

КАРІОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ БУКАЛЬНИХ ЕПІТЕЛІОЦИТІВ У НОВОНАРОДЖЕНИХ, ХВОРИХ НА НЕОНАТАЛЬНИЙ СЕПСИС, ЗАЛЕЖНО ВІД ГЕОХІМІЧНОЇ ХАРАКТЕРИСТИКИ МІСЦЬ ПРОЖИВАННЯ ЇХ МАТЕРІВ

О.В. Власова

Вищий державний навчальний заклад України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці

Мета роботи. Вивчення каріологічних показників букального епітелію новонароджених, які хворі на неонатальний сепсис залежно від геохімічних характеристик місць проживання їх матерів.

Матеріали та методи. Обстежено 64 новонароджені дитини хворих на неонатальний сепсис. Геохімічну характеристику місць проживання матерів, діти яких народилися та захворіли на неонатальний сепсис, отримали внаслідок дослідження ґрунтів м. Чернівці. Створено дві групи спостереження залежно від геохімічних характеристик місць проживання матерів дітей, які захворіли на неонатальний сепсис. До першої (I) увійшли 36 дітей, які за місцем народження та проживання належали до територій забруднених важкими металами (ЗВМ). А до другої (II) - 28 випадків народження у родинах, що за місцем проживання були віднесені до відносно чистих умов проживання (ЧВМ). Оцінювали каріологічні показники букальних епітеліоцитів. Отримані дані аналізували методами статистики за допомогою комп'ютерних пакетів "STATISTICA" StatSoft Inc. на персональному комп'ютері з використанням параметричних і непараметричних методів обчислення.

Результати. В I групі переважає кількість клітин з протрузією типу "пухирця", яка склала $0,04 \pm 0,006\%$ проти II групи - $0,03 \pm 0,003\%$ ($<0,05$). Показники проліферації у вигляді клітин із двома ядрами в групах порівняння вірогідно не відрізнялися. Частота клітин з каріорексисом та каріолізісом становила $0,02 \pm 0,001\%$ та $0,12 \pm 0,03\%$ відповідно, і причому лише в I групі. Апоптичний індекс в I групі вірогідно був вищий і становив $0,21 \pm 0,041\%$ проти $0,001 \pm 0,002\%$ в II групі.

Висновки. Індекс накопичення цитогенетичних пошкоджень у новонароджених, хворих на неонатальний сепсис в групі ЗВМ в 2,6 рази достовірно більший, ніж у представників групи порівняння.

Ключові слова:
неонатальний сепсис, новонароджені, букальні епітеліоцити, каріологічні показники.

Клінічна та експериментальна патологія Т.17, №3 (65), С.09-12.

DOI:10.24061/1727-4338.XVII.3.65.2018.124

E-mail:
vlasovaolena01@gmail.com

КАРИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ БУККАЛЬНЫХ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ У НОВОРОЖДЕННЫХ, БОЛЬНЫХ НЕОНАТАЛЬНЫМ СЕПСИСОМ, В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕОХИМИЧЕСКОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕСТ ЖИТЕЛЬСТВА ИХ МАТЕРЕЙ.

Е.В. Власова

Цель работы. Изучение каріологических показателей буккального эпителия новорожденных, больных неонатальным сепсисом в зависимости от геохимических характеристик мест жительства их матерей.

Материалы и методы. Обследовано 64 новорожденных ребенка больных неонатальным сепсисом. Геохимическую характеристику мест проживания матерей, дети которых родились и заболели неонатальным сепсисом, получили в результате исследования почвы в г. Черновцы. Созданы две группы наблюдения в зависимости от геохимических характеристик мест проживания матерей детей, заболевших неонатальным сепсисом. В первую (I) вошли 36 детей, которые по месту рождения и проживания принадлежали к территориям загрязненных тяжелыми металлами (ЗТМ). А во вторую (II) - 28 случаев рождения в семьях, по месту жительства которые были отнесены к относительно чистым условиям проживания (ЧВМ). Оценивали каріологические показатели буккальных эпителиоцитов. Полученные данные анализировали методами статистики с помощью компьютерных пакетов "STATISTICA" StatSoft Inc. на персональном компьютере с использованием параметрических и непараметрических методов вычисления.

