

# Гигиена детей и подростков

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 613.863

Кривцова Е.К.<sup>1</sup>, Юрченко В.В.<sup>1</sup>, Ингель Ф.И.<sup>1</sup>, Юрцева Н.А.<sup>1</sup>, Сеницына Е.Р.<sup>2</sup>, Макарова А.С.<sup>3</sup>

## ПРИМЕНЕНИЕ ЦИТОМНОГО АНАЛИЗА БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ В СИСТЕМЕ ГИГИЕНИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ УСЛОВИЙ ОБУЧЕНИЯ СТУДЕНТОВ РАЗНЫХ ФАКУЛЬТЕТОВ ОДНОГО ВУЗА

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «ЦСП» Минздрава России), 119121, Москва;<sup>2</sup> Российская академия народного хозяйства и государственной службы при президенте Российской Федерации, 119571, Москва;<sup>3</sup> Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, 125047, Москва

*В статье представлены результаты второго фрагмента комплексного генетико-психологического обследования студентов химического (ХФ) и экономического (ЭФ) факультетов Российского химико-технологического университета им. Д.И. Менделеева. Дизайн всей работы включал анализ условий, социо-экономических особенностей и качества жизни, многопараметровое психологическое тестирование (177 человек) и цитомный анализ клеток эпителия слизистой оболочки щеки (146 человек). Результаты первого этапа исследования показали, что на состояние здоровья и эмоциональное состояние обследованных студентов не оказывали влияния учтённые социо-экономические факторы, а определяющими оказались: на ХФ – продолжительность еженедельных лабораторных работ и на обоих факультетах – отношение студентов к своей будущей специальности. Целью данной публикации является проверка гипотезы о взаимосвязи эффектов нестабильности генома, определённых цитомным анализом на клетках буккального эпителия, с текущей экспозицией к химическим соединениям во время работы в химической лаборатории, наличием заболеваний, влиянием социо-экономических факторов и состоянием эмоциональной сферы. Исследование носит приоритетный характер. Показано, что у юношей, обучавшихся на ХФ, обнаружена значимо большая суммарная частота клеток с микроядрами и клеток с протрузией ядра, чем у юношей, обучающихся на ЭФ. Частота клеток с пикнозом ядра, напротив, была выше у юношей ЭФ. На обоих факультетах частота клеток с конденсированным хроматином в ядре у юношей была выше, чем у девушек, и у всех студентов находилась в прямой зависимости от продолжительности пребывания в химической лаборатории (час/нед.). Показано, что частота клеток с микроядрами ассоциирована с эмоциональным состоянием обследуемого, а клеток с пикнозом ядра – с его образом жизни (подвижный или сидячий).*

Ключевые слова: буккальный эпителий; цитомный анализ; безопасность условий обучения; тревожность; образ жизни; наличие хронических заболеваний.

*Для цитирования:* Кривцова Е.К., Юрченко В.В., Ингель Ф.И., Юрцева Н.А., Сеницына Е.Р., Макарова А.С. Применение цитомного анализа буккального эпителия в системе гигиенической оценки условий обучения студентов разных факультетов одного вуза. *Гигиена и санитария*. 2018; 97(2): 179-187. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-2-179-187>

*Для корреспонденции:* Ингель Фаина Исааковна, д-р биол. наук, и.о. зав. лаб. генетической токсикологии Института экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина ФГБУ «ЦСП» Минздрава России. E-mail: [fainaingel@mail.ru](mailto:fainaingel@mail.ru)

© COLLECTIVE OF AUTHORS, 2018

Krivtsova E.K.<sup>1</sup>, Yurchenko V.V.<sup>1</sup>, Ingel F.I.<sup>1</sup>, Urtseva N.A.<sup>1</sup>, Makarova A.S.<sup>2</sup>

## BUCCAL MICRONUCLEUS CYTOME ASSAY IN THE SYSTEM OF THE HYGIENIC EVALUATION OF LEARNING CONDITIONS OF STUDENTS OF DIFFERENT FACULTIES OF THE SAME UNIVERSITY

<sup>1</sup>Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Moscow, 119991, Russian Federation;<sup>2</sup>The Russian Presidential Academy of National Economy and Public Administration, School of Public Policy, Moscow, 119571, Russian Federation;<sup>3</sup>Dmitry Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Moscow, 125047, Russian Federation

*The article presents the results of the second fragment of the complex genetic and psychological examination of 177 students of the chemical (CD) and economic (ED) departments of the Russian D.I. Mendeleev Chemical-Technological University. The design of the whole work included the analysis of conditions, socio-economic characteristics and the quality of life, multi-parameter psychological testing (177 students) and the buccal micronucleus cytome assay (146 students). The results of the first stage of the study showed the state of health and emotional state of the students not to be affected by the socio-economic factors that were taken into account, but the determined ones were: on CD, the duration of weekly laboratory work and, in both departments, the attitude of students to their future specialization. The purpose of this publication is to test the hypothesis of the relationship between the status of genome instability determined by the micronucleus test on buccal epithelium cells, the current exposure to chemical compounds during the work in the chemical laboratory, the presence of diseases, the influence of socioeconomic factors and the state*

*of the emotional sphere. The research is a priority. In young men trained in CD, the total frequency of cells with micronuclei and cells with nuclear buds was demonstrated to be significantly greater in comparison with young men studying at EF. In contrast, the frequency of cells with the pyknosis of the nucleus was higher in young men from the EF. At both departments, the frequency of cells with condensed chromatin in the nucleus in young men was higher than in girls and was directly related to the practical work time in the chemical laboratory (hour/week). The frequency of micronucleated cells was shown to be associated with the student's emotional state and the frequency of cells with the pyknosis of the nucleus was related with the way of life (mobile or sedentary).*

**Key words:** *buccal epithelium; cytome assay; safety of learning conditions; anxiety; life style; chronic diseases.*

**For citation:** Krivtsova E.K., Yurchenko V.V., Ingel F.I., Urtseva N.A., Makarova A.S. Buccal micronucleus cytome assay in the system of the hygienic evaluation of learning conditions of students of different faculties of the same university. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal)* 2018; 97(2): 179-187. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-2-179-187>

**For correspondence:** *Faina I. Ingel*, Dr. Sci. Biol., the chief of the laboratory of genetic toxicology of the Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Moscow, 119991, Russian Federation. E-mail: [fainaingel@mail.ru](mailto:fainaingel@mail.ru)

**Information about authors:**

Krivtsova E.K., <http://orcid.org/0000-0002-5039-8980>; Yurchenko V.V. <http://orcid.org/0000-0002-9910-1762>; Ingel F.I., <http://orcid.org/0000-0002-2262-6800>; Urtseva N.A. <http://orcid.org/0000-0002-5039-8980>.

*Conflict of interest.* The authors declare no conflict of interest.

*Acknowledgment.* The study was carried out within the frames of the State Programme № 056-00111-18-00 and with partly financial support by RSF grant 15-17-30016.

Received: 08 December 2017

Accepted: 15 February 2018

Публикации по оценке влияния условий обучения на состояние здоровья и стабильность генома студентов единичны. В частности, было установлено мутагенное действие паров формальдегида на клетки буккального эпителия студентов-медиков при прохождении ими цикла из нескольких занятий в анатомических классах [1, 2]. Сведений о генетической безопасности экспозиции студентов химических факультетов к химическим соединениям при выполнении лабораторных работ в литературе найти не удалось.

Настоящая публикация представляет результаты второго фрагмента комплексного генетико-психологического обследования студентов ХФ и ЭФ Российского химико-технологического университета им. Д.И. Менделеева. Дизайн работы включал анализ условий, социо-экономических особенностей и качества жизни, многопараметровое психологическое тестирование (всего 177 человек) и цитомный анализ клеток эпителия слизистой оболочки щеки (146 человек). На первом этапе работы показано, что на состояние здоровья и эмоциональное состояние обследованных студентов учебные социо-экономические факторы (доход, экономический план обучения, условия проживания, курение и употребление алкоголя и пр.) влияния не оказывали. Определяющими в этом смысле оказались продолжительность еженедельных лабораторных работ на химическом факультете и отношение студентов к своей будущей специальности.

