

Большой практикум
Раздел

**Полиорганный микроядерный
тест в эколого-гигиенических
исследованиях**



нарушение молекулярных генетических процессов

«Стандартные» методы оценки влияния факторов окружающей среды на генетическое здоровье человека ранее заключались в учете:

- частоты и структуры злокачественных новообразований
- частоты и структуры врожденных пороков развития
- частоты и структуры спонтанных аборт
- частоты и структуры перинатальной смертности

отдаленные последствия



- Задача гигиены окружающей среды-
своевременное и корректное выявление
мутагенов с целью запрета и ограничения их
использования.
- За последние 25 лет одним из наиболее широко
использующихся в практике оценки
генотоксических свойств факторов окружающей
среды стал **микроядерный тест**

Разработчики полиорганного микроядерного метода в России

- Лаборатория генетического мониторинга «ГУ НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им А.Н.Сысина РАМН» (г. Москва)



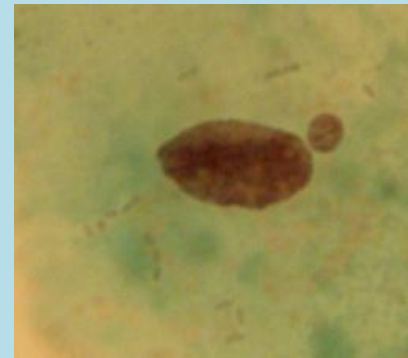
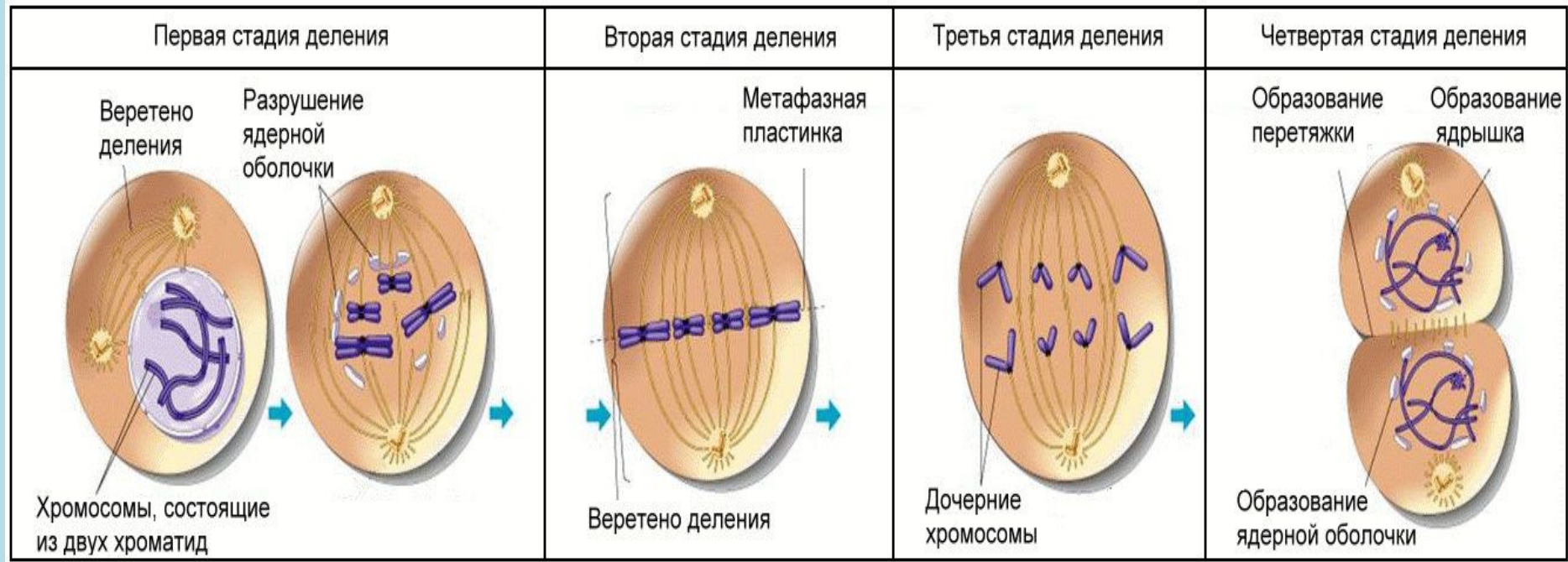
Микроядро

