

В.Н. Калаев¹, М.С. Нечаева², А.Ю. Васильева¹, И.Ю. Васильев¹,
А.П. Преображенский³, И.Я. Львович³

**ИНФОРМАЦИОННАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ДИСТАНЦИОННОГО
ОБУЧЕНИЯ МЕТОДИКЕ ПРОВЕДЕНИЯ МИКРОЯДЕРНОГО
ТЕСТА В БУККАЛЬНОМ ЭПИТЕЛИИ ЧЕЛОВЕКА**

¹ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

²ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет
им. Н.Н. Бурденко»

³АНОО ВО «Воронежский институт высоких технологий»
Воронеж, Россия

Разработанная информационная обучающая система содержит наглядный, обобщенный, структурированный материал по микроядерному анализу клеток буккального эпителия человека: историю развития метода, методику проведения, описание объектов анализа, фотографии ядерных аномалий, перечень факторов, оказывающих влияние на генетический аппарат, материалы для интерактивного оценивания результатов обучения. Обучающая система позволяет исследователю достаточно быстро и наглядно познакомиться с методикой проведения микроядерного теста, научиться анализировать микропрепараты, находить и правильно определять аномалии ядер слущивающихся эпителиоцитов, проводить статистическую обработку полученных результатов и по окончании освоения методики оценить полученные навыки с помощью интерактивного тестирования. Данная информационная система обобщает результаты российских и мировых исследований по оценке генетического гомеостаза организма человека с использованием микроядерного теста в буккальном эпителии, тем самым внося вклад в разработку стандартизированной методики и унифицирование подходов к описанию результатов экспериментов, во избежание ошибочной интерпретации полученных данных. В информационной системе представлен обучающий видеоролик, демонстрирующий сбор материала, приготовление микропрепаратов, основное оборудование и реактивы, используемые при выполнении микроядерного анализа. Информационная система способствует внедрению микроядерного теста в буккальном эпителии человека в качестве рутинной процедуры в клиническую практику, мониторинговые исследования состояния окружающей среды, оценку профессиональных рисков, позволяет разработать меры оценки генетической безопасности человека.

Ключевые слова: информационная система, микроядерный тест, буккальный эпителий человека, аномалии ядра, эпителиоциты ротовой полости.

Введение. Микроядерный тест является общепринятым цитогенетическим методом оценки мутагенного действия агентов различной природы. С его помощью проводится тестирование на мутагенную активность большого числа химических, физических и биологических агентов, тест применяется уже на первом этапе проверки

потенциальных мутагенов и канцерогенов [1]. Нашел свое применение данный тест и в различных областях практической медицины, исследованиях теоретического и прикладного характера [2].

Микроядерный тест буккального эпителия ротовой полости позволяет проводить экспресс-оценку состояния генетической системы человека без травмирующего вмешательства и использования дорогостоящего оборудования, эффективно отражая воздействие на него тех или иных факторов, что особенно важно в эпоху антропогенного загрязнения и экологических катастроф.

Микроядерный тест слущивающихся эпителиоцитов ротовой полости прочно занял свое место среди методов оценки состояния генетического аппарата человека, широко используется и активно развивается. Число работ, посвященных данному методу анализа, растет с каждым годом.

Так, в зарубежной литературе появилось только около десятка обзоров по данной тематике [3-9], число экспериментальных работ намного больше.

В России и странах СНГ микроядерный тест буккального эпителия также использует широкий круг ученых [10-17]. Несмотря на это, в разработке данного метода существует ряд вопросов и затруднений, нуждающихся в обсуждении и решении [2].

Методика изготовления и анализа микропрепаратов для проведения микроядерного теста в буккальном эпителии человека достаточно проста и не занимает много времени; однако существуют определенные нюансы и навыки, которые должны быть хорошо отработаны.

В последние десятилетия на службу науке все чаще приходят современные информационные технологии. Исследования, проводимые с помощью микроядерного теста, не стали исключением. В 2007 г. стартовал проект – HUMNXL (HUMAN MicroNucleus project on eXfoliated buccal cells), посвященный микроядерному тесту слущивающихся клеток ротовой полости (<http://www.humn.org>). Он объединил ученых из многих стран, позволил провести сравнение результатов, получаемых в цитогенетических лабораториях, размещенных в разных точках мира, с помощью микроядерного теста. Была создана международная база данных, в которой собраны статьи, посвященные микроядерному тесту.

В настоящее время разработано специальное интеллектуальное программное обеспечение, позволяющее автоматически подсчитывать количество лимфоцитов (ARStek Pathfinder ScreenTox) и эритроцитов (система Metafer) с микроядрами. Подобных программ для микроядерного теста в буккальном эпителии пока не разработано, так как необходима

стандартизация теста, аномалии ядра эпителиоцитов более разнообразны, техника подсчета и идентификации более трудоемка и интеллектуальна.

Петрашовой Д.А. и Бурцевым А.В. была создана база данных, позволяющая систематизировать и сохранять информацию по каждому обследуемому (анкетные данные, заболевания, прием лекарственных препаратов, лейкоформулу, фото нарушений клеток буккального эпителия и т.п.). Также база позволяет обмениваться данными между различными лабораториями [18]. Нами была разработана информационная система: «Информационная обучающая система по микроядерному анализу клеток буккального эпителия человека» (рег. номер: 2019620372) [19], которая размещена в сети Интернет по адресу <http://www.bio.vsu.ru/micronucleustest/>.

Она, в отличие от представленных выше, несет обучающий характер, позволяет исследователю достаточно быстро и наглядно ознакомиться с методикой проведения микроядерного теста, научиться анализировать микропрепараты, находить и правильно определять аномалии ядер слущивающихся эпителиоцитов, проводить статистическую обработку полученных результатов и по окончании обучения оценить полученные навыки с помощью интерактивного тестирования.

Результаты исследований. В основу работы информационной системы был положен алгоритм, представленный на Рисунке 1. Для написания информационной системы был использован язык и среда Microsoft Visual Studio на платформе Windows 7. Информационная система состоит из 12 вкладок меню: «История микроядерного теста в буккальном эпителии человека», «Методика проведения микроядерного теста в буккальном эпителии и ее влияние на получаемые результаты», «Объекты микроядерного теста», «Строение буккального эпителия», «Микроядра и другие ядерные аномалии», «Факторы, влияющие на частоту встречаемости аномалий клетках буккального эпителия», «Достижения и перспективы развития микроядерного теста», «Фотогалерея», «Давайте поиграем!», «Литература», «Авторы», «Контакты» (Рисунок 2).