Результаты. В первой группе преобладает количество клеток с протрузией типа "пузырька", которая составила $0,04 \pm 0,006\%$ по отношению ко II группы - $0,03 \pm 0,003\%$ ($<0,05$). Показатели пролиферации в виде клеток с двумя ядрами в

Ключевые слова:
неонатальный сепсис, новорожденные, буккальные эпителиоциты, каріологические показатели.

Клиническая и экспериментальная патология Т.17, №3 (65), С.09-12.

групах сравнения достоверно не отличались. Частота клеток с кариорексисом и кариолизисом составляла $0,02 \pm 0,001$ ‰ и $0,12 \pm 0,03$ ‰ соответственно, и причем только в первой группе. Апоптический индекс в первой группе достоверно был выше и составлял $0,21 \pm 0,041$ ‰ против $0,001 \pm 0,002$ ‰ во II группе.

Выводы. Индекс накопления цитогенетических повреждений у новорожденных, больных неонатальным сепсисом в группе ЗТМ в 2,6 раза достоверно больше, чем у представителей группы сравнения.

Key words:

neonatal sepsis, newborns, buccal epitheliocytes, cariological indices.

Clinical and experimental pathology. Vol.17, №3 (65), P.09-12.

KARYOLOGICAL INDICES OF THE BUCCAL EPITHELIUM CELLS IN PRETERM CHILDREN WITH NEONATAL SEPSIS DEPENDING ON THE GEOCHEMICAL FEATURES OF THEIR MOTHERS' PLACE OF RESIDENCE

O.V. Vlasova

Objective. The purpose of the research is to study the karyological indices of the buccal epithelium in newborns who suffer from neonatal sepsis, depending on the geochemical features of their mothers' place of residence.

Material and methods. The study involved 64 newborn babies with neonatal sepsis. The geochemical characteristics of the places of residence of mothers, whose children were born and developed neonatal sepsis, were received as a result of studying soils in Chernivtsi. Two groups of observation were formed, depending on the geochemical characteristics of the place of residence of the mothers whose children developed neonatal sepsis. The first one (I) consisted of 36 children whose places of birth and residence belonged to the territories contaminated with heavy metals (CHM). And the second group (II) included 28 cases of birth in the families, whose place of residence was attributed to relatively clean living conditions (CLC). Evaluated kariological parameters of buccal epithelial cells. The obtained data were analyzed by statistical methods using the STATISTICA computer packages of StatSoft Inc. on a personal computer using parametric and nonparametric computation methods.

Results. In group I, the number of cells with "vesicle" protrusion prevailed and constituted 0.04 ± 0.006 ‰ against group II with $0,03 \pm 0,003$ ‰ ($<0,05$). Proliferation rates in the form of cells with two nuclei in the comparison groups were not reliably different. The incidence of cells with karyorrhexis and karyolysis was 0.02 ± 0.001 ‰ and 0.12 ± 0.03 ‰, respectively, and was observed only in group I. The apoptotic index in group I was reliably higher and constituted 0.21 ± 0.041 ‰ versus 0.001 ± 0.002 ‰ in group II.

Conclusions. The index of accumulation of cytogenetic lesions in newborns with neonatal sepsis in the CHM group was 2.6 times reliably higher than that in the representatives of the comparison group.

Вступ

Мікроядерний тест букального епітелію як неінвазивний метод діагностики набуває ще більшої популярності та широко використовується як біомаркер генетичних порушень в організмі людини [1,2]. Особливістю букального епітелію є те, що він може виступати своєрідним відображенням стану, організму на який впливають чи впливали ксенобіотики. Поява мікроядер та інших аномалій може виникати внаслідок багатьох причин, а під впливом факторів оточуючого середовища (важких металів, пестицидів, формальдегідів та інше). Навіть незначне забруднення ґрунту патогенними речовинами, зокрема важкими металами, внаслідок їх накопичення в організмі жінок, які проживають на цих територіях, здатне викликати епігенетичні зміни у їх нащадків. Такі епігенетичні пошкодження можуть виступати пусковим механізмом для розвитку різноманітних захворювань, а також у стресових ситуаціях, таких як неонатальний сепсис, можуть бути обтяжуючим фактором, який впливає на перебіг основного захворювання [2,3,4].