Может быть представлено:

- Фрагментом хромосомы без центромерного участка
- Одной или несколькими хромосомами



МИТОЗ



- *По сути это единственный метод, позволяющий оценивать цитогенетический эффект исследуемых факторов в интерфазных клетках*

Это отличие обеспечивает значительные преимущества микроядерного метода:

- возможность учета кроме **цитогенетических эффектов** воздействия факторов, **других кариологических изменений**, которые характеризуют пролиферативную активность ткани и процессы гибели клеток.

Объекты исследования при микроядерном тестировании

В экспериментальных исследованиях на лабораторных животных:

- Эритроциты крови
- Клетки органов желудочно-кишечного тракта
- Гепатоциты
- Клетки органов дыхательной системы
- Клетки органов выделительной системы

При обследовании людей:

- Лимфоциты периферической крови
- Букальные эпителиоциты
- Назальные эпителиоциты
- Уротелиальные эпителиоциты

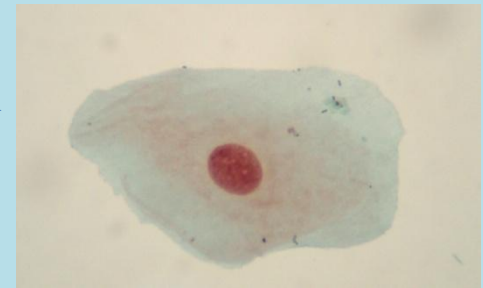
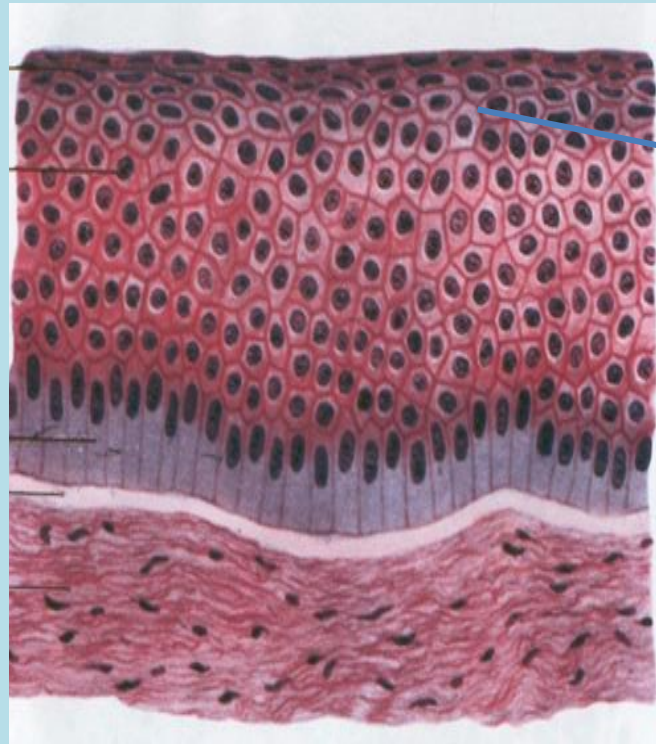
Полиорганный микроядерный тест в эколого-генетических исследованиях обеспечивает решение различных задач:

- Исследование механизмов действия различных эндогенных и экзогенных факторов на уровне клеток, органов и организма в целом
- Исследование взаимосвязи мутагенного и канцерогенного эффекта различных факторов при изучении этих эффектов в одних и тех же клетках, тканях и органах
- Определение и сопоставление органов-мишеней мутагенного и канцерогенного действия химических соединений
- Прогноз канцерогенных свойств исследуемых препаратов в системе краткосрочных тестов
- Обеспечение корректной экстраполяции данных по мутагенному эффекту у млекопитающих на людей с учетом органной специфичности

