

# МІКРОЯДЕРНИЙ ІНДЕКС У СОМАТИЧНИХ КЛІТИНАХ ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА ВИРАЗКОВУ ХВОРОБУ ДВАНАДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ

**С. Сокольник**

*Буковинська державна медична академія*

Проведено оцінку функціонального стану геному за показниками мікроядерного індексу у дітей, хворих на виразкову хворобу дванадцятипалої кишки, та визначено ступінь його кореляції з характером перебігу та тривалістю хвороби. Встановлено, що у дітей із обтяженою щодо виразкової хвороби спадковістю показник мікроядерного індексу коливався у межах  $0,034 \pm 0,047$ , що свідчить про середній ступінь ушкодження генетичного матеріалу, а діти із генетично "чистих" сімей мають нижчий за середній ступінь ушкодження генетичного матеріалу.

**Ключові слова:** діти, виразкова хвороба, мікроядерний індекс, ступінь ушкодження генетичного матеріалу

Произведена оценка функционального состояния генома за показателями микроядерного индекса у детей, больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, и определена степень его корреляции с характером протекания и длительностью болезни. Установлено, что у детей с утяжеленной относительно язвенной болезни наследственностью показатель микроядерного индекса колебался в пределах  $0,034 \pm 0,047$ , что свидетельствует о средней степени повреждения генетического материала, а дети из генетически "чистых" семей имеют ниже средней степень повреждения генетического материала.

**Ключевые слова:** дети, язвенная болезнь, микроядерный индекс, степень повреждения генетического материала

The article gives assessment of genome functional status on indicators of micronuclear index in children with peptic ulcer of duodenum as well as defines its degree correlation with course characteristics and duration of disease. It was found that indicator of micronuclear index in children having heredity "loaded" with peptic ulcer varied within  $0,034 \pm 0,047$  which showed mean damage rate of genetic material, and children from genetically "clear" families had damage rate of genetic material below average value.

**Key words:** children, peptic ulcer, micronuclear index, damage rate of genetic material

**В**иразкова хвороба (ВХ) – мультифакторне захворювання з полігенною зумовленістю спадкової компоненти схильності, для якого спадковість є етіологічним чинником. Однак для пенетрантності мутантних генів необхідний відповідний фактор навколишнього середовища, специфічний для кожного гена. Вивчення генеалогічного анамнезу дає змогу краще зрозуміти механізми патогенезу ВХ, розробити прогностичні критерії, покращити ефективність лікування та профілактики захворювання. Для загальної оцінки функціонального стану геному людини використовують комплекс морфологічних і цитогенетичних характеристик букального епітелію [1, 2]. Доведено, що за чутливістю метод не поступається тесту з вивчення хромосомних аберацій [3, 4].

Метою дослідження було вивчення генеалогічних закономірностей розвитку ВХ у дітей та оцінка ступеня ушкодження генетичного матеріалу у дітей, хворих на ВХ дванадцятипалої кишки за допомогою мікроядерного індексу.

## Матеріали та методи дослідження

Під спостереженням перебували 47 дітей шкільного віку (19 хлопчиків та 28 дівчаток), які лікувалися в гастроентерологічному відділенні МДКЛ та ОДКЛ № 2 впродовж 2000–2003 років (основна група), їх батьки

та 31 здорова дитина (група порівняння). Всіх дітей залежно від спадкової зумовленості ВХ розподілено на дві підгрупи: 1-ша – діти зі спадково обтяженою ВХ (70,2%), 2-га – діти з генетично "чистих" сімей (29,8%). Діагноз ВХ встановлювали на основі клініко-анамнестичних даних, результатів ендоскопічного дослідження, показників рН-метрії. Ретельне вивчення родоводів у трьох поколіннях спорідненості проводили за допомогою клініко-генеалогічного методу. Ступінь ушкодження генетичного матеріалу визначали за допомогою мікроядерного індексу (МЯІ). Мікроядра виявляли в клітинах букального епітелію дітей. Мазок зі злуцценом епітелієм брали з внутрішнього боку правої та лівої щік та нижньої губи за допомогою разових косметичних паличок із ватними наконечниками. Попередню фіксацію матеріалу здійснювали в 96% розчині етанолу протягом 15 хв, а основну фіксацію – у суміші спирту, хлороформу та оцтової кислоти у співвідношенні 6:1:1 упродовж 1,5–2 год. Після основної фіксації матеріал висушували та фарбували ацетонкарміном (1% розчин карміну в 45% розчині оцтової кислоти) протягом 15 хв. Мікроядра аналізували під мікроскопом МБІ-М (\*1500) у розрахунок по 1000 клітин на кожного індивідуума. Мікроядерний індекс вираховували за формулою:

