

Zbigniew Czapla

*Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Instytut Antropologii, Zakład Biologii Rozwoju Człowieka  
ul. Fredry 10, 61-701 Poznań  
czapla@main.amu.edu.pl*

**PROCES STARZENIA INDIAN MAJA ZE WSI YAXCABA (MEKSYK)  
OCENIONY METODĄ MIKROELEKTROFOREZY WEWNĄTRZKOMÓRKOWEJ – EMN  
AGING PROCESS OF MAJA INDIAN FROM YAXCABA VILLAGE (MEXICO),  
ESTIMATED BY INTRACELLULAR MICROELECTROPHORESIS METHOD –EMN**

Abstract

The method of intracellular microelectrophoresis in the form of EMN (Electrophoretic Mobility of Cell Nuclei) index can assess well the biological process of human aging in the course of ontogenesis. The aim of this study is to present an application of EMN index as a measure of the biological process of human aging in Maja Indian population from Yaxcaba village (Yucatan, Mexico). The percentage of EMN index is calculated on the basis of the number of epithelial cells with mobile nuclei in reference to the cells with immobile nuclei per 100 cells counted by the researcher. Electrophoresis is performed using a special Bio-test apparatus. In the examined (439 females and 337 males) a marked decrease of average values of EMN index was observed. Lower mean EMN value in females is observed. Confirmation of these negative tendency are the simple regression lines in the stable and involucional phases of the ontogenesis for males and females. The EMN index correlate negative with age (statistically significant  $p < 0,01$ ) for males  $r = -0,28$  and for females  $r = -0,35$ . It follows that the EMN index is a good criterion for assessment in biological process of aging (assessment of biological age). The collected material needs further studies.

Wstęp

Ocena zjawisk towarzyszących biologicznemu procesowi starzenia człowieka jest niezwykle trudna. Wynika to z wielopoziomowości budowy organizmu człowieka oraz złożoności procesów biologicznych, jakie w nim zachodzą. Zmiany inwolucyjne można rejestrować na każdym poziomie biologicznej organizacji organizmu człowieka w zależności od zastosowanej metody badawczej. Propozycją badań procesów starzenia na poziomie komórkowym, może być metoda "mikroelektroforezy wewnątrzkomórkowej" czy też inaczej metoda EMN (Electrophoretic Mobility of Cell Nuclei) – elektroforetycznej ruchliwości jąder komórkowych, która prosta w zastosowaniu może stać się narzędziem badawczym w ręku auktologa, antropologa czy gerontologa (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7).

Celem tego opracowanie była wstępna analiza materiału w aspekcie opisu biologicznego procesu starzenia ludności wsi Yaxcaba na półwyspie Jukatan (Meksyk). Starzenie jako immanentna właściwość procesu ontogenezy człowieka opisano za pomocą wskaźnika EMN (Electrophoretic Mobility of Cell Nuclei). Dodatkowo porównano średnie wartości wskaźnika EMN populacji Indian Maja (Meksyk) z wartościami wskaźnika EMN dla ludności Wielkopolski (Polska).

Materiał

Badania prowadzone były w miejscowości Yaxcaba położonej w okolicy dwóch starożytnych, ceremonialnych miast Majów Chichen Itza oraz Yaxuna, odległej około 120 km od miasta Merida będącego stolicą stanu Jukatan. Jukatan (Yucatan) jest jednym ze Stanów Meksyku, jest to także, nazwa półwyspu ograniczonego od południowego-zachodu Zatoką Meksykańską a na południowym-wschodzie rozciąga się wybrzeże Morzem Karaibskiego. Dokonano pomiarów antropometrycznych oraz pobrano nabłonek z jamy ustnej od 776 mieszkańców. Mieszkańcy wsi Yaxcaba zostali dodatkowo podzieleni na Indian Maja, Mieszkańców oraz nie Maja. Podstawowe charakterystyki badanego materiału przedstawiają tab. 1 i 2.

Tab. 1. Liczba oraz wiek zbadanych kobiet i mężczyzn

Płeć	N	$\bar{x}$	min	max
Mężczyźni	337	35,65	13,43	87,01
Kobiety	439	37,39	15,08	80,91

Tab. 2. Liczebność mieszkańców wsi w zależności od deklarowanej przynależności etnicznej