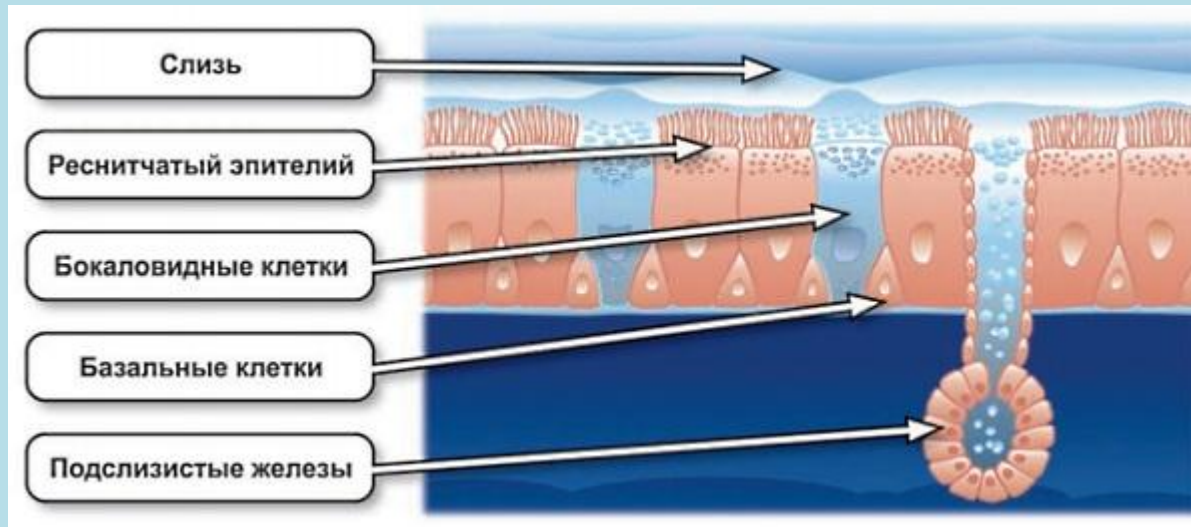
**Оценка
цитогенетического
статуса человека
микроядерным методом**

Микроядерный тест в буккальных и назальных эпителиоцитах

Буккальный эпителий



Назальный эпителий



Особенности изучения слизистых оболочек полости рта и носа

- **Данные типы эпителиальных тканей являются пограничными, т.е. первыми мишенями действия факторов окружающей среды**
- **Участвуют в воспалительных и иммунных реакциях**
- **Достаточно быстро обновляются, что дает возможность регистрации эффектов воздействия факторов в краткосрочный период**

Преимущества микроядерного анализа в буккальных и назальных эпителиоцитах

- ❖ Получение материала не требует инвазии
- ❖ Простота в приготовлении препаратов
- ❖ Относительно дешев
- ❖ Содержит активно делящиеся клетки
- ❖ Достаточно информативен (можно определить цитогенетические, пролиферативные и деструктивные аномалии)