$$I_{\text{МЯ}} = n/N \cdot 100,$$

де  $I_{\text{мя}}$  – мікроядерний індекс;  $n$  – кількість клітин з мікроядрами;  $N$  – загальна кількість досліджених клітин.

Показник ушкодження геному (ПУГ) та його ступінь визначали за формулою, запропонованою А.І. Горовою [5]:

$$\text{ПУГ} = (\Pi_{\text{комф.}} - \Pi_i) / (\Pi_{\text{комф.}} - \Pi_{\text{крит.}}),$$

де  $\Pi_{\text{комф.}}$  – фонове значення мікроядерного індексу, розраховане для групи спостереження;  $\Pi_{\text{крит.}}$  – максимальне значення мікроядерного індексу, зареєстроване в групі спостереження;  $\Pi_i$  – значення мікроядерного індексу для конкретної дитини.

Статистичну обробку даних проводили з використанням критерію Стьюдента, кореляційного аналізу за допомогою програми "Statistica 5".

### Результати дослідження та їх обговорення

Під час проведення генеалогічного дослідження обтяжену спадковість щодо захворювань травного тракту встановлено у  $7,2 \pm 0,3\%$  родичів дітей основної групи та у  $5,3 \pm 0,4\%$  родичів осіб групи порівняння.

Перше місце у структурі патології травного тракту посідає ВХ як серед родичів хворих, так і серед родичів здорових осіб, що відповідно становить  $4,3 \pm 0,3$  та  $0,8 \pm 0,2\%$ . Однак родичі хворих на ВХ достовірно частіше хворіють, ніж родичі осіб групи порівняння ( $t=5,08$ ;  $p<0,001$ ). У родичів осіб групи порівняння достовірно частіше діагностували хронічний холецистит ( $0,6 \pm 0,1\%$ ) і хронічний панкреатит ( $0,7 \pm 0,2\%$ ). У структурі захворювань серед родичів дітей, хворих на ВХ, окрім ВХ, частіше реєстрували хронічний гастрит ( $0,5 \pm 0,2\%$ ) та хронічний гастродуоденіт ( $0,4 \pm 0,1\%$ ).

Найбільший відсоток спадкової схильності відмічають у пробандів і родичів II покоління –  $51,9\%$  (пробандів-дівчаток –  $25,0\%$ , пробандів-хлопчиків –  $26,9\%$ ), тоді як у родичів III покоління та пробандів-дівчаток і хлопчиків він однаковий і становить відповідно по  $13,5\%$ .

Аналіз захворюваності серед родичів пробандів залежно від статі показав переважання удвічі серед родичів хворих жіночої статі у пробандів-дівчат ( $30,8\%$ ), і навпаки – чоловічої статі (в півтора рази) у пробандів-

хлопчиків ( $26,9\%$ ). Окрім того, у частини дітей ( $9,6\%$ ) захворюваність відмічали як по батьківській, так і по материнській лінії.

Під час дослідження букального епітелію виявлено, що у дітей 1-ї підгрупи клітини з мікроядрами зустрічаються в 1,1 разу частіше, ніж у дітей 2-ї та в 1,6 разу частіше, ніж у дітей групи порівняння (табл. 1).

Аналіз рівня ушкодження генетичного матеріалу показав, що у дітей із позитивним генеалогічним анамнезом він значно вищий, ніж такий у дітей із генетично "чистих" сімей та групи порівняння (табл. 2).

Під час пошуку асоціативних зв'язків між рівнем ушкодження генетичного матеріалу (значення мікроядерних індексів) та позитивним генеалогічним анамнезом виявлено корелятивний взаємозв'язок середньої сили ( $r=0,47$ ,  $p<0,05$ ).