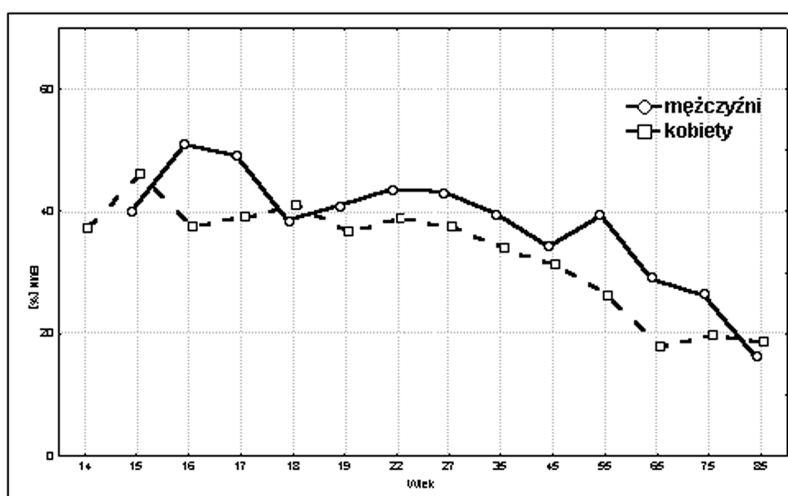
Grupa etniczna	Płeć	N
Majowie	Mężczyźni	155
	Kobiety	223
Mieszkańcy	Mężczyźni	122
	Kobiety	138
Nie Maja	Mężczyźni	63
	Kobiety	79

#### Metoda

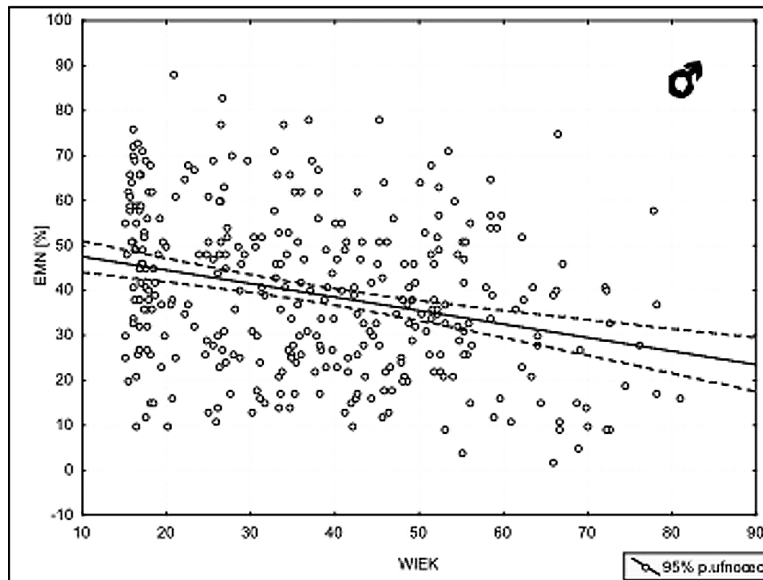
Od każdej osoby pobrano tkankę nabłonkową błony śluzowej jamy ustnej na podstawie, której oceniono, za pomocą metody mikroelektroforezy wewnątrzkomórkowej, wartość wskaźnika EMN. Pobrany materiał przechowuje się w probówkach Eppendorfa w temperaturze 100 C przez okres maksymalnie 6 dni z uwagi na uszkodzenia komórek spowodowane drobnoustrojami. Próby komórek umieszcza się w 0,09% roztworze NaCl i obserwuje się pod mikroskopem pod 200-krotnym powiększeniem, na specjalnej płytce w zmiennym polu elektrycznym o napięciu 20-30 V, natężeniu 0,1 mA i częstotliwości zmian pola elektrycznego w granicach 1-2 Hz. Elektroforezę przeprowadza się przy użyciu aparatu Biotest (6, 8).

#### Wyniki

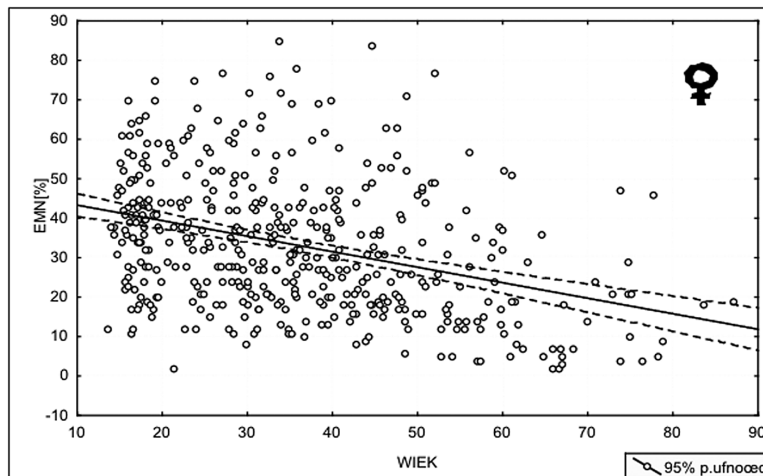
Wyliczono średnie wartości wskaźnika EMN w poszczególnych kategoriach wiekowych dla mężczyzn i kobiet, prezentuje to ryc. 1. Ujemną tendencję spadku średnich wartości wskaźnika EMN dla mężczyzn i kobiet potwierdzają linie regresji prostej, przedstawione na ryc. 2 i 3.