В данной статье представлены результаты цитомного анализа клеток эпителия щеки обследованных студентов, проведенного с целью проверки гипотезы о взаимосвязи эффектов нестабильности генома с экспозицией к факторам химической лаборатории, наличием заболеваний, влиянием социо-экономических факторов и состоянием эмоциональной сферы.

## Материал и методы

Обследовали практически здоровых студентов обоего пола, обучающихся на 2 – 4 курсах ХФ и ЭФ Российского химико-технологического университета им. Д.И. Менделеева (Москва). Учебные помещения факультетов находятся на общей территории, так же как и общежития.

Обследование проводили анонимно в конце октября – начале ноября 2015 г., полагая, что в этот период эмоциональное воздействие прошедших каникул и предстоящей сессии должны быть минимальными. При выборе сроков проведения обследования учитывали относительно невысокий сезонный уровень авитаминоза и отсутствие сезонных вспышек вирусных инфекций в городе. Обследование проводили в соответствии с принципами Хельсинкской декларации об этических принципах медицинских исследований, утвержд-

Publications on the evaluation of the impact of training conditions on the health status and stability of the student genome are sporadic. In particular, the mutagenic effect of formaldehyde vapors on the cells of the buccal epithelium of medical students was proven when they passed a cycle of several lessons in anatomical classes [1, 2]. Information on the effects of exposure of chemical faculties students to compounds presented in the air during the performance of a laboratory practical work was not found in the literature.

This publication presents the results of the second fragment of the complex genetic and psychological examination of the chemical and economic faculties students of the Dmitry Mendeleev University of Chemical Technology of Russia. The design of the work included the analysis of conditions, socio-economic features and quality of life, multi-parameter psychological testing (total 177 persons) and a cytome assay of epithelial cells of the mucous membrane of the cheek (146 persons). At the first stage of the work, it was shown that the socio-economic factors (income, economic plan of study, living conditions, smoking and alcohol consumption, etc.) did not influence the state of health and emotional state of the students surveyed. Determining in this sense were the duration of weekly laboratory work at the chemical faculty and the attitude of students towards their future specialty.

This paper presents the results of a cytome assay of the cheek epithelium cells of the students surveyed to test the hypothesis of the influence of exposure to various factors of the chemical laboratory on the manifestation of effects of genome instability, the state of the emotional sphere and the presence of diseases, taking into account socio-economic characteristics and lifestyle.

## Materials and methods

In the course of our research, practically healthy students of 2-4 years of chemical (CF) and economic (EF) faculties of Dmitry Mendeleev University of Chemical Technology of Russia (Moscow) of both sexes have been examined. The teaching premises of the faculties are located on a common territory, as well as the university residences.

The survey was conducted anonymously in late October and early November 2015, believing that during this period the emotional impact of the past holidays and the forthcoming session should be minimal. When choosing the timing of the survey, a relatively low seasonal level of vitamin deficiency and the absence of seasonal outbreaks of viral infections in the city were taken into account. The survey was carried out in accordance with the norms of professional ethics, observing the principle of confidentiality of the information received, the human

денной Всемирной медицинской ассоциацией, и нормами профессиональной этики: с соблюдением принципа конфиденциальности получаемой информации, обеспечением права человека отказаться от участия в обследовании\*; информированием испытуемого об использовании получаемой информации. Каждый испытуемый, отвечавший на вопросы теста, подписал информированное согласие на участие в обследовании.

Анкетирование для изучения социо-экономических особенностей жизни обследованных студентов проводили с использованием специально разработанной карты-интервью и психологического тестирования с использованием блока стандартных психологических опросников. Соскоб клеток слизистой оболочки ротовой полости (буккального эпителия, неинвазивно) отбирали у всех студентов, давших на это согласие, только после того, как они ответили на вопросы карты-интервью и блока психологических тестов.

Соскоб стерильными одноразовыми деревянными шпателями отбирал высококвалифицированный персонал после того, как студенты прополаскивали рот водопроводной водой. Содержимое соскоба переносили в каплю воды на предметном стекле, перемешивали и распределяли по стеклу. Мазки высушивали на воздухе, фиксировали в спиртово-уксусной смеси 3:1 в течение 10 мин., окрашивали ацетоорсеином и зеленым светлым. Микроскопический анализ предварительно зашифрованных препаратов проводили в проходящем свете с помощью микроскопа Olympus CX-31 при увеличении 10 x 100 с масляной иммерсией согласно Международному [3, 4] и принятому в лаборатории протоколу [5] (рис. 1, см. на 3-й стр. обложки).

В каждом образце просматривали 1000 отдельно лежащих эпителиоцитов с ровным гладким краем ядра. Учитывали: 1) клетки с проявлениями цитогенетических нарушений (микроядро или протрузия ядра); 2) клетки с изменениями, характеризующими обновление эпителия (клетки с числом ядер более одного, базальные клетки, клетки с гигантским ядром); 3) клетки с признаками некроза (перинуклеарная вакуоль). Параллельно с этим анализом сверх 1000 клеток с ровным гладким краем ядра подсчитывали встречающиеся на препарате отдельно лежащие клетки с такими признаками некроза/апоптоза, которые делают их непригодными для выявления микроядер (пикноз ядра, кариорексис, конденсированный хроматин в ядре и сопутствующий ему частичный кариолизис, наличие в цитоплазме поглощённого апоптозного тельца).

Статистический анализ проводили с применением стандартного пакета программ Statistica 10.2 Statsoft. Различия по составу групп студентов оценивали по двустороннему критерию соответствия  $\chi^2$ , различия по результатам цитомного анализа – по U-критерию Манна – Уитни. Корреляционный анализ проводили с использованием рангового критерия Спирмена.

## Результаты

Характеристика групп студентов, у которых были взяты мазки буккальных клеток, дана в табл. 1. Как видно, группы студентов, обучавшихся на разных факультетах, различались по основному исследуемому фактору: продолжительности пребывания в химической лаборатории, по возрасту.

Основные результаты цитомного анализа эпителия слизистой оболочки щеки студентов представлены в табл. 2. Различия между факультетами по уровню нестабильности генома были отмечены только среди юношей и только по суммарной частоте клеток с цитогенетическими повреждениями. У студентов ХФ значение этого показателя было примерно вдвое выше. По маркерам токсического эффекта различались также только юноши: частота клеток с пикнозом ядра была выше у

right to know about the use of the survey results and to refuse the examination. Questioning to study the socio-economic characteristics of life of the students surveyed was conducted using a specially designed card-interview. For psychological testing, a block of standard psychological inquirers – questionnaires – was formed based on the results of previous studies. Scraping of the oral mucosa cells (buccal epithelium, non-invasive) was selected from all students who gave their consent, only after they answered questions of the card-interview and block of psychological tests.

Scraping of cells of the slimming epithelium of the cheek with sterile disposable wooden spatulas was taken by highly qualified personnel after students rinsed the mouth with tap water. The contents of the scraping were transferred to a drop of water on a slide, gently dispersed in this drop, distributed over the glass and dried in air. The cells were fixed in an alcohol-acetic mixture of 3: 1 for 10 minutes, and then stained with aceto-orcein and green light. The cytome assay of the pre-encrypted preparations was carried out in transmitted light using an Olympus CX-31 microscope with an increase of 10x100 with an oil immersion according to the international protocol [3, 4] and the protocol adopted in the laboratory [5], Fig. 1.

Each sample was examined by 1000 separately lying epithelial cells with a smooth edge of the nucleus. The following was considered: 1) cells with manifestations of cytogenetic disorders (micronucleus, the nucleus protrusion); 2) cells with changes characterizing the renewal of the epithelium (cells with more than one nucleus, basal cells, cells with a giant nucleus, and 3) cells with signs of necrosis (perinuclear vacuole). In parallel with this analysis, in excess of 1000 cells with a smooth edge of the nucleus, separately found cells with such signs of necrosis / apoptosis, making them unfit for detecting micronuclei (core pycnosis, karyorexis, condensed chromatin in the nucleus and concomitant partial kariolysis, in the cytoplasm of absorbed apoptotic bodies) were counted.