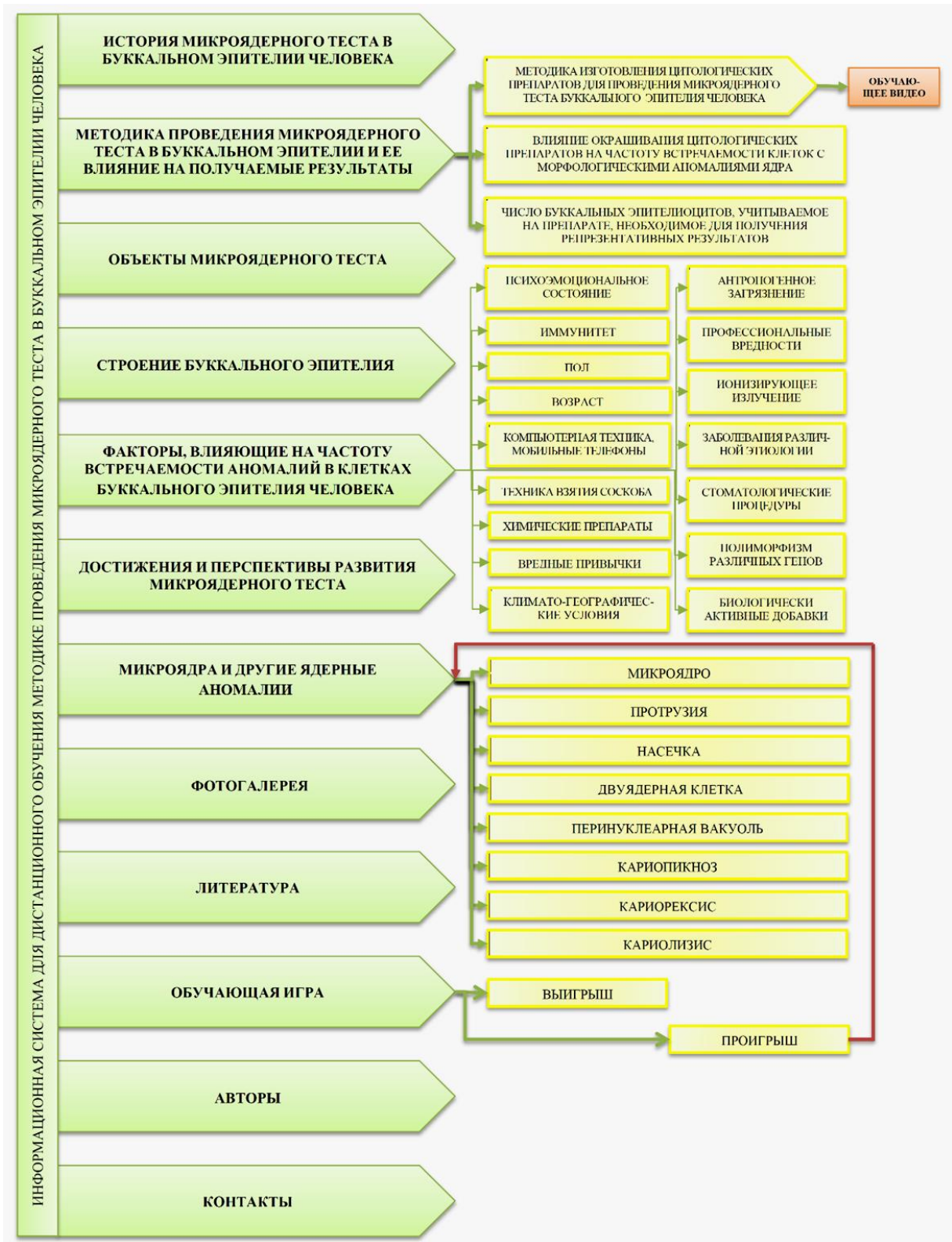


Рисунок 1 – Алгоритм, положенный в основу информационной системы «Информационная обучающая система по микроядерному анализу клеток буккального эпителия человека»

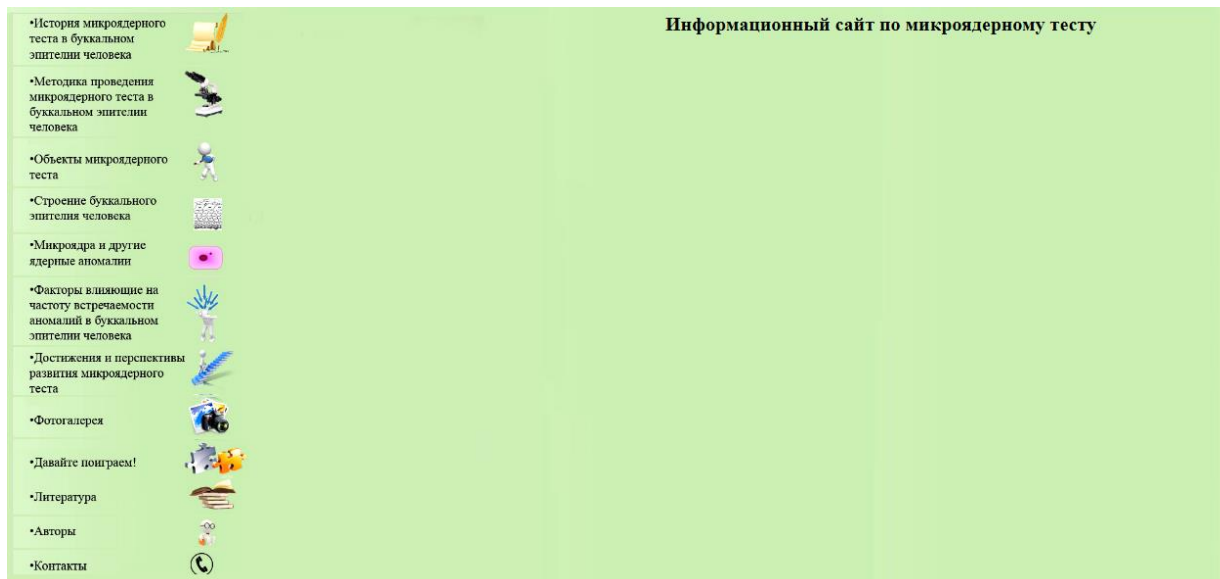


Рисунок 2 – Вводная страница информационной обучающей системы

В разделе «История микроядерного теста в буккальном эпителии человека» изложены основные этапы становления микроядерного теста: регистрация микроядер в эритроцитах костного мозга в 70-х гг. в работах Schmidt (1973) [20]; появление термина «микроядерный тест»; предложение Stich в 1983 г. проводить микроядерный тест на слущивающихся клетках ротовой полости [21]; современное состояние вопроса (Рисунок 3).

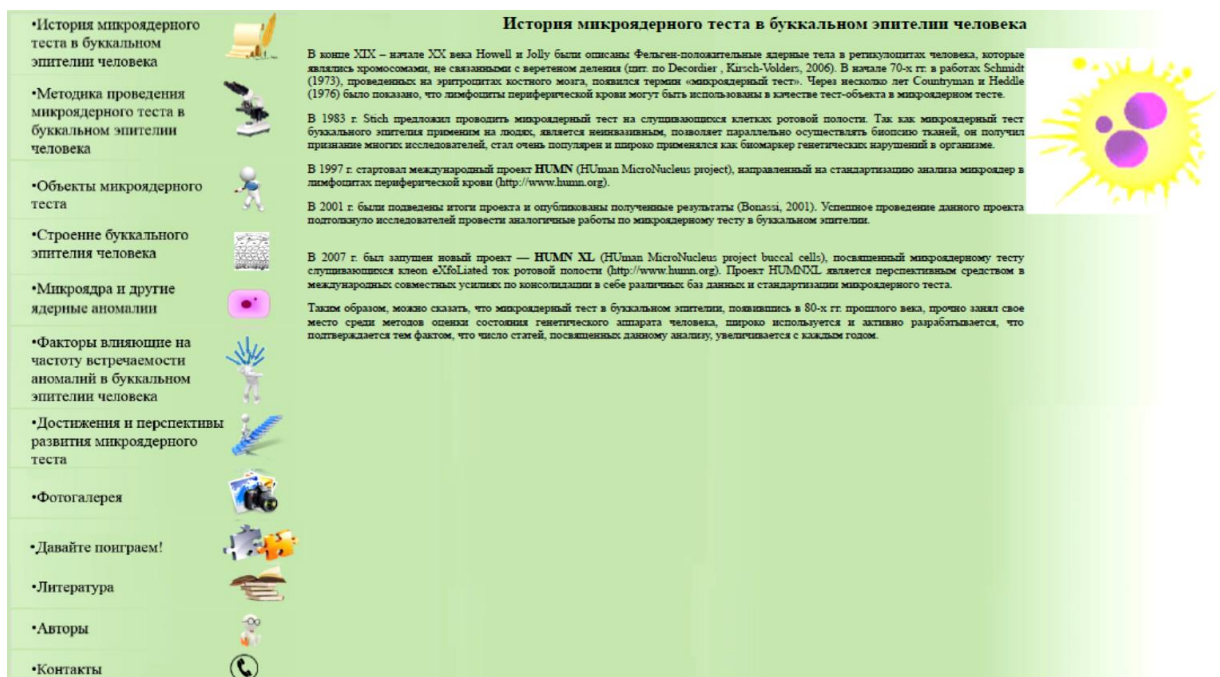


Рисунок 3 – Пункт «История микроядерного теста в буккальном эпителии человека»

В разделе «Методика проведения микроядерного теста в буккальном эпителии и ее влияние на получаемые результаты» представлено обучающий видеоролик (ссылка: <https://www.youtube.com/watch?v=K3KY0DpXwgI&feature=youtu.be>), в котором показан сбор материала, приготовление препаратов для проведения микроядерного теста в буккальном эпителии, продемонстрировано основное оборудование и реактивы, используемые при выполнении анализа.

В данном разделе также изложена информация о влиянии техники взятия соскоба буккального эпителия и окрашивания препаратов на частоту встречаемости нарушений.

Показано влияние окрашивания с использованием широко распространенных красителей (орсеина, светлого зеленого, метиленового синего, азур-эозина по Романовскому-Гимза) на частоту встречаемости клеточных нарушений (микроядер, перинуклеарных вакуолей, насечек, протрузий типа «язык» и «разбитое яйцо») в буккальном эпителии человека.

