

ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ КЛЕТОК С МОРФОЛОГИЧЕСКИ АНОМАЛЬНЫМИ ЯДРАМИ В БУККАЛЬНОМ ЭПИТЕЛИИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ РАЗНЫХ СПОСОБАХ ОКРАШИВАНИЯ

© В. Н. Калаев,¹ В. Г. Артюхов, М. С. Нечаева

Кафедра генетики, цитологии и биоинженерии Воронежского государственного университета;

¹ *электронный адрес: Dr_Huixs@mail.ru*

Установлен факт влияния окрашивания с использованием широко распространенных красителей (орсеина, светлого зеленого, метиленового синего и азур-эозина по Романовскому—Гимза) на частоту встречаемости клеток с аномалиями ядра (микроядрами, перинуклеарными вакуолями, насечками, протрузиями типов «язык» и «разбитое яйцо») в буккальном эпителии человека. Выявлены оптимальные типы красителей для определения различных аномалий. Показано, что лучшим типом красителя как по качеству получаемых препаратов, так и по спектру выявляемых нарушений является азур-эозин по Романовскому—Гимза.

Ключевые слова: буккальные эпителиоциты, морфологические аномалии ядра, ядерные красители.

В последние десятилетия ведется активная работа по изучению факторов, влияющих на стабильность генетического материала человека с использованием микроядерного теста в буккальном эпителии. В настоящее время исследовано влияние пола (Китаева и др., 1996; Маймулов и др., 1998; Юрченко и др., 2007, и др.), возраста (Маймулов и др., 1998; Буторина и др., 2000б; Юрченко и др., 2007, и др.), генотипа (Юрченко и др., 2007, и др.), антропогенного загрязнения окружающей среды (Арутюнян и др., 1990; Нерсисян, 1996; Маймулов и др., 1998; Буторина и др., 2000а; Карпова и др., 2003; Nersesyan, Ilin, 2007, и др.), заболеваний различной этиологии (Айриян и др., 1990; Torgens-Buragin et al., 2003; Йлдирым и др., 2006; Калаев и др., 2010, и др.), иммунологического статуса человека (Беляева и др., 2001; Левински, 2008), психофизиологических характеристик (агрессия, тревожность) (Соболь и др., 2008; Попова и др., 2009) на встречаемость нарушений в слущивающихся клетках ротовой полости. Широкое распространение данного метода анализа обусловлено его сравнительной простотой, быстротой и дешевизной, а также отсутствием необходимости в специальном оборудовании для культивирования клеток. Кроме того, буккальный эпителий является своеобразным «зеркалом», отображающим состояние всего организма (Гемонов, 1969).

Однако исследования проводятся с использованием различных ядерных красителей, что может отразиться на результатах проводимых экспериментов. Ранее влияние красителей на частоту встречаемости клеток с нарушениями было показано Юркиным (2002) в результате сравнительного анализа семи способов окрашивания мазков крови интактных половозрелых мышей. Им было обнаружено, что наиболее низкий уровень эритроцитов с микроядрами наблюдается при окраске по Фельгену, в качестве

оптимальной была выбрана окраска по Паппенгейму. Проблема зависимости количества выявленных аберраций от вида красителя возникает и при окрашивании клеток буккального эпителия (Юрченко и др., 2007). Ранее было показано, что самый высокий спонтанный уровень клеток с микроядрами отмечен при применении красителя Гимза (Жулева и др., 1996; Zhuleova et al., 1997). Параллельное окрашивание одного и того же материала йодидом пропидия и по Фельгену показало более высокий уровень буккальных клеток с микроядрами в последнем случае (Titenco-Holland et al., 1996). Работы по выявлению влияния окрашивания не только на встречаемость клеток с микроядрами, но и на другие аномалии морфологии ядра в буккальном эпителии нам неизвестны.

Задачей нашей работы было изучение влияния широко распространенных ядерных красителей (орсеина, азур-эозина по Романовскому—Гимза, светлого зеленого, метиленового синего) на встречаемость аберрантных клеток в буккальном эпителии. Решение этой задачи позволит выявить оптимальный тип окрашивания при проведении микроядерного теста и сравнивать результаты, полученные ранее с использованием разных методов окрашивания.

Материал и методика

Соскобы проводили 4 раза с интервалом в 3 сут у 10 здоровых спортсменов, возраст обследуемых составлял 12—13 лет. Выбор указанной группы обусловлен тем, что спектр нарушений в данном случае не будет искажен возможными эффектами болезней и вредных привычек, которые могут отражаться на встречаемости морфологически измененных ядер.

Приготовление препаратов осуществляли по методике Маймулова и соавторов (1998) с нашими модификациями. Шпателем, предварительно обработанным спиртом, делали соскоб со слизистой оболочки обеих щек выше линии смыкания зубов. Мазки высушивали на воздухе, а затем окрашивали различными красителями. Для анализа выбирали отдельно лежащие неповрежденные клетки.

Для окрашивания препаратов использовали красители: азур-эозин по Романовскому—Гимза (ОАО «ПО ТОС», Россия), орсеин (Acros, Бельгия), метиленовый синий (Merck, США) и светлый зеленый (Aldrich, США).

