



Универзитет “Гоце Делчев” – Штип

Факултет за медицински науки

Дипломиран лаборант – специјализација за работа во санитарно-хемиска лабораторија

Штип

**Бојана Недељковиќ**

**КВАНТИФИКАЦИЈА И КВАЛИФИКАЦИЈА НА МИКРОНУКЛЕУСИ ВО  
ЛИМФОЦИТИ КАЈ ПРОФЕСИОНАЛНО ЕКСПОНИРАНИ  
ЗДРАВСТВЕНИ РАБОТНИЦИ**

-специјалистички труд-

Штип, 2016

---

**Бојана Недељковиќ**

**КВАНТИФИКАЦИЈА И КВАЛИФИКАЦИЈА НА МИКРОНУКЛЕУСИ ВО  
ЛИМФОЦИТИ КАЈ ПРОФЕСИОНАЛНО ЕКСПОНИРАНИ  
ЗДРАВСТВЕНИ РАБОТНИЦИ**

**Универзитет “Гоце Делчев” – Штип**

---

**Ментор: Доцент Д-р Невенка Величкова**

**Факултет за медицински науки**

**Комисија за оценка и одбрана:**

**Претседател: Проф. Д-р Татјана Рушковска**

**Член: Проф. Д-р Ѓорѓи Шуманов**

**Член: Доцент Д-р Невенка Величкова**

---

## **Благодарност до**

*Мојот ментор **Доцент Д-р Невенка Величкова**, која неуморно ме упатуваше и помагаше за целото време при пишување на трудот, каде соработката со нејзе ми претставуваше огромна чест и задоволство. Секако овде се вбројува и мојата фамилија, моите најблиски, кои несебично создаваа вистинско време за ова мое животно достигнување.*

*Голема благодарност упатувам и до комисијата која учествуваше во одбраната на овој мојот труд.*

*И секако, на самиот крај упатувам голема благодарност до сите вас од коишто и понатаму ќе учам во мојот живот. Верувам во тоа дека овој труд ќе биде добар поттик за идните генерации, со образложение дека зад секој успешен труд стои успешен ментор, кој ќе биде патоказ на ова достигнување.*

*Искрено благодарам, со сета почит и од се срце!*

---

## СОДРЖИНА

Абстракт (Abstract).....	6
Abstract .....	7
Keywords: .....	8
1.    Вовед (Introduction).....	8
1.1.Изложеност на медицинскиот персонал на зрачење (Exposure to radiation medical staff).....	9
1.2.Јонизирачко зрачење (Ionizing radiation).....	12
1.3. Заштита и безбедност на здравствените работници од јонизирачко зрачење (Protection and safety of health workers from ionizing radiation).....	20
1.4. Биомониторинг (Biomonitoring) .....	21
1.5. Генотоксичност (Genotoxicity) .....	23
1.6. Тестирања (Tests).....	26
Микронуклеусниот тест (Micronucleus test) .....	29
2.    Цел на истражување (Purpose of Research) .....	31
3.    Материјал и методи (Material and methods).....	32
3.1. Микроскопска анализа (Microscopic analysis) .....	34
4.    Резултати и дискусија (Results and discussion) .....	41
5.    Заклучок (Conclusion).....	45
Користена литература (References).....	46

---

## Абстракт (Abstract)

Вовед: мерењето на хромозомските оштетувања е еден од најважните начини за да се процени токсичноста, канцерогеноста, и мутагеност на различни лекови, хемикалии и зраци. Опсервацијата дека оштетувањето на хромозомот може да се предизвика од изложеност на јонизирачко зрачење или канцерогени хемикалии беше меѓу првите сигурни докази дека физичките и хемиските агенси може да предизвикаат големи промени во генетскиот материјал на еукариотските клетки. При микронуклеусна анализа се овозможува да се детектираат абнормални нуклеарни форми. CBMN (cytokinesis Block micronucleus) тестот или микронуклеусниот тест во хумани лимфоцити е еден од најчесто користените методи за мерење на оштетувањата на ДНК. Целта на оваа студија е да се оцени генотоксичноста на јонизирачкото зрачење со помош на CBMN тест и да се утврди ризикот за здравјето на луѓето.

Материјал и методи: Студијата вклучува 12 здравствени работници изложени на јонизирачко зрачење (радиолог, техничари и медицински сестри).

Резултати: Пронајдовме висока фреквенција на микронуклеуси кај здравствени работници изложени на јонизација. Исто така, се оценети и другите нуклеарни промени како нуклеоплазматични мостови и бинуклеуси со нуклеарни пупки, како биомаркери на хромозомска нестабилност и големи промени во генетскиот материјал на клетките.

Заклучок: Овие резултати укажуваат дека хромозомската нестабилност е во корелација со појава на микронуклеусите и генетичкото оптоварување кај здравствени работници. Формирањето на микронуклеусот и другите вакви промени покажува дека здравствените работници се изложени на кластогени агенси како јонизирачка радијација и имаат хромозомска нестабилност и ризик од рак.

**Клучни зборови:** јонизирачки зраци, микронуклеуси, лимфоцити, микронуклеусен тест.

---

## **Abstract:**

**Introduction:** Chromosomal damage measurement is one of important ways to evaluate the toxicity, carcinogenicity, and mutagenicity of drugs, chemicals, and rays. The observation that chromosome damage can be caused by exposure to ionizing radiation or carcinogenic chemicals was among the first reliable evidence that physical and chemical agents can cause major alterations to the genetic material of eukaryotic cells. The Cytokinesis-Blocked Micronucleus (CBMN) assay also allowed us to score the abnormal nuclear shapes (ANS). The CBMN assay in human lymphocytes is one of the most commonly used methods for measuring DNA damage.

The aim of this study was to evaluate the genotoxicity of ionizing radiation using the CBMN assay and to determine the human health risk.

**Material and methods:** The study population included 12 healthy workers exposed to ionizing radiation (radiologist, technicians and nurses).

**Results:** We found a high frequency of micronuclei in health workers exposed on ionization. Also we evaluated other nuclear changes like nucleoplasmic bridges and binucleated cell with nuclear buds, as biomarkers of chromosomal instability and major alterations in genetic material of the cells.

**Conclusion:** These results suggest that chromosomal instability is in correlation with micronucleus frequencies and genetic load in health workers. The formation of micronucleus and other changes indicates that health workers are exposed on clastogenic agents like ionizing radiation and have chromosomal instability and risk of cancer.

**Keywords:** ionizing radiation, micronuclei, lymphocytes micronucleus test.

---

## 1. Вовед (Introduction)

Експонираноста и континуираната хронична изложеност на медицинскиот персонал, на различни физички и хемиски агенси покажува потенцијална генотоксичност. Ова понатаму, влијае врз генетскиот материјал на експонираната индивидуа, што реално значи дека поголеми дози од овие агенси дејствуваат летално, токсично или канцерогено, додека малите дози можат да имаат кумулативен ефект, да се одржуваат подолг временски интервал и последиците да се забележат во некои од наредните генерации. Со брзиот економски развој и индустријализација, широк спектар на генотоксични хемикалии се продуцираат и дистрибуираат во животната средина. Токсичните хемикалии влијаат врз индивидуалното здравје кога интерферираат со нормалните физиолошки процеси во организмите.

*Генотоксичноста* претставува процес во кој се оштетува генетскиот материјал во клетката. Генотоксичните супстанции може да бидат мутагени т.е. канцерогени, односно може да предизвикаат генетски мутации и може да влијаат врз развојот на тумори, а како такви се класифицирани некои супстанции, како и некои типови на зрачења. Така, на пример, доколку генотоксините влијаат врз сперматозоидите или врз јајце клетките генетските промени може да се пренесат на плодот кои директно не бил изложен на генотоксични супстанции.

Денес во 21-от век, од голема важност е примената на микронуклеусниот тест како важен биомаркер во детекцијата на влијанието на јонизирачките зраци врз целокупниот генетски материјал кај професионално изложени здравствени работници. Имено, констатирано е дека појавата на микронуклеуси е важен квантитативен биомаркер со кој се докажува постоењето на структурни хромозомски аберации кои се резултат на различни генотоксични агенси. (Tucker, 1996). Генерално, темата која се обработува во овој труд е прецизна и точно декларирана за една група во општествената заедница, а тоа е медицинскиот персонал. Целта е да се изврши квантификација и квалификација на микронуклеусите во лимфоцитите кај медицинскиот персонал, кој е изложен на јонизирачки зраци.