The statistical analysis was carried out using the standard software package Statistica 10.2 Statsoft. The differences in the composition of groups of students were assessed by a two-sided criterion of the  $\chi^2$  correspondence, the differences in the results of the cytome assay were assessed according to the U-criterion of Mann-Whitney. Correlation analysis was carried out using the Spearman rank test.

## Results

The characteristics of the students' groups who were taken smears of buccal cells are given in Table. 1. As can be seen, the students' groups who studied at different faculties differed in their main research factor-the length of their stay in the chemical laboratory, as well as the number of students trained in each course.

The main results of the cytome assay of the epithelium of the mucous membrane of the cheek are presented in Table. 2. As can be seen, the differences between the faculties in terms of the level of genome instability were noted only among young men and only in the total frequency of cells with cytogenetic lesions - in CF students the value of this indicator was approximately twice as high. By the markers of toxic effect, only the young men differed: the frequency of cells with pycnosis of the nucleus was higher among the students of EF. Within the faculties, gender differences were noted: on the CF, the frequency of cells with a micronucleus, the total frequency of cells with genetic damage, and the frequency of cells with karyorhexis among young men was higher than that of girls; at the same time, young men from EF most often had cells with a pycnosis of the nucleus. In both faculties the frequency of cells with condensed chromatin in the nucleus was higher among the young men than that of girls.

To clarify the possible role of students' living conditions and their emotional state in the formation of the observed differ-

\* В группе ХФ от обследования отказались трое, в группе студентов ЭФ от тестирования не отказался ни один студент.

Таблица 1

## Характеристика обследованных групп студентов

Показатель	Экономический факультет	Химический факультет	Статистика	<i>p</i>
Студентов, <i>n</i> :	63	95		
юношей	21	26	$\chi^2 = 0,645$	$> 0,05$
девушек	42	69		
Возраст, годы*	20,18 (19–22)	19,61 (18–23)	$Z = 4,00$	$< 0,0001$
Работа в химической лаборатории, час/неделю*	0,04 (0–2)	4,28 (0–11)	$Z = 4,99$	0,00000
Проживание дома/в общежитии и др.	31/25	40/54	$\chi^2 = 2,308$	$> 0,05$
Количество курящих	11	19	$\chi^2 = 0,159$	$> 0,05$
Потребление алкоголя:				
отсутствует	16	19	$\chi^2 = 1,371$	$> 0,05$
несколько раз в полгода	15	35	$\chi^2 = 1,724$	$> 0,05$
раз в месяц	11	28	$\chi^2 = 1,877$	$> 0,05$
раз в неделю	13	11	$\chi^2 = 3,46$	$> 0,05$
ежедневно	1	1	$\chi^2 = 0,139$	$> 0,05$

Примечание. \* – Хср (мин. – макс.).

студентов ЭФ. В пределах факультетов отмечены гендерные различия: на ХФ частота клеток с микроядром, суммарная частота клеток с цитогенетическими повреждениями, а также частота клеток с кариорексисом у юношей оказалась выше, чем у девушек; в то же время у юношей на ЭФ чаще встречались клетки с пикнозом ядра и на обоих факультетах – клетки с конденсированным хроматином в ядре.

Для выяснения возможной роли условий жизни студентов и их психологического состояния в формировании этих различий мы оценили влияние тех факторов, которые проявили статистически значимые корреляционные связи с показателями цитомного анализа. Так, была выявлена слабая сопряженность между уровнем тревожности студентов [6] и частотой клеток с микроядрами, суммарной частотой клеток с цитогенетическими повреждениями, а также частотой клеток с кариорексисом ( $R$  соответственно 0,171; 0,175; 0,192, везде  $p < 0,05$ ). Важно, что на обоих факультетах среди юношей, в отличие от девушек, преобладали индивидуумы с повышенной тревожностью (табл. 3), и у них же клетки с микроядрами встречались чаще, чем у девушек (табл. 4). На основании этих данных можно предположить, что гендерные различия по частоте клеток с микроядрами на ХФ могли быть опосредованы дисбалансом групп юношей и девушек по эмоциональному состоянию.

Суммарная частота клеток с цитогенетическими нарушениями у студентов в состоянии тревоги была выше, чем при норме во всех подгруппах, но различия эти статистически незначимы (см. табл. 4). В то же время юноши с повышенной тревожностью на ЭФ и ХФ значимо различались по этому показателю.

У девушек частота клеток с кариорексисом не была связана с тревожностью (см. табл. 4), в то время как у юношей с повышенной тревожностью частота таких клеток была выше, чем при норме, хотя различия не достигали статистической значимости. Учитывая более высокую численность студентов на ХФ, а также дисбаланс между юношами и девушками по тревожности (см. табл. 3), можно заключить, что психологическое состояние могло быть причастным к формированию гендерных различий по кариорексису именно на ХФ.

Частота клеток с пикнозом ядра в эпителии слизистой оболочки щеки была ассоциирована с такими факторами, как характеристика состояния здоровья, полученная при анкетировании студентов по карте-интервью, а также с образом

Table 1

## Characteristics of the students surveyed groups

Index	Index	Index	Index	<i>p</i>
students surveyed	63	95		
number of young men	21	26	$\chi^2 = 0,645$	$> 0,05$
number of young women	42	69		
age, years*	20,18 (19–22)	19,61 (18–23)	$Z = 4,00$	$< 0,0001$
work in the chemical laboratory, hour / week*	0,04 (0–2)	4,28 (0–11)	$Z = 4,99$	0,00000
residence at home / university residence, etc	31/25	40/54	$\chi^2 = 2,308$	$> 0,05$
number of smokers	11	19	$\chi^2 = 0,159$	$> 0,05$
alcohol consumption:	16	19	$\chi^2 = 1,371$	$> 0,05$
absent	15	35	$\chi^2 = 1,724$	$> 0,05$
several times in half a year	11	28	$\chi^2 = 1,877$	$> 0,05$
once a month	13	11	$\chi^2 = 3,46$	$> 0,05$
once a week	1	1	$\chi^2 = 0,139$	$> 0,05$

Note: \* Xav (min-max).

ences, we evaluated the influence of those factors that showed statistically significant correlation links with the indices of the cytome analysis. Thus, there was a weak contingency between the level of students' anxiety [6] and the frequency of cells with micronucleus, the total frequency of cells with cytogenetic lesions, and the frequency of cells with karyorhexis ( $R$  0.171, 0.175, 0.192, respectively,  $p < 0.05$ ). It is important that in both faculties, among young men, unlike girls, individuals with increased anxiety\* prevailed (Table 3), and they also had cells with micronucleus more frequently than girls who had the same emotional state (Table 4).

The frequency of cells with the pyknosis of the nucleus in the epithelium of the mucous membrane of the cheek was associated with factors such as the self-assessment of the health status obtained by questioning students on the card interview, as well as with the lifestyle (sedentary or mobile), and smoking ( $R = 0.183, 0.195$  and  $0.204$ , respectively, in all cases,  $p < 0.05$ ). Girls from CF who lead an active lifestyle (pool, bicycle, fitness, long walking), the frequency of cells with pyknosis of the nucleus was lower than among girls leading sedentary lifestyle (Table 5). Among the girls from the EF, the differences were directed to the same way, but insignificant, but after the union of the two faculties girls, the significance level increased (2.11 (1.49 ÷ 2.73) and 3.65 (2.71 ÷ 4.59) per 1000 cells,  $p = 0.001$ ). At the same time, with any method of forming groups of active and passive youths, the influence of lifestyle on the frequency of cells with pyknosis of the nucleus could not be identified.

The smoking effect was not possible to assess separately in each of the four subgroups because of the small number of smokers, but this effect was manifested on the whole array of data – among smoking persons the frequency of pyknotic micronucleus were significantly higher than those of nonsmokers (Table 7).