Аналіз рівня ушкодження генетичного матеріалу в осіб 1-ї підгрупи залежно від поширеності ВХ в родоводі показав, що чим більше осіб у сім'ї хворіє на ВХ, тим більший показник ступеня ушкодження генетичного матеріалу у пробанда. Так, якщо ВХ відмічають лише в одному поколінні – рівень ушкодження генетичного матеріалу середній ( $0,3 \pm 0,1$ ), у двох – вищий за середній ( $0,4 \pm 0,1$ ), у трьох – високий ( $0,7 \pm 0,0$ ). Отримані дані підтверджують ефект сімейного накопичення генів, що зумовлює розвиток захворювання у пробандів.

Виявлено позитивний асоціативний зв'язок між ступенем ушкодження генетичного матеріалу та тривалістю захворювання ( $r=0,39$ ,  $p<0,05$ ) (табл. 3). Із табл. 3 видно, що чим довше хворіє дитина на ВХ, тим вищий рівень ушкодження генетичного матеріалу.

Аналіз асоціацій між віком пробандів та МЯІ виявив корелятивний взаємозв'язок слабкої сили ( $r=0,27$ ,  $p<0,05$ ). Причому чим старший пробанд, тим вищий показник МЯІ та рівень ушкодження генетичного матеріалу (табл. 4).

Таку саму тенденцію спостерігали і у дітей групи порівняння, що можна пов'язати з накопиченням із віком в анамнезі впливу різних хімічних агентів, медикаментозного лікування, перенесених інфекційних захворювань, шкідливих звичок тощо.

Таблиця 1

Кількість клітин з мікроядрами у дітей залежно від спадкової обтяженості

Групи обстежених дітей		Частота клітин з мікроядрами, %
Основна (n=47)	1-ша підгрупа (n=33)	$3,7 \pm 0,0^*$
	2-га підгрупа (n=14)	$3,4 \pm 0,1$
Порівняння (n=31)		$2,3 \pm 0,2$

\* – різниця достовірна щодо 2-ї підгрупи та групи порівняння ( $p<0,05$ ).

Таблиця 2

Показник ушкодження генетичного матеріалу у дітей залежно від спадкового анамнезу

Групи обстежених дітей		Показник ушкодження генетичного матеріалу	Рівень ушкодження генетичного матеріалу
Основна (n=47)	1-ша підгрупа (n=33)	$0,4 \pm 0,1^*$	Середній
	2-га підгрупа (n=14)	$0,3 \pm 0,2$	Нижчий за середній
Порівняння (n=31)		$0,1 \pm 0,0$	Низький

\* – різниця достовірна щодо 2-ї підгрупи ( $p<0,05$ ).

## Рівень ушкодження генетичного матеріалу залежно від тривалості захворювання

Тривалість захворювання	Показник ушкодження генетичного матеріалу	Рівень ушкодження генетичного матеріалу
До 1 року (n=17)	0,3±0,0 (p <sub>1</sub> <0,05)	Нижчий за середній
1-3 роки (n=21)	0,4±0,1 (p <sub>2</sub> <0,01)	Середній
Понад 3 роки (n=9)	0,5±0,1 (p <sub>3</sub> <0,05)	Вищий за середній

Таблиця 4

## Рівень ушкодження генетичного матеріалу залежно від віку

Вік (роки)		Частота клітин з мікроядрами, %	Рівень ушкодження генетичного матеріалу
Основна група (n=47)	7-12 (n=11)	2,8±0,1 (p <sub>1</sub> <0,05)	Нижчий за середній
	13-18 (n=36)	3,6±0,1 (p <sub>2</sub> <0,01)	Середній
Група порівняння (n=31)	7-12 (n=15)	2,2±0,1 (p <sub>3</sub> <0,05)	Низький
	13-18 (n=16)	2,7±0,1 (p <sub>4</sub> <0,05)	Нижчий за середній

Таблиця 5

## Рівень ушкодження генетичного матеріалу залежно від тяжкості перебігу

Клінічний перебіг	Частота клітин з мікроядрами	Показник ушкодження генетичного матеріалу	Рівень ушкодження генетичного матеріалу
Середнього ступеня тяжкості	3,0±0,2	0,4±0,0 (p <sub>1</sub> <0,05)	Середній
Тяжкий	3,7±0,1	0,7±0,1 (p <sub>2</sub> <0,01)	Критичний

Достовірної різниці між показниками ушкодження генетичного матеріалу залежно від статі не виявлено.

