ю., Умнова Н.В. Анализ микроядер и других аномалий ядра в клетках слизистой оболочки ротовой полости женщин, подвергающихся действию экотоксикантов, содержащих диоксины // Структура и функции клеточного ядра: Тез. докл. и сообщ. 13-го Всерос. симп. // Цитология. – 2000. – 42, № 3. – С. 281.
 57. Montero R., Serrano L., Dávila V. et al. Metabolic polymorphisms and the micronucleus frequency in buccal epithelium of adolescents living in an urban environment // Environ. Mol. Mutagen. – 2003. – 42, № 3. – P. 216–222.
 58. Unal M., Celik A., Ateş N.A. et al. Cytogenetic biomonitoring in children with chronic tonsillitis: micronucleus frequency in exfoliated buccal epithelium cells // Int. J. Pediat. Otorhinolaryn. – 2005. – 69, № 11. – P. 1483–1488.
 59. Çelik A., Çavaş T., Gözükara S.E. Cytogenetic biomonitoring in petrol station attendants: micronucleus test in exfoliated buccal cells // Mutagenesis. – 2003. – 18, № 5. – P. 417–421.
 60. Rajkokila K., Shajithanoop S., Usharani M.V. Nuclear anomalies in exfoliated buccal epithelial cells of petrol station attendants in Tamilnadu, South India // J. Med. Genet. Genom. – 2010. – 2, № 2. – P. 18–22.
 61. Бяхова М.М., Сычева Л.П., Ревазова Ю.А. и др. Апоптоз и цитогенетические нарушения в эпителии

- детей, больных бронхиальной астмой / Экоотоксиканты и здоровье человека : Материалы конгресса // Вестн. Рос. Воен.-мед. академии. — 2008. — 3, № 23. — С. 35–36.
62. *Revažova J., Yurchenko V., Katosova L. et al.* Cytogenetic investigation of women exposed to different levels of dioxins in Chapaevsk town // *Chemosphere*. — 2001. — 43, № 4–7. — P. 999–1004.
63. *Angelier F., de Cássia Gonçalves Moleirinho T., Carlin V. et al.* Biomonitoring of oral epithelial cells in smokers and non-smokers submitted to panoramic X-ray: comparison between buccal mucosa and lateral border of the tongue // *Clin. Oral Invest.* — 2010. — 14, № 6. — P. 669–674.
64. *Дмитриева О.С.* Определение индивидуальной чувствительности организма к действию неблагоприятных факторов окружающей среды на основе клеточных реакций и метаболических сдвигов : Дис. ... канд. биол. наук. — М., 2006. — 153 с.
65. *Кузоватов С.Н., Кравцов С.Н., Вахтин Ю.Б.* Межъядерные хромосомные мосты и ядра с протрузиями в клеточных популяциях рабдомиосаркомы РА-23 крыс // *Цитология*. — 2000. — 42, № 11. — С. 1097–1102.
66. *Никифоров А.М., Федорцева Р.Ф., Моносова Е.К. и др.* Ядра с протрузиями — «хвостатые» ядра и радиационные цитогенетические маркеры в культуре лимфоцитов после рентгеновского облучения // *Радиационная биология. Радиоэкология*. — 2000. — 40, № 3. — С. 299–304.
67. *Буторина А.К., Калаев В.Н., Карпова С.С.* Цитогенетические эффекты антропогенного загрязнения у детей, проживающих в различных районах г. Воронежа // *Вестник ВГУ. Сер.: Химия. Биология*. — 2000. — № 1. — С. 91–93.
68. *Буторина А.К., Калаев В.Н., Карпова С.С.* Цитогенетические нарушения в соматических клетках человека и березы повислой в районах г. Воронежа с различной интенсивностью антропогенного загрязнения // *Экология*. — 2002. — № 6. — С. 437–440.
69. *Карпова С.С., Калаев В.Н., Артюхов В.Г. и др.* Использование морфологических характеристик ядрышек клеток корней проростков березы повислой для определения степени загрязнения окружающей среды // *Изв. РАН Сер. биол.* — 2006. — № 1. — С. 86–94.
70. *Карпова С.С., Калаев В.Н.* Цитогенетические реакции березы повислой на антропогенное загрязнение и перспективы ее использования для оценки генотоксичности окружающей человека среды // *Живые объекты в условиях антропогенного пресса : Материалы 10-й Междунар. науч.-практ. экол. конф.* — Белгород, 2008. — С. 83–84.