The frequency of cells with condensed chromatin in the

\* Most of the students surveyed in terms of severity of anxiety belonged to categories 1 (norm) and 2 (increased anxiety). By the number of subgroups of students belonging to these categories, differences were observed only between the cohorts of boys and girls in CF ( $p < 0.001$ ) (Table 3). In view of the small number of subgroups of students with high anxiety (category 3 and above), only data on students with anxiety of levels 1 and 2 were used to assess the relationship between the frequency of cells with injuries and anxiety.

## Результаты цитомного анализа эпителия слизистой оболочки щеки студентов

Клетки с данной аномалией на 1000 клеток с непрерывным гладким краем ядра, %	ЭФ Хср <sup>1</sup> (95% ДИ)		ХФ Хср <sup>1</sup> (95% ДИ)	
	юноши (n = 21)	девушки (n = 34)	юноши (n = 26)	девушки (n = 65)
Клетка с микроядром	0,33 (0,07÷0,60)	0,38 (0,14÷0,62)	0,77 (0,42÷1,12)	0,25• (0,14÷0,35)
Клетка с протрузией ядра	0,90 (0,45÷1,36)	1,71 (0,83÷2,58)	1,46 (0,76÷2,17)	1,05 (0,68÷1,41)
Суммарная частота клеток с микроядром или с протрузией ядра	1,24 (0,78÷1,69)	2,09 (1,17÷3,00)	2,23* (1,34÷3,12)	1,29•• (0,91÷1,68)
Клетка с числом ядер >1	10,38 (7,40÷13,36)	9,62 (8,12÷11,12)	9,50 (7,80÷11,20)	8,26 (7,36÷9,16)
Базальная клетка	3,71 (2,49÷4,94)	8,14 (4,45÷11,84)	5,69 (3,13÷8,25)	4,63 (3,63÷5,63)
Клетка с гигантским ядром	0,33 (0,07÷0,60)	0,47 (0,08÷0,87)	0,42 (0,14÷0,71)	0,18 (0,09÷0,28)
Клетка с перинуклеарной вакуолью	5,95 (3,83÷8,07)	8,12 (4,56÷11,68)	8,04 (4,79÷11,29)	9,82 (7,86÷11,78)
Клетка с кариорексисом	3,05 (0,00÷6,39)	0,24 (0,04÷0,43)	1,54 (0,50÷2,58)	0,26• (0,06÷0,46)
Клетка с апоптозными телами в цитоплазме	0,19 (0,01÷0,37)	0,24 (0,04÷0,43)	0,46 (0,15÷0,77)	0,32 (0,16÷0,49)
Клетка с пикнозом ядра	4,57 (2,96÷6,18)	2,38• (1,36÷3,40)	2,96* (1,35÷4,57)	2,54 (1,96÷3,12)
Клетка с конденсированным хроматином в ядре	83,14 (47,23÷119,06)	37,71•• (26,40÷49,01)	112,96 (81,37÷144,56)	59,17•• (47,37÷70,97)

Примечание: <sup>1</sup> – Хср (95 CI%); \* –  $p < 0,05$  по сравнению со студентами того же пола, обучающимися на другом факультете (критерий Манна – Уитни); • –  $p < 0,05$ ; •• –  $p < 0,01$  по сравнению со студентами другого пола, обучающимися на том же факультете (критерий Манна – Уитни).

Table 2

Results of the cytome analysis of the epithelium of the mucous membrane of the students' cheeks<sup>1</sup>

Cells with this anomaly per 1000 cells with a continuous smooth edge of the nucleus, %	Faculty of Economics Xav1 (95% confidence interval <sup>2</sup> )		Chemical faculty Xav1 (95% confidence interval <sup>2</sup> )	
	Young men 21 persons	Young women 34 persons	Young men 26 persons	Young women 65 persons
Cell with micronucleus	0,33 (0,07÷0,60)	0,38 (0,14÷0,62)	0,77 (0,42÷1,12)	0,25• (0,14÷0,35)
Cell with protrusion of nucleus	0,90 (0,45÷1,36)	1,71 (0,83÷2,58)	1,46 (0,76÷2,17)	1,05 (0,68÷1,41)
The total frequency of cells with MN or with protrusion of the nucleus	1,24 (0,78÷1,69)	2,09 (1,17÷3,00)	2,23* (1,34÷3,12)	1,29•• (0,91÷1,68)
A cell with a number of nucleus > 1	10,38 (7,40÷13,36)	9,62 (8,12÷11,12)	9,50 (7,80÷11,20)	8,26 (7,36÷9,16)
Basal cell	3,71 (2,49÷4,94)	8,14 (4,45÷11,84)	5,69 (3,13÷8,25)	4,63 (3,63÷5,63)
Cell with a giant nucleus	0,33 (0,07÷0,60)	0,47 (0,08÷0,87)	0,42 (0,14÷0,71)	0,18 (0,09÷0,28)
Cell with perinuclear vacuole	5,95 (3,83÷8,07)	8,12 (4,56÷11,68)	8,04 (4,79÷11,29)	9,82 (7,86÷11,78)
Cell with karyorhexis	3,05 (0,00÷6,39)	0,24 (0,04÷0,43)	1,54 (0,50÷2,58)	0,26• (0,06÷0,46)
Cell with apoptotic bodies in the cytoplasm	0,19 (0,01÷0,37)	0,24 (0,04÷0,43)	0,46 (0,15÷0,77)	0,32 (0,16÷0,49)
Cell with a pycnosis of the nucleus	4,57 (2,96÷6,18)	2,38• (1,36÷3,40)	2,96* (1,35÷4,57)	2,54 (1,96÷3,12)
Cell with condensed chromatin in the nucleus	83,14 (47,23÷119,06)	37,71•• (26,40÷49,01)	112,96 (81,37÷144,56)	59,17•• (47,37÷70,97)

Notes: <sup>1</sup>)  $p < 0,05$  compared with students of the same sex studied at the another faculty (the Mann-Whitney test); •)  $p < 0,05$ ; ••)  $p < 0,01$  compared with students of the opposite sex studied at the same faculty (the Mann-Whitney test); <sup>2</sup>) Xav (95 CI%).

жизни (сидячим или подвижным), возрастом и курением ( $R = 0,183; 0,195; 0,221$  и  $0,204$  соответственно; во всех случаях  $p < 0,05$ ). У девушек ХФ, ведущих активный образ жизни (басейн, велосипед, фитнес, длительная ходьба), частота клеток с пикнозом ядра была ниже, чем у ведущих сидячий образ жизни (табл. 5). У девушек на ЭФ различия были направлены в ту же сторону, но незначимы, однако после объединения девушек двух факультетов уровень значимости повысился ( $2,11 (1,49 \div 2,73)$  и  $3,65 (2,71 \div 4,59)$  на 1000 клеток,  $p = 0,001$ ). При любом способе формирования групп активных и пассивных юношей влияния образа жизни на частоту клеток с пикнозом ядра выявить не удалось.

Представленность имеющих хронические заболевания и не указавших при анкетировании наличие хронических

nucleus - according to the correlation analysis - was associated with the sex of the examined ( $R = 0.330, p < 0.05$ ) and the duration of weekly laboratory work ( $R = 0.194, p < 0.05$ ). The Fig. 2 shows the increase in the frequency of cells with chromatin condensation in the nucleus with the increase in the duration of the laboratory work is the same for girls and boys, but the background frequency, like the entire schedule for boys, is higher.

