ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОМПЬЮТЕРНОЙ МОРФОМЕТРИИ В ИССЛЕДОВАНИИ ЯДРЫШКОВЫХ ХАРАКТЕРИСТИК КЛЕТОК

Минина В.И.

Институт экологии человека СО РАН

Компьютерная морфометрия является одним из современных и перспективных методов, позволяющих оценить размер, форму клетки или ее органоидов. Так, например, данный метод уже с успехом применяется при изучении морфологии ядер клеток, инфицированных вирусом Эпштейна-Барр. Мы предлагаем использовать данный метод для изучения ядрышковых характеристик клетки. Ядрышко – динамичная структура, которая собирается вокруг кластера генов рДНК в течение поздней телофазы, сохраняется в течение интерфазы и затем распадается, так как клетка вступает в митоз. Ядрышко – это место, где происходит транскрипция рибосомной РНК, процессинг пре-рРНК и сборка рибосомных субъединиц.

Особую актуальность изучение ядрышковых характеристик клеток приобретает в группах лиц, подвергающихся интенсивному генотоксическому воздействию.

Производственные условия характеризуются комплексным влиянием на организм человека, способствуя развитию профессиональных заболеваний. Особые опасения вызывает возможность модификации активности жизненно важных генов, к которым относятся и гены рДНК.

В связи с этим с помощью метода компьютерной морфометрии был проведен анализ ядрышковых характеристик у 40 рабочих ТЭЦ (г. Кемерово). В контрольную группу вошло 27 человек, не контактирующих с производственными вредностями.

В ходе обследования был произведен забор крови в асептических условиях. Препараты подготавливались в соответствие со стандартной методикой. Окрашивали препараты в соответствие с методом Howell W.M. и Black D.A .

Изображение получали с помощью микроскопа Axioskop 2 plus (Carl Zeiss, Германия), оснащенного цифровой фотокамерой «CV-M300» (Япония). Полученные изображения переносили в компьютер, используя программу IN-PAC, Version 5.1.0.0 beta 2 (in situ GmbH & Co. KG). Подготовку изображения и его анализ проводили с использованием программы Adobe Photoshop 6.0 (1990-2002 Adobe Systems Inc). Исследуемые объекты изображения выделяли автоматически при помощи инструмента Magic Wand Tool, устанавливая уровень толерантности с помощью инструмента Tolerance. В случае невозможности автовыделения использовали инструмент Magnetic Lasso. Определяли количество пикселей, приходящихся на площадь ядра и ядрышка с помощью функции Image®Hystogramm. Вычисляли площадь ядрышка как процент от площади ядра. Проанализировали свыше 2000 цифровых фотографий аргентофильных зон ядер лимфоцитов

Полученные данные подвергались статистической обработке при помощи программы Statistica 6.0 for Windows. Для проверки достоверности различий между исследуемыми группами использовали U-критерий Манна-Уитни.

Анализ размеров ядрышек позволил установить, что в группе рабочих ядрышко занимает, в среднем, 11,58% от общей площади ядра, тогда как в контроле - 19,90% ($p<0,001$)

Исходя из полученных результатов, можно заключить, что у рабочих ТЭЦ экспрессия генов рДНК снижена по сравнению с контролем. Очевидно, что причины этого следует искать в неблагоприятном, токсическом воздействии производственной среды, которая либо непосредственно влияет на функциональную активность генов, либо имеет место адаптивная селекция генотипов с низкой активностью р-генов.