

## АНАЛИЗ АДАПТАЦИИ ШКОЛЬНИКОВ К ОТДЫХУ В ДЕТСКИХ ЛАГЕРЯХ С ПОМОЩЬЮ МИКРОЯДЕРНОГО ТЕСТА БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ

Баранов Д.Ю., Скуратовская И.В., Рогова О.В., Мухина Ю.В., Лантушенко А.О.

ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет»

ул. Университетская, 33, г. Севастополь, 299053, РФ, e-mail: lantushenko@mail.ru

Поступила в редакцию: 26.07.2019

**Аннотация.** Изучение влияние факторов различного происхождения на человеческий организм с помощью микроядерного теста является перспективным направлением научных исследований. Работа посвящена анализу состояния генетического аппарата школьников, отдохнувших в МДЦ «Артек» и, как следствие, определению испытуемых, наиболее подверженных смене обстановки. Сбор микропрепаратов осуществлялся у детей разных возрастных групп и имеющих достижения в разных видах деятельности. Методом световой микроскопии был проведен анализ количества и характера ядерных нарушений. Проведена сравнительная характеристика и интерпретация полученных результатов.

**Ключевые слова:** световая микроскопия, микроядерный тест, клетки буккального эпителия, тест Шапиро-Уилка, Т-тест, U-тест.

Человеческий организм постоянно находится под воздействием множества факторов окружающей среды, имеющих как естественное (абиотические и биотические факторы), так и антропогенное происхождение. Человек не всегда может ощущать их воздействие на себе, но на клеточном уровне оно отражается практически сразу. В настоящее время активно изучается влияние факторов различной этиологии (антропогенного загрязнения, профессиональных болезней, различных видов излучения, образа жизни, ряда заболеваний, стресса и пр.) на генетический аппарат человека с помощью микроядерного теста буккального эпителия. Обсуждаются последствия влияния психоэмоционального стресса на генетическую систему организма. В тоже время, этот вопрос остается не до конца изученным.

Дети среднего и старшего школьного возраста могут быть подвержены стрессу по всевозможным причинам. К наиболее распространенным относятся [1]:

- необходимость заниматься внеурочной деятельностью, в т.ч. хобби;
- абиотическое воздействие, вызванное переменной климата;
- неблагоприятная психологическая обстановка в семье и классе;
- смена места жительства либо учебного заведения;
- нахождение в больнице, образовательном учреждении, детском оздоровительном лагере без присутствия родителей.

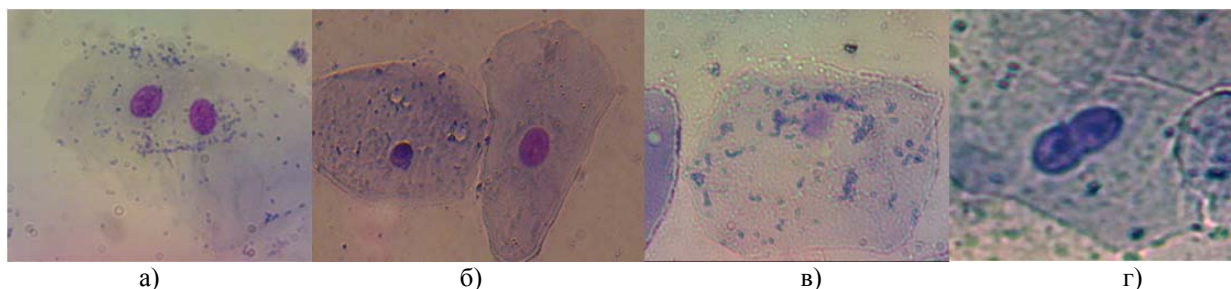
Исследование проводилось в рамках программы «Физика живых систем», реализуемой ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет» в ФГБОУ «Артек».

В качестве испытуемых выступили 2 группы школьников, по 10 человек в каждой. Возраст испытуемых – от 11 до 14 лет. В таблице 1 приведены основные сведения об испытуемых, полученные с помощью анкетирования. Сбор образцов осуществлялся по 2 раза в каждой группе.