Окрашивание препаратов буккального эпителия проводили по следующим схемам. 1. Отфильтрованный водный раствор азур-эозина по Романовскому—Гимза (1 : 5) наносили на препарат и выдерживали 20 мин при комнатной температуре, затем накрывали препарат покровными стеклами и убирали излишки красителя фильтровальной бумагой. Если краситель недостаточно отфильтрован и препараты получаются грязными, то их можно промыть дистиллированной водой после окрашивания. 2. Предварительно отфильтрованный 1%-ный раствор орсеина наносили на препарат на 20 мин, затем накрывали покровными стеклами и убирали излишки красителя фильтровальной бумагой. Вся работа должна проводиться в вытяжном шкафу, так как в состав данного красителя входит уксусная кислота. 3. Отфильтрованный 1%-ный водный раствор метиленового синего наносили на препарат на 50 мин и продолжали работу аналогично описанной для предыдущих видов окрашивания. 4. Окрашивали образец 1%-ным раствором орсеина в течение 5 мин, затем промывали препарат дистиллированной водой и на несколько секунд наносили на него 0.1%-ный спиртовой раствор светлого зеленого, далее следовали описанной выше методике.

Анализ препаратов осуществляли на микроскопе Laboval-4 (Carl Zeiss, Jena) при увеличении $40 \times 10 \times 1.5$. На каждом препарате просматривали не менее 1000 клеток, среди которых определяли, согласно рекомендациям Юрченко с соавторами (2007), количество клеток с микроядрами, перинуклеарными вакуолями, насечками, протрузиями типов «разбитое яйцо» и «язык». Причины образования данных нарушений различны.

Микроядра представляют собой ацентрические хромосомные фрагменты и отдельные целые хромосомы, потерянные во время митоза (Осипов и др., 2002). За микроядра принимали хроматиновое тело округлой или овальной формы с гладким непрерывным краем, размером не более $1/3$ ядра, лежащее четко отдельно от ядра, не преломляющее свет, имеющее интенсивность окрашивания и рисунок хроматина, как у основного ядра, и находящееся в одной плоскости с ядром. Показателем генетических нарушений в интерфазных ядрах может быть сумма наблюдаемых протрузий. Протрузия типа «разбитое яйцо» выглядит как микроядро, связанное с ядром мостиком нуклеоплазмы, но мостик может соединять и близкие по размеру структуры. Протрузия типа «язык» представляет собой яйцо на двух мостиках нуклеоплазмы (Юрченко и др., 2007).

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 путем почкования интерфазных ядер (Кузоватов и др., 2000; Никифоров

и др., 2000). Существует мнение о том, что в культуре лимфоцитов человека подобные образования являются следствием близко расположенного микроядра, неразрывавшихся мостов и «маркерных хромосом с аномально удлиненными плечами» (Никифоров и др., 2000). Микроядра, протрузии «язык» и «разбитое яйцо» относят к цитогенетическим нарушениям (Мейер и др., 2010).

Перинуклеарная вакуоль является «впячиванием» кариолеммы (ядерной оболочки) и образованием округлой зоны обесцвеченной цитоплазмы и кариоплазмы в окрашенных клетках, появляется в результате образования вакуоли в перинуклеарном пространстве. Она считается надежным признаком некроза клетки и наблюдается при болезнях накопления, воспаления, а также после действия химических веществ и радиации (Юрченко и др., 2007). Данное нарушение относят к признакам ранней деструкции ядра (Мейер и др., 2010).

Ядра с круговой насечкой имеют центральную или частично смещенную к одному из полюсов борозду, как бы перетягивающую ядро (Юрченко и др., 2007). Данная аномалия, по-видимому, образуется в процессе незавершенного митоза в результате повреждения веретена деления; при этом нарушена не только цитотомия, но и кариотомия. Данное нарушение является показателем пролиферации (Мейер и др., 2010). Наблюдаемые нами нарушения морфологии ядер у здоровых лиц можно связать со старением и естественной гибелью эпителиальных клеток ротовой полости (Юрченко и др., 2007). Всего было проанализировано 141 850 клеток, из них с нарушениями — 1654 клетки.

Для каждого обследуемого вычисляли частоту встречаемости клеток с микроядрами, перинуклеарными вакуолями, насечками, протрузиями типов «разбитое яйцо» и «язык» как отношение числа клеток с той или иной аберрацией к общему числу проанализированных клеток (в %), частоту аберраций всех типов — как отношение суммы клеток с перечисленными нарушениями к общему числу проанализированных клеток (в %). Определяли спектр нарушений как отношение числа клеток с той или иной аберрацией к общему числу клеток с нарушениями морфологии ядра, выявленными при данном типе окрашивания (в %).

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета статистических программ «Stadia». Процедура группировки данных и их обработка изложены в работе Кулаичева (2006). Сравнение числа патологий при разных типах окрашивания осуществляли с использованием непараметрического критерия Ван-дер-Вардена, так как распределение частот встречаемости аберрантных клеток не подчиняется нормальному закону. Влияние фактора красителя и генотипа определяли с использованием однофакторного (параметрического и непараметрического (Краскелла—Уоллиса)) дисперсионного анализа. Степень влияния фактора вычисляли по Снедекору (в %). Сравнение долей нарушений при разных типах окрашивания в спектре аберраций проводили с использованием Z-аппроксимации для критерия равенства частот.