Мета роботи

Аналіз даних наукових першоджерел показав не-

значну кількість таких досліджень серед новонароджених, тому метою роботи є вивчення цитогенетичного статусу новонароджених із неонатальним сепсисом з урахуванням геохімічних характеристик місць проживання їх матерів.

Матеріал і методи дослідження

Обстежено 64 новонароджених із діагностованим неонатальним сепсисом, які отримували лікування у спеціалізованих відділеннях КМУ "Обласна дитяча клінічна лікарня" м. Чернівці. Діти народжувались у родинах, які постійно проживали у межах міста на територіях із різною геохімічною характеристикою.

Геохімічну характеристику місць проживання матерів, новонароджених хворих на неонатальний сепсис, отримали на підставі дослідження ґрунтів м. Чернівці геологічним об'єднання "Північукргеологія"(1993) та Чернівецьким національним університетом ім. Ю. Федьковича (1992). Отримані результати дослідження дозволили застосувати картографічну оцінку місць проживання матерів хворих на сепсис новонароджених і позначити території як "забруднені важкими металами" (ЗВМ), а також умовно "чисті" (ЧВМ). Створено Клінічна та експериментальна патологія. 2018. Т.17, №3 (65)

дві групи спостереження залежно від геохімічних характеристик місць проживання матерів дітей, які захворіли на неонатальний сепсис. До першої (I) увійшли 36 новонароджених, які за місцем народження та проживання належали до ЗВМ, а до другої (II) - 28 немовлят народилися у родинах, що за місцем проживання були віднесені до ЧВМ. Гестаційний вік дітей групи ЗВМ становив $33,57 \pm 0,72$ тижні проти групи ЧВМ $33,11 \pm 1,20$ ($p > 0,05$). Букальний епітелій збирався одноразовими ватними паличками з внутрішньої поверхні слизової шік, препарати забарвлювалися фарбником Романовського-Гімза. Аналізували не менше 1000 клітин за допомогою мікроскопу XSM-1.04 при збільшенні 100/1,25. Оцінювали наявність клітини з мікроядрами, протрузії типу "пухирця" та "розбитого яйця", ядра атипної форми, а також показники проліферації (двоядерні клітини) та показники апоптозу (вакуолізації ядра, конденсації хроматину, каріопікнозу, каріолізу, каріорексису та апоптозних тіл)[5, 6].

Оцінку цитогенетичного статусу проводили згідно формули Л.П. Сичової (2012р.) $Iac = (Ic \times Ip / Iarop) \times 100$, де Iac - індекс накопичення цитогенетичних пошкод-

жень, Ic - інтегральний показник цитогенетичної дії, Ip - інтегральний індекс проліферації та Iarop - апоптичний індекс. У тому випадку, якщо в осіб не виявлені цитогенетичні порушення або двоядерні клітини, нульове значення слід замінити на одиницю. Визначення індексу накопичення цитогенетичних пошкоджень дозволяє виділити 3 групи ризику [7]: низький ($Iac < 2$), помірний ($2 < Iac < 4$) та високий ($Iac \geq 4$) ризик.

Отримані дані аналізували методами статистики за допомогою комп'ютерних пакетів "STATISTICA" StatSoft Inc. на персональному комп'ютері з використанням параметричних і непараметричних методів обчислення.

Результати та їх обговорення

При дослідженні булакального епітелію ми не спостерігали клітин з мікроядрами, що узгоджувалось з даними літератури, які свідчать, що у дітей до 5 років клітини з мікроядрами трапляються зрідка [2,5]. Разом з тим проведено оцінку інших цитогенетичних показників булакального епітелію (таблиця).

Таблиця

Каріологічні показники булакальних епітеліоцитів у дітей, хворих на неонатальний сепсис(%)

Показники	Група		P
	I, n=36 M±m	II, n=28 M±m	
Цитогенетичні показники клітин :			
Частота клітин з протрузіями типу «пухирця»	0,04±0,006	0,03±0,003	<0,05
Частота клітин з протрузіями типу «розбите яйце»	0,02±0,001	0,03±0,004	<0,05
Інтегральний показник цитогенетичної дії	0,06±0,007	0,06±0,007	>0,05
Частота клітин з ядром атипної форми	0,02±0,001	0,04±0,003	<0,05
Показники проліферації			
Частота двоядерних клітин	0,02±0,002	0,02±0,001	>0,05
Інтегральний показник проліферації	0,02±0,002	0,02±0,001	>0,05
Показники ранньої стадії деструкції ядра			
Частота клітин з перинуклеарною вакуолью	0,05±0,01	0,04±0,01	<0,05
Показники завершення деструкції ядра			
Частота клітин з каріопікнозом	0,038±0,007	0,001±0,001	<0,05
Індекс апоптозу	0,21±0,041	0,001±0,002	<0,05
Апоптозні тіла	0,03±0,003	0,01±0,001	<0,05