Перед приготовлением препаратов испытуемые прополаскивали рот водой. Стерильным шпателем, делался соскоб слизистой оболочки щек выше линии смыкания зубов. Взятый материал наносился на стекло и сушился на воздухе. После этого проводилось окрашивание стекол красителем азур-эозином метиленовым синим по Романовскому-Гимзе: наносился краситель на стекло, которые впоследствии оставались сушиться на 10 мин. Затем проводилась промывка стекла дистиллированной водой. Затем уже окрашенные стекла снова оставляли сушиться на воздухе.

**Таблица 1.** Общие сведения об испытуемых

I смена				II смена			
Пол	№ п/п	Возраст	Вид деятельности	Пол	№ п/п	Возраст	Вид деятельности
М	1	13	спорт, отличник	Ж	1	14	танцы, спорт
	2	13	спорт	Ж	2	14	танцы
	3	12	спорт, музыка	Ж	3	14	спорт
	4	14	программирование, физ.-мат.	Ж	4	13	музыка
	5	13	парусный спорт, командир отряда	Ж	5	14	отличница
Ж	6	11	музыка	Ж	6	13	музыка
	7	12	танцы, отличница	М	7	12	спорт, командир отряда
	8	12	танцы	Ж	8	14	научная деятельность
	9	12	танцы, отличница	Ж	9	14	спорт, творчество
	10	12	танцы, отличница	М	10	13	танцы, спорт



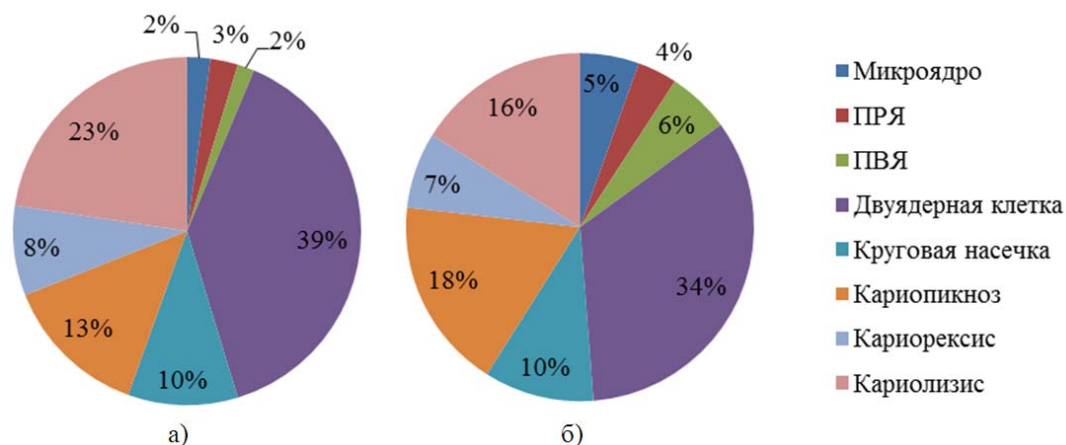
**Рисунок 1.** Клетки буккального эпителия доноров с некоторыми нарушениями: а) двуядерная клетка; б) кариопикноз; в) кариолизис; г) насечка

В конечном счете, был проведен анализ около 500 отдельно лежащих, с непрерывными краями, клеток методом световой микроскопии. Анализ микропрепаратов проводился на сертифицированном биологическом микроскопе исследовательского класса Микмед-6 с цифровой камерой МС6.3 от компании Ломо. Исследования осуществлялись в проходящем свете по методу светлого поля. Микрофотографии некоторых нарушений представлены на рисунке 1.