Результаты и обсуждение

Нами было показано, что оптимальным типом красителя по качеству получаемых препаратов является азур-эозин по Романовскому—Гимза. При окраске этим красителем получают наиболее чистые препараты, до-

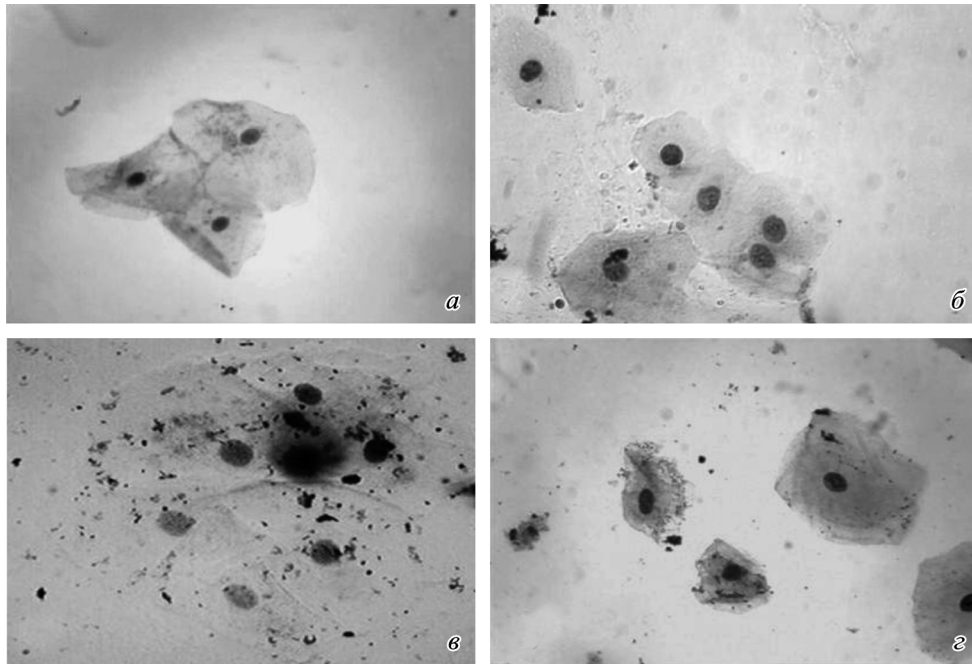


Рис. 1. Клетки буккального эпителия человека, окрашенные разными красителями.

a — азур-эозином по Романовскому—Гимза, *б* — орсеином, *в* — метиленовым синим, *г* — светлым зеленым. Увел. $40\times 10\times 1.5$.