З представлених даних слід зробити висновок, що у представників I групи достовірно переважає кількість клітин з протрузією типу "пухирця", на відміну від II групи, де переважає частота епітеліоцитів з протрузіями типу "розбитого яйця". При цьому інтегральний показник цитогенетичних ефектів збігався в обидвох групах порівняння.

Показники проліферації у вигляді клітин з двома ядрами в групах порівняння також вірогідно не відрізнялися, а клітин з подвоєним ядрами та ядрами з коловою насічкою ми не спостерігали. Епітеліоцити з конденсацією ядра, які вважають маркером ранньої деструкції, клінічна та експериментальна патологія. 2018. Т.17, №3 (65)

траплялися лише у II групі - $0,02 \pm 0,001\%$, а частка клітин з каріорексисом та каріолізом, як маркерів деструктивних змін, становила $0,02 \pm 0,001\%$ та $0,12 \pm 0,03\%$ відповідно, причому лише у I групі.

Слід відмітити, що у представників I групи мав місце достовірно підвищений рівень цитогенетичних порушень, а саме апоптичний індекс.

Наші дослідження показали, що індекс накопичення цитогенетичних пошкоджень у дітей, хворих на неонатальний сепсис, є достатньо високим і становить 26,6 у I групі проти 10,9 у групі порівняння ($p < 0,05$). Водночас слід зауважити, що виявлені зміни відбулися за рахунок

підвищення апоптичного індексу, адже при неонатальному сепсисі збільшується кількість клітин, які підлягають деструкції [8]. Проте з представлених даних простежується достовірне збільшення у 2,6 рази показника Іас саме у групі хворих на сепсис новонароджених, матері, яких проживали в місцях забруднення ґрунтів важкими металами.

Таким чином, у місцях підвищеного пресингу ксенобіотиків зовнішнього середовища на організм вагітних у їх новонароджених дітей, хворих на неонатальний сепсис, спостерігаються високі рівні цитогенетичних пошкоджень, які не виключено корелюють із важкістю порушення стану дітей, а також перебігом захворювання та прогнозом, що потребує подальшого вивчення.

Висновки

1. Інтегральні показники цитогенетичної дії та проліферації букальних епітеліоцитів не залежать від геохімічної характеристики місць проживання матерів хворих на сепсис новонароджених.

2. У дітей хворих на неонатальний сепсис, індекс апоптозу у забруднених важкими металами зонах є достовірним по відношенню до групи порівняння.

3. Індекс накопичення цитогенетичних пошкоджень у новонароджених групи ЗВМ у 2,6 рази достовірно більший, ніж у представників групи порівняння.

Перспективи подальших досліджень

При оцінці цитогенетичного статусу в динаміці можливо прослідкувати особливості механізму адаптації або дезадаптації, що може бути використане для подальшого скринінгу новонароджених та розробки методів профілактики.

Список літератури

1. Bonassi S, Coskun E, Ceppi M, Lando C, Bolognesi C, Burgaz S, et al. The HUMAN MicroNucleus project on eXfoliated buccal cells (HUMN(XL)): The role of life-style, host factors, occupational exposures, health status, and assay protocol. *Mutat Res.* 2011;728(3):88-97. doi: 10.1016/j.mrrev.2011.06.005
2. Holland N, Fucic A, Franco Merlo D, Sram R, Kirsch-Volders M. Micronuclei in neonates and children: effects of environmental, genetic, demographic and disease variables. *Mutagenesis.* 2011; 26(1):51-6. doi: 10.1093/mutage/geq064
3. Knasmueller S, Holland N, Wultsch G, Jandl B, Burgaz S, Misik M, et al. Use of nasal cells in micronucleus assays and other genotoxicity studies Siegfried. *Mutagenesis.* 2011;26(1):231-8. doi: 10.1093/mutage/geq079

Відомості про авторів:

