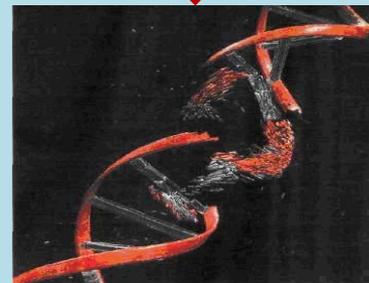


***Большой практикум***  
***Раздел***

**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)



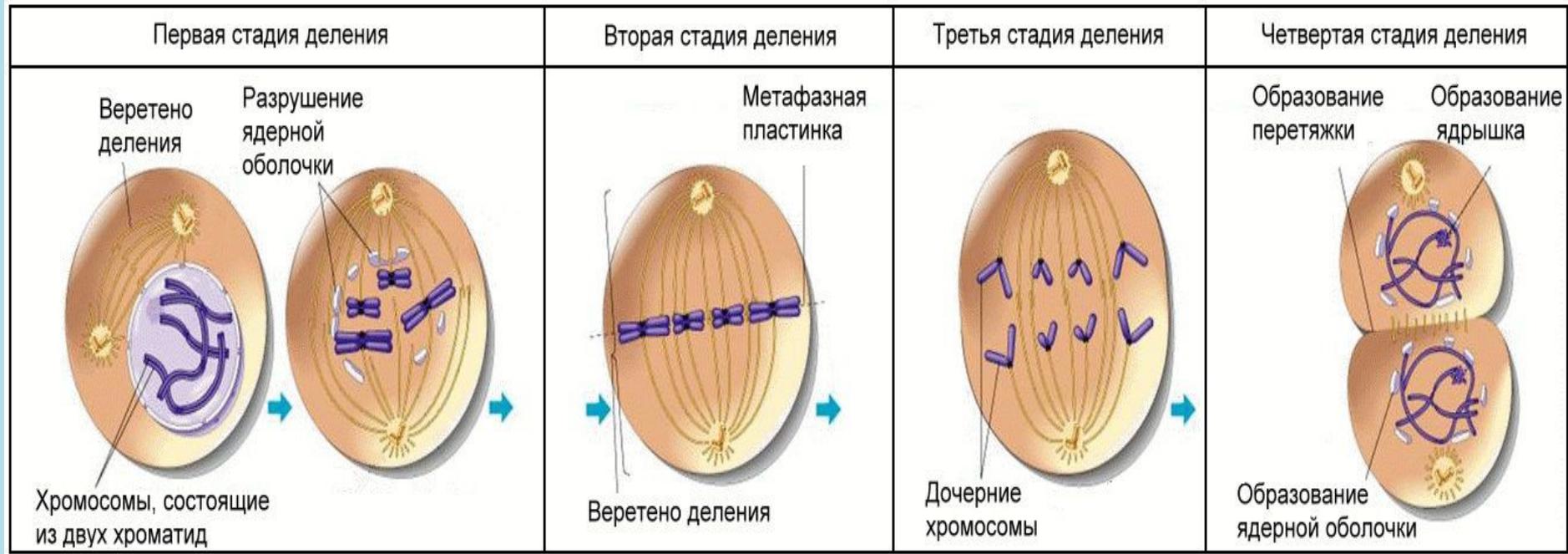
# Микроядро

## 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

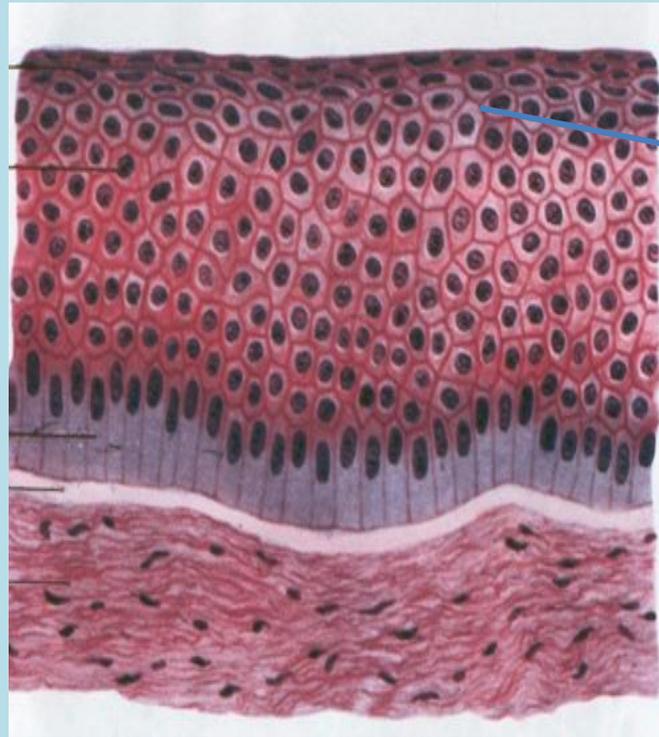
## **Полиорганный микроядерный тест в эколого-генетических исследованиях обеспечивает решение различных задач:**