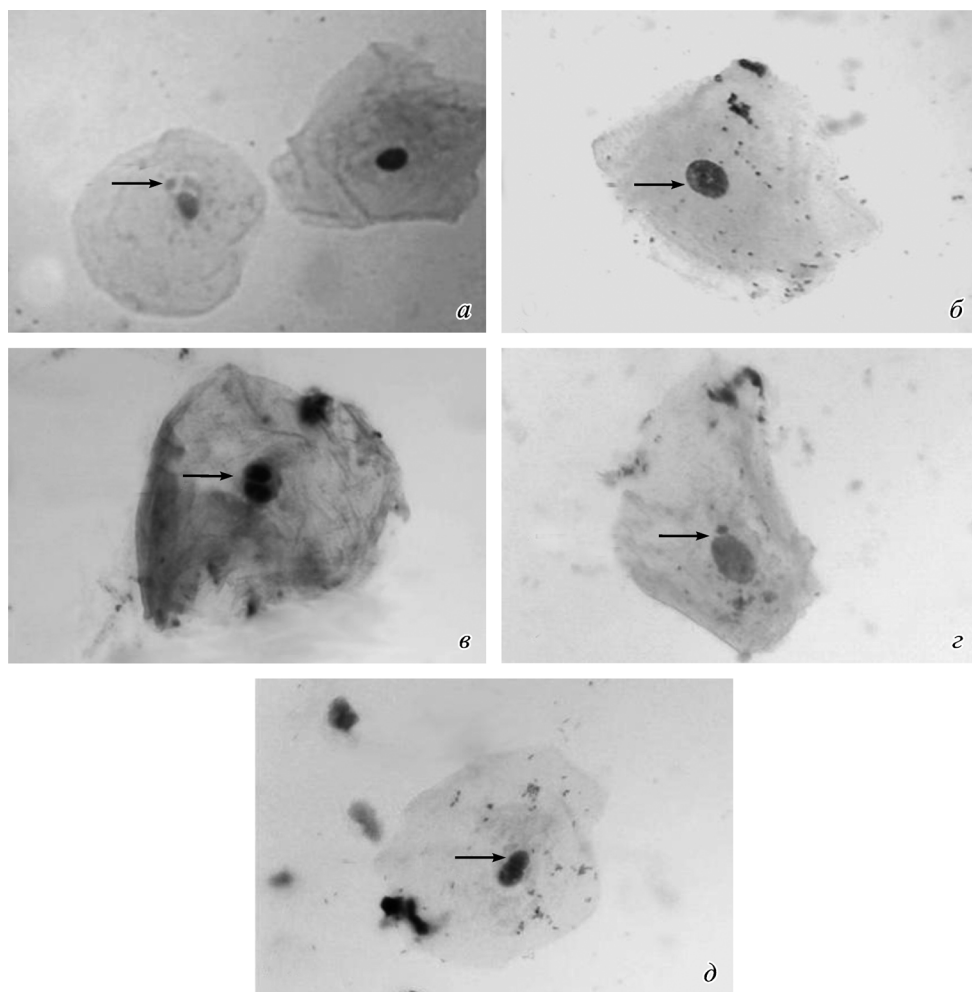


Рис. 2. Клетки буккального эпителия человека, окрашенные разными красителями.

a, в—д — азур-эозином по Романовскому—Гимза, *стрелкой* отмечены микродродро (*a*), протрузия типа «язык» (*в*), протрузия типа «разбитое яйцо» (*г*), насечка (*д*); *б* — светлым зеленым, *стрелкой* отмечена перинуклеарная вакуоль. Увел. $40\times 10\times 1.5$.

Таблица 1

Частота встречаемости цитологических нарушений (%) в буккальном эпителии человека при разных способах окрашивания

Тип аберраций	Краситель	Номер повторности				среднее по всем повторностям
		1	2	3	4	
Микроядра	Орсеин	3.9 ± 0.5	2.6 ± 0.2	3.5 ± 0.4	3.2 ± 0.3	3.3 ± 1.4
	Светлый зеленый	2.4 ± 0.3	1.1 ± 0.1	2.6 ± 0.2	1.4 ± 0.2	1.9 ± 0.9
	Метиленовый синий	4.0 ± 1.8	0.5 ± 0.2	1.5 ± 0.2	1.0 ± 0.4	1.9 ± 0.6
	Азур-эозин по Романовскому—Гимза	6.3 ± 0.8	4.9 ± 0.5	6.7 ± 0.7	5.6 ± 0.8	6.0 ± 0.4
Перинуклеарные вакуоли	Орсеин	5.3 ± 1.4	6.6 ± 0.8	8.1 ± 0.8	5.9 ± 0.8	6.5 ± 0.5
	Светлый зеленый	10.5 ± 0.8	8.7 ± 1.1	11.7 ± 1.8	8.9 ± 0.8	10.0 ± 0.6
	Метиленовый синий	3.6 ± 0.9	3.1 ± 0.3	5.3 ± 0.8	3.7 ± 0.2	3.9 ± 0.4
	Азур-эозин по Романовскому—Гимза	2.9 ± 1.0	4.3 ± 0.4	4.1 ± 0.8	3.8 ± 0.5	3.7 ± 0.4
Насечки	Орсеин	1.4 ± 0.8	1.0 ± 0.3	1.5 ± 0.3	1.4 ± 0.3	1.3 ± 0.2
	Светлый зеленый	0.6 ± 0.2	1.0 ± 0.4	1.4 ± 0.5	1.3 ± 0.4	1.0 ± 0.2
	Метиленовый синий	1.1 ± 0.2	0.8 ± 0.1	1.2 ± 0.3	1.1 ± 0.3	1.0 ± 0.1
	Азур-эозин по Романовскому—Гимза	1.2 ± 0.4	0.7 ± 0.2	1.5 ± 0.5	0.7 ± 0.3	1.0 ± 0.2
Протрузии типа «язык»	Орсеин	2.1 ± 0.6	0.4 ± 0.2	0.8 ± 0.3	0.1 ± 0.1	0.9 ± 0.2
	Светлый зеленый	0.3 ± 0.2	0.3 ± 0.2	0.9 ± 0.3	0.3 ± 0.2	0.5 ± 0.1
	Метиленовый синий	1.4 ± 0.3	0.4 ± 0.2	0.9 ± 0.1	0.6 ± 0.3	0.8 ± 0.1
	Азур-эозин по Романовскому—Гимза	1.8 ± 0.4	0.8 ± 0.3	1.0 ± 0.3	0.7 ± 0.3	1.1 ± 0.2
Протрузии типа «разбитое яйцо»	Орсеин	0.4 ± 0.2	0.3 ± 0.2	0.9 ± 0.3	0.8 ± 0.3	0.6 ± 0.1
	Светлый зеленый	0.4 ± 0.2	0.1 ± 0.1	1.1 ± 0.1	0.4 ± 0.2	0.5 ± 0.1
	Метиленовый синий	1.1 ± 0.5	0.3 ± 0.2	0.9 ± 0.3	0.6 ± 0.2	0.7 ± 0.1
	Азур-эозин по Романовскому—Гимза	0.5 ± 0.3	0.4 ± 0.2	0.5 ± 0.2	0.3 ± 0.2	0.5 ± 0.1
Аберрантные клетки всех типов	Орсеин	13.2 ± 1.8	11.0 ± 1.0	14.6 ± 0.9	11.5 ± 1.2	12.7 ± 0.7
	Светлый зеленый	14.2 ± 1.0	11.3 ± 1.3	17.0 ± 2.2	12.3 ± 1.2	13.8 ± 0.8
	Метиленовый синий	9.4 ± 1.1	5.1 ± 0.2	9.9 ± 0.9	6.9 ± 0.8	7.9 ± 1.0
	Азур-эозин по Романовскому—Гимза	12.6 ± 1.8	11.0 ± 0.7	14.0 ± 0.7	11.2 ± 0.9	12.3 ± 0.6