Перечислены оптимальные типы красителей для определения различных аномалий. Показано, что лучшим типом красителя как по качеству получаемых препаратов, так и по спектру выявляемых нарушений является азур-эозин при окрашивании по Романовскому-Гимза.

Приведены обоснованные значения минимального необходимого количества анализируемых буккальных эпителиоцитов на препарате при проведении микроядерного теста для получения статистически достоверных результатов (Рисунок 4).

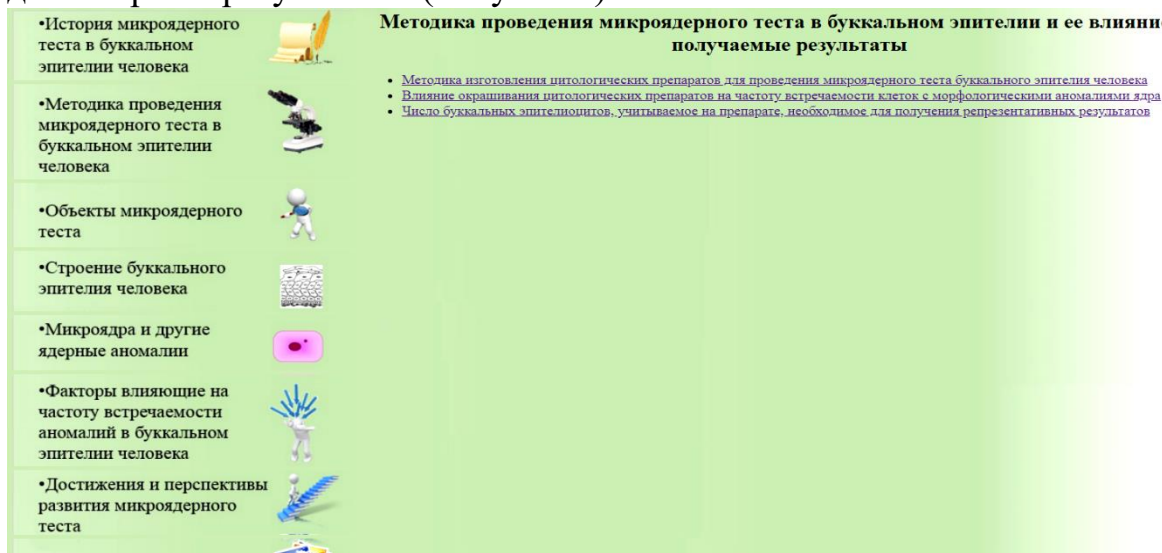


Рисунок 4 – Пункт «Методика проведения микроядерного теста в буккальном эпителии и ее влияние на получаемые результаты»

В разделе «Объекты микроядерного теста» представлен широкий ряд объектов и тканей, на которых проводится микроядерный тест (Рисунок 5)



Рисунок 5 – Пункт «Объекты микроядерного теста»

В разделе «Строение буккального эпителия» описаны особенности строения и пролиферации буккального эпителия, которые необходимо учитывать при осуществлении микроядерного теста в данном типе ткани. Изложены преимущества проведения микроядерного теста в буккальном эпителии человека:

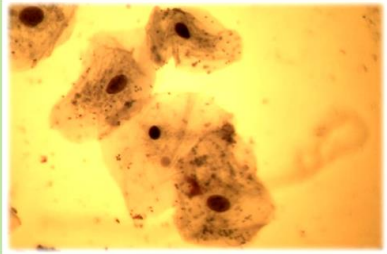
- 1) отсутствие необходимости в специальном лабораторном оборудовании для культивирования клеток;
- 2) нетравматичность анализа;
- 3) сравнительная простота и быстрота теста;
- 4) дешевизна анализа;
- 5) особенности буккального эпителия, которые позволяют ему выступать в качестве своеобразного «зеркала», отражающего состояние всего организма, получающего ксенобиотики либо через ротовую полость, либо ингаляционно [22];
- 6) возможность проводить прижизненный скрининг обследуемых лиц неограниченное число раз [2] (Рисунок 6).

- История микроядерного теста в буккальном эпителии человека
- Методика проведения микроядерного теста в буккальном эпителии человека
- Объекты микроядерного теста
- Строение буккального эпителия человека
- Микроядра и другие ядерные аномалии
- Факторы влияющие на частоту встречаемости аномалий в буккальном эпителии человека
- Достижения и перспективы развития микроядерного теста
- Фотогалерея
- Давайте поиграем!
- Литература

Строение буккального эпителия

Наибольший интерес представляет проведение микроядерного теста в эпителиоцитах слизистой оболочки ротовой полости человека в связи с:

- отсутствием необходимости в специальном лабораторном оборудовании для культивирования клеток;
- неэвматичностью анализа;
- сравнительной простотой и быстротой данного теста;
- дешевизной анализа;
- особенностями буккального эпителия, которые позволяют ему выступать в качестве своеобразного «зеркала», отражающего состояние всего организма, получающего ксенобиотики либо через ротовую полость, либо ингаляционно (Гельман, 1969);
- возможностью проводить прижизненный скрининг обследуемых лиц неограниченное число раз.



КЛЕТКИ БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ ЧЕЛОВЕКА

Слизистая оболочка внутренней поверхности щеки человека представлена многослойным плоским неороговевающим эпителием, который обновляется за счет деления базального слоя. Базальные клетки в процессе созревания постепенно выходят в поверхностный слой, который используется при анализе. Микроядра образуются именно в базальном слое (Narabayashi S. Jui, 2010, Микроядерный тест на... 2007). Время, которое необходимо для выхода клеток в верхний слой, индивидуально и зависит от характера воздействия на организм. Nerseyan (2007a) считает, что клетки буккального эпителия выходят в верхний пласт через 10 – 14 дней и, следовательно, результат можно наблюдать не раньше, чем через 10 дней. Holland (The micronucleus assay ... , 2008) придерживается мнения, что влияние воздействия фактора на частоту нарушений обнаруживается через 5 – 7 дней. Юрченко (2005, Микроядерный тест на... 2007) пишет о том, что начало подъема частоты встречаемости микроядер в мазках буккальных эпителиоцитов наблюдается не ранее, чем через 3 суток после воздействия с пиком около 7 суток и снижается до фонового уровня в течение 2 – 3 недель. Нами (Микроядерный анализ в ... , 2009) также отмечен рост числа клеток с микроядрами на 3 – 4 день после стрессового воздействия.

Таким образом, аберрантным буккальным эпителиоцитам необходимо в среднем около недели для созревания и выхода в поверхностный слой эпителия.

Рисунок 6 – Пункт «Строение буккального эпителия»

В разделе «Микроядра и другие ядерные аномалии» представлены наиболее часто встречающиеся aberrации ядра клеток буккального эпителия человека (микроядро, перинуклеарная вакуоль, насечка, протрузия, двуядерная клетка, кариопикноз, кариолизис, кариорексис), описаны их природа и отличительные характеристики. Каждое нарушение иллюстрируется схематичным Рисунком и микрофотографиями, позволяющими познакомить пользователя с данным видом нарушений и обучить его выявлять подобные нарушения на микропрепарате (Рисунки 7 –15).

- История микроядерного теста в буккальном эпителии человека
- Методика проведения микроядерного теста в буккальном эпителии человека
- Объекты микроядерного теста
- Строение буккального эпителия человека
- Микроядра и другие ядерные аномалии
- Факторы влияющие на частоту встречаемости аномалий в буккальном эпителии человека
- Достижения и перспективы развития микроядерного теста

Микроядра и другие ядерные аномалии

- Микроядро
- Протрузия
- Насечка
- Двуядерная клетка
- Перинуклеарная вакуоль
- Кариопикноз
- Кариорексис
- Кариолизис



Буккальные эпителиоциты человека с различными аномалиями ядра (увеличение 40x1,5x10)

Рисунок 7 – Раздел «Микроядра и другие ядерные аномалии»

- История микроядерного теста в буккальном эпителии человека
- Методика проведения микроядерного теста в буккальном эпителии человека
- Объекты микроядерного теста
- Строение буккального эпителиа человека
- Микроядра и другие ядерные аномалии
- Факторы влияющие на частоту встречаемости аномалий в буккальном эпителии человека
- Достижения и перспективы развития микроядерного теста

Микроядро

Микроядра – внутриклеточные хроматиновые образования, имеющие собственную оболочку и обособленные от ядра. Под микроскопом микроядра представляют собой овальные или округлые образования с ровными краями. Прежде чем говорить о причинах возникновения микроядер, следует отметить, что их можно разделить на:

- кинетохор-содержащие (K+) — содержащие целые хромосомы;
- безкинетохорные (K-) — содержащие фрагменты хромосом без кинетохоров.