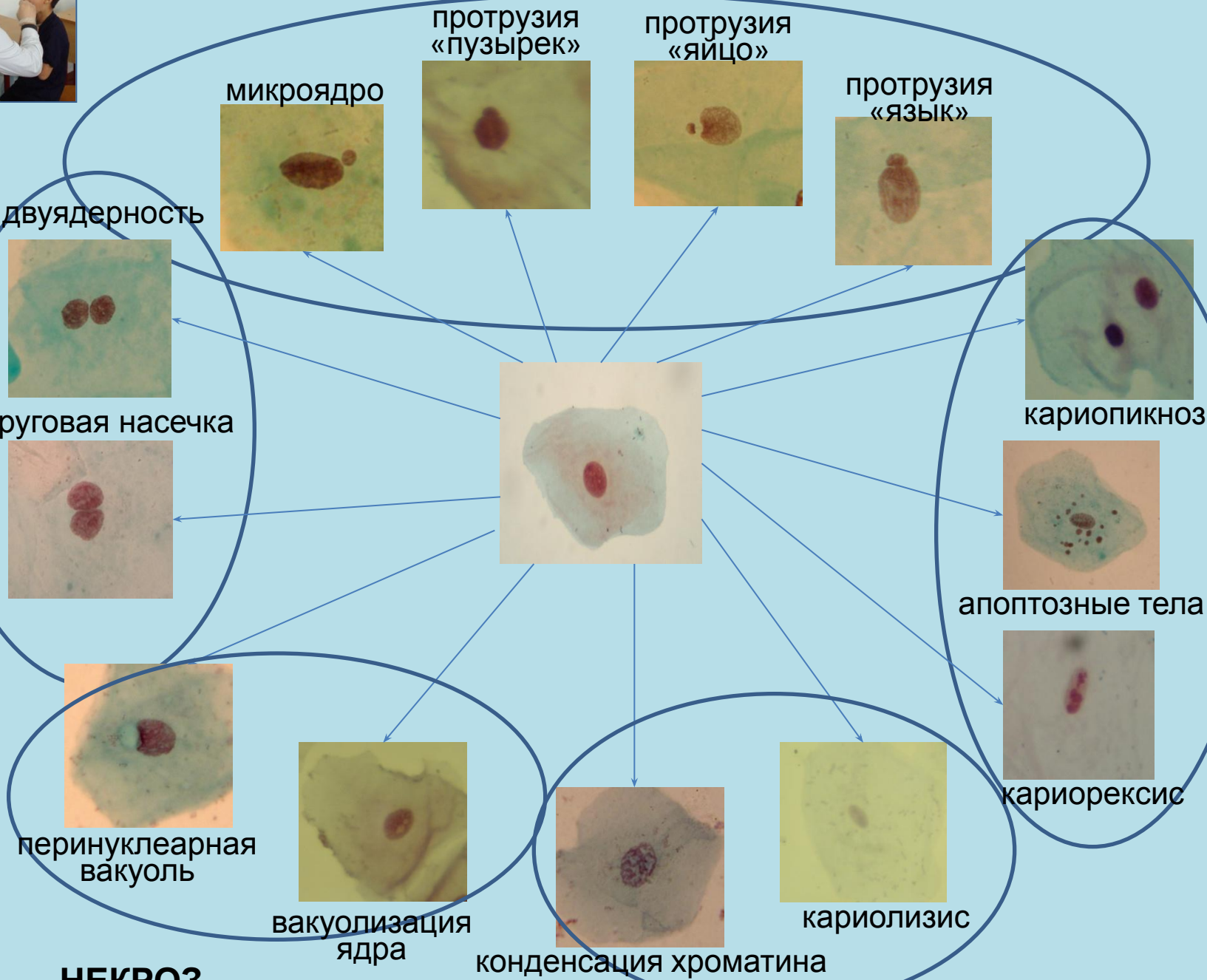


ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ

НАРУШЕНИЕ ПРОЛИФЕРАЦИИ

АПОПТОЗ

НЕКРОЗ

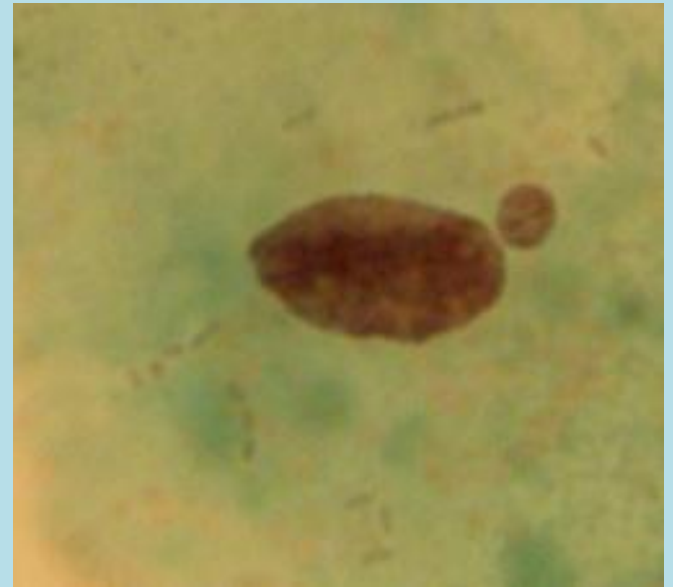


Микроядро

- Небольшое (не $> 1/3$ ядра) округлое с четким контуром ДНК-содержащее образование за пределами основного ядра

Представляет собой:

- Фрагмент хромосомы без центромерного участка, образованный в результате повреждения ДНК
- Одна или несколько хромосом, отставших в анафазе митоза в результате повреждения нитей веретена деления



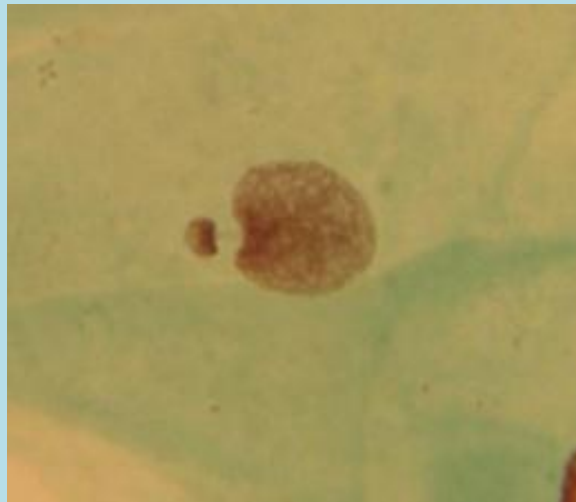
Ядерные протрузии

- ДНК-содержащие ядерные структуры в цитоплазме шаровидной формы, четко отграниченные от ядра и соединяющиеся с ним перемычкой