статочны однородно окрашенные, ядерный аппарат по окраске отличается от цитоплазмы, клетка имеет четкие границы (рис. 1, а), при этом методика окрашивания достаточно проста и не занимает много времени.

При окрашивании орсеином препараты получаются грязными, микроядро и другие аберрации трудно отличить от засорений, к тому же ядерный аппарат слабо отличается по окраске от цитоплазмы (рис. 1, б), при этом работу усложняет достаточно неприятный запах уксусной кислоты.

При окрашивании метиленовым синим препараты получаются неравномерно окрашенными, клетка не имеет четких границ, ядерный аппарат плохо различим, но при этом хорошо видны микроорганизмы ротовой полости (рис. 1, в) и само окрашивание занимает времени больше, чем при использовании других красителей.

При окрашивании светлым зеленым получаются грязные препараты (рис. 1, г), методика окрашивания сложнее, чем при использовании остальных красителей, так как стекло нужно хорошо промыть дистиллированной водой, иначе орсеин выпадает в осадок и использование двух красителей не очень удобно.

На препаратах были отмечены следующие типы аномалий морфологии ядра: микроядра (рис. 2, а), перинуклеарные вакуоли (рис. 2, б), протрузии типов «язык» (рис. 2, в) и «разбитое яйцо» (рис. 2, г), насечки (рис. 2, д). Сведения о частоте их встречаемости представлены в табл. 1. Число клеток с микроядрами, перинуклеарными вакуолями, протрузиями типа «язык» (только в одной повторности), а также число аберраций всех типов зависело от способа окрашивания (табл. 2). Влияния окрашивания на встречаемость других типов нарушений не отмечено.

Наибольшее число аберрантных клеток всех типов выявляется при окрашивании азур-эозином по Романовскому—Гимза, светлым зеленым и орсеином, наименьшее — при окрашивании метиленовым синим (различия достоверны, $P < 0.001$).

Наибольшее число клеток с микроядрами отмечалось при окрашивании азур-эозином по Романовскому—Гимза, наименьшее — при окрашивании метиленовым синим (различия достоверны, $P < 0.001$). Промежуточные значения встречаемости клеток с микроядрами отмечены для орсеина и метиленового синего.

Таблица 2
Сила влияния красителя на частоту встречаемости (%) нарушений в клетках буккального эпителия человека

Номер повторности	Тип aberrаций			
	абберрантные клетки всех типов	микроядра	перинуклеарная вакуоль	Протрузия типа «язык»
1	—	9 ^а	0.9 ^в	8.3 ^а
2	0.8 ^в	9 ^в	16 ^в	—
3	7 ^б	7 ^в	2.4 ^в	—
4	5 ^б	10 ^в	8 ^в	—
Анализ данных с учетом всех повторностей	2.3 ^в	1.2 ^в	0.5 ^в	—

Примечание. Влияние способа окрашивания достоверно при ^а $P < 0.05$, ^б $P < 0.01$ и ^в $P < 0.001$; влияния способа окрашивания на частоту встречаемости протрузий типа «разбитое яйцо» и насечек не выявлено.

Максимальное число клеток с перинуклеарными вакуолями обнаружено при окрашивании светлым зеленым, наименьшее — при окрашивании азур-эозином по Романовскому—Гимза и метиленовым синим (различия со светлым зеленым достоверны, $P < 0.001$). Промежуточные значения встречаемости клеток с перинуклеарными вакуолями отмечали для орсеина.

Самое большое число клеток с протрузиями типа «язык» встречается при окрашивании орсеином, наименьшее — при окрашивании светлым зеленым (различия с орсеином достоверны, $P < 0.05$). Промежуточные значения встречаемости клеток с протрузиями типа «язык» отмечали для метиленового синего и азур-эозина по Романовскому—Гимза.

Нами было выявлено изменение спектра нарушений в зависимости от используемого ядерного красителя (рис. 3).