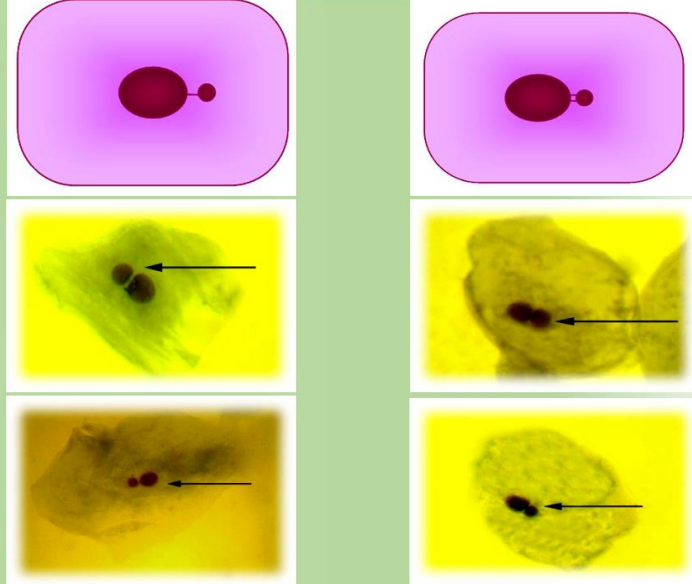


Клетка буккального эпителиа человека с микроядром (увеличение 40x1,5x10)

Механизм образования данных микроядер не одинаков и, следовательно, свидетельствует о воздействии на клетку различных по природе агентов. Возникновение клеток с микроядрами, содержащими кинетохор, интерпретируется как анеуплоидогенный эффект, в противоположность кластогенному, когда микроядра образуются из фрагментов хромосом, не содержащих кинетохор.

Рисунок 8 – Окно информационной системы с микрофотографией «Клетка буккального эпителиа человека с микроядром (увеличение 40x1,5x10)»

- Строение буккального эпителиа человека
- Микроядра и другие ядерные аномалии
- Факторы влияющие на частоту встречаемости аномалий в буккальном эпителии человека
- Достижения и перспективы развития микроядерного теста
- Фотогалерея
- Давайте поиграем!
- Литература
- Авторы
- Контакты



Клетки буккального эпителиа человека с протрузией типа «разбитое яйцо» (схема, фото, увеличение 40x1,5x10). Клетки буккального эпителиа человека с протрузией типа «язык» (схема, фото, увеличение 40x1,5x10).

Рисунок 9 – Окно информационной системы с микрофотографией и схемой «Клетки буккального эпителиа человека с протрузией типа «язык» и «разбитое яйцо» (увеличение 40x1,5x10)»

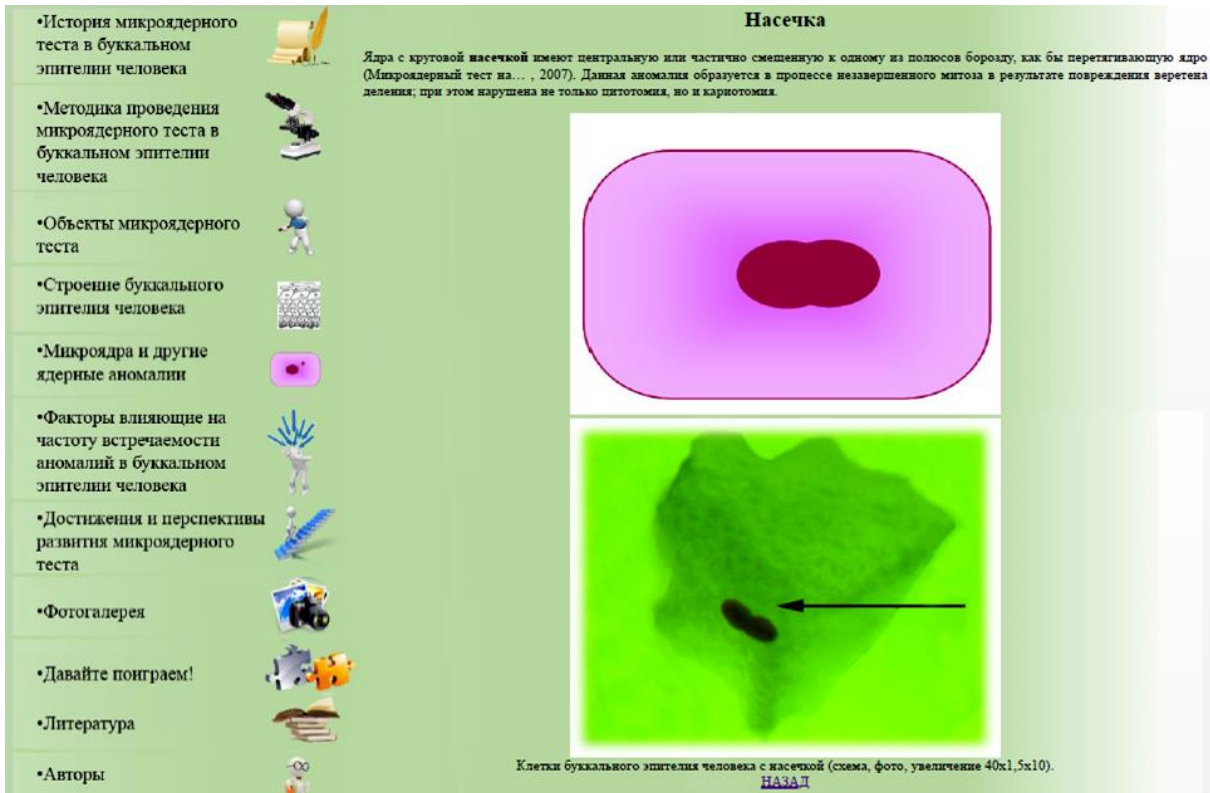


Рисунок 10 – Окно информационной системы с микрофотографией и схемой «Клетки буккального эпителии человека с насечкой (увеличение 40x1,5x10)»

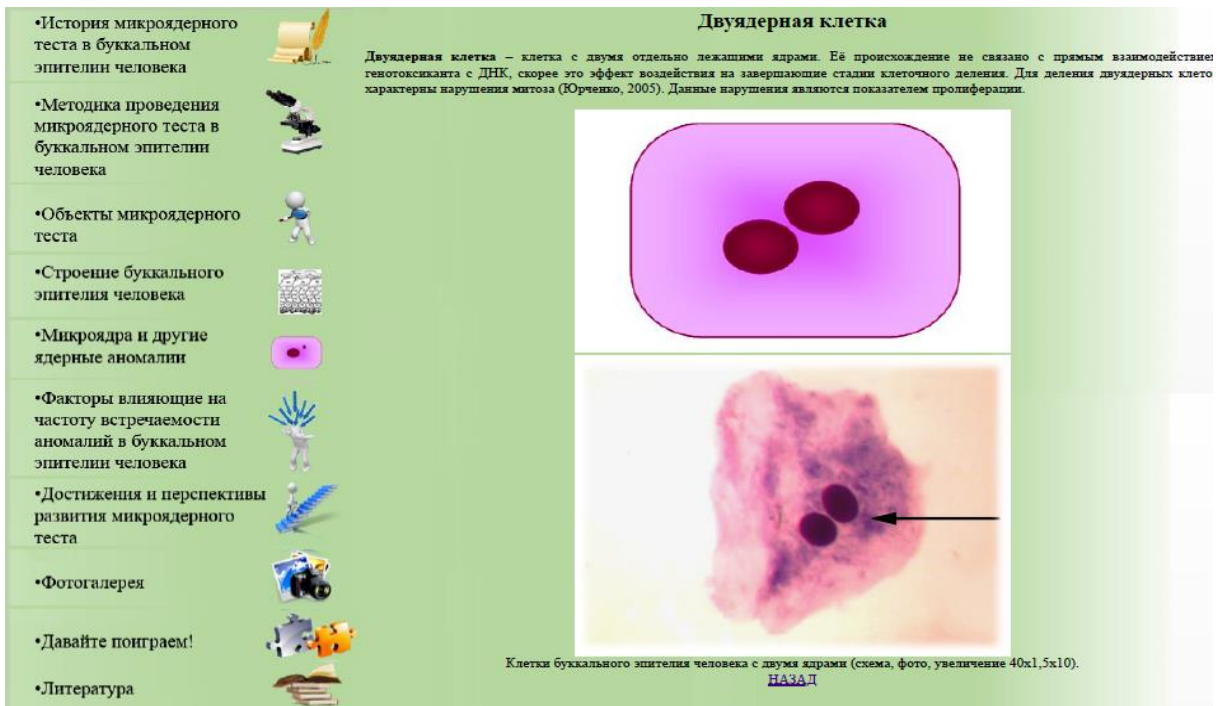
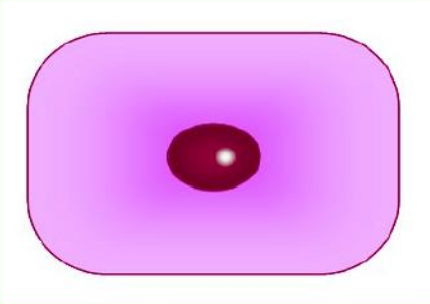