---

## 1.1. Изложеност на медицинскиот персонал на зрачење (Exposure to radiation of medical staff)

Зрачењето е дефинирано како процес на ослободување на енергија од одреден извор. Доколку ослободената енергија има потенцијал во интеракција со биолошката материја да предизвика придвижување на електроните од орбитата на атомите и молекулите и да доведе до јонизација на ткивата, станува збор за јонизирачко зрачење. Доколку ослободената енергија нема потенцијал да предизвика јонизација на ткивата, станува збор за нејонизирачко зрачење. Јонизирачкото зрачење се јавува во две форми:

- јонизирачко зрачење предизвикано од електромагнетни бранови;
- јонизирачко зрачење предизвикано од јонизирачки честички.

Изложеноста на медицинскиот персонал на јонизирачко зрачење се јавува при медицинскиот третман, односно дијагностичката или терапевтската постапка, на лица кои вршат проценка на оправданост за медицинска изложеност како и лица кои ја спроведуваат постапката.

Имено во медицинските установи постои работната изложеност на јонизирачко зрачење во дејности кои користат извори на јонизирачко зрачење. При што се врши проценка на персоналната радијациона изложеност на лицата кои работно се изложени на јонизирачко зрачење и периодичен амбиентален дозиметриски мониторинг на работните места со извори на јонизирачко зрачење и околните простори. Работник изложен на јонизирачко зрачење може да работи или да започне со обука за работа со извори на јонизирачко зрачење доколку ги задоволува здравствените услови утврдени со одредбите на Правилникот за работа при јонизирачко зрачење.

Медицинскиот персонал кој е изложен на ова зрачење, запознат со опасностите од истото, и пред се треба да знае како да се заштити и спречи вакво озрачување, како себе си така и за пациентите.

---

При проценка на ризик за изложеност на медицинско лицесо извор на јонизирачко зрачење, треба да се земат во предвид следниве здравствени состојби:

- заболување на крвотворните органи: (рефрактерна анемија, неутропенија, тромбоцитопенија (самостојна или комбинирана));
- малигни заболувања (во текот на заболувањето и по спроведената терапија);
- еволутивни заболувања на очните леќи, без оглед на причината;
- еволутивна туберкулоза;
- болести на ендокрините жлезди кои бараат лечење, ако со примена на современи лечења во ендокринологијата не се постигнува задоволителна регулација на одредена патофизиолошка состојба;
- изразени перманентни оштетувања на кожата предизвикани од дејството на јонизирачки зрачења (состојба по некротички степен на акутен радиодерматитис или хиперпластички стадиум на хроничен радиодерматитис);
- потешки заболувања на кожата (склеродермија, дерматомиозитис, пемфигус и сл);
- кожни болести со хроничен тек и за кои не се очекува целосно излечување со познатите методи на лечење, вклучително и оштетувањето на кожата предизвикано од јонизирачко зрачење;
- болести на зависност (алкохолизам, таблетоманија, наркоманија);
- потешки душевни и нервни болести: под просечната когнитивна способност, психоза и гранични случаи, посттраумски стресни пореметувања, тешки облици на неуроza, пореметувања на личноста со изразено асоцијално или антисоцијално пореметување, акутни или тешки болести, повреди или аномалии на средниот или периферниот нервен систем, епилепсија и други нарушувања на свеста;

- 
- болести кои се очитуваат на белодробна фиброза;
  - хронични белодробни болести;
  - други болести за кои спрема современите медицински сознанија се знае дека претставуваат пречка за работа со извори на јонизирачко зрачење(Tucker,1996).

---

## 1.2. Јонизирачко зрачење (Ionizing radiation)

Јонизирачкото зрачењево медицински услови, може да го оштети секое ткиво во телото, на медицинските лица. Специфичните ефекти на радијацијата на живите суштества зависат од видот на зрачењето, како и дозата, должината на експозицијата и типот на ткивото изложено на радијација. Оштетувањето од изложувањето на високи нивоа на радијација е поделено во две категории: соматско и генетско.

- Соматското, се однесува на ефектите врз физиолошкото функционирање на телото;
- Генетското, се однесува на штетата предизвикана врз репродуктивните клетки, вклучувајќи ги и наследните ефекти кои можат да влијаат врз потомството. Генетските оштетувања може да вклучуваат мутации или скршени хромозоми, структури во клеточното јадро кои ја содржат ДНК и сите генетски информации на организмот.

Соматско оштетување од високите дози на јонизирачко зрачење се манифестира со изгореници, со симптоми на гадење, повраќање и дијареа. Долгорочните ефекти може да предизвикаат и посериозни заболувања, како што се леукемиите. Клетките се убиени целосно кога висока доза на јонизирачко зрачење се спроведува во краток временски период. Симптомите може да се појават во рок од неколку часови или денови. Истата доза пренесена во текот на долг период нема да произведе исти симптоми, затоа што телото има време за регенерација на некои од оштетувањата предизвикани за време на долготрајната изложеност.

Сепак, некои клетки може да добијат генетски оштетувања кои предизвикуваат некои видови на рак да се развијат неколку години подоцна (ова се нарекува латентен ефект). Најбрзорастечките ткива се најранливи, бидејќи зрачењето најмалку три пати го зголемува ефектот во текот на фазата на растење на клетката. Најчувствителни делови на човечкото тело се чини дека се оние кои имаат многу активна делба на клетките, како што е кожата, гонадите, цревата и ткивата кои создаваат крвни клетки (слезината, коскената срцевина и лимфните органи).

---

Поотпорни се епителните клетки од телото – кожата и цревата. Најотпорни се мозочните клетки, затоа што тие растат најбавно. Радиоактивноста е токсична бидејќи создава јони, кога реагира со биолошките молекули. Овие јони може да формираат слободни радикали, кои ги оштетуваат протеините, клеточните мембрани и нуклеинските киселини. Радиоактивноста може да ја оштети ДНК, што доведува до канцерогени промени, вродени дефекти, па дури и смрт (Tucker, 1996). Сепак, клетките имаат биохемиски систем за поправка кој може да поправи дел од штетните биолошки ефекти при ниско ниво на изложеност на радиоактивност. Ова му овозможува на телото подобро да ја толерира радијацијата во мала доза, како на пример во текот на подолг временски период. Категорично, сите луѓе се изложени на радијација во екстремно мали дози во текот на нивниот живот, додека кај медицинскиот персонал овие дози се зголемени. Биолошките ефекти на толку мали дози во текот на долг период е речиси невозможно да се измерат и во суштина се непознати во моментов. Меѓутоа, и покрај се, постои теоретска можност дека мала количина на радиоактивност ослободена во животната средина, од медицински установи, кои нормално работат и од претходните атмосферски тестирања на нуклеарно оружје, минимално ја зголемила инциденцата на одредени видови на рак во човечката популација. Исто така, оштетувањето предизвикано од многу ниски дози на зрачење може да биде кумулативно или да се додаде на оштетувањето предизвикано од други штетни агенси на кои луѓето се изложени, при секојдневниот работен однос.

Јонизирачкото зрачење е радијација која е способна да ги раскине хемиските врски во молекулите. Сите клетки имаат сопствен репарирачки механизам за поправка на штетата врз генетскиот материјал и останатите молекули од јонизирачкото зрачење, кои брзо може да се оштетат ако радијацијата брзо се акумулира. Младите и брзо растечките клетки, како оние кај фетусот, се најмногу неотпорни за оштетувањата предизвикани од радијацијата. X-зраците и останатите форми на јонизирачка радијација може да бидат делумно штетни за ембрионот или фетусот.

Атомското јадро го обиколува електронски облак, полн со електрони. Овие електрони го обиколуваат атомското јадро во парови, но се

---

случува атомот да загуби еден електрон, со што тој останува со еден неспарен електрон. Ваквиот атом се нарекува "слободен радикал", или понекогаш се среќава само како "радикал" и е многу реактивен. Најголемиот дел од биолошки-значајните слободни радикали се изразито реактивни. Кога во клетките од телото ќе се најде радикал, истиот е многу реактивен и може да предизвика уништување на клетката. Тоа може да се манифестира со појава на разни типови на малигни заболувања и хронични дегенеративни заболувања, како што се: артритис, атеросклероза, Алцхајмерова болест и дијабетес. Имено, X-зраците или рентген зраците се користат за рентген дијагностика во медицината. Исто така,  $\gamma$ -зраците се емитуваат од радиоактивните супстанции и имаат најголема енергија. X-зраците и  $\gamma$ -зраците спаѓаат во јонизирачко зрачење бидејќи имаат доволно енергија за да можат да исфрлат електрон од неговата орбитала и со тоа да создадат јони. Во врска со јонизирачкото озрачување, кај човекот можат да се забележат надворешни оштетувања, особено на кожата (дерматит, разни тумори, опаѓање на косата, воспаление на очите и др.).