Наибольшая частота клеток с микроядрами в спектре нарушений отмечена при окрашивании азур-эозином по Романовскому—Гимза (49.8 %), наименьшая — при окраске светлым зеленым (13.4 %) (различия достоверны,

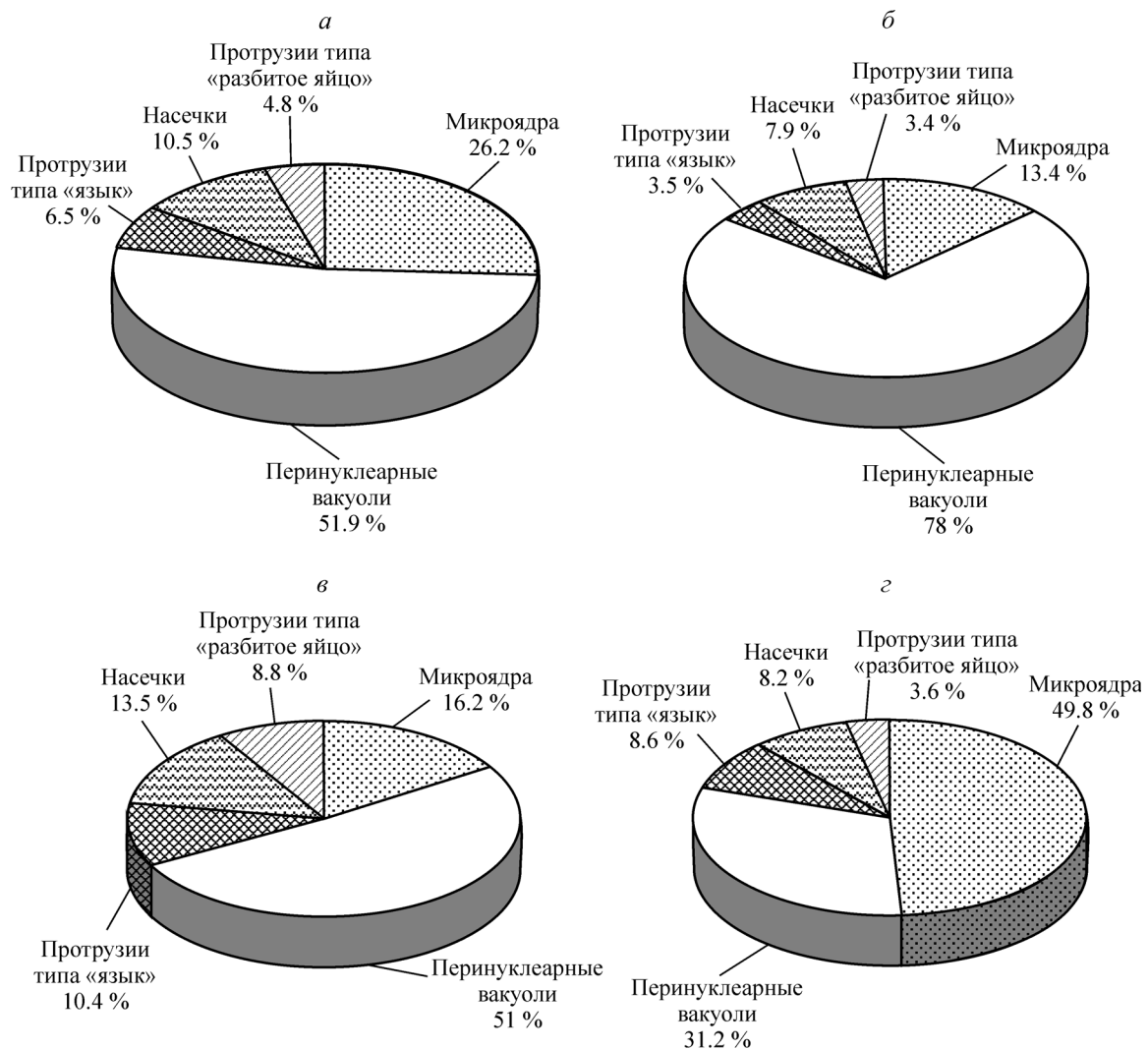


Рис. 3. Спектр цитологических нарушений в клетках буккального эпителия человека при разных способах окрашивания. а — орсеином, б — светлым зеленым, в — метиленовым синим, г — азур-эозином по Романовскому—Гимза.

$P < 0.001$). Промежуточные значения частоты встречаемости клеток с микроядрами выявили для орсеина (26.2 %) и метиленового синего (16.2 %). Таким образом, мы можем рекомендовать краситель азур-эозин по Романовскому—Гимза как лучший из исследованных для выявления клеток с микроядрами, что подтверждается приведенным выше анализом встречаемости клеток с микроядрами при окрашивании различными красителями.

Перинуклеарные вакуоли преобладали в спектре нарушений при окрашивании светлым зеленым (78 %), наименьшую их частоту отмечали при окрашивании азур-эозином по Романовскому—Гимза (31.2 %) (различия достоверны, $P < 0.001$). Промежуточные значения встречаемости клеток с перинуклеарными вакуолями отмечены для орсеина (51.9 %) и метиленового синего (51 %). Поэтому мы можем рекомендовать светлый зеленый для определения перинуклеарных вакуолей. Указанный вывод также подтверждается анализом числа клеток с перинуклеарными вакуолями при окрашивании различными типами красителей.

Протрузия типа «разбитое яйцо» чаще встречалась в спектре при окрашивании метиленовым синим (8.8 %), наименьшие значения указанной патологии отмечали при окрашивании азур-эозином по Романовскому—Гимза (3.6 %), орсеином (4.8 %) (различия с метиленовым синим достоверны, $P < 0.01$) в светлым зеленым (3.4 %) (различия с метиленовым синим достоверны, $P < 0.001$). На основании этого можно утверждать, что метиленовый синий позволяет лучше идентифицировать протрузии данного типа.