## Discussion

The main objective of this study was to compare the state of students of the two faculties to identify the possible (negative) impact of learning conditions on the genetic status of the students. In formulating the problem, we assumed that the main

Таблица 3

## Распределение студентов по степени выраженности тревожности (шкала Тейлор)

Уровень тревоги (категория)	Экономический факультет			Химический факультет		
	юноши	девушки	$\chi^2$ между полами	юноши	девушки	$\chi^2$ между полами
1	7	16	1,36	6	41	12,42
2	13	15		18	20	
3 и выше	1	4		3	4	

Table 3

## Allocation of students in terms of anxiety severity (the Taylor scale)

Anxiety level (category)	Faculty of Economics			Chemical faculty		
	Young men	Young women	$\chi^2$ between sexes	Young men	Young women	$\chi^2$ between the sexes
1	7	16	1,36	6	41	12,42
2	13	15		18	20	
3 and higher	1	4		3	4	

**Частоты аномальных клеток в эпителии ротовой полости студентов при разных уровнях их тревожности**

Показатель	Экономический факультет				Химический факультет			
	юноши		девушки		юноши		девушки	
Степень выраженности тревоги (категория)	1	2	1	2	1	2	1	2
Обследовано студентов, человек	7	13	16	15	6	8	41	20
Клеток с микроядром, ‰ <sup>1</sup>	0,29 0,00÷0,98	0,38 0,08÷0,69	0,19 0,00÷0,40	0,60 0,10÷1,10	0,33 0,00÷0,88	1,00 0,55÷1,45	0,24 0,11÷0,38	0,20** 0,01÷0,39
Сумма клеток с микроядром или протрузией ядра, ‰ <sup>1</sup>	1,00 0,24÷1,76	1,31 0,64÷1,98	1,88 0,08÷3,67	2,40 1,32÷3,48	1,50 0,62÷2,38	2,56 1,29÷3,82	1,22 0,84÷1,60	1,50 0,44÷2,56
Клеток с кариорексисом на 1000 клеток <sup>1</sup>	1,00 0,00÷3,45	4,38 0,00÷9,83	0,19 0,00÷0,48	0,20 0,00÷0,43	0,33 0,00÷0,88	1,78 0,33÷3,22	0,45 0,00÷0,91	0,25 0,04÷0,46

Примечание: <sup>1</sup> – Хср (95 CI%); \*\* –  $p < 0,01$  по сравнению с юношами химфака с категорией тревожности 2.

Таблица 5

**Частота клеток с пикнозом ядра и образ жизни студентов**

Показатель	Химический факультет				Экономический факультет			
	юноши		девушки		юноши		девушки	
Образ жизни	Активный	Сидячий	Активный	Сидячий	Активный	Сидячий	Активный	Сидячий
Обследовано студентов, человек	10	9	46	14	12	5	25	6
Частота клеток с пикнозом ядра на 10 001	4,8 (0,93÷8,67)	2,22 (0,00÷4,49)	2,09 (1,41÷2,76)	3,71* (2,53÷4,90)	4,75 (2,03÷7,47)	3,2 (0,24÷6,16)	2,16 (0,83÷3,49)	3,5 (1,32÷5,68)

Примечание. 1) Хср (95 CI%); \* –  $p < 0,01$  по сравнению с девушками ЭФ, придерживающимися активного образа жизни (критерий Манна–Уитни).

заболеваний студентов среди обследованных на разных факультетах не различалась (табл. 6). При этом частота клеток с пикнозом ядра среди здоровых юношей на ХФ была значительно ниже, чем на ЭФ.

Влияние курения не представлялось возможным оценить отдельно в каждой из четырёх подгрупп из-за малочисленности курящих, однако на всём массиве данных это влияние проявилось: у курящих частота пикнотических ядер была значимо выше, чем у некурящих (табл. 7).

Частота клеток с конденсированным хроматином в ядре (по данным корреляционного анализа) была ассоциирована с полом обследованных ( $R = 0,330, p < 0,05$ ) и продолжитель-

acting factor could be contact with a variety of chemical compounds during the performance of laboratory work. We assumed that the main way of exposure could be the inhalation of air of the laboratory premises during classes. Therefore, to detect possible genotoxic effects, a micronuclear test on tissue cells directly in contact with air pollution was chosen. The micronuclear test on the buccal epithelium allows detecting a wide range of events - not only the effects associated with genome damage (the formation of micronuclei and nuclear protrusions), but with various manifestations of cell death - apoptosis and necrosis (condensed chromatin in the nucleus, nuclear picnosis, karyorhexis and etc.) [3-5].

Table 4

**The frequencies of abnormal cells in the epithelium of the oral cavity of students at different levels of their anxiety.**

Faculty	Faculty of Economics				Chemical faculty			
	Young men		Young women		Young men		Young women	
Degree of anxiety	Psychological comfort	Increased anxiety	Psychological comfort	Increased anxiety	Psychological comfort	Increased anxiety	Psychological comfort	Increased anxiety
Surveyed students	7	13	16	15	6	8	41	20
Cells with a micronucleus, ‰ <sup>1</sup>	0,29 0,00÷0,98	0,38 0,08÷0,69	0,19 0,00÷0,40	0,60 0,10÷1,10	0,33 0,00÷0,88	1,00 0,55÷1,45	0,24 0,11÷0,38	0,20** 0,01÷0,39
The total of cells with micronucleus or protrusion of the nucleus, ‰ <sup>1</sup>	1,00 0,24÷1,76	1,31 0,64÷1,98	1,88 0,08÷3,67	2,40 1,32÷3,48	1,50 0,62÷2,38	2,56 1,29÷3,82	1,22 0,84÷1,60	1,50 0,44÷2,56
Cells with a karyorhexis per 1000 cells <sup>1</sup>	1,00 0,00÷3,45	4,38 0,00÷9,83	0,19 0,00÷0,48	0,20 0,00÷0,43	0,33 0,00÷0,88	1,78 0,33÷3,22	0,45 0,00÷0,91	0,25 0,04÷0,46

Note: 1) Xav (95 CI%); \*\*  $p < 0,01$  in comparison with the young men of the chemical faculty with an increased level of anxiety

Table 5

**The frequencies of cells with the nucleus pyknosis depending on the students' lifestyle**

Index	Chemical faculty				Faculty of Economics			
	Young men		Young women		Young men		Young women	
Lifestyle	active	sedentary	active	sedentary	active	sedentary	active	sedentary
Students surveyed	10	9	46	14	12	5	25	6
Frequency of cells with a pyknosis of the nucleus per 10001	4,8 (0,93÷8,67)	2,22 (0,00÷4,49)	2,09 (1,41÷2,76)	3,71** (2,53÷4,90)	4,75 (2,03÷7,47)	3,2 (0,24÷6,16)	2,16 (0,83÷3,49)	3,5 (1,32÷5,68)

Notes: 1) Xav (95 CI%); \*\*  $p < 0,01$  compared with the girls from EF, leading an active lifestyle (the Mann-Whitney test). Representation of students indicated and did not indicate in the questionnaire the presence of chronic illnesses among those surveyed at different faculties did not differ (Table 6). At the same time, the frequency of cells with pyknosis of the nucleus among healthy young men on CF was significantly lower than on EF.

Таблица 6

**Частота клеток с пикнозом ядра в буккальном эпителии студентов с различной оценкой состояния своего здоровья**

Пол обследованных	Состояние здоровья	Факультет	Обследовано студентов, <i>n</i>	Частота клеток с пикнозом ядра на 1000 клеток <sup>1</sup>
Юноши	здоров	Экономический	12	4,67 (2,38 ÷ 6,95)**
		Химический	16	1,38 (0,00 ÷ 2,83)
	имеются хронические заболевания	Экономический	8	3,50 (1,45 ÷ 5,55)
		Химический	10	5,50 (2,30 ÷ 8,70)
Девушки	здоровы	Экономический	11	1,91 (0,62 ÷ 3,20)
		Химический	25	2,08 (1,21 ÷ 2,95)
	имеются хронические заболевания	Экономический	21	2,57 (1,00 ÷ 4,15)
		Химический	38	2,82 (2,01 ÷ 3,62)

Примечание: <sup>1</sup> – Хср (95 CI%); \*\* –  $p < 0,01$  при сравнении со здоровыми юношами ХФ (критерий Манна–Уитни).

ностью пребывания в химической лаборатории ( $R = 0,194$ ,  $p < 0,05$ ). На рис. 2 видно, что прирост частоты клеток с конденсацией хроматина в ядре по мере увеличения продолжительности пребывания в лаборатории одинаков у девушек и юношей, однако фоновая частота и весь график для юношей располагаются выше.