Власова О. В. - к. мед. н., докторант кафедри педіатрії та дитячих інфекційних хвороб Вищого державного навчального закладу України "Буковинський державний медичний університет" м. Чернівці, Україна

Сведения об авторах:

Власова Е. В. - к. мед. н., докторант кафедры педиатрии и детских инфекционных заболеваний Высшего государственного учебного заведения Украины "Буковинский государственный медицинский университет", г. Черновцы, Украина

Information about the authors:

Vlasova O. V. - candidate of Medical Sciences, Department of Pediatrics and Children Infectious Diseases, Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi, Ukraine

4. Калаев ВН, Артюхов ВГ, Нечаева МС. Микроядерный тест буккального эпителия ротовой полости человека: проблемы, достижения, перспективы. *Цитология и генетика.* 2014;48(6):62-80.

5. Колмакова ТС, Белик СН, Моргуль ЕВ, Севрюков АВ. Использование микроядерного теста для оценки эффективности лечения аллергии у детей: метод. реком. Ростов на/Дону; 2013. 31 с.

6. Соболева НА, Калаев ВН, Нечаева МС, Калаева ЕА. Определение минимального количества анализируемых буккальных эпителиоцитов на препарате при проведении микроядерного теста. *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация.* 2016;3:80-4.

7. Сычева ЛП. Цитогенетический мониторинг для оценки безопасности среды обитания человека. *Гигиена и санитария.* 2012;6:68-72.

8. Хаертынов ХС, Анохин ВА, Бойчук СВ, Ризванов АА. Сепсис и апоптоз. *Гены & клетки.* 2016;11(4):18-21.

References

1. Bonassi S, Coskun E, Ceppi M, Lando C, Bolognesi C, Burgaz S, et al. The HUMAN MicroNucleus project on eXfoliated buccal cells (HUMN(XL)): The role of life-style, host factors, occupational exposures, health status, and assay protocol. *Mutat Res.* 2011;728(3):88-97. doi: 10.1016/j.mrrev.2011.06.005
2. Holland N, Fucic A, Franco Merlo D, Sram R, Kirsch-Volders M. Micronuclei in neonates and children: effects of environmental, genetic, demographic and disease variables. *Mutagenesis.* 2011; 26(1):51-6. doi: 10.1093/mutage/geq064
3. Knasmueller S, Holland N, Wultsch G, Jandl B, Burgaz S, Misik M, et al. Use of nasal cells in micronucleus assays and other genotoxicity studies Siegfried. *Mutagenesis.* 2011;26(1):231-8. doi: 10.1093/mutage/geq079
4. Kalaev VN, Artjuhov VG, Nechaeva MS. Mikrojadernyj test bukka'nogo jepitelija rotovoj polosti cheloveka: problemy, dostizhenija, perspektivy [Micronucleus test of human oral buccal epithelium: problems, progress and prospects]. *Cytology and genetics.* 2014;48(6):62-80. (in Russian).
5. Kolmakova TS, Belik SN, Morgul' EV, Sevrjukov AV. Ispol'zovanie mikrojadernogo testa dlja ocenki jeffektivnosti lechenija allergii u detej [Using a micronuclear test to evaluate the effectiveness of allergy treatment in children]: metod. rekom. Rostov na/Donu; 2013. 31 p. (in Russian).
6. Soboлева NA, Kalaev VN, Nechaeva MS, Kalaeva EA. Opredelenie minimal'nogo kolichestva analiziruemyh bukka'nyh epitelioцитов na preparate pri provedenii mikrojadernogo testa [Determination of the minimum number of analyzed buccal epitheliocytes on the preparation during micronuclear testing]. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy.* 2016;3:80-4. (in Russian).
7. Sycheva LP. Citogeneticheskij monitoring dlja ocenki bezopasnosti sredy obitanija cheloveka [Cytogenetic monitoring for assessment of safety of environmental health]. *Hygiene and Sanitation.* 2012;6:68-72. (in Russian).
8. Haertynov HS, Anohin VA, Bojchuk SV, Rizvanov AA. Sepsis i apoptoz [Sepsis and apoptosis]. *Geny & kletki.* 2016;11(4):18-21. (in Russian).

Стаття надійшла до редакції 18.08.2018

Рецензент – проф. Т.В. Сорокман

© О.В. Власова, 2018