71. *Калаев В.Н.* Цитогенетические реакции листовых древесных растений на стрессовые условия и перспективы их использования для оценки генотоксичности окружающей среды : Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — Воронеж, 2009. — 47 с.
72. *Калаев В.Н., Буторина А.К., Карпова С.С.* Оценка генотоксичности окружающей среды для человека по показателям растительных тест-объектов // *Актуальные проблемы медицины и биологии : Сб. науч. работ.* — Томск, 2003. — 2. — С. 57–58.
73. *Мухин В.В., Путилина О.Н., Теплова Т.Е., Бакун Г.В.* Экспресс-оценка опасности загрязнения окружающей среды выбросами промышленных предприятий // *Укр. журн. з проблем медицини праці*. — 2008. — 4, № 16. — С. 80–89.
74. *Калаев В.Н., Буторина А.К., Левински М.В., Преображенский А.П.* Оценка генотоксичности окружающей среды в городах республики Молдова по результатам микроядерного теста в буккальном эпителии детей // *Систем. анализ и управление в биомед. системах*. — 2008. — 7, № 1. — С. 196–200.
75. *Левински М.В.* Эколого-генетическая оценка состояния окружающей среды и здоровья населения в некоторых промышленных центрах республики Молдова : Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Воронеж, 2008. — 20 с.
76. *Юрченко В.В., Кривцова Е.К., Подольная М.А. и др.* Микроядерный тест эпителия щеки в комплексной оценке экологического благополучия детей в Москве // *Гигиена и санитария*. — 2007. — № 6. — С. 83–86.
77. *Беляева Н.Н., Мухамбетова Л.Х., Журков В.С., Петрова И.В.* Медико-биологические критерии оценки влияния загрязнения окружающей среды на здоровье населения // *Угрозы здоровью человека: современные гигиенические проблемы и пути их решения : Материалы Пленума МНС по экологии человека и гигиене окружающей среды РАМН и Минздрава РФ.* — М., 2002. — С. 32–33.
78. *Беляева Н.Н., Сычева Л.П., Журков В.С. и др.* Сопряженность изменений морфофункциональных, цитогенетических и цитотоксических показателей при оценке воздействия на организм факторов окружающей среды // *Научно-методические и законодательные основы обеспечения генетической безопасности факторов и объектов окружающей и производственной среды в целях сохранения здоровья человека : Материалы объединенного Пленума Научных советов Минздравсоцразвития РФ и РАМН по экологии человека и гигиене окружающей среды и по медико-экологическим проблемам здоровья работающих.* — М., 2010. — С. 32–33.
79. *Бяхова М.М.* Цитогенетический статус, показав

- тели пролиферации и апоптоза у детей с бронхиальной астмой, проживающих в условиях загрязнения атмосферного воздуха : Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 2008. — 21 с.
80. Жулева Л.Ю. Повреждения хромосомного аппарата соматических клеток человека при воздействии диоксида : Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — М., 2000. — 21 с.
 81. Sailaja N., Chandrasekhar M., Rekhadevi P.V. et al. Genotoxic evaluation of workers employed in pesticide production // *Mutat. Res.* — 2006. — **609**, № 1. — P. 74–80.
 82. Pastor S., Gutierrez S., Creus A. et al. Micronuclei in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells of Polish farmers exposed to pesticides // *Mutat. Res.* — 2001. — **495**, № 1. — P. 147–156.
 83. Pastor S., Creus A., Xamena N. et al. Occupational exposure to pesticides and cytogenetic damage. Results of a Hungarian population study using the micronucleus assay in lymphocytes and buccal cells // *Environ. Mol. Mutagen.* — 2002. — **40**, № 2. — P. 101–109.
 84. Солтаева А.М.-Х., Джамбетова П.М., Абишев С.К. и др. Исследование ассоциации частот клеток с микроядрами у детей, проживающих на чистых и загрязненных нефтепродуктами территориях, с полиморфизмом генов детоксикации и репарации // Научно-методические и законодательные основы обеспечения генетической безопасности факторов и объектов окружающей и производственной среды в целях сохранения здоровья человека : Материалы объединенного Пленума Научных советов Минздравсоцразвития РФ и РАМН по экологии человека и гигиене окружающей среды и по медико-экологическим проблемам здоровья работающих. — М., 2010. — С. 138–139.