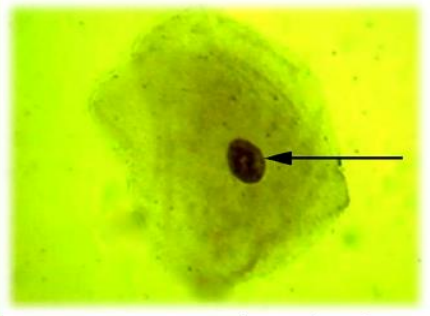
Рисунок 11 – Окно информационной системы с микрофотографией и схемой «Клетки буккального эпителии человека с двумя ядрами (увеличение 40x1,5x10)»

- История микроядерного теста в буккальном эпителии человека
- Методика проведения микроядерного теста в буккальном эпителии человека
- Объекты микроядерного теста
- Строение буккального эпителия человека
- Микроядра и другие ядерные аномалии
- Факторы влияющие на частоту встречаемости аномалий в буккальном эпителии человека
- Достижения и перспективы развития микроядерного теста
- Фотогалерея
- Давайте поиграем!
- Литература
- Авторы
- Контакты

Перинуклеарная вакуоль

Перинуклеарная вакуоль является «впячиванием» кариолеммы (ядерной оболочки) с образованием округлой зоны обесцвеченной цитоплазмы и кариоплазмы в окрашенных клетках, возникает в результате образования вакуоли в перинуклеарном пространстве. Она считается надежным признаком некроза клетки и наблюдается при болезнях накопления, воспалениях, а также после воздействия химических веществ и радиации (Микроядерный тест на..., 2007). Указанное нарушение относят к признакам ранней деструкции ядра (Мейер, 2010).





Клетки буккального эпителия человека с перинуклеарной вакуолью (схема, фото, увеличение 40x1,5x10).

Рисунок 12 – Окно информационной системы с микрофотографией и схемой «Клетки буккального эпителия человека с перинуклеарной вакуолью (увеличение 40x1,5x10)»

- История микроядерного теста в буккальном эпителии человека
- Методика проведения микроядерного теста в буккальном эпителии человека
- Объекты микроядерного теста
- Строение буккального эпителия человека
- Микроядра и другие ядерные аномалии
- Факторы влияющие на частоту встречаемости аномалий в буккальном эпителии человека
- Достижения и перспективы развития микроядерного теста
- Фотогалерея
- Давайте поиграем!
- Литература
- Авторы

Кариопикноз

Апоптоз относится к индикаторам генотоксичности, поскольку он является основным механизмом элиминации клеток с генетическими повреждениями. На ранних стадиях апоптоз проявляется как конденсация хроматина в ядре, кариопикноз и кариорексис (Юрченко, 2005).

Кариопикноз – дегенеративное изменение ядра, сопровождающееся уменьшением его размера не менее чем в 2 раза, уплотнением, гомогенным и интенсивным окрашиванием.





Клетки буккального эпителия человека с кариопикнозом (схема, фото, увеличение 40x1,5x10).
Назад

Рисунок 13 – Окно информационной системы с микрофотографией и схемой «Клетки буккального эпителия человека с кариопикнозом (увеличение 40x1,5x10)»

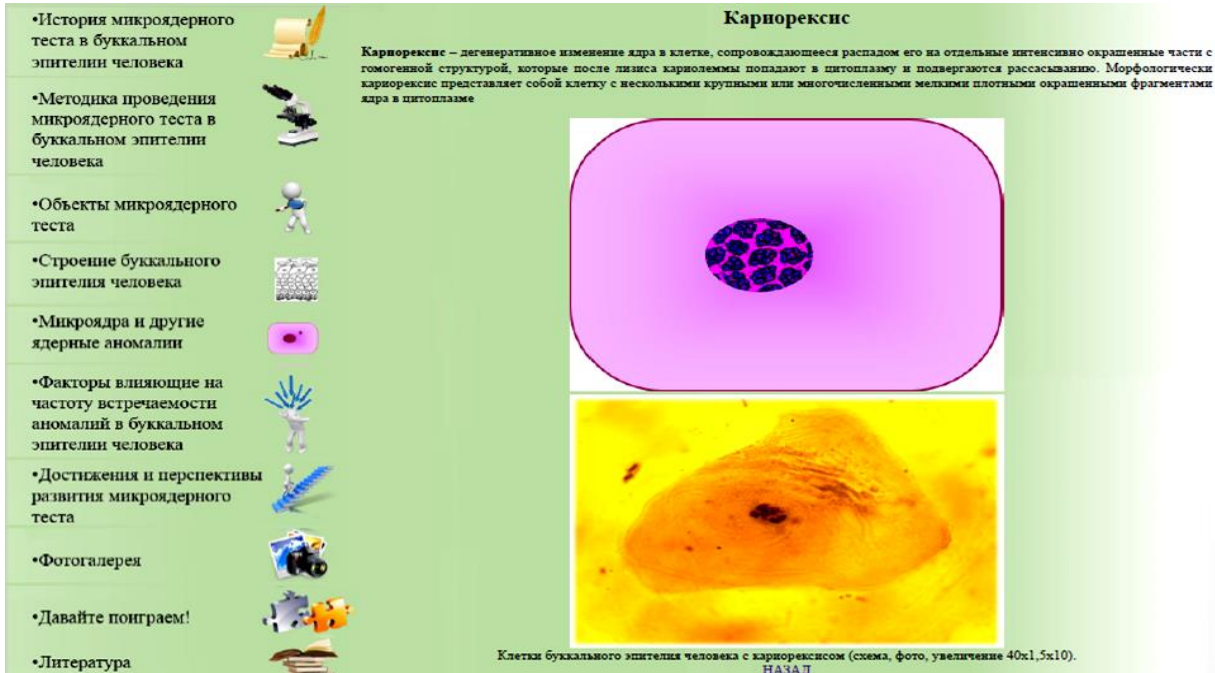


Рисунок 14 – Окно информационной системы с микрофотографией и схемой «Клетки буккального эпителия человека с кариорексисом (увеличение 40x1,5x10)»