Радиоактивната контаминација влијае на општите физиолошки функции, на процесите на растот и развојот (Burcham, 1999). Алфа и бета честичките предизвикуваат кожни оштетувања, но ако се внесуваат во организмот со инхалација, можат да предизвикаат поголеми оштетувања навнатрешните органи. Гама зраците продираат длабоко во организмот и претставуваат опасна форма на радијација за живите организми.

Заболувањата, односно оштетувањата под дејство на радиоактивна контаминација, во зависност од видот и јачината на изворот на зрачење, можат да бидат хронични и акутни со смртоносен исход.

При пониски апсорбирани дози (0,25 Gy) не се забележуваат клинички ефекти. При средни дози (1-2 Gy) се забележуваат манифестации на гадење, замор, повраќање, губење на апетит, воспаление на грлото, проливи, а во некои случаи можно е и настапување на смрт.

Полусмртоносна доза (4,5 Gy) предизвикува акутни форми на радијациони заболувања.

---

Првите симптоми овде се: гадење, слабеење на организмот, губење на апетит, појава на висока температура, воспаление на усната шуплина, крварење и други оштетувања. Со оваа доза кај 50% од оштетените може да се очекува смрт.

При апсорбирана доза од 6-7 Gy, уште во првите часови настапува гадење и повраќање, а другите симптоми се јавуваат при крајот на првата недела од зрачењето. Ваквата доза предизвикува смрт кај сите озрачени лица.

Генерално, посебно значење при озрачување на организмот има јонизацијата на молекулите вода, која завзема 75-85% од волуменот на сите ткива и органи на човекот. Како последица на јонизацијата на молекулите на вода се создаваат слободни радикали кои стапуваат во интеракција со материи способни за оксидација (пример: хидроксилни групи, водород пероксид и др.). Овие продукти на распад на водата делуваат на активните сулфхидрилни групи (-SH) од белковините и ги претвараат во неактивни-дисулфидни. Како последица на тоа се јавува пореметена функција на различни ферменти, кои учествуваат во синтетичките процеси.

Според тоа, јонизирачкото зрачење со своето директно дејство врз белковините и липидите предизвикува нивна денатурација. Со оглед да во организмот молекулите постојат во големи количини, сето тоа и не би било толку трагично да не е дејството на зрачењето врз многу ретките ензимски системи, а посебно да не е инхибиран и процесот на синтеза на нуклеинските киселини.

Може да се дефинира, и оптималната зона на јонизирачката радијација, која предизвикува два типа биолошки ефекти:

- детерминистички и
- стохастички.

Детерминистички се резултат на губиток на биолошката функција, и најчесто настануваат набрзо после озрачувањето (во рамки на неколку недели) и нивниот интензитет расте со растот на нивото на озрачување, и се најчесто безначајни под одредено ниво (од околу 0,5 Sv) (Кочубовски, 2011).

---

Стохастичките пак ефекти, се резултат на промените во генетската структура на клетките, и може да поминат повеќе години до нивна клиничка манифестација, при што многу често оставаат и последици на следните генерации во потомството на експонираните.

И покрај тоа што веројатноста за такви ефекти зависи од висината на дозата, не постои праг на озрачување испод кој се смета дека нема да има такви ефекти.

Во основа, биолошките ефекти се во релација со апсорбираната доза - т.е. количеството енергија примена по единица ткивна маса.

Постојат две величини во процена на нивото на озрачувањето а тоа се активноста на радионуклеидот и дозата на апсорбирана радијација. Бројот на преобразби во една секунда за една количина на радиоактивен материјал, се нарекува активност. Таа се мери со единици - Бекерели, при што Еден бекерел е еднаков на едно преобразување во една секунда или активност на еден бекерел има оној извор кој за една секунда дава еден распад. Од друга страна енергијата на радијација е таа која предизвикува оштетување на ткивото, а количината на енергијата депонирана во живото ткиво се нарекува *Доза* (Кочубовски, 2011).

Дозата на озрачување може да потекнува од било кој радионуклеид или повеќе радионуклеиди, независно дали тие остануваат надвор од телото или внесени со ингестија или инхалација го озрачуваат од внатре. Апсорбирана доза е количина на енергија на зрачење која се апсорбира по грам ткиво, и се изразува во греи (Василевска, 2005).

Во биолошки смисол на зборот не постои доза на зрачење која не е штетна по организмот. Ако пак се зборува за дозволена доза, тоа е дозата која е дозволена под претпоставка да се исцрпени сите мерки, за да се таа доза намали, односно зрачењето потполно да се елиминира. Всушност тоа е доза на зрачење која мора да се прифати, ако не сме во можност зрачењето потполно да го исклучиме.

Генерално, МДД (Максимално Дозволена Доза) претставува најголема поединечна или кумулативна доза која според сегашното познавање на



---

последниците од јонизирачкото зрачење, веројатно нема да доведе до значајни соматски или генетски оштетувања. На основа на таквата доза (праг) се пропишуваат и другите норми на сигурност.

Во основа, биолошките ефекти се во релација со апсорбираната доза - т.е. количеството енергија примена по единица ткивна маса. Некои типови на зрачење, како алфа честичките ја губат својата енергија на релативно мала ткивна маса што предизвикува висока енергетска густина. Од друга страна, гама зраците ја предаваат својата енергија на многу порасеан ткивен простор, што во основа дава помала ефикасност (од алфа зраците) во продукцијата на биолошки оштетувања по единица доза.

Со оглед на фактот дека не постои гранична (безопасна) доза, ограничените експозиции не ги исклучуваат стохастичките ефекти, иако веројатноста може да се сведе на толерантни или прифатливи рамки. При ниски дози, се проценува дека стохастичкиот ефект е во директна релација со висината на дозата. Ризикот од канцер е еден од докажаните соматски ефекти, без познат механизам на негова индукција (соматски мутации, хромозомски аберации, активација на инфекција).

Понатаму, значајно е тоа дека, малигна индукција од радиолошко озрачување се јавува само кај ткива изложени на озрачување. Имено, не постои праг на радијација под кој нема ризик од карцином, но ризикот се зголемува во директна пропорција со висината на примената доза. По своите хистопатолошки карактеристики, овој тип на малигном не може да се издвои од оние кои спонтано се јавуваат, а латентниот период за негова појава (од моментот на експозиција) е од 2 години (леукемија) до 40 години.(Robbins, 1999). Осетливоста, варира од ткиво до ткиво, на неа влијае и возраста, генетската конституција и сл.

Доколку се знае дека во вкупниот морталитет, смртноста од канцер, зазема 20-25%, смртноста од радиолошки индуцираната малигна болест во оваа стапка учествува со приближно 10%.

---

Директните трошоци за дијагноза, лекување и рехабилитација на повредите на работа и професионалните болести значајно го оптеретуваат здравствениот систем, а индиректните трошоци поврзани со отсуството од работа, изгубената работна способности намалената продуктивност претставуваат дополнително оптеретување на националните буџети на секоја земја. Имено, јонизирачката безбедност, денес е едно од сериозните глобални, но и национални прашања од светски рамки. Времето во кое живееме изобилува со краткорочни и долгорочни закани за заштитата и безбедноста и при работа на сите професии, при што особено е загрозен медицинскиот персонал. Јонизирачко зрачење индуцира хромозомски аберации во сите фази на клеточниот циклус, кои лесно може да се идентификуваат и да се квантифицираат во периферните крвни лимфоцити. Циркулирачките лимфоцити се во фаза на клеточниот циклус (фаза на мирување) и по изложеноста на зрачењето, за само дваесет минути се индуцираат хромозомски аберации од најразличен тип. Фреквенцијата на хромозомски аберации зависи од дозата на зрачење и укажува на одредени промени.

Поради овие причини, хромозомските аберации се користат како биолошки дозиметри, особено во случај на случајно зрачење. Клетки чиј кариотип содржи нестабилни хромозомски аберации имаат тенденција да се елиминираат од телото. Благодарение на ДНК сонди за хибридизација, се зголемува точноста на откривање на хромозомски аберации, особено оние кои се со стабилни хромозомски аберации (транслокации и инверзии).