 85. Овсянников В.Г., Сапронов С.В., Хусаинова И.С. Нейроэндокринные нарушения в патогенезе токсической меланодермии // *Вестн. Санкт-Петербург. ун-та.* — 2008. — **11**, № 2. — С. 54–58.
 86. Чернякина Т.С. Научное обоснование системы оздоровления детей в напряженных природно-экологических и социально-гигиенических условиях : Дис. ... д-ра мед. наук. — СПб, 2006. — 342 с.
 87. Маймулов В.Г., Ромашов П.Г., Чернякина Т.С. и др. Оценка частоты микроядер в эпителиоцитах слизистой оболочки полости рта у дошкольников в районах с различной интенсивностью загрязнения окружающей среды // Научно-методические и законодательные основы обеспечения генетической безопасности факторов и объектов окружающей и производственной среды в целях сохранения здоровья человека : Материалы объединенного Пленума Научных советов Минздравсоцразвития РФ и РАМН по экологии человека и гигиене окружающей среды и по медико-экологическим проблемам здоровья работающих. — М., 2010. — С. 106–107.
 88. Черных А.М., Резцова Е.Ю. Изучение цитологического и цитогенетического статуса слизистых оболочек ротовой и носовой полости у детей, проживающих в районах с различной экологической обстановкой // Экология человека, гигиена и медицина окружающей среды на рубеже веков: состояние и перспективы развития : Материалы Всерос. конф. — М., 2006. — С. 190–195.
 89. Sambyal V., Kaur R., Chaudhary S., Amar S. High frequency of micronuclei in buccal mucosa of women residing near a sewage disposal drain in amritsar // *Anthropologist.* — 2004. — **6**, № 2. — P. 125–129.
 90. Tian D., Ma H., Feng Z. et al. Analyses of micronuclei in exfoliated epithelial cells from individuals chronically exposed to arsenic via drinking water in Inner Mongolia, China // *Toxicol. Environ. Health. Part A.* — 2001. — **64**, № 6 — P. 473–484.
 91. Chakraborty T., Das U., Poddar S. et al. A study in an arsenic exposed population in West Bengal, India // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* — 2006. — **76**, № 6. — P. 970–976.
 92. Ghosh P., Basu A., Mahata J. et al. Cytogenetic damage and genetic variants in the individuals susceptible to arsenic-induced cancer through drinking water // *Int. J. Cancer.* — 2006. — **118**, № 10. — P. 2470–2478.
 93. Lewińska D., Palus J., Stepnik M. et al. Micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes and buccal mucosa cells of copper smelter workers, with special regard to arsenic exposure // *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* — 2007. — **80**, № 5. — P. 371–380.
 94. Гагошидзе М.В., Антелава М.О., Зедгинидзе А.Г., Манджавидзе Н.Ш. Влияние экологической ситуации на заболеваемость детей острыми респираторными заболеваниями // *Georgian Med. News.* — 2005. — **1**. — С. 149–152.
 95. Martinez V., Creus A., Venegas W. et al. Micronuclei assessment in buccal cells of people environmentally exposed to arsenic in northern Chile // *Toxicol. Lett.* — 2005. — **155**, № 2. — P. 319–327.
 96. Ghosh P., Basu A., Singh K.K., Giri A.K. Evaluation of cell types for assessment of cytogenetic damage in arsenic exposed population // *Mol. Cancer.* — 2008. — **7**. — P. 45–49.
 97. Гуляева О.А. Клинико-лабораторное обоснование ранней диагностики и профилактики стоматологических заболеваний у рабочих хлорорганического синтеза : Дис. ... канд. мед. наук. — Казань, 2004. — 107 с.
 98. Гончарова А.Г., Зыкова И.Е., Ревазова Ю.А., Ворон-

- ков Ю.И. Некоторые аспекты клинко-генетического обследования лиц, проводящих работы с особо опасными химическими веществами // Актуальные проблемы токсикологии и радиобиологии : Материалы Рос. науч. конф. – СПб, 2011. – С. 156.
99. Калаев В.Н., Саженков А.А. Влияние факторов различной этиологии на встречаемость клеток с микроядрами в буккальном эпителии человека // 6-й Сиб. физиол. съезд : Тез. докл. – Барнаул, 2008. – С. 11.
100. Ибраев С.А., Жумабекова Г.С. Цитогенетический статус слизистой щеки у рабочих хризотил-асбестового производства // Научно-методические и законодательные основы обеспечения генетической безопасности факторов и объектов окружающей и производственной среды в целях сохранения здоровья человека : Материалы объединенного Пленума Научных советов Минздравоохранения РФ и РАМН по экологии человека и гигиене окружающей среды и по медико-экологическим проблемам здоровья работающих. – М., 2010. – С. 79–80.
