

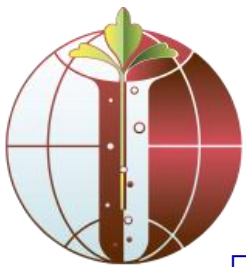


Применение микроядерного теста при оценке генотоксических свойств отходов производства в Республике Беларусь

Камлюк Светлана Николаевна – старший научный сотрудник
лаборатории профилактической и экологической токсикологии,
канд. биол. наук

Соавторы: Анисович М.В., Васильева М.М., Ильюкова И.И.

Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены»
Министерства здравоохранения Республики Беларусь
220012, г. Минск, ул. Академическая, 8
тел. (+375 17) 3477370 e-mail: toxlab@mail.ru



Определение степени и класса опасности отходов производства

- Согласно законодательству Республики Беларусь, обращение с отходами производства (переработка, утилизация, захоронение) предполагает проведение **испытаний отходов** по различным опасным свойствам **с целью определения степени и класса опасности**.
- Исследованию по оценке **опасного свойства «ТОКСИЧНОСТЬ»** подлежат практически все отходы производства, при этом многие из них целесообразно исследовать также по опасному свойству **«ГЕНОТОКСИЧНОСТЬ»**
- **ГЕНОТОКСИЧНЫМИ** называются отходы, которые в случае попадания в окружающую среду представляют или могут немедленно или со временем представлять угрозу для живых организмов в результате воздействия на генетический аппарат клеток (оказывать **мутагенный эффект**):





Актуальность применения микроядерного теста при проведении испытаний отходов производства

- ❖ Массовая апоптотическая гибель гемоцитов моллюсков, а также функциональная недостаточность иммуноцитов (при сниженной плотности и низкой фагоцитарной активности этих клеток) в ответ на воздействие токсиканта в водной среде может являться одной из прямых либо косвенных причин увеличения частоты клеток с наличием микроядра (микроядер).
- ❖ У моллюсков и других пойкилотермных гидробионтов с относительно низким темпом клеточной пролиферации, применение микроядерного теста на жаберных клетках и гемоцитах позволяет оценить генотоксичность исследуемого вещества (например, отходов производства либо продукции, предположительно обладающей мутагенным потенциалом), в микроядерном тесте.
- ❖ Гемальные и цитогенетические показатели, отражающие защитную способность организма моллюсков по отношению к химическим загрязнителям, целесообразно использовать при оценке генотоксичности.

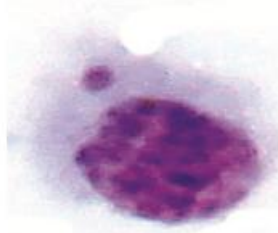


Методика проведения микроядерного теста на отходах производства

- ❖ Моллюсков помещали в водную вытяжку с различными заданными концентрациями отходов производства (длительность экспозиции 5 суток);
- ❖ По окончании экспозиции проводили забор гемолимфы и фиксировали смесью этилового спирта (96%) и ледяной уксусной кислоты в объёмном соотношении 3:1, и хранили при -18°C не более 1 месяца.
- ❖ Пробы центрифугировали при 1000g в течение 10 минут. Супернатант сливали, осадок ресуспензировали и раскапывали на охлаждённое предметное стекло. Высушенные препараты окрашивали по Гимза и исследовали с помощью светового микроскопа с использованием иммерсионной системы;
- ❖ На каждом препарате просматривали до 1000 гемоцитов с типичной морфологией, принимаемых за норму, учитывая при этом частоту встречаемости следующих объектов:
 - ✓ клеток с микроядром или микроядрами;
 - ✓ клеток с признаками апоптотической гибели;
 - ✓ апоптотических телец.



Цитологические исследования препаратов гемолимфы *L. stagnalis*



Гемоцит с микрорядром
(окраска по Гимза)

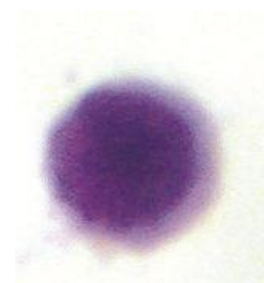


**Гемоцит с признаками
апоптотической гибели**
(окраска по Гимза)

Апоптотические тельца
(фрагменты)



**Гемоциты (клетки гемолимфы)
с нормальной морфологией**





Оценка генотоксичности с использованием тест-модели *Lymnaea stagnalis*

Методы исследований: Инструкция № 044-1215 от 07.04.2016

| | Количество животных | Число клеток | Частота встречаемости нарушений, % | | |
|----------|---------------------|--------------|------------------------------------|---|---------------------|
| | | | Гемоциты с микроядром /микроядрами | Гемоциты с начальными признаками гибели | Апоптотические тела |
| Контроль | 9 | 4625 | 0,30±0,06 | 2,2±0,40 | 1,87±0,31 |
| Отходы | 9 | 4802 | 0,35±0,08 p=0,79 | 1,3±0,20 p=0,22 | 1,36±0,18 p=0,29 |

Примечания: Относительные величины приведены как $M \pm SE$

Установлено, что отходы не вызывали статистически значимого возрастания уровня клеток с микроядрами в мантийной жидкости моллюсков.

Выводы. Проведенные исследования по оценке генотоксического воздействия отходов (тара из-под химических средств защиты растений, код 5311000) на тест – объекте *L. stagnalis* позволяют заключить, что исследованные отходы не оказывают генотоксический эффект на клетки мантийной жидкости моллюсков (генотоксичность отсутствует).