Внатрешната контаминација претставува посебна форма на продолжено озрачување, каде зрачењето на одредени органи во телото е многу неизвесна и зависи од физичко-хемиските форми на радионуклеиди и метаболизмот во организмот. За сите лица потенцијално контаминирани со осиромашен ураниум веднаш по изложувањето, треба да им се земе брис од букалната лигавица и да се утврди присуството на микронуклеусите во епителните клетки и при класичната анализа на хромозомски аберации и од периферијата на крвните лимфоцити (Tucker, 1996). Анализа на микронуклеусите во епителните клетки при уринарниот седимент, ќе ги покаже и постоечките токсични ефекти на тешки метали (Robbins, 1999).

---

Мерки за спречување и контрола на нивото на радиоактивната контаминација на животната околина и можното штетно влијание врз здравјето на луѓето претставуваат:

- мониторинг на јонизирачкото зрачење;
- определување локација, изградба и користење извори на јонизирачко зрачење;
- обезбедување опрема и средства за заштита и контрола на ефикасноста од таа заштита;
- водење евиденција (регистер) на изворите на јонизирачко зрачење и изложеноста на лицата што работат со извори на зрачењето;
- превентивни медицински прегледи на лицата професионално експонирани;
- складирање и трајно депонирање на радиоактивниот отпад согласно неговите карактеристики со максимална заштита на средината (Tucker,1996).

---

### **1.3. Заштита и безбедност на здравствените работници од јонизирачко зрачење (Protection and safety of health workers from ionizing radiation)**

Безбедноста и здравјето при работа има смисла единствено кога е приспособена на работникот, т.е. учесникот во работниот процес. Одговорноста за безбедното доставување на опасните материјали ја имаат специјални одговорни единици, и се смета дека потребните заштитни процедури се или ќе бидат направени. Имено, доколку се почитува ваквото работење, ќе се заштитат сите оние кои можат да бидат загрозени и ќе придонесе за исполнување на здравствените и заштитните прописи. Безбедноста и здравјето при работа подразбира создавање на услови за работа во кои се превземаат мерки и активности со цел заштита на животот и здравјето на вработените и другите лица кои на тоа имаат право. Во интерес на општеството, на сите субјекти и на секој поединец е да се создаде највисоко ниво на безбедност и здравје при работа за несаканите последици како што се повреда на работа, професионални болести и болести поврзани со работното место да се сведат до најмала можна мерка.

Безбедност и здравјето при работа недвосмислено претставува промислен пристап при заштеда на финансиски и материјални средства, како на вработените (трошоци за лекување, намалена работна способност, итн.), работодавачите (компензација за лекување, казни за непримена на заштитни мерки, дополнително работно време за изработка, итн) така и за самата држава, каде се празнат социјалните фондови.

---

## 1.4. Биомониторинг (Biomonitoring)

Безбедноста и здравјето на работниците претставува не само законска обврска, туку и суштинска потреба за подобрување на општото здравје, подобрување на продуктивноста и економскиот прогрес на секоја земја. Тоа истовремено значи и можност за воспоставување на рамнотежа меѓу економскиот интерес, продуктивноста и здравјето и работоспособноста на работниците во здравството.

Поради строго регулираната структура на генетскиот материјал, возможно е да се користат најразлични примероци во тестовите за генотоксичност (Robbins, 1999). Опсервацијата што претставува оштетување на хромозомот, може да е предизвикана од изложеност на јонизирачко зрачење или канцерогени хемикалии, и ова тврдење беше меѓу првите сигурни докази дека физички и хемиски агенси може да предизвикаат големи промени во генетскиот материјал на еукариотските клетки. Мерење на микронуклеусната фреквенција во периферните крвни лимфоцити се користи широко во молекуларната епидемиологија и цитогенетика да се оцени присуството и степенот на хромозомски оштетувања во човечката популација изложена на генотоксичен агенс или подложен генетски профил.

Конкретно, постојат неколку цитогенетски тестови, и тоа: CBMN TEST-Cytokinesis-block micronucleus; микронуклеусен тест, детекција на центромерите во микронуклеусите (со помош на FISH методата (Fluorescentna In Situ Hibridizacija), SCE TEST-Sister chromatid exchange test; тест за размена на сестрински хроматиди, биолошка дозиметрија на дицентрични хромозоми кои се користат како индикатори за евентуалните хромозомски оштетувања од генотоксични агенси (Василевска,2005).Станува збор за едноставни, веродостојни и осетливи тестови бидејќи со нив можат да се детектираат оштетувања во молекулата на ДНК и дополнителни реаранжмани на генетскиот материјал во клетката.

---

Имено, здравствените установи се места наменети за дијагностицирање, лекување и третман на болести, синдроми и состојби од секаков тип, а здравствените работници пак, имаат посебна одговорност во општеството која произлегува од вршењето на својата дејност во овие установи. Затоа нивните систематизирани обврски се посебно важни во вршењето на работата и работните задачи, и се темелат врз високата стручност, етика и хуманост. Безбедност и здравјето при работа недвосмислено претставуваат промислен пристап при заштеда на финансиски и материјални средства, како на вработените, работодавачите (компензација за лекување, казни за непримена на заштитни мерки, итн.).

Безбедноста на работа и здравјето на професионално експонираните работници, не претставува само формален пристап со кој заедницата сака да ја декларира својата определба за унапредување на животната и работната средина и благосостојбата на работниците.

Напротив, безбедноста при работа е многу економски ориентирана категорија со која треба да се заштитат интересите на работниците, на установите, на осигурителните компании за здравство и за пензиско осигурување, на здравствените организации и конечно на самата заедница. Заштита треба да биде насочена кон јасно декларираната обврска дека тој што го создава ризикот треба да ја преземе одговорноста, но и сите мерки за негово минимизирање. Оттука произлегува и обврската да се компензираат последиците што произлегуваат од несоодветните програми за намалување и елиминирање на негативните ефекти. Препорачаните состојки се бета-каротен, витамини Е и Ц, како и селен, присутни во храната и како комерцијални препарати (Burcham, 1999) За вршење на управните и стручните работи од областа на заштитата од јонизирачкото зрачење одговорна е Дирекција за радијациона сигурност. Дирекцијата практично, води постапка на пријавување, регистрација издавање на дозвола и контрола на изворите на јонизирачкото зрачење, во согласност со законските правила и прописи.

---

## 1.5. Генотоксичност (Genotoxicity)

Генотоксичноста е предмет на проучување на генотоксикологијата, која е гранка на токсикологијата која проучува дејството на физички и хемиски агенси (штетно дејство на разни агенси) врз наследниот материјал.

Нови истражувања во областа на медицина, биохемија и фармацијата го проучуваат дејството на бројни нокси на клеточно, субклеточно, молекуларно и генско ниво, каде што дават одговор на дејството на бројни ендогени/егзогени агенси. Врз основа на тоа, оваа гранка на токсикологијата добива се големо значење.

Ген е дел од молекулата на DNK кој е одговорен за синтеза на одредени протеини и контролира ги наследните особини. Генот содржи низа генски кодови и големината на “генскиот локус” изнесува од 600-1800 нуклеотиди.

Поделба на генско оштетување:

1. Генски мутации (промени на DNK, супстанците што ги предизвикуваат се МУТАГЕНИ)
2. Хромозомски аберации (промени во структурата на хроматински материјал, супстанците што ги предизвикуваат се КЛАСТОГЕНИ)
3. Анеуплоидија и полиплоидија (промени во бројот на хромозоми, супстанците што ги предизвикуваат се АНЕУГЕНИ)

- In vitro и in vivo методи:

Во зависност од истражувањето, in vitro методите можат да бидат најпогодни методи во одредени области на истражување, поради тоа што можат да дадат најточни податоци што ни се потребни (на клеточно и молекуларно ниво).

---

In vitro методите на истражувачите им помагаат за прецизно утврдување, како и зошто одредени фактори предизвикуваат или спречуваат појава на одредени болести.

Предностите на in vitro метода:

- Контролирани услови на истражување
- Можат да се користат хумани клетки и ткива
- Се намалува испитување на експериментални животни
- Ограничен токсичен ефект
- Брзо тестирање (евтино)
- Мало количество на материјал за тестирање

Недостатоците на in vitro метода:

- Хроничните ефекти не можат да се утврдат
- Фармакокинетика не може да се анализира
- Сензибилноста на одредени органи не може да биде предвидена
- Генерализирани токсични ефекти не можат да се утврдат
- Интеракциите помеѓу ткива и органи не можат да се испитуваат.