101. Vasudevan S.G., Sellappa S., Prathyumn S. et al. Enhanced micronuclei in exfoliated buccal cells of tannery workers exposed to chromium III (Cr III) in South India // Int. Conf. on Biosci., Biochem. and Bioinform. – Singapore, 2011. – 5. – P. 140–143.
102. Qayyum S., Ara A., Usmani J. A. Effect of nickel and chromium exposure on buccal cells of electroplaters // Toxicol. Ind. Health. – 2012. – 28, № 1. – P. 74–82.
103. Benites C.I., Amado L.L., Vianna R.A., Martino-Roth M.G. Micronucleus test on gas station attendants // Genet. Mol. Res. – 2006. – 5, № 1. – P. 45–54.
104. Sellappa S., Sadhanandhan B., Francis A., Vasudevan S.G. Evaluation of genotoxicity in petrol station workers in South India using micronucleus assay // Ind. Health. – 2010. – 48, № 6. – P. 852–856.
105. Viegas S., Ladeira C., Nunes C. et al. Genotoxic effects in occupational exposure to formaldehyde : A study in anatomy and pathology laboratories and formaldehyde-resins production // J. Occup. Med. Toxicol. – 2010. – 5, № 1. – P. 25.
106. Rekhadevi P.V., Mahboob M., Rahman M.F., Grover P. Genetic damage in wood dust-exposed workers // Mutagenesis. – 2009. – 24, № 1. – P. 59–65.
107. Chandrasekhar M., Rekhadevi P.V., Sailaja N. et al. Evaluation of genetic damage in operating room personnel exposed to anaesthetic gases // Mutagenesis. – 2006. – 21, № 4. – P. 249–254.
108. Мейер А.В., Лунина А.А., Ларионов А.В. и др. Изучение взаимосвязи между частотой микроядер и ядерных протрузий в клетках буккального эпителия человека и полиморфизм генов репарации ДНК на фоне воздействия радона : Структура и функции клеточного ядра : Тез. докл. и сообщ. 16-й Всерос. симп. // Цитология. – 2010. – 52, № 8. – С. 673–674.
109. Дружинин В.Г., Волков А.Н., Глушков А.Н. и др. Роль полиморфизма генов репарации и биотрансформации ксенобиотиков в определении радиочувствительности генома человека к воздействию сверхнормативных концентраций радона // Научно-методические и законодательные основы обеспечения генетической безопасности факторов и объектов окружающей и производственной среды в целях сохранения здоровья человека : Материалы объединенного Пленума Научных советов Минздравоохранения РФ и РАМН по экологии человека и гигиене окружающей среды и по медико-экологическим проблемам здоровья работающих. – М., 2010. – С. 63–64.
110. Колоскова О.К. Результаты цитогенетического тестирования дошкольников в связи с загрязнением почвы свинцом-210 // Клин. та эксперим. патология. – 2004. – 3, № 4. – С. 34–37.
111. Popova L., Kishkilova D., Hadjidekova V.B. et al. Micronucleus test in buccal epithelium cells from patients subjected to panoramic radiography // Dentomaxillo fac. Radiol. – 2007. – 36, № 3. – P. 167–171.
112. Rekhadevi P.V., Sailaja N., Mahboob M. et al. Genotoxicity evaluation of human populations exposed to radio frequency radiation // Toxicol. Int. – 2009. – 16, № 1. – P. 9–19.
113. Hintzsche H., Stopper H. Micronucleus frequency in buccal mucosa cells of mobile phone users // Toxicol. Lett. – 2010. – 193, № 1. – P. 124.
114. Афанасьева Е.С., Безруков В.Ф., Шенета Ю.Б., Моисеенко Е.В. Изменчивость и динамика частоты микроядер участников трансатлантического перехода VII Украинской антарктической экспедиции // Цитология и генетика. – 2004. – 38, № 4. – С. 37–43.
115. Калаев В.Н. Влияние социального стресса и климато-географических условий на стабильность генома человека // Съезд генетиков и селекционеров, посвященный 200-летию со дня рождения Ч. Дарвина : Тез. докл. – М., 2009. – 2. – С. 339.