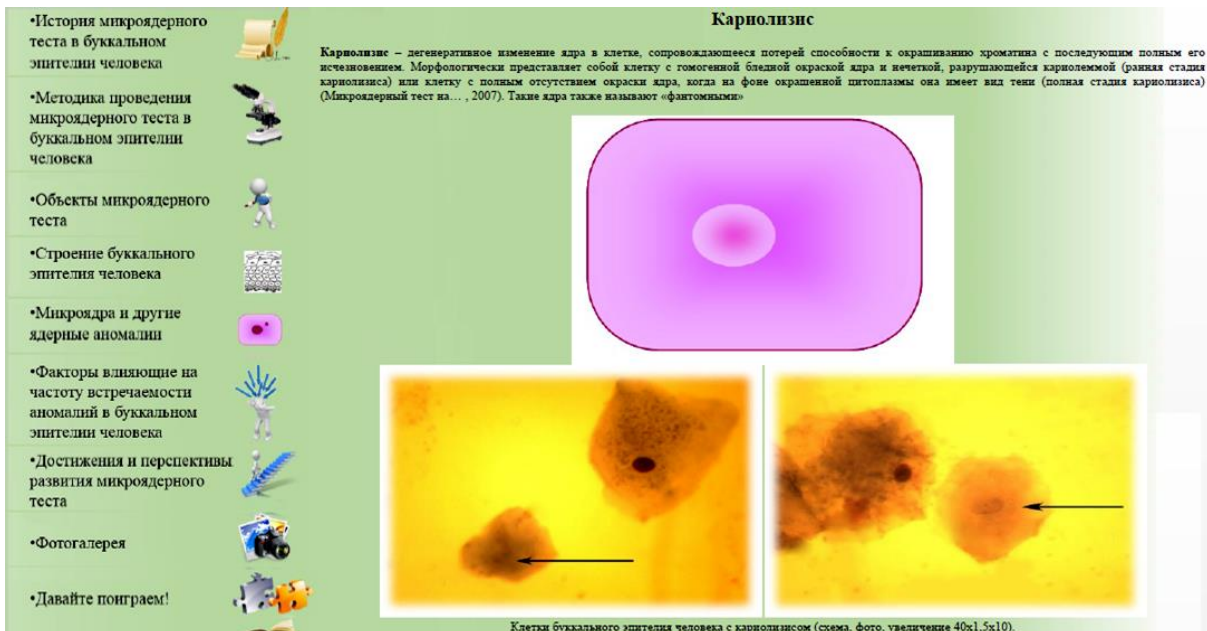


Рисунок 15 – Окно информационной системы с микрофотографией и схемой «Клетки буккального эпителия человека с кариолизисом (увеличение 40x1,5x10)»

В разделе «Факторы, влияющие на частоту встречаемости аномалий в клетках буккального эпителия» перечислены исследованные факторы, влияющие на частоту встречаемости аномалий клетках буккального эпителия человека. Приведены результаты работ ученых из многих стран мира, занимающихся изучением влияния факторов различной этиологии на

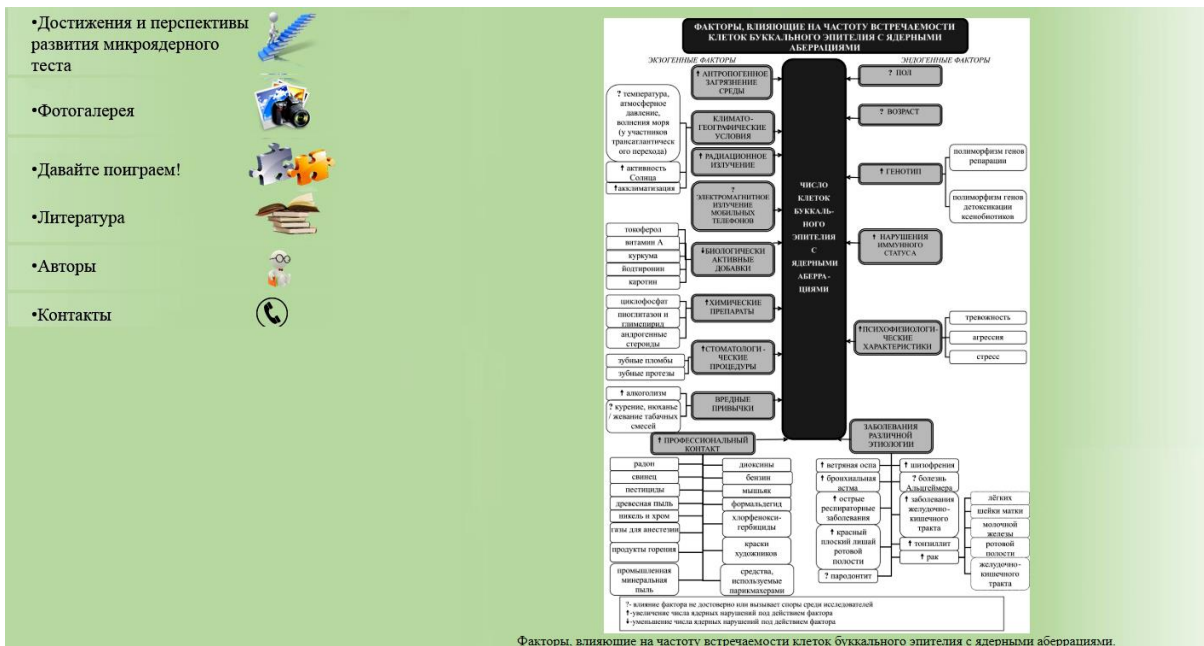
стабильность генетического материала человека с помощью микроядерного теста в буккальном эпителии, а также изложены результаты нашей многолетней работы в области микроядерного теста (Рисунок 16).



Рисунок 16 – Пункт «Факторы, влияющие на частоту встречаемости аномалий в клетках буккального эпителия»

В разделе «Достижения и перспективы развития микроядерного теста» на основе систематизации результатов, изложенных в предыдущих пунктах, создана обобщающая схема, в которой указаны факторы экзогенной и эндогенной природы, способные оказать влияние на частоту встречаемости клеток с аномалиями ядра в буккальном эпителии. Учтены факторы, способствующие как повышению, так и снижению уровня клеток с аномалиями ядра (Рисунок 17).

Опираясь на полученные данные, сделано заключение о том, что микроядерный тест буккального эпителия человека является весьма перспективным методом для применения при проведении фундаментальных и прикладных исследований. Стандартизация методики проведения микроядерного теста и описания обнаруженных аномалий (установление строгого перечня регистрируемых нарушений), а также создание баз данных, позволяющих познакомить как можно больше исследователей с микроядерным тестом, даст возможность адекватно сравнивать и использовать результаты, полученные в разных лабораториях, устранить разночтения при их интерпретации. Несомненно, это приведет к расширению и углублению путей использования данного метода исследования, будет способствовать его внедрению в качестве рутинной процедуры в клиническую практику, мониторинговые исследования состояния окружающей среды, оценку профессиональных рисков и смежные области науки, позволит выявить новые факторы, влияющие на цитогенетический статус человека.



Факторы, влияющие на частоту встречаемости клеток буккального эпителия с ядерными aberrациями.

Рисунок 17 – Пункт «Достижения и перспективы развития микроядерного теста», включающий в себя схему «Факторы, влияющие на частоту встречаемости клеток буккального эпителия с ядерными aberrациями» (по Калаеву с соавт., 2016 [2])

В разделах «Авторы» и «Контакты» указана краткая информация о авторах сайта и способах связи с ними.

В разделе «Литература» указаны источники литературы, которые были использованы в ходе разработки информационной системы [19].

По окончании освоения методики микроядерного теста в разделе «Давайте поиграем!» предлагается пройти интерактивное тестирование, в котором представлены задания в виде тестов на соответствие, иллюстрированные микрофотографиями аномалий ядра клеток слущивающегося эпителия слизистой оболочки ротовой полости. Тестирование помогает осуществить самоконтроль знаний и навыков, полученных в процессе освоения предложенной методики [19] (Рисунок 18 – 20).

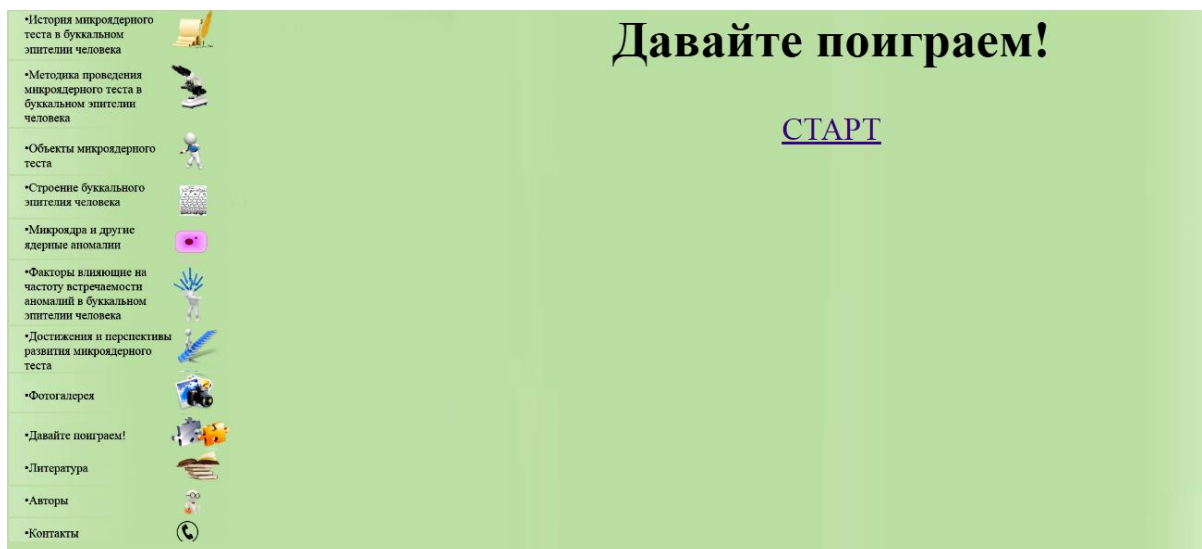


Рисунок 18 – Окно системы заставка игры, позволяющей оценить успешность освоения методики микроядерного теста в буккальном эпителии человека



Рисунок 19 – Окно информационной системы, всплывающее, если пользователь дал правильный ответ на вопрос

НЕВЕРНО!