Протрузии типа «язык» чаще отмечаются при окрашивании метиленовым синим (10.4 %), азур-эозином по Романовскому—Гимза (8.6 %) и орсеином (6.5 %), наиболее редко — при окраске светлым зеленым (3.5 %) (различия с метиленовым синим и азур-эозином по Романовскому—Гимза ($P < 0.001$) и с орсеином ($P < 0.01$) достоверны). Поэтому можно говорить о том, что все красители, кроме светлого зеленого, эффективны для определения протрузий этого типа.

Наибольшее количество клеток с насечками отмечается при окрашивании метиленовым синим (13.5 %), орсеином (10.5 %) и наименьшее — при окрашивании светлым зеленым (7.9 %) (различия достоверны, $P < 0.05$). Промежуточные значения встречаемости клеток с насечками отмечали при окрашивании азур-эозином по Романовскому—Гимза (8.2 %). Таким образом, орсеин и метиленовый синий лучше выявляют насечки.

На основании выполненного анализа числа и спектра клеток с нарушениями морфологии ядра мы можем констатировать, что одни красители будут более эффективными для поиска одного типа нарушений и менее эффективными для поиска других. Однако, по нашему мнению, из всех изученных красителей наиболее оптимален для окраски клеток буккального эпителия азур-эозин по Романовскому—Гимза, так как он позволяет получить лучшие препараты для микроскопического исследования, выявить наибольшее количество нарушений и в достаточной мере раскрывает их спектр (лучшие результаты по выявлению клеток с микроядрами, протрузиями типа «язык» и промежуточные значения для протрузий типа «разбитое яйцо»).

Следует отметить, что во всех случаях нами не было отмечено влияния индивидуальных особенностей человека на результаты окрашивания, т. е. не выявлено групп людей, где был эффективен для обнаружения какого-либо нарушения один вид красителя, и групп, где указанный

краситель для обнаружения этого же типа нарушения неэффективен. Таким образом, один и тот же краситель на клетках разных людей позволяет выявить сходные спектры аберраций.

Список литературы

- Айриян А. П., Оганесян А. А., Арутюнян Р. М. 1990. Оценка уровня микроядер слизистой ротовой полости у больных аллергозом и здоровых лиц, проживающих в сельской местности. Биол. журн. Армении. 43 (6) : 528—529.
- Арутюнян Р. М., Туманян Э. Р., Ширинян Г. С. 1990. Анализ микроядер в слизистой ротовой полости для оценки цитогенетического эффекта загрязнителей среды. Цитология и генетика. 24 (2) : 57—60.
- Беляева Н. Н., Шамарин А. А., Петрова И. В., Мальшева А. Г. 2001. Связь изменений слизистых оболочек носа и рта с иммунным статусом при воздействии факторов окружающей среды. Гигиена и санитария. 5 : 62—64.
- Буторина А. К., Калаев В. Н., Карпова С. С. 2000а. Цитогенетические эффекты антропогенного загрязнения у детей, проживающих в различных районах г. Воронежа. Вестник ВГУ. Сер.: Химия. Биология. 1 : 91—93.
- Буторина А. К., Калаев В. Н., Карпова С. С. 2000б. Влияние пола и возраста детей на частоту встречаемости микроядер в буккальном эпителии ротовой полости. Вестник ВГУ. Сер. Химия. Биология. 2 : 143—145.
- Гемонов В. В. 1969. Морфология и гистохимия слизистой оболочки полости рта в норме и при некоторых патологических состояниях в эксперименте: Автореф. докт. дис. М. 39 с.
- Жулева Л. Ю., Умнова Р. В., Румак В. С. 1996. Регистрация микроядер в слущивающихся клетках ротовой полости человека на территории Южного Вьетнама. Генетика. 32 (12) : 1700—1704.
- Йлдирым И. Х., Йесилада Е., Йологлу С. 2006. Частота микроядер в лимфоцитах периферической крови и клетках слизистой оболочки ротовой полости у больных раком, не подвергавшихся лечению. Генетика. 42 (5) : 705—710.
- Калаев В. Н., Игнатова И. В., Карпова С. С., Артемова О. В. 2010. Частота буккальных эпителиоцитов с микроядрами у лиц, страдающих пародонитом. Вестник ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация. 1 : 82—85.
- Карпова С. С., Калаев В. Н., Трофимова В. А., Осташкова Л. Г., Шелухина О. Ю. 2003. Микроядерный тест в буккальном эпителии детей, проживающих в районах Центрально-Черноземного региона с различным уровнем антропогенного загрязнения окружающей среды. В кн.: Актуальные проблемы медицины и биологии: сб. науч. работ. Томск. 2 : 58—62.
- Китаева Л. В., Михеева Е. А., Шеломова Л. Ф., Шварцман П. Я. 1996. Генотоксический эффект формальдегида в соматических клетках человека *In vivo*. Генетика. 32 (9) : 1287—1290.
- Кузоватов С. Н., Кравцов С. Н., Вахтин Ю. Б. 2000. Межъядерные хромосомные мосты и ядра с протрузиями в клеточных популяциях рабдомиосаркомы Ра-23 крыс. Цитология. 42 (11) : 1097—1102.
- Кулаичев А. П. 2006. Методы и средства комплексного анализа данных. ФОРУМ: ИНФА-М. 512 с.
- Левински М. В. 2008. Эколого-генетическая оценка состояния окружающей среды и здоровья эпителиоцитов в некоторых промышленных центрах Республики Молдова: Автореф. канд. дис. Воронеж, 19 с.
- Маймулов В. Г., Китаева Л. В., Верещагина Т. В., Михеева Е. А., Шеломова Л. Ф. 1998. Цитогенетические нарушения в соматических клетках у детей, проживающих в районах с различной интенсивностью загрязнения окружающей среды. Цитология. 40 (7) : 686—689.
- Мейер А. В., Дружинин В. Г., Ларионов А. В., Толочко Т. А. 2010. Генотоксические и цитотоксические эффекты в буккальных эпителиоцитах детей, проживающих в экологически различающихся районах Кузбасса. Цитология. 52 (4) : 305—310.