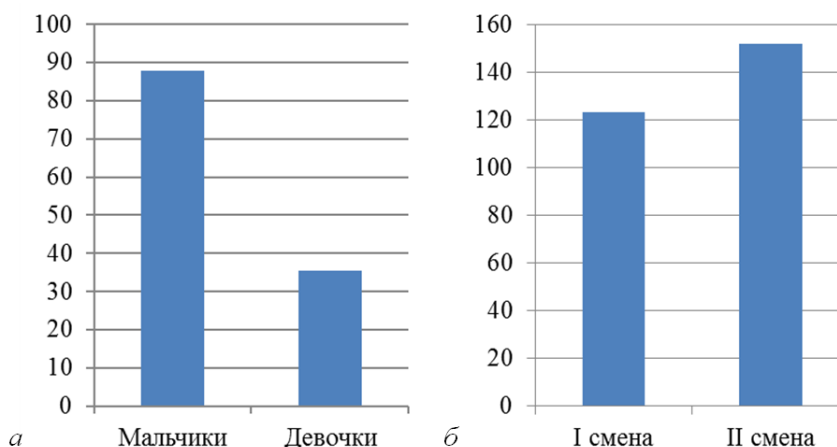
Данные были переведены в промилле и собраны по видам и категориям нарушений (согласно [2]) для дальнейшей обработки. По полученным значениям было проведено графическое представление данных (рис. 2, 3).

Согласно круговым диаграммам (рис. 2), среди нарушений наибольшая доля приходится на двуядерные клетки, относящиеся к пролиферативным показателям. Возможно, это связано с процессами активного клеточного деления в юном возрасте испытуемых. Цитогенетические нарушения имеют наименьшую долю от общего числа ядерных аномалий, что является признаком хорошего состояния испытуемых.

Интересно отметить, что наименьшее число ядерных нарушений было обнаружено у детей, занимающимися танцами. Возможно, это является следствием лучшей их адаптации к часто сменяющимся условиям и выступлениям перед публикой. Вероятно, они более стрессоустойчивы по сравнению с другими детьми. В обеих сменах командиры отрядов имеют большое количество нарушений, что может быть обусловлено дополнительными нагрузками.



**Рисунок 2.** Соотношение между наблюдаемыми нарушениями: а – I смена; б – II смена



**Рисунок 3.** Гистограммы нарушений: а – по полу (I смена); б – по сменам

Из гистограмм выше (рис. 3) видно, что мальчики имеют большее число нарушений по сравнению с девочками, при этом у детей второй смены обнаружено большее число нарушений, чем в первой.

Для определения статистической достоверности результатов все дальнейшие расчеты проводились в программных пакетах для статистического анализа Statistica (StatSoft Co.) и SPSS (IBM). Проверка данных проводилась по 3 параметрам: пол, группа (смена) и вид деятельности (дети-танцоры и остальные).

Выборки были проверены на нормальность, что является начальным этапом статистической обработки экспериментальных данных. Для этого использовался критерий Шапиро-Уилка в связи с тем, что он является одним из наиболее эффективных критериев проверки нормальности и хорошо подходит для небольших выборок. При значении критерия меньше критического ( $\alpha = 0,05$ ), распределение ненормально. Для данных, подчиняющихся нормальному распределению, был проведен Т-тест для независимых выборок (параметрический метод,  $T$ ). Для данных, неподчиняющихся нормальному распределению, был проведен U-тест (непараметрический метод,  $U$ ). Результаты представлены в таблице 2.

Исходя из таблицы выше, значение  $T$ , полученное параметрическим методом, превышает критическое для всех категорий и видов нарушений параметров «пол» и «смена». Для них же, выходные данные непараметрического теста имеют высокие значения  $U$  в подавляющем большинстве случаев, что отвергает достоверность различия выборок.

Однако для параметра «деятельность» наблюдаются малые значения критериев для деструкционной и пролиферационной категорий. Различие выборок с деструкционными нарушениями обусловлено, по большей части, за счет кариопикноза. Цитогенетические нарушения двух выборок не различимы по причине малой численности компонентов данной категории. Различие выборок пролиферационной категории обусловлено, в основном, различием выборок с двуядерными клетками. В конечном счете, различие выборок со всеми нарушениями достоверно.