In vivo методи:

- хумани студии;
- анимални студии.

Без оглед на тип на студија, постојат принципи кои треба да се почитуваат (одобрување на етички комитет, добра клиничка и научна пракса). Предностите на in vivo студија:

Со тестирање на фактори кај животинските модели, на истражувачите им се овозможува подобра контрола од колку со луѓето, на тој начин они потполно можат да контролираат фактори на кој што се изложени експериментални животни.



---

Недостатоците на in vivo студија:

Иако многи биолошки процеси можат да бидат слични, некои од нив што се случуваат кај експериментални животни не се случуваат на ист начин кај човекот и обратно.

- Генотоксични агенси:

Генотоксичните агенси изазиваат летални и наследни промени во генетичкиот материјал на полови или соматски клетки. Промените можат да бидат:

1. Акутни (смрт, некроза, невролошки ефекти, иритација)
2. Субакутни (метаболичко пореметување, промени во понашање, тератогени ефекти, промени во репродуктивните способности)
3. Хронични (карциногенеза, иреверзибилни промени на ткива)

Поделба на генотоксични агенси:

- Агенси од природно потекло
- Агенси во индустриски процеси
- Фармацевтски производи
- Пестициди
- Агенси во вода и храна



---

## 1.6. Тестирања (Tests)

Општите услови за заштита од јонизирачкото зрачење и обезбедување на сигурноста на изворите на јонизирачкото зрачење, треба да обезбедат нормална изложеност во рамките на границите на дозите што ги пропишува Дирекцијата и во согласност со основните принципи на радијационата заштита (Василевска,2005).

Во избор на тестовите потребно е да се следат следниве критериуми:

1. Брзина на изведување;
2. Едноставност;
3. Економичност ;
4. Повторливост;
5. Осетливост.

Институциите како што се OECD-Organisation for Economic Cooperation and Development; Организација на економска соработка и развој),EEMS-European environmental mutagenesis society; европска организација за срединска мутагенеза),WHO-World Health Organization; светска здравствена организација),предлагаат три основни групи на тестови:

1. Тестови за детекција на генски мутации;
2. Тестови за детекција на хромозомски аберации;
3. Тестови за детекција на ефекти на ниво на DNK.

Тестови за детекција на генски мутации:

- Тест на повратни мутации на бактерија *Salmonella typhimurium* (Амесов тест)
- Тест на повратни мутации на бактерија *Echerichia coli*

- 
- Тест на генски мутации кај цицачи
  - Тест на полно-врзани рецесивни летални мутации кај *Drosophila melanogaster*
  - Тест на генски мутации на квасец *Saccharomyces cerevisiae*
  - Тест на специфичен локус кај глушец

Овие тестови се едноставни, брзи и даваат сигурни податоци.

Тестови за детекција на хромозомски аберации:

- In vitro цитогенетички тест
- In vivo цитогенетички тест
- Микронуклеус тест
- Цитогенетички тест на полови клетки кај цицачи
- Тест на наследни транслокации

Тестови за детекција на ефектите на ниво на DNK:

- DNA оштетување и поправка
- Непрограмирана DNA синтеза
- Митотичка рекомбинација
- Тест на промена на сестрински хроматиди in vitro
- Комет тест

---

Хромозомските мерењана оштетувања се едни од најважните начини за да се оцени токсичност, канцерогеност, мутагеност и на лекови, хемикалии, и зраци.

Микронуклеусниот тест овозможува да се видат абнормални нуклеарни форми (ANS). Овој термин вклучува микронуклеуси (MNI), нуклеоплазматични мостови (nucleoplasmic bridges-NPBs) и нуклеарни пупки (nuclear buds-NBUDs) и е поврзан со митотична нестабилност (Fenech, 2007). CBMN анализата е погоден и стандардизиран тест за проценка на генотоксичност и ефекти од тоа. Микронуклеусниот тест во хумани лимфоцити е еден од најчесто користените методи за мерење на оштетувањето на ДНК.

Неодамна некои објавени студии покажаа дека зрачењето на човечки ткива дава одговор, кој е многу сложен и најчесто е непредвидлив, бидејќи многу фактори може да се влијае на човечкиот одговор на јонизирачко зрачење. Многу извори на јонизирачко зрачење, вклучувајќи  $^{60}\text{Co}$ , претставуваат значајна опасност за здравјето на луѓето и изложеноста на овие извори резултира со бројни повреди и смртни случаи во светот. Хематолошките ткива, особено лимфоцитите, се едни од ткивата кои се најчувствителни на јонизирачко зрачење.

---

- **Микронуклеусниот тест (Micronucleus test)**

Микронуклеусниот тест практично се изведува врз самостојни хроматински структури, преку кондензација на ацентрични хромозомски фрагменти или цели хромозоми.

При изведба на овој тест следува 72 часовно култивирање-фитохемаглутинин, преку инхибитор на цитокиназата, или цитохлазин В, каде се лизираат еритроцитите со помош на хипотоничен р-р на KCl, а талогот со лимфоцити се прочистува со неколкукратни центрифугирања и фиксирања на клетките (метанол и ацетоцента киселина 3:1)(Burcham,1999). Понатаму се капнува на предметно стакло и се суши на собна температура, по што се бои со Гимза. Во 1000 бинукларни лимфоцити се одредува вкупниот број на микронуклуси, каде горната граница на референтни вредности изнесува 13 микронуклуси на 1000 бинуклеарни клетки. Може да се истакне дека микронуклусниот тест овозможува потполно сигурна идентификација на анеуплодија во лимфоцитите, клетките на коскената срцевина и епителните клетки на горните дишни патишта или уринарниот тракт.

- Постојат и други веродостојни и осетливи тестови бидејќи со нив можат да се детектираат оштетувања во молекулата на ДНК и дополнителни реаранжмани на генетскиот материјал во клетката и ткивата. Иако дијагнозата генерално се поставува врз основа на морфологијата, потврда на истата се базира врз цитогенетски и молекуларни ДНК анализи. Кај над 95% пациенти цитогенетските анализи откриваат транслокација t(15;17) (21;11). Молекуларните ДНК анализи откриваат преуредување на ПМЛ/РАР $\alpha$  генот. Имено, во последните неколку години, човекот вештачки произвел неколку стотини радионуклеиди. Најчесто истите се користат во медицински (дијагностички и терапевтски цели), при што се наведува податокот дека во индустриски развиените земји

---

годишно на секои 1000 жители се вршат 300-900 рентгенски прегледи (кај земјите во развој таа бројка е значајно помала 100-200/1000 жители). Просечната еквивалентна доза од сите радијациони прегледи, во индустриските земји изнесува околу 1 mSv/годишно, што одговара на приближно половина доза која се прима од природните извори.

---

## 2. Цел на истражување (Purpose of research)

Целта на ова истражување е да се изврши:

1. квантификација и квалификација на микронуклеуси во лимфоцити кај медицинскиот персонал;
2. утврдување на генотоксичност на јонизирачко зрачење со помош на микронуклеусниот тест;
3. утврдување на бројот на микронуклеуси кај испитаници од различна возраст, пол, работен стаж, пушачи-непушачи;
4. да се укаже на важноста од примената на микронуклеусниот тест како стандардизирана цитогенетска метода и важен биомаркер во детекцијата на влијанието на јонизирачките зраци врз целокупниот генетски материјал кај професионално изложени здравствени работници.

Со примена на микронуклеусниот тест ќе се изврши квантитативна и квалитативна анализа на бинуклеарни лимфоцити и детекција на микронуклеуси како сигурни индикатори за евентуалните хромозомски оштетувања.

---

### 3. Материјал и методи (Material and methods)

Постапките и текот на истражувачката работа беа претходно одобрени од страна на Етичкиот комитет на Факултетот за медицински науки при Универзитетот „Гоце Делчев“ во Штип, и се во склад со Декларацијата на Хелсинки (1984). Во истражувањето се вклучени 12 испитаници (7 мажи и 5 жени) и истите се на возраст од 45-60 години кои доброволно прифатија давање на полна венска крв за спроведување на цитогенетската анализа. Испитаниците беа информирани за целта на истражувачката работа и им беа објаснети потцелите на трудот. Целокупната организација на истражување, комуникација со испитаниците, земањето крв, постапките при ракувањето со примероците на крв во лабораторијата, условите и третманот на добиените резултати се вршеа во согласност со етичките начела соодветни за биомониторинг на хумана популација. Испитаниците беа одберени врз основа на вреднување на податоците собрани со стандардизирана анкета т.е. анкетен прашалник за цитогенетски истражувања. Прашалникот содржи основни анамнестички податоци, информации за начин на живот, животни навики (пушење, консумирање алкохол), терапии во последната година, наследни болести итн. Медицински лаборант од испитаниците вршеше минимално земање на количество венска крв од кубитална вена, која се чуваше во хепаризирани епруветки (V=5ml). Венепункцијата се вршеше во утринските часови и примероците беа чувани во фрижидер на 4°C сè до нивна обработка која беше спроведна во рок од 24 часа.