116. Artyukhov V.G., Kalaev V.N., Shelukhina O.Yu. The influence of the solar activity and some other agents on the frequency of micronuclei in children buccal mucosa // Modern problems of genetics, radiobiology and evolution : 2nd Int. conf. (Yerevan, September 8–11, 2005). – Dubna, 2005. – P. 54.
117. Соболев М.В., Афанасьева Е.С., Безруков В.Ф. Час-

- тота микроядер и уровень тревожности у школьников // Вісн. Укр. т-ва генетиків і селекціонерів. — 2008. — 6, № 1. — С. 131–136.
118. Ревазова Ю.А., Хрипач Л.В., Сидорова И.Е. и др. Комплексный подход в оценке нестабильности генома человека // Вестн. Рос. АМН. — 2006. — № 4. — С. 36–41.
119. Сидорова И.Е. Гигиеническое значение генетического полиморфизма систем биотрансформации высокотоксичных веществ у человека : Дис. ... канд. биол. наук. — М., 2005. — 118 с.
120. Aceves Avila F.J., Esquivel Nava G.A., Gallegos Arreola M.P. et al. Cyclophosphamide boluses induce micronuclei expression in buccal mucosa cells of patients with systemic lupus erythematosus independent of cytochrome P450 2D6 status // J. Rheumatol. — 2004. — 31, № 7. — P. 1335–1339.
121. Беляева Н.Н., Сычева Л.П., Коваленко М.А. и др. Применение морфофункциональных и цитогенетических исследований при анализе воздействия факторов окружающей среды // Гигиена и санитария. — 2007. — № 5. — С. 63–65.
122. Рыбалкина Д.Х. Цитологические параметры и реактивность буккальных эпителиоцитов у детей : Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Алматы, 2008. — 26 с.
123. Калаев В.Н., Никитина О.Г., Никитина Т.Ю., Карпова С.С. Микроядерный тест в буккальном эпителии больных шизофренией на разных стадиях лечения заболевания // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. — 2010. — 9, № 4. — С. 817–821.
124. Гагошидзе М.В., Антелава М.О., Зедгинидзе А.Г. Влияние загрязненной мышьяком среды на генетический аппарат детей и подростков // Georgian Med. News. — 2004. — 12, № 117. — С. 59–62.
125. Yildirim I.H., Yesilada E., Yologlu S. Micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes and exfoliated buccal cells of untreated cancer patients // Hum. Genet. — 2006. — 42, № 5. — P. 573–577.
126. Бяхова М.М., Сычева Л.П., Журков В.С. и др. Анализ изменений цитогенетических показателей у больных раком желудочно-кишечного тракта до и после радикального лечения // Научно-методические и законодательные основы обеспечения генетической безопасности факторов и объектов окружающей и производственной среды в целях сохранения здоровья человека : Материалы объединенного Пленума Научных советов Минздравсоцразвития РФ и РАМН по экологии человека и гигиене окружающей среды и по медико-экологическим проблемам здоровья работающих. — М., 2010. — С. 37–38.
127. Nersesyan A.K., Vardazaryan N.S., Gevorgyan A.L., Arutyunyan R.M. Micronucleus level in exfoliated buccal mucosa cells of cancer patients // Arch. Oncol. — 2002. — 10, № 1. — P. 35–36.
128. Casartelli G., Bonatti S., De Ferrari M. et al. Micronucleus frequencies in exfoliated buccal cells in normal mucosa, precancerous lesions and squamous cell carcinoma // Anal. Quant. Cytol. Histol. — 2000. — 22, № 6. — P. 486–492.
129. Palve D.H., Tupkari J.V. Clinico-pathological correlation of micronuclei in oral squamous cell carcinoma by exfoliative cytology // J. Oral Maxillofacial Path. — 2008. — 12, № 1. — P. 2–7.
130. Chatterjee S., Dhar S., Sengupta B. et al. Cytogenetic monitoring in human oral cancers and other oral pathology : The micronucleus test in exfoliated buccal cells // Toxicol. Mech. Meth. — 2009. — 19, № 6/7. — P. 427–433.
131. Burgaz S., Coskun E., Demircigi G.C. et al. Micronucleus frequencies in lymphocytes and buccal epithelial cells from patients having head and neck cancer and their first-degree relatives // Mutagenesis. — 2011. — 26, № 2. — P. 351–356.
132. Jadhav K., Gupta N., Ahmed Mujib B.R. Micronuclei : An essential biomarker in oral exfoliated cells for grading of oral squamous cell carcinoma // J. Cytol. — 2011. — 28, № 1. — P. 7–12.