ДАЛЕЕ

Рисунок 20 – Окно информационной системы, всплывающее, если пользователь дал неправильный ответ на вопрос

Заключение.

Микроядерный тест в буккальном эпителии человека является весьма перспективным методом при проведении фундаментальных и прикладных исследований. Помимо широкого распространения в последнее десятилетие, данный метод активно разрабатывается и дополняется многими учеными. Так, расширение спектра выявляемых данным методом нарушений позволило говорить не только о влиянии тех или иных факторов на геном человека, но и о причинах и механизмах этого воздействия. Разработанная информационная система обобщает российские и мировые исследования по оценке генетического гомеостаза организма человека с использованием микроядерного теста в буккальном эпителии, тем самым внося вклад в разработку стандартизированной методики и унифицирование подхода к описанию результатов экспериментов во избежание ошибочной интерпретации полученных данных. Установлено и систематизировано влияние ряда факторов экзо- и эндогенной природы (заболевания различной этиологии, психофизиологические характеристики, генотип организма, антропогенное загрязнение окружающей среды, профессиональные вредности, сезонные ритмы, климато-географические условия) на состояние генетической системы организма; разработан метод

исследования цитогенетического статуса человека (стандартизирована методика, расширен перечень исследуемых аномалий ядра, установлены причинно-следственные связи между типом регистрируемых нарушений и характером повреждающего воздействия) на базе микроядерного теста. На основании проведенных исследований разработана схема, отражающая влияние различных факторов на частоту встречаемости и характер ядерных аберраций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ильинских Н.Н. Микроядерный анализ в оценке цитогенетической нестабильности / Н.Н. Ильинских, А.С. Ксенц, В.Н. Ильинских и [др.] – Томск: ТГПУ, 2011. – 312 с.
2. Калаев В.Н. Микроядерный тест буккального эпителия ротовой полости человека: монография / В.Н. Калаев, М.С. Нечаева, Е.А. Калаева – Воронеж: Издательский дом ВГУ, 2016. – 136 с.
3. Nersesyan A. Effect of staining procedures on the results of micronucleus assays with exfoliated oral mucosa cells / A. Nersesyan, M. Kundi, K. Atefie et [al.] // *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*. – 2006a. – V. 15, № 10. – P. 1835 – 1840.
4. Holland N. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: The HUMN project perspective on current status and knowledge gaps / N. Holland, C. Bolognesi, M. Kirsch-Volders, et [al.] // *Mutation Research*. – 2008. – V. 659, № 1–2. – P. 93 – 108.
5. Thomas P. Buccal micronucleus cytome assay / P. Thomas, N. Holland, C. Bolognesi et [al.] // *Nature Protocols*. – 2009. – V. 4. – P. 825 – 837.
6. Bonassi S. State of the art survey of the buccal micronucleus assay – a first stage in the HUMNXL project initiative / S. Bonassi, B. Biasotti, M. Kirsch-Volder et [al.] // *Mutagenesis*. – 2009. – V. 24, № 4. – P. 295 – 302.
7. Harshvardhan S. Jois Micronucleus as Potential Biomarker of Oral Carcinogenesis / S. Jois Harshvardhan, D. Kale Alka, K.P. Mohan Kumar // *Indian Journal of Dental Advancements*. – 2010. – V. 2, № 2. – 197 – 202.
8. Kashyap B. Micronuclei assay of exfoliated oral buccal cells: Means to assess the nuclear abnormalities in different diseases / B. Kashyap, P.S. Reddy // *Journal of Cancer Research and Therapeutics*. – 2012. – V.8, № 2. – P.184–191.
9. Benvindo-Souza M. The micronucleus test for the oral mucosa: global trends and new questions / M. Benvindo-Souza, R.A. Assis, E.A.S. Oliveira et [al.] //

- Environmental Science and Pollution Research. – 2017. –V. 24, № 36. – P. 27724-27730.
10. Калаев В.Н. Влияние полиморфизма генов серотонинового транспортера и моноаминоксидазы а на психоэмоциональную и кариологическую стабильность спортсменов / В.Н. Калаев, М.С. Нечаева, О.С. Корнеева и [др.] // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2015. – Т. 101, № 11. – С. 1309-1323.
 11. Калаев В.Н. Изучение частоты клеток с аномалиями ядра в буккальном эпителии спортсменов в зависимости от места, занятого на спортивном соревновании / В.Н. Калаев, М.С. Нечаева // Гигиена и санитария. – 2016. – Т. 95, № 10. – С. 992-997.
 12. Калаев В.Н. Влияние соревновательного результата и психологических качеств на генетические повреждения клетокбуккального эпителия спортсменов армейского рукопашного боя / В.Н. Калаев, М.С. Нечаева, А.В. Сысоев и [др.] // Теория и практика физической культуры. – 2016. – № 4. – С. 11-13.
 13. Калаев В.Н. Влияние агрессивности и связанных с ней психологических характеристик на частоту ядерных нарушений буккальных эпителиоцитов спортсменов / В.Н. Калаев, В.Г. Артюхов, М.С. Нечаева // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2017. Т. 103, № 3. – С. 327-347.
 14. Соболев М.В. Частота микроядер в клетках буккального эпителия у школьников Украины разного возраста и пола / М.В. Соболев, В.Ф. Безруков // Цитология и генетика.– 2007. – Т.41, № 4. – С. 56 – 58.
 15. Юрченко В.В. Использование микроядерного теста на эпителии слизистой оболочки щеки человека / В.В. Юрченко, Е.К. Кривцова, М.А. Подольная и [др.] // Гигиена и санитария. – 2008. – № 6. – С.53 – 56.
 16. Голубь А.А. Выявление микроядер в эпителии слизистой оболочки полости рта у курящих студентов / А.А. Голубь, Т.С. Чемикосова, О.А. Гуляева // Проблемы стоматологии. – 2010. – Т.1, № 6. – С. 7 – 9.
 17. Сычева Л.П. Цитогенетический статус детей, проживающих вблизи целлюлозно-бумажного комбината / Л.П. Сычева, С.И. Иванов, М.А. Коваленко и [др.] // Гигиена и санитария. – 2010. – № 1. – С. 7-10.
 18. Петрашова Д. А. Разработка базы данных по микроядерному тесту на клетках человека / Д. А. Петрашова, А. В. Бурцев // Вестник Кольского научного центра РАН. – 2016. – № 2 (25). – С. 124–136.
 19. Свидетельство РФ о государственной регистрации базы данных № 2019620372. Информационная обучающая система по микроядерному

анализу клеток буккального эпителия человека / Калаев В.Н., Нечаева М.С., Васильева А.Ю., Васильев И.Ю. – Заявка № 2019620079 от 23.01.2019. – Регистрация 11.03.2019 г.

20. Schmid W. The micronucleus test / W. Schmid // Mutation Research. – 1973. – V. 31, № 1. – P. 9–16.
21. Stich H.F. Adaptation of the DNA-repair and micronucleus tests to human cell suspensions and exfoliated cells / H.F. Stich, R.H. San, M.P. Rosin // Annals of the New York Academy of Sciences. – 1983. – V. 407. – P. 93 – 105.
22. Гемонов В.В. Морфология и гистохимия слизистой оболочки полости рта в норме и при некоторых патологических состояниях в эксперименте: Автореф. дис... докт. мед. наук./ В.В. Гемонов – М., 1969. –39 с.