- Образованы фрагментами или целыми хромосомами
- Образованы в результате элиминации ДНК-репарационных комплексов
- Являются результатом почкования ядра

«пузырек»



«разбитое яйцо»

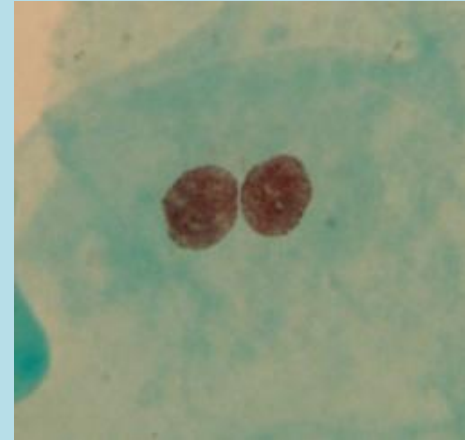


«язык»



Двуядерные клетки

- Образованы в результате незавершенного митоза (нарушение цитотомии)



Сдвоенные ядра в клетке

- Образованы в результате незавершенного митоза (нарушение цито- и кариотомии)

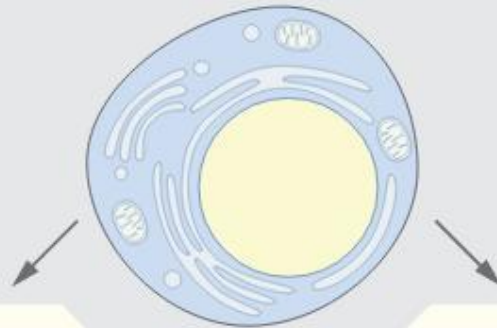


Апоптоз - запрограммированная гибель клеток

- Процесс, посредством которого внутренние или внешние факторы, активируя генетическую программу, приводят к гибели клетки и ее удалению из ткани
- Обеспечивает элиминацию генетически поврежденных клеток