133. Halder A., Chakraborty T., Mandal K. et al. Comparative study of exfoliated oral mucosal cell micronuclei frequency in normal, precancerous and malignant epithelium // Int. J. Hum. Genet. — 2004. — 4, № 4. — P. 257–260.
134. Jois H.S., Kale A.D., Mohan Kumar K.P. Micronucleus as potential biomarker of oral carcinogenesis // Ind. J. Dental Advanc. — 2010. — 2, № 2. — P. 197–202.
135. Mukherjee M., Gyawali P., Thakur R.K. et al. Assessment of frequency of micronucleated exfoliated buccal cells in relation to oxidative stress in oral lichen planus in coastal Karnataka, India // Asian Pacific J. Tropic. Dis. — 2011. — 1, № 4. — P. 287–288.
136. Калаев В.Н., Игнатова И.В., Карпова С.С., Артемова О.В. Частота буккальных эпителиоцитов с микроядрами у лиц, страдающих пародонтизом // Вестн. ВГУ. Сер.: Химия. Биология. Фармация. — 2010. — № 1. — С. 82–85.
137. Nersesyan A.K. Comments to the paper by Benites et al. // Genet. Mol. Res. — 2007. — 6, № 1. — P. 240–242.
138. Vuyyuri S.B., Ishaq M., Kuppala D. et al. Evaluation of micronucleus frequencies and DNA damage in glass workers exposed to arsenic // Environ. Mol. Mutagen. — 2006. — 47, № 7. — P. 562–570.
139. Wu P.A., Loh C.H., Hsieh L.L. et al. Clastogenic effect for cigarette smoking but not areca quid chewing as measured by micronuclei in exfoliated buccal mucosal cells // Mutat. Res. — 2004. — 562, № 1/2. — P. 27–38.

140. *Gabriel H.E., Crott J.W., Ghandour H. et al.* Chronic cigarette smoking is associated with diminished folate status, altered folate form distribution, and increased genetic damage in the buccal mucosa of healthy adults // *Amer. J. Clin. Nutr.* – 2006. – **83**, № 4. – P. 835–841.
141. *Proia N.K., Paszkiewicz G.M., Sullivan Nasca M.A. et al.* Smoking and smokeless tobacco-associated human buccal cell mutations and their association with oral cancer: a review // *Cancer Epidemiol., Biomark., Prev.* – 2006. – **15**, № 6. – P. 1061–1077.
142. *Карпова С.С., Калаев В.Н., Трофимова В.А. и др.* Влияние курения родителей на уровень микроядер в эпителиоцитах детей // *Актуальные проблемы медицины и биологии : Сб. науч. работ. Сиб. гос. мед. ун-та.* – 2003. – **2**. – С. 62–63.
143. *Jyoti S., Afzal M., Siddique Y.H.* Genotoxic effects of pan masala and gutkha : A review // *World J. Zool.* – 2011. – **6**, № 3. – P. 301–306.
144. *Sellappa S., Balakrishnan M., Raman S., Palanisamy S.* Induction of micronuclei in buccal mucosa on chewing a mixture of betel leaf, areca nut and tobacco // *J. Oral Sci.* – 2009. – **51**, № 2. – P. 289–292.
145. *Torres-Buragin O., Covarrubias Bugarin R., Zamora Perez A.L. et al.* Anabolic androgenic steroids induce micronuclei in buccal mucosa cells of bodybuilders // *Brit. J. Sports Med.* – 2007. – **41**, № 9. – P. 592–596.
146. *Davis C.D.* Use of exfoliated cells from target tissues to predict responses to bioactive food components // *J. Nutr.* – 2003. – **133**, № 6. – P. 1769–1772.
147. *De Fátima Rezende E., Mendes-Costa M.C., Campideli Fonseca J., de Oliveira Ribeiro A.* Nuclear anomalies in the buccal cells of children under dental treatment // *Revista Sul-Brasileira de Odontologia.* – 2011. – **8**, № 2. – P. 182–188.
148. *Егерева М.А., Дурнова Н.А., Коннов В.В. и др.* Изменение ядерного аппарата клеток буккального эпителия человека при ортопедическом вмешательстве // *Современная российская наука глазами молодых исследователей : Материалы Всерос. науч.-практ. конференции-форума молодых ученых и специалистов.* – 2011. – С. 243–245. <http://e-conf.nkras.ru/konferencii/2011/Egereva>

Поступила 26.11.12