Таким образом, выдвинутое ранее предположение о неравенстве состояний генетического аппарата по параметрам «пол» и «смена» при рассматриваемом уровне значимости не состоятельно. Объяснением этому, возможно, является неравенство длин выборок (для полов) и малое возрастное различие между группами (для смен). Напротив, предположение о неравенстве состояний генетического аппарата по «виду деятельности» статистически подтверждено.

Полученные данные вносят вклад в решение задачи оптимизации психофизиологического состояния детей, отдыхающих в детских лагерях. Результаты данной работы могут быть учтены при создании методик снижения риска эмоциональных срывов детей.

**Таблица 2.** Результаты Т- и U-тестов

Нарушение	Пол	Смена	Деятельность
Все	0.10 ( $T$ )	0.33 ( $T$ )	$5.25 \cdot 10^{-4}$ ( $T$ )
Цитогенетические	0.63 ( $U$ )	0.01 ( $U$ )	1.00 ( $U$ )
Пролиферационные	0.60 ( $T$ )	0.69 ( $T$ )	$8.15 \cdot 10^{-4}$ ( $T$ )
Деструкционные	0.08 ( $T$ )	0.16 ( $U$ )	0.02 ( $T$ )
Микроядро	0.45 ( $U$ )	0.10 ( $U$ )	0.39 ( $U$ )
Протр. «Разбитое яйцо»	0.87 ( $U$ )	0.31 ( $U$ )	1.00 ( $U$ )
Протр. «Высунутый язык»	0.66 ( $U$ )	0.03 ( $U$ )	0.44 ( $U$ )
Двуядерная	0.53 ( $T$ )	0.78 ( $T$ )	$4.9 \cdot 10^{-4}$ ( $U$ )
Круговая насечка	1.00 ( $U$ )	0.57 ( $U$ )	0.12 ( $U$ )
Кариопикноз	0.49 ( $T$ )	0.11 ( $T$ )	0.57 ( $T$ )
Кариорексис	0.30 ( $U$ )	0.73 ( $U$ )	0.07 ( $U$ )
Кариолизис	0.18 ( $U$ )	0.47 ( $U$ )	0.10 ( $U$ )

**Список литературы / References:**

1. Баранов Д.Ю. Исследование влияния различных факторов на клетки буккального эпителия школьников с помощью микроядерного теста. *Вестник науки и образования*, 2019, № 9(63), ч. 4, с. 11-14. [Baranov D.Yu. The study of the influence of various factors on the cells of buccal epithelium of schoolchildren using micronucleus test. *Bulletin of Science and Education*, 2019, no. 9(63), part 4, pp. 11-14. (In Russ.)]
2. Калаев М.С. Нечаева В.Н., Калаева Е.А. *Микроядерный тест буккального эпителия ротовой полости человека: монография*. Воронеж: Издательский дом ВГУ, 2016, 136 с. [Kalayev M.S. Nechaeva V.N., Kalayeva E.A. *Micronuclear test of buccal epithelium of the human oral cavity: monograph*. Voronezh: VSU Publishing House, 2016, 136 p. (In Russ.)]

**ANALYSIS OF ADAPTATION OF PUPILS TO REST IN CHILDREN'S CAMPS BY MICRONUCLEUS TEST OF BUCCAL EPITHELIUM****Baranov D.Yu., Skuratovskaya I.V., Rogova O.V., Mukhina Yu.V., Lantushenko A.O.**

Sevastopol State University

*Universitetskaya St., 33, Sevastopol, 299053, Russia, e-mail: lantushenko@mail.ru*

**Abstract.** The study of the influence of different factors on human body by using micronucleus test is a promising area of science. The research is devoted to investigation of the consequences of staying schoolchildren in ICC "Artek" on their genetic apparatus and the definition of the people, the most exposed to a change of situation. Collection of samples was carried out in children of different age groups and with achievements in different activities. Then quantity and quality of abnormal cells were identified by using light microscopy. The comparative characteristics and interpretation of the results are carried out.

**Key words:** *light microscopy, micronucleus test, buccal cells, Shapiro-Wilk test, T-test, U-test.*