**Обсуждение**

Основной задачей настоящего исследования было сравнение состояния учащихся двух факультетов для выявления возможного (негативного) влияния условий обучения на генетический статус студентов. При постановке задачи мы допускали, что основным действующим фактором может быть контакт с разнообразными химическими соединениями во время выполнения лабораторных работ. Мы предполагали, что основным способом экспозиции может быть вдыхание воздуха лабораторных помещений во время занятий. Поэтому для выявления возможных генотоксических эффектов был выбран микроядерный тест на клетках ткани, непосредственно контактирующей с воздушными загрязнителями. Микроядерный тест на буккальном эпителии позволяет выявлять широкий спектр событий – это не только эффекты, связанные с повреждением генома (образование микроядер и ядерных протрузий), но и эффекты с различными проявлениями вариантов клеточной гибели – апоптоза и некроза (конденсированный хроматин в ядре, пикноз ядра, кариорексис и др.) [Юрченко и др., 2007; Thomas et al., 2009; Torres-Bugarin et al., 2014].

Результаты цитомного анализа показали, что уровни всех обнаруженных эффектов (см. табл. 2) не выходят за пределы не только базового уровня, накопленного в нашей лаборато-

Таблица 7

**Частота клеток с пикнозом ядра в эпителии слизистой оболочки щеки и курение студентов**

Отношение к курению	Обследовано студентов, человек	Клеток с пикнозом ядра на 1000 клеток	Мин–макс
Не курят	115	2,689 (2,10 ÷ 3,26)	0–16
Бросают курить	5	3,00 (1,04 ÷ 4,96)	1–5
Курят	30	3,57 (2,45 ÷ 4,68)	0–12

Примечание: <sup>1</sup> – Хср (95 CI%); \* –  $p < 0,05$  по сравнению с некурящими ( $Z = 2,07$ ).

Table 6

**The frequency of cells with pycnosis of the nucleus in the buccal epithelium of students with different assessments of their health**

Sex of the examined	State of health	Faculty	Number of students surveyed	The frequency of cells with a pycnosis of the nucleus per 1000 cells <sup>1</sup>
Young men	healthy	of Economics	12	4,67 (2,38÷6,95) **
		Chemical	16	1,38 (0,00÷2,83)
	there are chronic diseases	of Economics	8	3,50 (1,45÷5,55)
		Chemical	10	5,50 (2,30÷8,70)
Young women	healthy	of Economics	11	1,91 (0,62÷3,20)
		Chemical	25	2,08 (1,21÷2,95)
	there are chronic diseases	of Economics	21	2,57 (1,00÷4,15)
		Chemical	38	2,82 (2,01÷3,62)

Notes: 1) – Xav (95 CI%); \*\*  $p < 0,01$  when compared with healthy young men of the chemistry department (the Mann-Whitney test).

The results of the cytome assay showed that the levels of all the observed effects (Table 2) do not go beyond the base level accumulated in our laboratory [5], and the values established in the literature for comparison groups [7 - 9]. On this basis, we can conclude that a relatively low level of air pollution both in classrooms at the Faculty of Economics and in the laboratories of the Chemical faculty. Nevertheless, it should be noted that among young men trained in CF a significantly higher total cell frequency with micronucleus and cells with nucleus protrusion was found than among young men studying in EF, as well as for students of both sexes - a direct relationship between the frequency of cells with condensed chromatin in the nucleus and the duration of weekly work in the chemical laboratory. This clearly indicates the presence of factors that induce genotoxic and cytotoxic effects at the chemistry faculty.

The frequencies of cells with micronucleus and nuclear protrusions are recognized markers of genotoxic effects. But it is important to understand that the frequency of cells with chromatin condensation in the nucleus is the most sensitive indicator of a micronuclear test on epithelial cells, which, before others, allows detecting exposure to toxic effects. For example, an increase in the frequency of cells with chromatin condensation was observed among the consumers of tobacco chewing gum [7], road workers [9], exposed to paints [10], natural [11] and artificial [12] sources of ionizing radiation, and with aging [13]. Together, these effects prove the presence of exposure to genotoxic and toxic factors present during laboratory sessions at the chemical faculty. And, despite the fact that the levels of detected effects do not go beyond the baseline, the very fact of

Table 7

**The frequency of cells with pycnosis of the nucleus in the epithelium of the mucous membrane of the students' cheeks, depending on smoking**

Attitude to smoking	Number of students surveyed	Cells with a pycnosis of a nucleus per 1000 cells	Min-max
do not smoke	115	2,689 (2,10÷3,26 )	0 - 16
give up smoking	5	3,00 (1,04÷4,96 )	1 - 5
smoke	30	3,57 (2,45÷4,68 ) *	0 - 12

Notes: 1) – Xav (95 CI%); \*)  $p < 0,05$  compared with non-smokers ( $Z = 2,07$ ).

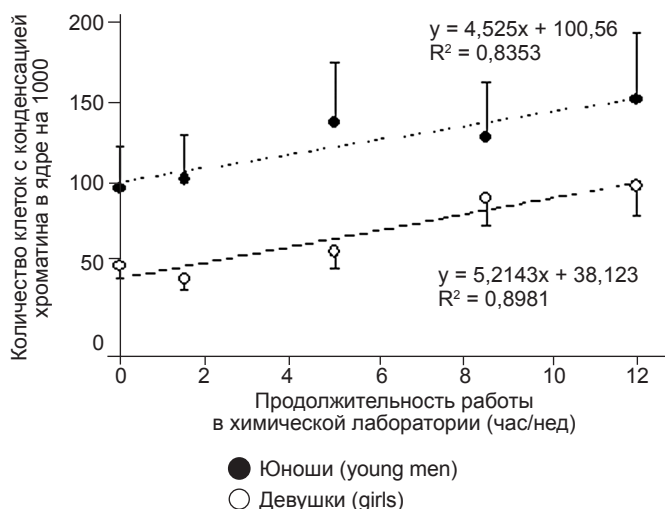


Рис. 2. Влияние продолжительности пребывания студентов в химической лаборатории на частоту буккальных клеток с конденсацией хроматина в ядре. По оси ординат – продолжительность пребывания в химической лаборатории (час/нед); по оси абсцисс – клеток с конденсацией хроматина в ядре на 1000 клеток с непрерывным гладким краем ядра ( $\bar{X} \pm \text{ст. ош.}$ ).

Fig. 2. Effect of the duration of weekly work of students in the chemical laboratory on the frequency of buccal epithelial cells with condensation of chromatin in the nucleus.

On the abscissa axis – cells with condensation of chromatin in the nucleus per 1000 cells with a continuous smooth edge of the nucleus ( $\bar{X} \pm \text{ст. ош.}$ ).

рии [5], но и значений, установленных в литературе для групп сравнения [7–9]. На этом основании можно сделать вывод об относительно невысоком уровне загрязнения воздуха как в помещениях для занятий на ЭФ, так и в лабораториях ХФ.

Тем не менее, следует отметить, что у юношей, обучающихся на ХФ, была обнаружена значимо большая суммарная частота клеток с микроядрами и клеток с протрузией ядра, чем у юношей, обучающихся на ЭФ, а также для студентов обоего пола – прямая зависимость между частотой клеток с конденсированным хроматином в ядре и продолжительностью пребывания в химической лаборатории. Это однозначно свидетельствует о наличии на ХФ факторов, индуцирующих генотоксические и токсические эффекты.

Частоты клеток с микроядрами и ядерными протрузиями являются признанными маркерами генотоксического воздействия. Но важно понимать, что частота клеток с конденсацией хроматина в ядре является самым чувствительным показателем микроядерного теста на эпителиоцитах, который раньше других позволяет обнаружить экспозицию к токсическим воздействиям. Так, повышение частоты клеток с конденсацией хроматина наблюдали у потребителей табачной жвачки [7], у дорожных рабочих [9], у экспонированных к краскам [10], к природным [11] и искусственным [12] источникам ионизирующего излучения, а также при старении [13]. В совокупности эти эффекты доказывают наличие экспозиции к генотоксическим и токсическим факторам, присутствующим во время лабораторных занятий на химическом факультете. И, несмотря на то обстоятельство, что сдвиги значений показателей не выходят за пределы базовых уровней, сам факт их обнаружения говорит о необходимости проведения специальных исследований, направленных на поиск причин.