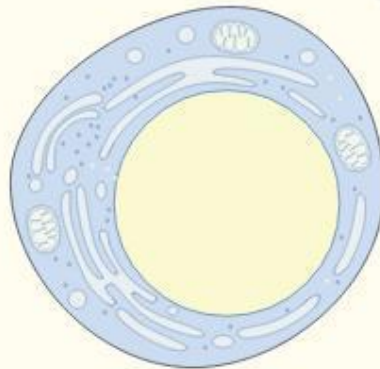
Некроз – гибель клеток и тканей в живом организме под воздействием различных (эндо-,экзогенных) факторов

- Генетически не контролируется

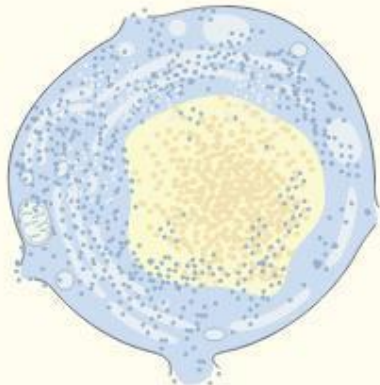


НЕКРОЗ

Повреждение мембраны
Набухание клетки



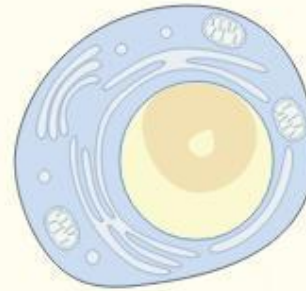
Лизис клетки и высвобождение её внутреннего содержимого



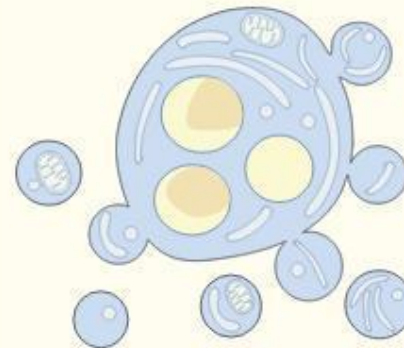
Нормальная клетка

АПОПТОЗ

Сжатие клетки
Конденсация хроматина

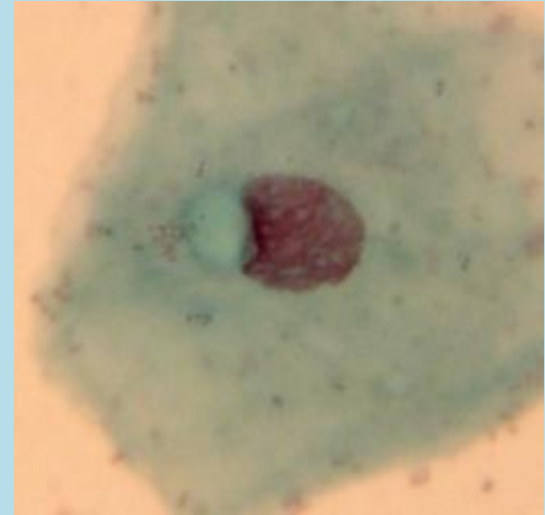


Возникновение апоптических телец



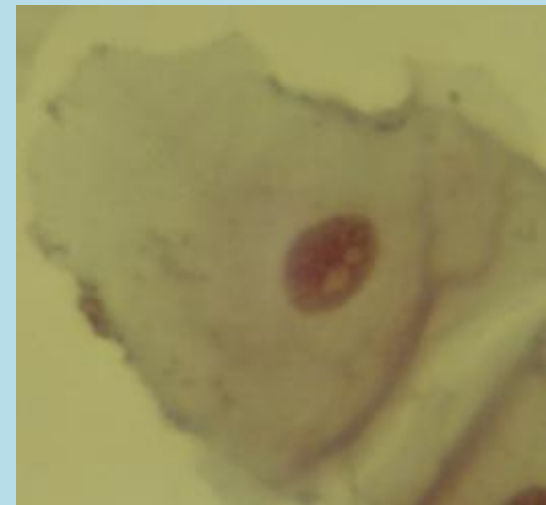
Перинуклеарная вакуоль

- Высветленный участок цитоплазмы округлой формы с четкими границами, вблизи ядра и вызывающий смещение хроматина