- 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

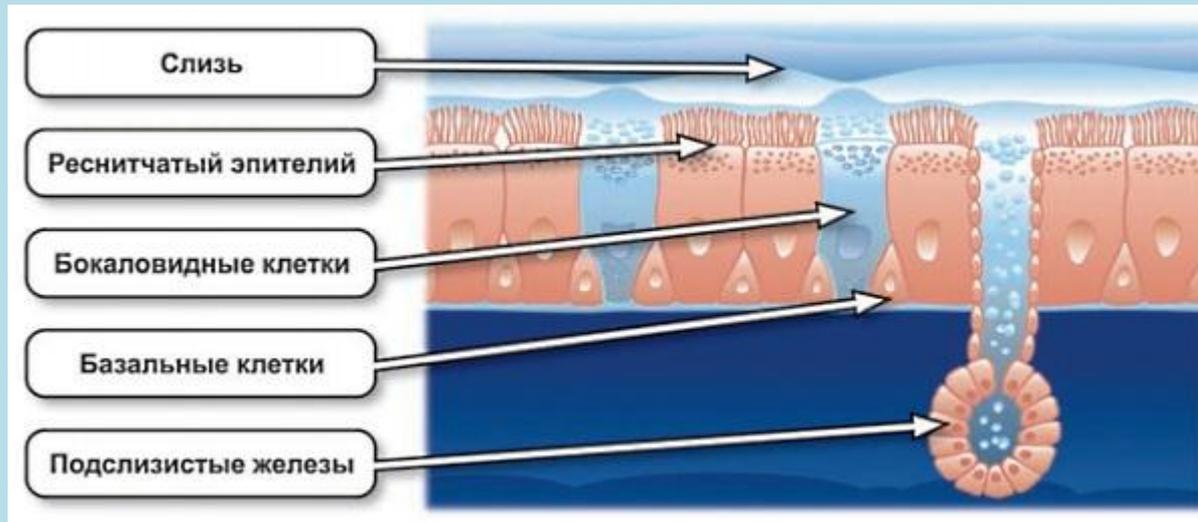
**Оценка  
цитогенетического  
статуса человека  
микроядерным методом**