В настоящем исследовании частота клеток с пикнозом ядра и клеток с конденсированным хроматином в ядре у юношей была выше, чем у девушек, что подтверждает результа-

their detection indicates the need for special studies aimed at finding causes.

In the present study, the frequency of cells with pycnosis of the nucleus and cells with condensed chromatin in the nucleus among young men was higher than of the girls, which is confirmed the results obtained earlier in the examination of children aged 5-7 in Moscow, namely in the boys' epithelium of the mucous membrane of the cheek such cells were more common than for girls [5]. The observation made becomes especially important if we take into account that the marked cytological signs characterize the cell death. At the same time, the frequency of cells with genetic lesions (micronucleus and protrusions) among young people trained in CF was higher than that of young men in EF. That is, among young people in CF, the increased frequency of genetic damage was observed against the background of reduced cell death – a situation in which the damaged cells are not eliminated but survive, thereby creating conditions for fixing genetic damage in subsequent generations. We have repeatedly observed this phenomenon when studying the effects of genome instability in blood lymphocytes of children and adults who were in a state of nonadaptive stress (and in particular under conditions of additional genotoxic loading *in vitro* [15]). This observation is made for the first time on the cells of the epithelium of the cheek.

Essential for understanding the observed regularities is the fact that in CF among the young men prevailed those with increased anxiety, predominantly cells with micronucleus were more common for them than for girls being in the same emotional state (Table 4). This means that gender differences in the frequency of cells with micronucleus on CF could not be mediated by students' emotional stress. The fact that the degree of stress is a mediator of genotoxic effects was previously shown repeatedly in examining different cohorts of children and adults in our own [14, 15] and then in the studies of other authors [16] on the culture of peripheral blood lymphocytes. In this paper, this phenomenon is first shown on buccal epithelium, which allows us speaking of a single mechanism of physiological modification of the individual genome sensitivity in different tissues.

The association between the frequency of buccal epithelial cells with pycnosis of the nucleus and the state of students' somatic health is of interest. A similar observation was made in a survey of children in Magnitogorsk, where a correlation between the frequency of such cells and the child's health group was found [17].

In conclusion, it should be noted that the described effects, demonstrated in most cases for the first time in the world scientific practice on epithelial cells, attest the unity of the mechanisms of the formation of genetic damage, the elimination of damaged cells and the modification of these effects in different human tissues – the epithelial cells of the mucous membrane of the cheek and peripheral blood lymphocytes, as well as on a single mechanism for the modification of genotoxic effects in various tissues of the human body during the course of adaptation processes.

The obtained data substantiate also the expediency of taking into account in genetic and hygienic studies of different groups of the adult population such “non-genetic” factors as the state of the emotional sphere, the way of life and the subjective assessment of the health status of the subjects.

**Conflict of interest:** The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgment.** The study was carried out within the frames of the State Program № 056-00111-18-00 and with partly financial support by RSF grant 15-17-30016.

**The authors would like to thank** the Doctor of Chemical Sciences, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director of the Institute for Sustainable Development Problems of Dmitry Mendeleev University of Chemical Technology of Russia N.P. Tarasova for assistance in organizing the survey.



ты, полученные ранее при обследовании детей 5 – 7 лет в Москве: именно у мальчиков в эпителии слизистой оболочки щеки такие клетки встречались чаще, чем у девочек [5].

Существенным для понимания обнаруженных закономерностей представляется и тот факт, что среди юношей преобладали субъекты с повышенной тревожностью, причём у них клетки с микроядрами встречались чаще, чем у девушек (см. табл. 4). Это означает, что гендерные различия по частоте клеток с микроядрами на ХФ могли быть опосредованы эмоциональным напряжением студентов. То, что стресс является медиатором генотоксических эффектов в лимфоцитах периферической крови, было ранее неоднократно показано при обследовании разных когорт детей и взрослых в собственных [14, 15] и затем в исследованиях других авторов [16], однако в данной работе этот феномен впервые показан на буккальном эпителии. Интерес представляет ассоциативная связь между частотой буккальных эпителиоцитов с пикнозом ядра и состоянием соматического здоровья студентов. Аналогичное наблюдение было сделано при обследовании детей в Магнитогорске, где была выявлена связь частоты таких клеток с группой здоровья ребенка [17].

В заключение следует отметить, что приведённые данные, полученные впервые в мировой научной практике в результате генетико-психологического обследования студентов разных факультетов одного вуза, свидетельствуют о целесообразности учёта субъективной оценки состояния здоровья, эмоциональной сферы и образа жизни в генетико-гигиенических исследованиях.

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках государственного задания № 056-00111-18-00 и при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ 15-17-30016.

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

## Литература (пп 1-4, 6-10, 12-13, 16 см. References)

- Юрченко В.В., Подольная М.А., Ингель Ф.И., Кривцова У.К., Беляева Н.Н., Недачин А.Е. Микроядерный тест на буккальных эпителиоцитах. В кн.: Рахманин Ю.А., Сычева Л.П., ред. *Полиорганный микроядерный тест в эколого-гигиенических исследованиях*. М.: Гениус; 2007: 220-68.
- Петрашова Е.А., Белишева Н.К., Пелевина И.И., Мельник Н.А., Зольер Ф. Генотоксические эффекты в буккальном эпителии горняков, работающих в условиях облучения природными источниками ионизирующего излучения. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук. Социальные, гуманитарные, медико-биологические науки*. 2011; 13(1-7): 1792-6.
- Ингель Ф.И., Прихожан А.М., Цуцман Т.Е., Ревазова Ю.А. Оценка глубины стресса и ее использование при проведении генетико-токсикологических исследований на людях. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 1997; 7: 24-8.
- Ингель Ф.И. Качество жизни и индивидуальная чувствительность генома человека. Есть ли выход из порочного круга? *Экологическая генетика*. 2005; 3(3): 38-46.
- Ингель Ф.И., Юрченко В.В., Кривцова Е.Л., Юрцева Н.А., Легостаева Т.Б. Цитомный анализ эпителия слизистой оболочки щеки в комплексном генетико-гигиеническом обследовании детей в промышленном городе. *Гигиена и санитария*. 2016; 95(10): 969-73.