За MN-тестот е применет стандарден протокол според Fenech (2000), при што 0,5ml примерок на хепаризирана полна крв беше ставен во епруветки кои содржат 4,5ml на RPMI 1640, основа збогатена со 20% фетален серум и 0,2 ml 1% фитохемаглутинин кој придонесува за делба на клетките. Епруветите беа центрифугирани во времетраење од неколку минути, а потоа се инкубираа за време од 44 часа на температура од 37°C во соодветна аранжирана позиција. Во секоја култура беше додаден цитохлазин Б со концентрација од 3ml за да ја спречи цитокинезата (клеточната делба), по што културите се инкубираа дополнително уште 24 часа. Потоа клетките беа одвојувани со центрифугирање на 1500 вртежи во минута за време од 10



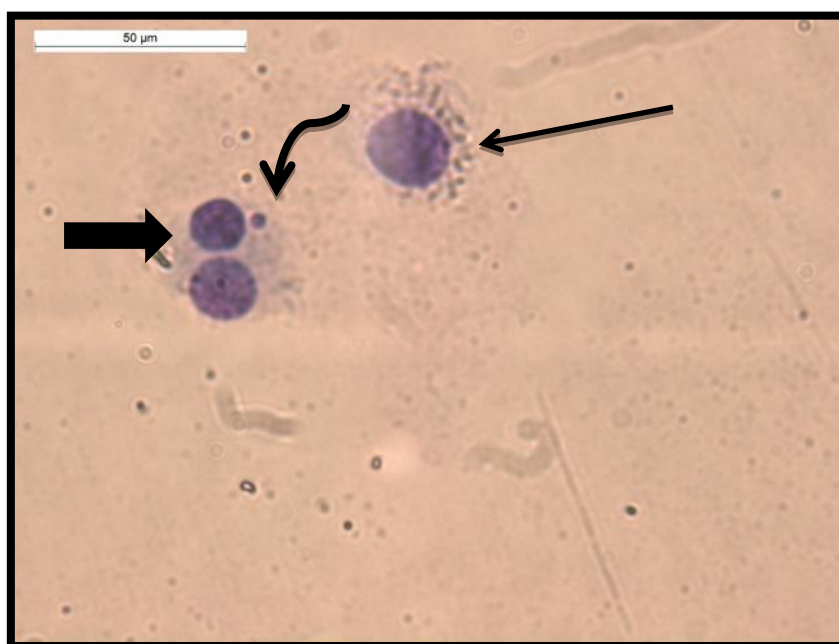
---

минути. Супернатантот (одвоената течност) се одвојува со пипетирање со цел да остане што помал дел. Клеточниот концентрат се ресуспендира со остатоците од супернатантот. 10 ml на млак хипотоничен раствор беше додаден внимателно во секоја епрувета при што тие се центрифугираа и инкубираа за време од 30 min во водена бања на 37°C. Епруветите, пак, беа центрифугирани на 1500gmp за време од 10 минути, супернатантот беше отфрлен, концентратот се ресуспендираше со остатоците од супернатантот, а постепено во секоја епрувета беа додадени 5 ml врзивен раствор. Епруветите беа ставани во фрижидер во времетраење од 30 минути. Истите се центрифугираа, а супернатантот се одвојуваше. Фиксативните постапки беа повторувани дополнително уште три пати. По завршеното центрифугирање, клетките се ресуспендираа во мал волумен на фиксативен раствор (приближно 0,5 – 1 ml) зависно од волуменот на клеточниот концентрат со цел да се добие малку заматен раствор. Во микроскопската лабораторија при Универзитетот „Гоце Делчев“ во Штип беа анализирани бинуклеарни лимфоцити со сочувана мембрана и цитоплазма. Се користеше микроскоп со поларизирана светлина од типот Leica DM4500 P (x40 and x100).

---

### 3.1. Микроскопска анализа (Microscopic analysis)

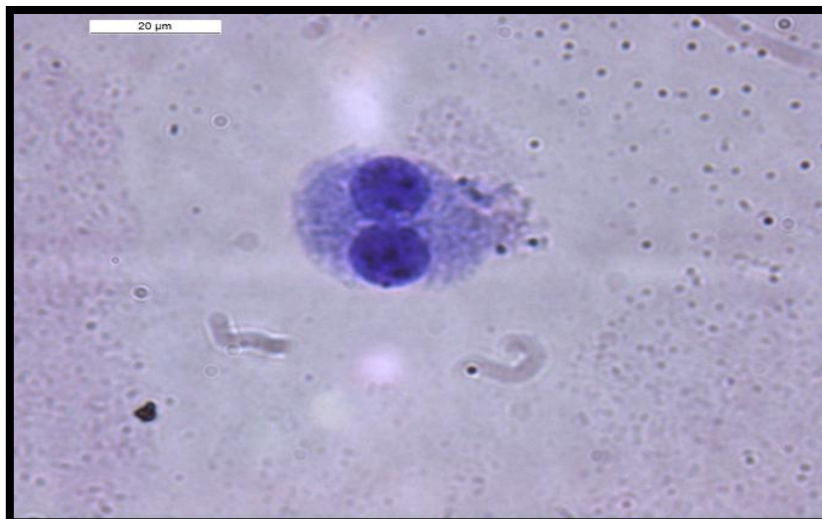
Анализите на микронуклеусите беа извршени на 1000 бинуклеарни лимфоцити по пациент. Покрај тоа, клетките беа класифицирани како мононуклеарни (Сл.1), бинуклеарни (Сл.1,Сл.2,Сл.3,Сл.4,Сл.5), или мултинуклеарни (Сл.6,Сл.7,Сл.8).



(Слика.1.)

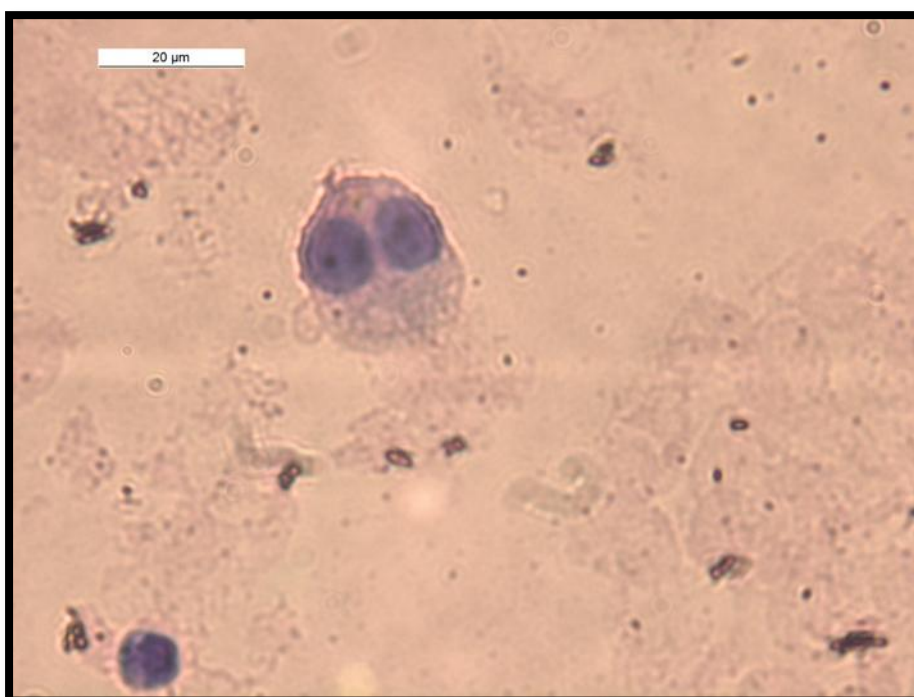
Мононуклеарни лимфоцити ↑ ; бинуклеарни лимфоцити ↑↑ ;  
микронуклеус ↙

Практично, беа анализирани само клетки со јасно видлива цитоплазма и приближно слична големина на јадра.