# **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)

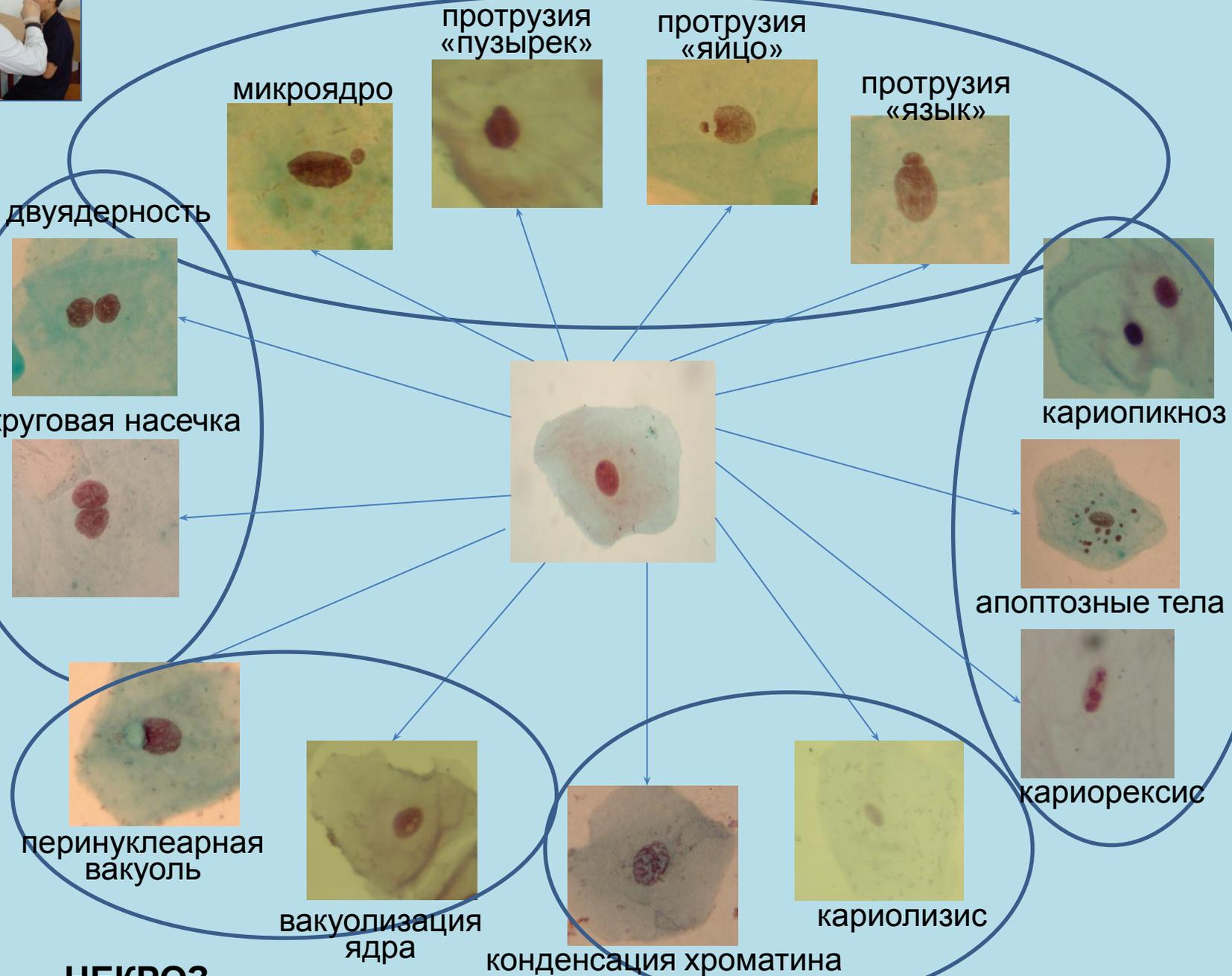
# ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ



НАРУШЕНИЕ ПРОЛИФЕРАЦИИ

АПОПТОЗ

НЕКРОЗ

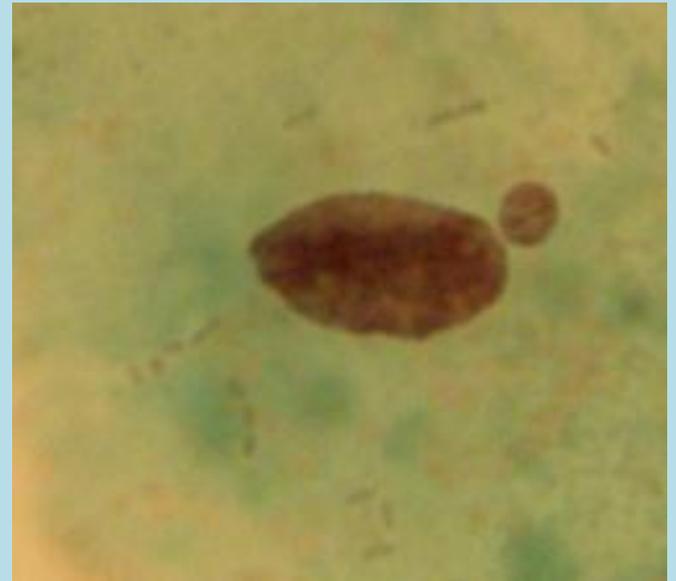


# Микроядро

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

## Представляет собой:

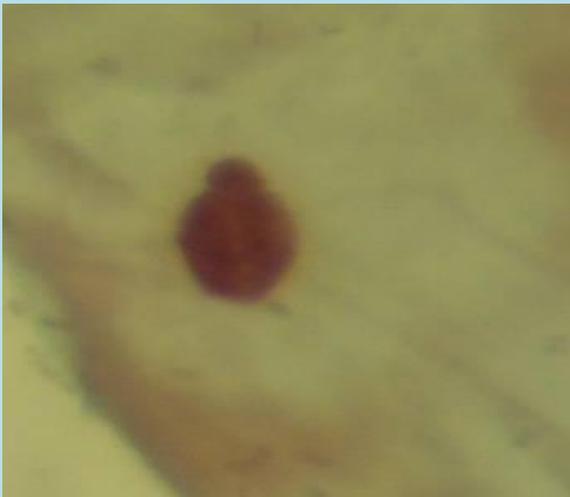
- Фрагмент хромосомы без центромерного участка, образованный в результате повреждения ДНК
- Одна или несколько хромосом, отставших в анафазе митоза в результате повреждения нитей веретена деления



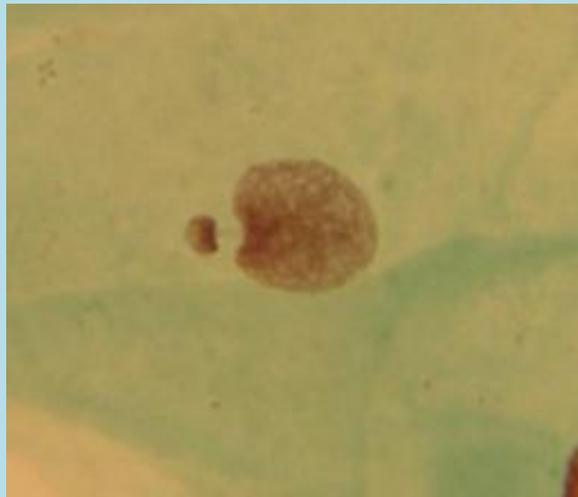
# Ядерные протрузии

- 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)

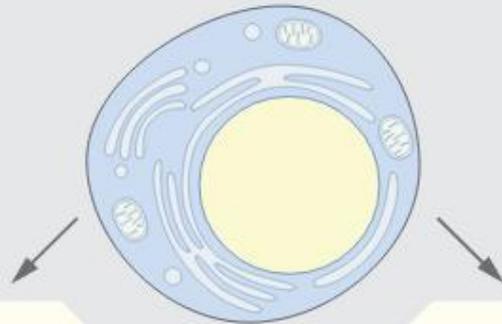


## **Апоптоз** - запрограммированная гибель клеток

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

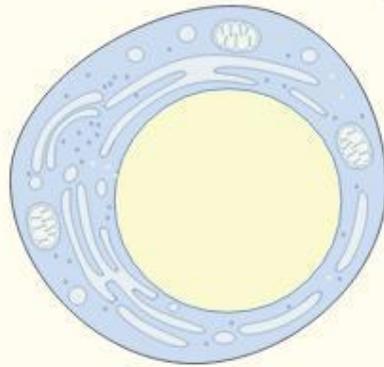
**Некроз** – гибель клеток и тканей в живом организме под воздействием различных (эндо-,экзогенных) факторов

- Генетически не контролируется

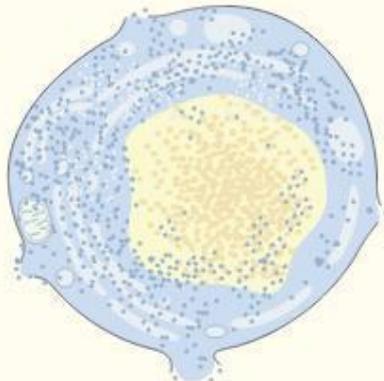


## НЕКРОЗ

Повреждение мембраны  
Набухание клетки



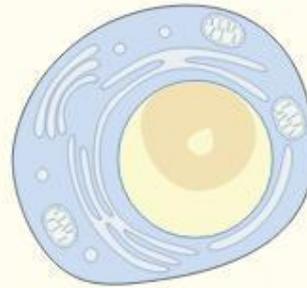
Лизис клетки и высвобождение её внутреннего содержимого