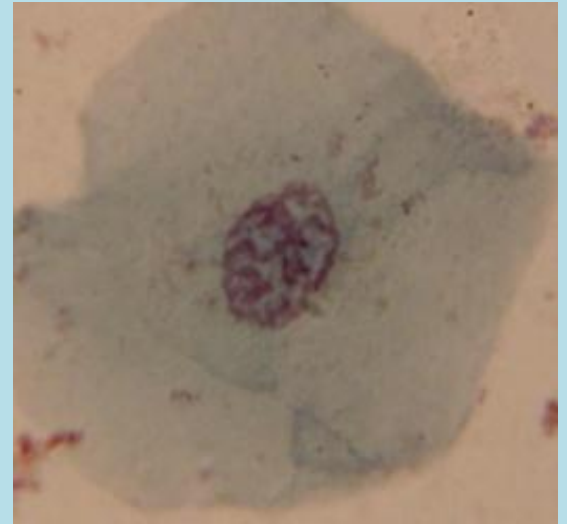
Ядерные вакуоли

- Округлые образования, возникающие в результате лизиса хроматина;
- Сопровождаются «разбуханием» ядра по отношению к ядрам основной клеточной популяции



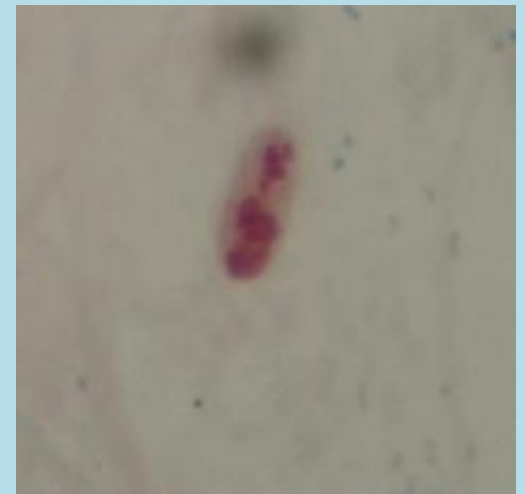
Конденсация хроматина

- Компактизация хроматина, сопровождающаяся образованием глыбок и тяжей, между которыми остаются полости, заполненные кариоплазмой



Кариорексис

- Фрагменты конденсированного хроматина, образованные в результате высокой активности нуклеаз



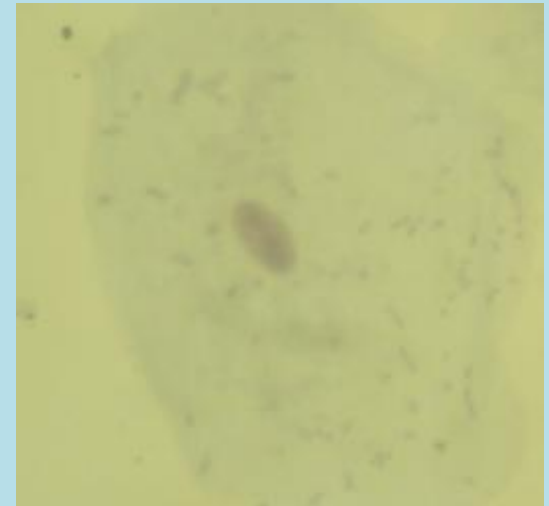
Кариопикноз

- Дегенеративное изменение ядра
- Возникает при преобладании ферментов конденсации в сравнении с нуклеазами; ядро уплотняется, уменьшается, становится темно окрашенным



Кариолизис

- Дегенеративное изменение ядра, сопровождающееся утерей способности к окрашиванию хроматина с последующим полным его исчезновением
- морфологически выглядит как бледно окрашенный гомогенный хроматин, от ядра остается «тень»



Удачи на практике!