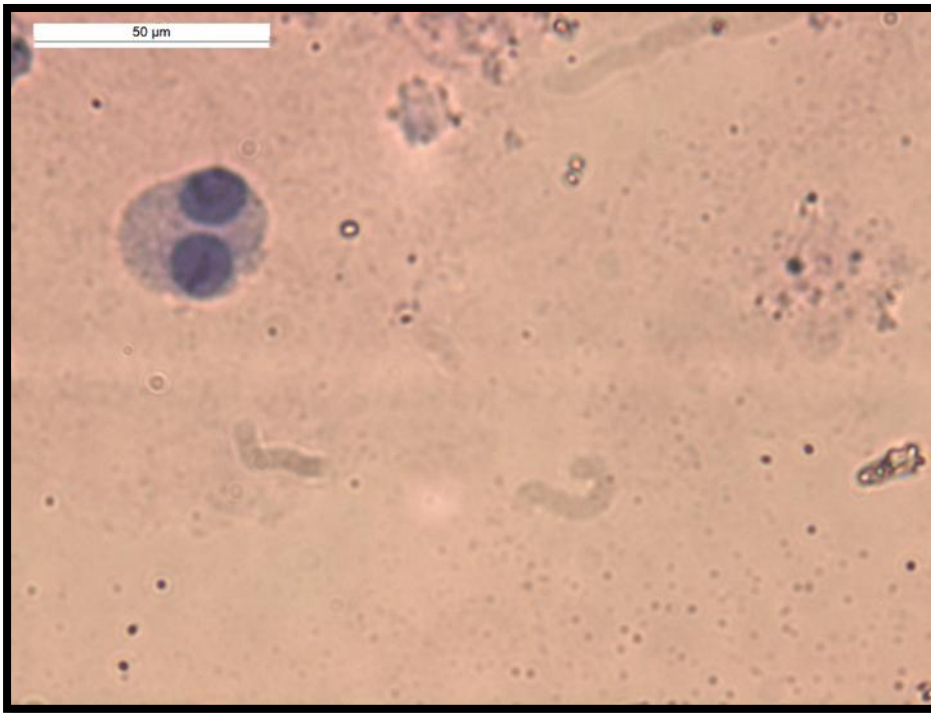
Слика 2.

Бинуклеарен лимфоцит



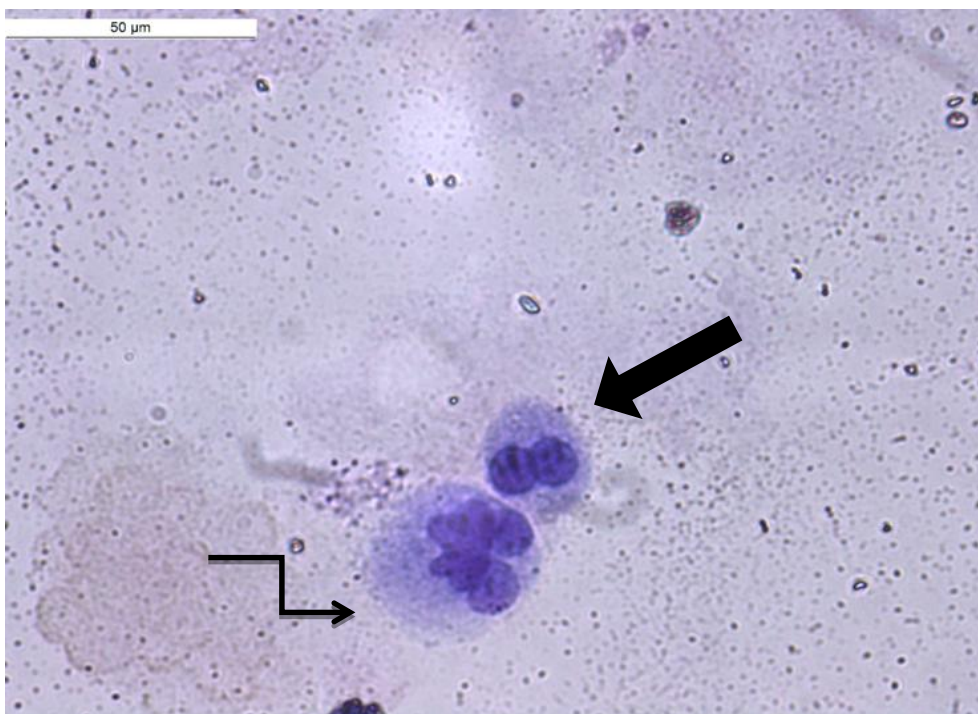
Слика 3.

Бинуклеарен лимфоцит



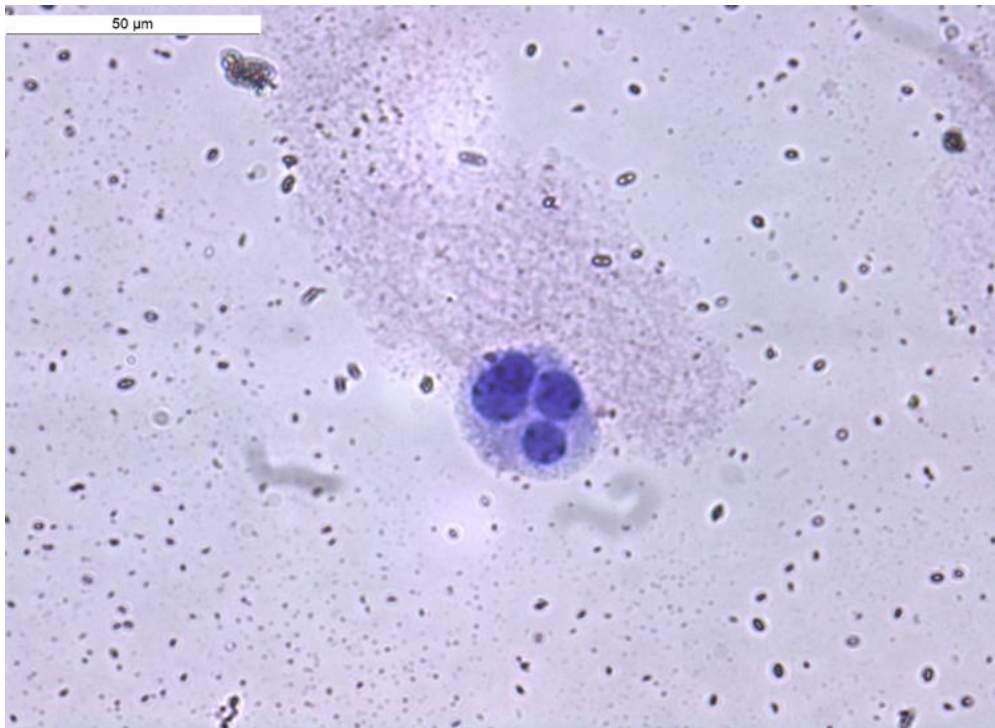
Слика 4.

Бинуклеарен лимфоцит



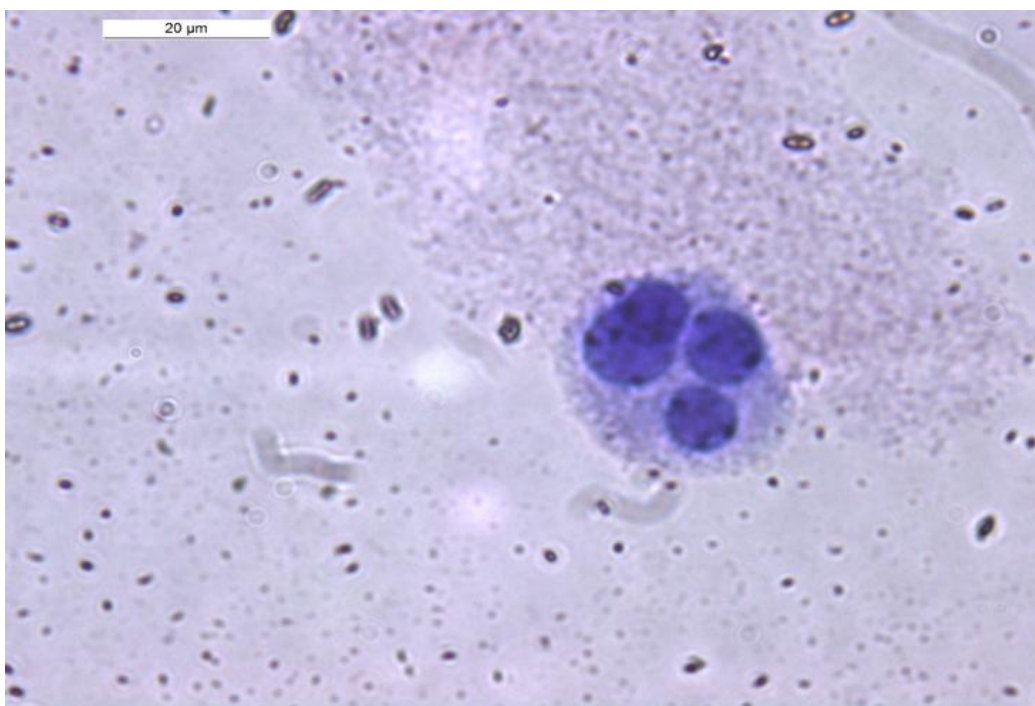
Слика 5.