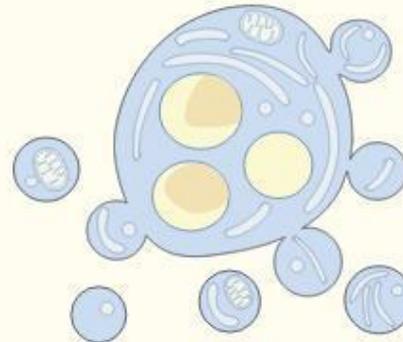
Нормальная клетка

## АПОПТОЗ

Сжатие клетки  
Конденсация хроматина

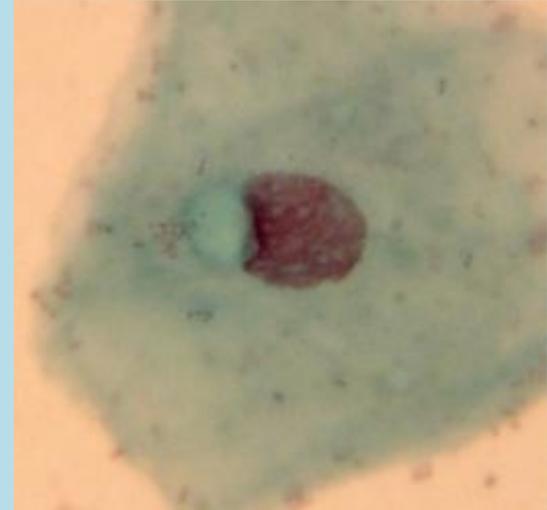


Возникновение апоптических телец



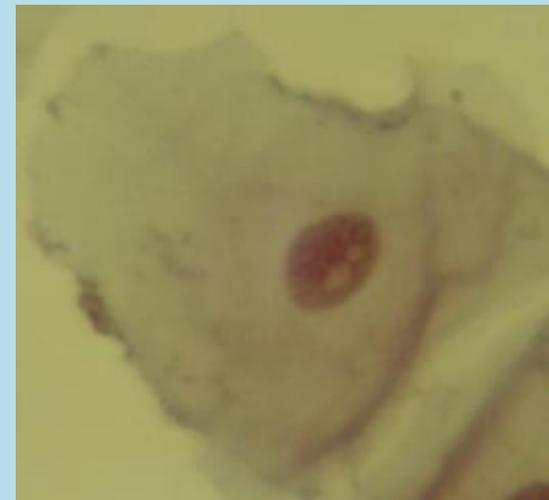
# Перинуклеарная вакуоль

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



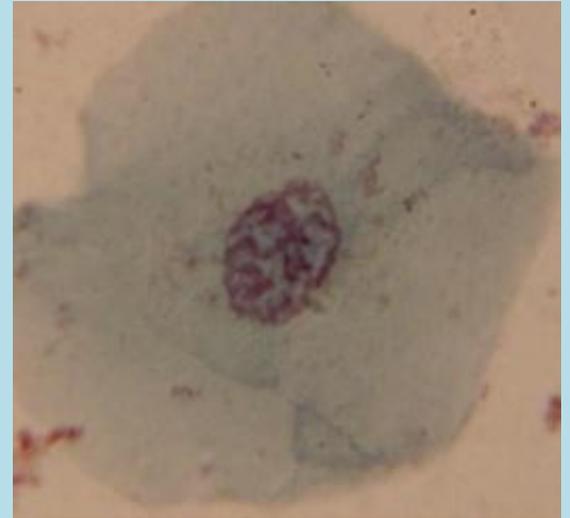
# Ядерные вакуоли

- 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



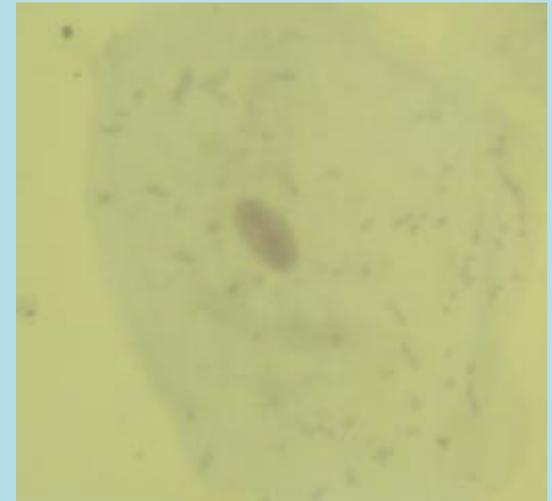
# Кариопикноз

- 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!***