## References

- Suruda A., Schulte P., Boeniger M., Hayes R.B., Livingston G.K., Steenland K. et al. Cytogenetic effects of formaldehyde exposure in students of mortuary science. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 1993; 2(5): 453-60.
- Ying C.J., Yan W.S., Zhao M.Y., Ye X.L., Xie H., Yin S.Y. et al. Micronuclei in nasal mucosa, oral mucosa and lymphocytes in students exposed to formaldehyde vapor in anatomy class. *Biomed. Environ. Sci.* 1997; 10(4): 452-5.
- Thomas P., Holland N., Bolognesi C., Kirsh-Volders M., Bonassi S., Zeiger E. et al. Buccal micronucleus cytome assay. *Nature Protocols*. 2009; 4(6): 825-37. doi: 10.1038/nprot.2009.53.
- Torres-Bugarin O., Zavala-Cerna M.G., Nava A., Flores-Garcia A., Ramos-Ibarra M.L. Potential uses, limitation, and basic procedures of micronuclei and nuclear abnormalities in buccal cells. *Dis. Markers*. 2014; 2014: 956835.
- Yurchenko V.V., Podol'naya M.A., Ingel' F.I., Krivtsova U.K., Belyaeva N.N., Nedachin A.E. Micronuclear test for buccal epithelial cells. In: Rakhmanin Yu.A., Sycheva L.P., eds. *The multi-organ micronucleus test in ecological and hygienic studies [Poliorgannyi mikroyadernyy test v ekologo-gigienicheskikh issledovaniyakh]*. Moscow: Genius; 2007: 220-68. (in Russian)
- Taylor J.A. A personality scale of manifest anxiety. *J. Abnorm. Soc. Psych.* 1953; 48(2): 285-90.
- Tolbert P.E., Shy C.M., Allen J.W. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: a field test in snuff users. *Am. J. Epidemiol.* 1991; 134(8): 840-50.
- Tolbert P.E., Shy C.M., Allen J.W. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mutat. Res.* 1992; 271(1): 69-77.
- Torres-Bugarin O., De Anda-Casillas A., Ramirez-Muñoz M.P., Sánchez-Corona J., Cantú J.M., Zúñiga G. Determination of diesel genotoxicity in firebreathers by micronuclei and nuclear abnormalities in buccal mucosa. *Mutat. Res.* 1998; 413(3): 277-81.
- Cassini C., Calloni C., Bortoloni G., Garcta S.C., Dornelles M.A., Henriques J.A. et al. Occupational risk assessment of oxidative stress and genotoxicity in workers exposed to paints during a working week. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health*. 2011; 24(3): 308-19.
- Petrashova E.A., Belisheva N.K., Pelevina I.I., Mel'nik N.A., Zol'zer F. Genotoxic effects in the buccal epithelium of miners working under irradiation with natural sources of ionizing radiation. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk. Sotsial'nye, gumanitarnye, mediko-biologicheskie nauki*. 2011; 13(1-7): 1792-6. (in Russian)
- Angelieri F., de Cássia Gonçalves Moleirinho T., Carlin V., Oshima C.T., Ribeiro D.A. 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 Investig.* 2010; 14(6): 669-74.
- Thomas P., Harvey S., Gruner N., Fenech M. The buccal cytome and micronucleus frequency is substantially altered in Down's syndrome and normal ageing compared to young healthy controls. *Mutat. Res.* 2008; 638(1-2): 37-47.
- Ingel' F.I., Prikhozhan A.M., Tsutsman T.E., Revazova Yu.A. Assessment of the depth of stress and its use in the conduct of genetically toxicological studies in humans. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 1997; (7): 24-8. (in Russian)
- Ingel' F.I. Quality of life and individual sensitivity of the human genome. Is there a way out of the vicious circle? *Ekologicheskaya genetika*. 2005; 3(3): 38-46. (in Russian)
- Dimitroglou E., Zafiropoulou M., Messini-Nikolaki N., Doudounakis S., Tsilimigaki S., Piperakis S.M. DNA damage in a human population affected by chronic psychogenic stress. *Int. J. Hyg. Environ. Health*. 2003; 206(1): 39-44.
- Ingel' F.I., Yurchenko V.V., Krivtsova E.L., Yurtseva N.A., Legostaeva T.B. Buccal micronucleus cytome assay in the complex genetic and hygienic examination of children in an industrial city. *Gigiya i sanitariya*. 2016; 95(10): 969-73. (in Russian)

Поступила 08.12.17  
Принята к печати 15.02.18

К ст. Е. К. Кривцовой и соавт.  
To the article by E. K. Krivtsova.

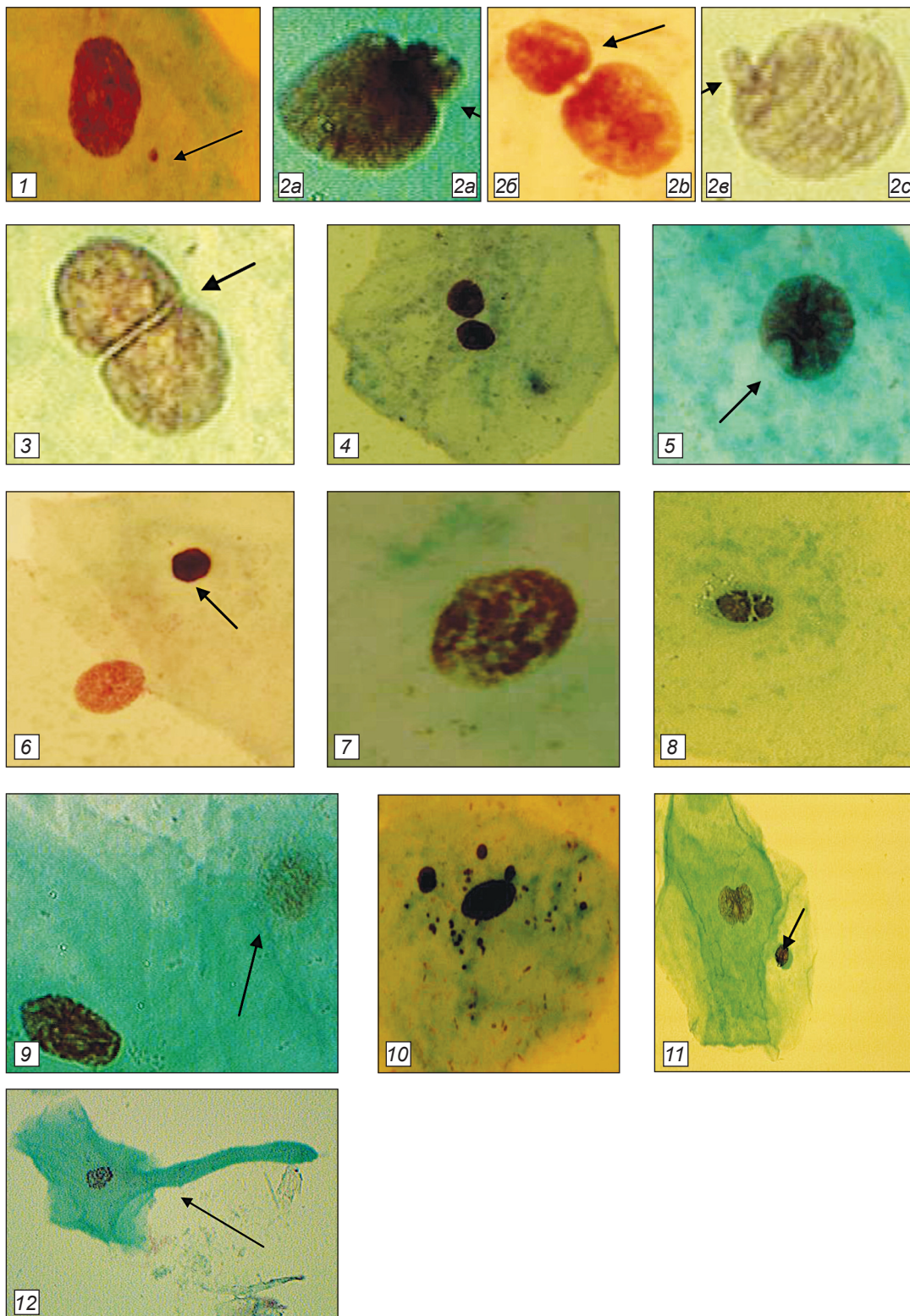


Рис. 1. Микрофото аномалий буккальных эпителиоцитов. Орсеин, светлый зеленый, ув.  $\times 1000$ : 1 – микро-ядро; 2 – прогрузии ядра следующих форм: а – везикула; б – «разбитое яйцо»; в – nipple; 3 – двойное ядро; 4 – двоядерная клетка; 5 – перинуклеарная вакуоль; 6 – пикноз ядра; 7 – конденсированный хроматин в ядре; 8 – кариорексис; 9 – лизис ядра; 10, 11 – апоптозные тела; 12 – хвостатая клетка.

Fig. 1. Microphotos of buccal mucosa cells' nuclear anomalies: 1 – micronucleus; 2 – nuclear protrusion: a – vesicle, b – “broken egg”; c – nipple; 3 – double nuclei; 4 – cell with two nuclei; 5 – perinuclear vacuole, 6 – pycnosis of the nucleus; 7 – condensed chromatin in the nucleus; 8 – karyorrhexis; 9 – lysis of the nucleus; 10, 11 – apoptotic bodies; 12 – tailed cell. Staining: Orcein, Light green,  $10 \times - 1000$ .