Ryc. 1. Kształtowanie się średnich wartości wskaźnika EMN Indian Maja ze wsi Yaxcaba



Ryc. 2. Linia regresji prostej wskaźnika EMN względem wieku dla mężczyzn Indian Maja ze wsi Yaxcaba



Ryc. 3. Linia regresji prostej wskaźnika EMN względem wieku dla kobiet Indian Maja ze wsi Yaxcaba

W toku dalszej analizy wyliczono współczynniki korelacji prostej oraz opisano obserwowaną zależność zmian wskaźnika EMN z wiekiem za pomocą równania regresji prostej. Wyniki przedstawia tab. 3, współczynniki korelacji są istotne na poziomie  $p < 0,01$

Tab. 3. Współczynniki korelacji, równania regresji prostej opisujące zależność EMN z wiekiem dla mieszkańców wsi Yaxcaba

	Wartości współczynników korelacji	Równanie regresji prostej
Kobiety	-0,35912*	$y = 47,25 - 0,3933x$
Mężczyźni	-0,28348*	$y = 50,52 - 0,3004x$

\* istotne statystycznie na poziomie  $p \leq 0,05$

### Dyskusja i wnioski

Uzyskane wyniki pokazują przebieg średnich wartości wskaźnika EMN – ujemną tendencję zmian w stabilnej i inwolucyjnej fazie ontogenezy – podobnie do wyników uzyskanych dla populacji polskiej (5, 6). Bez względu na różnice etniczne, średnie wartości wskaźnika EMN zmniejszają się w kolejnych grupach wieku, co potwierdziły wyznaczone linie regresji prostej. Z badań własnych wynika, że wartości średnie (5) wskaźnika EMN dla populacji polskiej są wyższe niż wartości wskaźnika EMN dla populacji Indian Maja. Najwyższe średnie wartości wskaźnika EMN obserwujemy w grupach wieku 17-19 lat. Wysoka istotność statystyczna współczynników korelacji wskaźnika EMN ( $p < 0,01$ ) z wiekiem, potwierdza użyteczność tego wskaźnika jako miernika wieku biologicznego (w tym przypadku miernika procesu biologicznego starzenia). Pokazując wyraźny regres swoich wartości w stabilnej i inwolucyjnej fazie ontogenezy wskaźnik EMN, informuje o rozpoczęciu się w organizmie procesów biologicznego starzenia. Wskaźnik EMN pokazuje tym samym powszechność zjawisk ontogenetycznych, przy jednoczesnym zachowaniu indywidualnych wartości realizowania się cechy na odmiennym niższym poziomie w przypadku Indian Maja. Niższe wartości wskaźnika EMN dla populacji Indian Maja w stosunku do badań własnych z terenu Polski (5, 6) i interpretacja tego zjawiska w tym aspekcie będzie kolejnym krokiem badawczym w analizie prezentowanego materiału.

### Podziękowania

Podziękowania dla prof. dr hab. N. Wolańskiego i prof. dr hab. A. Siniarskiej-Wolańskiej za umożliwienie przeprowadzenia tych badań w ramach grantu agencji rządowych Meksyku, CONACYT no 26469H *“Crecimiento y maduration infantil como indice de salud y condiciones de vida an los estados de Campeche y Yucatan”*, kierownik grantu prof. dr hab. N. Wolański.

### Piśmiennictwo

1. Cieślik J., M. Kaczmarek, M. D. Kaliszewska-Drozdowska, 1994, Wiek fizjologiczny, Dziecko Poznańskie '90. Poznań
2. Czapla Z., J. Cieślik, 1998, The Electrophoretic Mobility of Cell Nuclei (EMN) index – relation to biological and physical properties of the cell, *Antropological Review*, Nakom Publishing House. Poznań, 93-101
3. Czapla Z., 1998a, Appraisal of changeability of the EMN index with regard to lifestyle on the basis of daily examination, *Methodological Aspects of Researches in the field of EMN (Electrophoretic Mobility of Nuclei)*, Palacky University Olomouc, 8-16
4. Czapla Z., 1998b, Phenomenon of electrophoretic mobility of cell nuclei (EMN) as a consequence of biological and physical properties of the cell, *Methodological Aspects of Researches in the field of EMN (Electrophoretic Mobility of Nuclei)*, Palacky University Olomouc, 17-26
5. Czapla Z., 1999, Fazowość rozwoju biologicznego człowieka oceniania wybranymi metodami fizykochemicznymi, maszynopis pracy doktorskiej, Uniwersytet Adama Mickiewicza, Poznań
6. Czapla Z., 2000, The phaseness of human biological development assessed with the use of selected physicochemical methods, *Variability and Evolution*, 8, 135-141
7. Czapla Z., J. Cieślik, 2000, The EMN index as measure of the biological condition of the human organism, *Medical Review. Scripta Periodica*, III, 3, 24-38
8. Shakhbazov V. G., T. V. Colupaeva, A. L. Nabokov, 1986, Novyj metod opredelenija biologiceskogo vozrosta celoveka, *Laboratornoe Delo*, 7, 404-407