Під час оцінки терміну появи ВХ у дітей 1-ї підгрупи і клінічного перебігу захворювання порівняно з такими в їхніх батьків виявлено, що для пробандів характерний більш ранній початок захворювання (в середньому 12±2,7 років), на відміну від батьків, середній вік виникнення захворювання у яких складає 28±2,6, а в їхніх батьків – 34,2±3,4. Клінічна картина ВХ у дітей 1-ї підгрупи характеризується вираженішим больовим, інтоксикаційним і диспептичним синдромами порівняно з клінікою в їхніх батьків або, навпаки, безсимптомним перебігом при виражених ендоскопічних проявах. Крім того, було помічено, що клінічні прояви хвороби у найближчих родичів пробанда мали схожість, однак були менш вираженими. Тобто з кожним наступним поколінням ВХ омолоджується і характеризується тяжчим перебігом. Це дає підставу вважати, що ступінь ризику тим вищий, чим рідше зустрічається ця патологія в популяції, і зростає в міру наростання тяжкості захворювання пробанда.

Аналіз клінічного перебігу ВХ у дітей залежно від терміну появи захворювання показав: чим раніше виникло згадане захворювання у дитини, тим воно має тяжчий перебіг і характеризується більшою частотою клітин із мікроядрами та вищим рівнем ушкодження генетичного матеріалу (r=0,42, p<0,05) (табл. 5).

Отже, мікроядерний індекс можна використовувати як один із маркерів тяжкого перебігу ВХ.

### Висновки

1. У дітей із обтяженим щодо ВХ генеалогічним анамнезом рівень ушкодження генетичного матеріалу достовірно вищий, ніж у дітей із генетично "чистих" сімей та здорових.

2. За наявності ВХ в одному поколінні рівень ушкодження генетичного матеріалу середній (0,3±0,1), у двох – вищий за середній (0,4±0,1), у трьох – високий (0,7±0,0).

3. На рівень клітин з мікроядрами у дітей, хворих на ВХ, впливають обтяжений генеалогічний анамнез, тяжкість перебігу, термін появи та тривалість захворювання.

4. Мікроядерний тест дає змогу швидко та безболісно оцінити функціональний стан геному у дітей із ВХ та спрогнозувати тривалість і тяжкість її перебігу.

### Перспективи подальших розробок

Необхідно провести багатофакторний аналіз впливу різних чинників виникнення ВХ на появу клітин із мікроядрами в окремої дитини з оцінкою їх впливу на функціональний стан геному та проведенням його адекватної корекції.

### Література

1. *Микроядра* как показатель повреждения хромосомного аппарата клетки / С.И. Заичкина, О.М. Рязанова, А.Х. Ахмадиева, Г.Ф. Аптикаева, Д.Ю. Клоков, Е.Н. Смирнова // Цитология. – 2000. – Т. 42, № 3. – С. 281.
2. *Хусаинова С.В., Варгулева И.Ю., Кожина Н.А.* Оценка цитологических показателей буккального эпителия для диагностики функционального состояния человека // Клини. лаб. диагност. – 1997. – № 3. – С. 10–12.
3. *Нерсисян А.К.* Микроядерный тест в эксфолиативных клетках человека как метод изучения действия мутагенов/канцерогенов // Цитология и генетика. – 1996. – Т. 30, № 5. – С. 91–94.
4. *Butorina A.K., Kataev V.N., Karpova S.S.* Influence of children sex and age on micronuclei frequency in buccal mucosa // Chemistry. Biology. – 2000. – № 3. – P. 189.
5. *Мікроядерний індекс* в соматичних клітинах населення Чернівецької області та його екологічна обумовленість / С.С. Руденко, Т.В. Морозова, С.С. Костишин, В.Ф. Безруков, А.І. Горова // Цитология и генетика. – 2002. – № 4. – С. 23–29.