Нерсесян А. К. 1996. Микроядерный тест в экзофолиативных клетках человека как метод изучения действия мутагенов/канцерогенов. Цитология и генетика. 30 (5) : 91—96.

Никифоров А. М., Федорцева Р. Ф., Моносова Е. К., Ярцева Н. М., Кравцов В. Ю. 2000. Ядра с протрузиями — «хвостатые» ядра и радиационные цитогенетические маркеры в культуре лимфоцитов после рентгеновского облучения. Радиационная биология. Радиоэкология. 40 (3) : 299—304.

Осипов А. Н., Елаков А. Л., Пучков П. В., Померанцева М. Д., Рамайя Л. К., Клоков Д. Ю., Сытин В. Д., Шевченко В. А. 2002. Оценка молекулярных и цитогенетических эффектов хронического воздействия низкоинтенсивного гамма-излучения у мышей. Общая генетика. 38 (10) : 1345—1350.

Попова И. Е., Калаев В. Н., Нестерова Л. Н., Нечаева М. С., Карпова С. С., Беглов Я. Ю. 2009. Микроядерный анализ в буккальных эпителиоцитах спортсменов, занимающихся спортивными единоборствами, в свете данных об их психофизиологическом состоянии. В кн.: Физическая культура, спорт, здоровье в жизни молодежи: сб. науч. статей Всерос. науч.-практ. конф. Воронеж: Научная книга. 113—118.

Соболь М. В., Афанасьева Е. С., Безруков В. Ф. 2008. Частота микроядер и уровень тревожности у школьников. Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів. 6 (1) : 131—136.

Юркин А. Ю. 2002. Методические особенности анализа микроядер в клетках человека и животных при экологической оценке состояния окружающей среды: Автореф. канд. дис. Томск. 22 с.

Юрченко В. В., Подольная М. А., Ингель Ф. И., Кривцова Е. К., Беляева Н. Н., Недачин А. Е., Ревазова Ю. А., Рахманин Ю. А. 2007. Микроядерный тест на буккальных эпителиоцитах человека. В кн.: Полиорганный микроядерный тест в эколого-гигиенических исследованиях. М.: Гениус. 312 с.

Nersesyan A. K., Ilin A. I. 2007. The micronucleus assay in exfoliated human cells: a mini—review of papers from the CIS. Цитология и генетика. 41 : 56—66.

Titenko-Holland N., Moore L. E., Smith M. T. 1996. Quantification of epithelial cell pronuclear by fluorescence in situ hybridization (FISH) in mortuary science students exposed to formaldehyde. Mutat. Res. 371 : 237—248.

Torres-Buragin O., Ventura-Aguilar A., Zamora-Perez A. 2003. Evaluation of cisplatin + 5-FU, and ifosfamide + epirubicin regimens using the micronuclei test and nuclear abnormalities in the buccal mucosa. Mutat. Res. 539 : 177—186.

Zhuleova L. Yu., Oumnova N. V., Huynh T. 1997. Abnormalities of a nuclear material in two types of human cells analyzed thirty years after application of the Agente Orange. Organogalogen. Compounds. 33 : 520—523.

Поступила 3 III 2011

THE EFFECT OF NUCLEAR DYES ON THE FREQUENCY OF ABERRATIONS IN MUCOSAL CELLS OF HUMANS

V. N. Kalaev, V. G. Artyukhov, M. S. Nechaeva

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

The effect of staining with commonly used nuclear dyes (orsein, light green, methylene blue, azure-eosin by Romanovsky—Giemsa) on the frequency of occurrence of nuclear disorders (micronuclei, perinuclear vacuoles, notches, protrusions, such as «tongue» and «broken egg») in human buccal mucosa was determined. It is shown that Romanovsky—Giemsa dye is the best type of dye both in the quality of the micropreparations and the spectrum of detected abnormalities.

Key words: buccal mucosa, nuclear dyes, micronuclei, perinuclear vacuoles, notches, protrusions, such as «tongue» and «broken egg».