V.N. Kalaev¹, M.S. Nechaeva², A.Y. Vasilyeva¹, I.Y. Vasilyev¹,
A.P. Preobrazhenskiy³, I.Y. Lvovich³

**INFORMATION TRAINING SYSTEM FOR DISTANCE
LEARNING THE METHODOLOGY FOR CARRYING OUT A
MICRONUCLEAR TEST IN A HUMAN BUCKLE EPITELIUM**

¹ Voronezh State University

² Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko

³ Voronezh Institute of High Technologies

Voronezh, Russia

Informational training system contains visual, generalized, structured material on micronuclear analysis of human buccal epithelium cells: the history of the development of method, methodology, description of objects of analysis, photos of nuclear anomalies, list of factors affecting the genetic apparatus, materials for interactive assessment of learning outcomes. The informational training system allows to the researcher to quickly and visually get acquainted with the methodology of the micronucleus test, learn how to analyze microscopic preparations, find and correctly determine the anomalies of the nucleus of epithelial cells, carry out statistical processing of the results obtained and at the end of mastering the technique to evaluate the skills obtained through interactive testing. This information system summarizes the results of Russian and international studies on the assessment of the genetic homeostasis of the human organism using micronucleus test in the buccal epithelium, thereby contributing to the development of a standardized methodology and unifying approaches to describing the results of experiments to avoid incorrect interpretation of the data. The information system presents training video demonstrating the collection of material, preparation of micropreparations, basic equipment and reagents used in the performance of micronuclear analysis. The information system promotes the introduction of the micronucleus test in the human buccal epithelium as a routine procedure in clinical practice, monitoring of the environment, assessment of occupational risks, and allows for the development of measures to assess human genetic safety.

Keywords: database, micronucleus test, human buccal epithelium, anomalies of the nucleus, epithelial cells of the oral cavity.

REFERENCES

1. Il'inskikh N.N. Mikroyadernyy analiz v otsenke tsitogeneticheskoy nestabil'nosti / N.N. Il'inskikh, A.S. Ksents, V.N. Il'inskikh i [dr.] – Tomsk: TGPU, 2011. – 312 p.
2. Kalayev V.N. Mikroyadernyy test bukkal'nogo epiteliya rotovoy polosti cheloveka: monografiya / V.N. Kalaev, M.S. Nechaeva, E.A. Kalaeva – Voronezh: Izdatel'skiy dom VGU, 2016. – 136 p.
3. Nersesyan A. Effect of staining procedures on the results of micronucleus assays with exfoliated oral mucosa cells / A. Nersesyan, M. Kundi, K. Atefie et [al.] // *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*. – 2006a. – V. 15, № 10. – P. 1835 – 1840.
4. Holland N. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: The HUMN project perspective on current status and knowledge gaps / N. Holland, C. Bolognesi, M. Kirsch-Volders, et [al.] // *Mutation Research*. – 2008. – V. 659, № 1–2. – P. 93 – 108.
5. Thomas P. Buccal micronucleus cytome assay / P. Thomas, N. Holland, C. Bolognesi et [al.] // *Nature Protocols*. – 2009. – V. 4. – P. 825 – 837.
6. Bonassi S. State of the art survey of the buccal micronucleus assay – a first stage in the HUMNXL project initiative / S. Bonassi, B. Biasotti, M. Kirsch-Volder et [al.] // *Mutagenesis*. – 2009. – V. 24, № 4. – P. 295 – 302.
7. Harshvardhan S. Jois Micronucleus as Potential Biomarker of Oral Carcinogenesis / S. Jois Harshvardhan, D. Kale Alka, K.P. Mohan Kumar // *Indian Journal of Dental Advancements*. – 2010. – V. 2, № 2. – P. 197 – 202.
8. Kashyap B. Micronuclei assay of exfoliated oral buccal cells: Means to assess the nuclear abnormalities in different diseases / B. Kashyap, P.S. Reddy // *Journal of Cancer Research and Therapeutics*. – 2012. – V. 8, № 2. – P. 184–191.
9. Benvindo-Souza M. The micronucleus test for the oral mucosa: global trends and new questions / M. Benvindo-Souza, R.A. Assis, E.A.S. Oliveira et [al.] // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2017. – V. 24, № 36. – P. 27724-27730.
10. Kalaev V.N. Vliyanie polimorfizma genov serotoninovogo transportera i monoaminoksidazy` a na psixoe`mocional`nyu i kariologicheskuyu stabil`nost` sportsmenov / V.N. Kalaev, M.S. Nechaeva, O.S. Korneeva i [dr.] // *Rossijskij fiziologicheskij zhurnal im. I.M. Sechenova*. – 2015. – T. 101, № 11. – S. 1309-1323.
11. Kalaev V.N. Izuchenie chastoty` kletok s anomaliyami yadra v bukkal`nom e`pitelii sportsmenov v zavisimosti ot mesta, zanyatogo na sportivnom sorevnovanii / V.N. Kalaev, M.S. Nechaeva // *Gigiena i sanitariya*. – 2016. – T. 95, № 10. – S. 992-997.

12. Kalaev V.N. Vliyanie sorevnovatel'nogo rezul'tata i psixologicheskix kachestv na geneticheskie povrezhdeniya kletokbukkal'nogo e`piteliya sportsmenov armejskogo rukopashnogo boya / V.N. Kalaev, M.S. Nechaeva, A.V. Sy`soev i [dr.] // Teoriya i praktika fizicheskoy kul'tury`. – 2016. – № 4. – S. 11-13.
13. Kalaev V.N. Vliyanie agressivnosti i svyazanny`x s nej psixologicheskix xarakteristik na chastotu yaderny`x narushenij bukkal`ny`x e`piteliocitov sportsmenov / V.N. Kalaev, V.G. Artyuxov, M.S. Nechaeva // Rossijskij fiziologicheskij zhurnal im. I.M. Sechenova. – 2017. T. 103, № 3. – S. 327-347.
14. Sobol` M.V. Chastota mikroyader v kletkax bukkal'nogo e`piteliya u shkol`nikov Ukrainy` raznogo vozrasta i pola / M.V. Sobol`, V.F. Bezrukov // Citologiya i genetika.– 2007. – T.41, № 4. – S. 56 – 58.
15. Yurchenko V.V. Ispol`zovanie mikroyadernogo testa na e`pitelii slizistoj obolochki shheki cheloveka / V.V. Yurchenko, E.K. Krivczova, M.A. Podol'naya i [dr.] // Gigiena i sanitariya. – 2008. – № 6. – S.53 – 56.
16. Golub` A.A. Vy`yavlenie mikroyader v e`pitelii slizistoj obolochki polosti rta u kuryashhix studentov / A.A. Golub`, T.S. Chemikosova, O.A. Gulyaeva // Problemy` stomatologii. – 2010. – T.1, № 6. – S. 7 – 9.
17. Sy`cheva L.P. Citogeneticheskij status detej, prozhivayushhix vblizi cellyulozno-bumazhnogo kombinata / L.P. Sy`cheva, S.I. Ivanov, M.A. Kovalenko i [dr.] // Gigiena i sanitariya. – 2010. – № 1. – S. 7-10.
18. Petrashova D. A. Razrabotka bazy dannykh po mikroyadernomu testu na kletkakh cheloveka / D. A. Petrashova, A. V. Burtsev // Vestnik Kol'skogo nauchnogo tsentra RAN. – 2016. – № 2 (25). – S. 124–136.
19. Svidetel'stvo RF o gosudarstvennoj registracii bazy` danny`x № 2019620372. Informacionnaya obuchayushhaya sistema po mikroyadernomu analizu kletok bukkal'nogo e`piteliya cheloveka / Kalaev V.N., Nechaeva M.S., Vasil`eva A.Yu., Vasil`ev I.Yu. – Zayavka № 2019620079 ot 23.01.2019. – Registraciya 11.03.2019.
20. Schmid W. The micronucleus test / W. Schmid // Mutation Research. – 1973. – V. 31, № 1. – P. 9–16.
21. Stich H.F. Adaptation of the DNA-repair and micronucleus tests to human cell suspensions and exfoliated cells / H.F. Stich, R.H. San, M.P. Rosin // Annals of the New York Academy of Sciences. – 1983. – V. 407. – P. 93 – 105.
22. Gemonov V.V. Morfologiya i gistokhimiya slizistoyistoy obolochki polosti rta v norme i pri nekotorykh patologicheskikh sostoyaniyakh v eksperimente: Avtoref. dis... dokt. med. nauk. / V.V. Gemonov – M., 1969. –39 p.