Бинуклеарни ↓ и мултинуклеарни ↘ лимфоцити



Слика 6.

Мултинуклеарни лимфоцити



---

Слика 7.

Мултинуклеарни лимфоцити

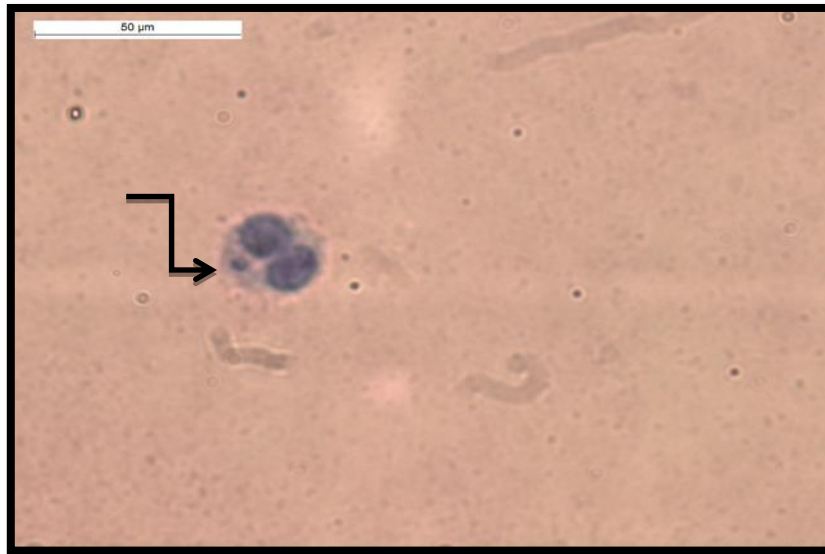


Слика 8.

Мултинуклеарни лимфоцити

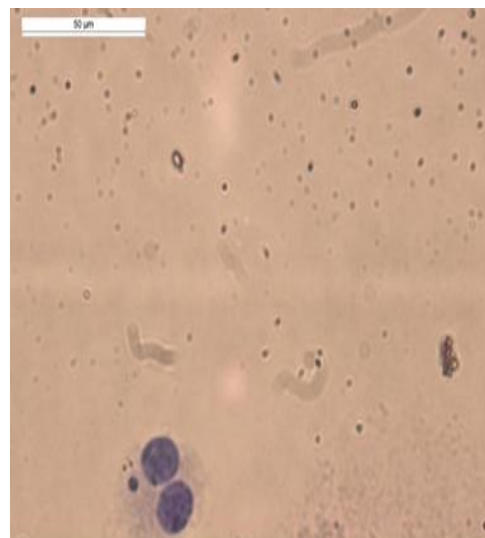
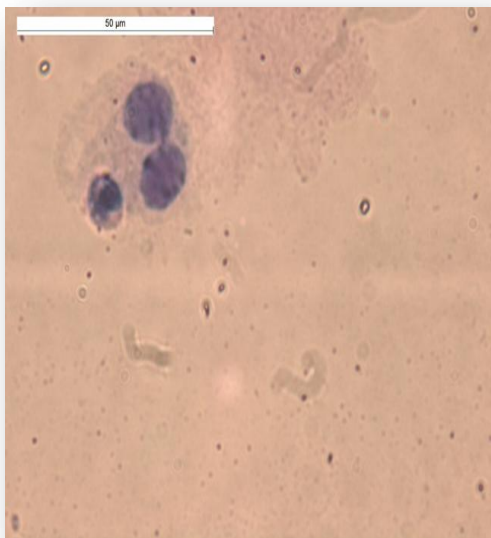
При евидентирањето на микронуклеусите во предвид беа земани само бинуклеарни лимфоцити во кои микронуклеусот се регистрира како дополнително јадро со големина од  $1/16$  до  $1/3$  од останатите јадра со иста коегзистенција како и нив (сл.5).

Исто така сретнавме и појава на микронуклеуси во мононуклеарни лимфоцити (сл.6) Во принцип ваквите јадра (микронукелуси) претставуваат материјал од самиот геном којшто не е вклопен со останатиот генетски материјал.



Слика 9 .

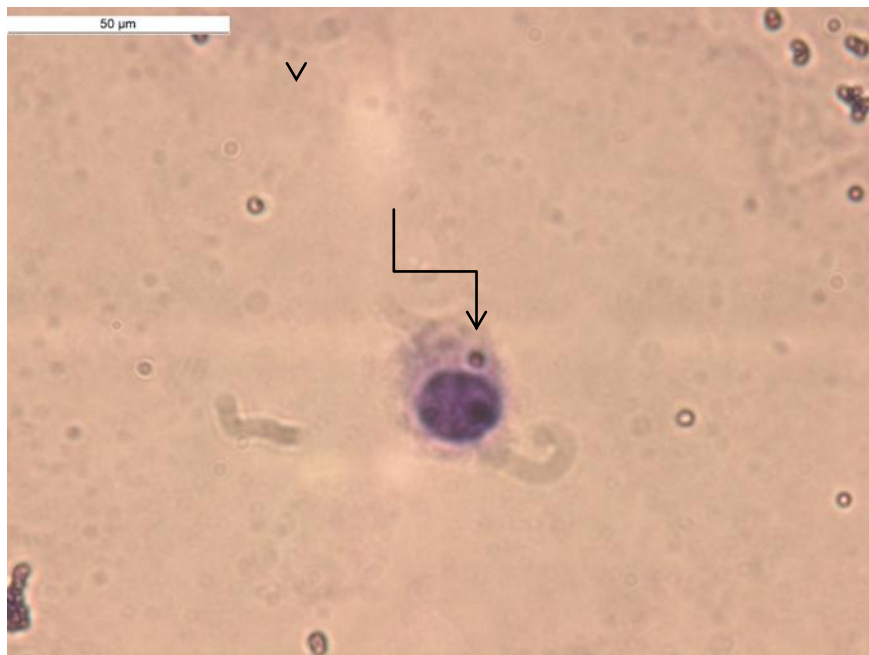
Микронуклеус во бинуклеарен лимфоцит



---

Слика 10.,Слика 11.

Микронуклеус во бинуклеарен лимфоцит



Слика. 12

Микронуклеус во моноклеарен лимфоцит



---

#### 4. Резултати и дискусија (Results and discussion)

Резултатите од оваа професионално истражување, покажуваат дека вкупниот број на микронуклеуси утврдени во 1000 бинуклеарни лимфоцити изнесува од 5-23. Табелата покажува дека зголемен број на микронуклеуси е евидентирано главно кај работници кои имаат работен стаж поголем од 15год. и се на возраст над 50год. Евидентно е што зголемен број на микронуклеуси евидентираваме кај пушачи во споредба со непушачите. Исто така кај жени кои се на возраст над 50 год. забележавме зголемен број на микронуклеуси во споредба со мажите на истата возраст.

Примерок	Испитувана група				
	М/Ж	ГОДИНИ	ПРОФЕСИОНАЛНА ЕКСПОЗИЦИЈА	П/НП	МН
1.	М	50	15	НП	5
2.	Ж	59	35	П	18
3.	Ж	50	25	П	21
4.	М	48	27	П	9
5.	М	45	17	НП	8
6.	Ж	57	33	П	19
7.	М	45	16	НП	8
8.	Ж	60	35	П	18
9.	М	46	16	П	19
10.	М	55	25	НП	6
11.	М	59	32	П	23
12.	Ж	60	30	П	19
ВКУПНО					173
СР.ВРЕД					12

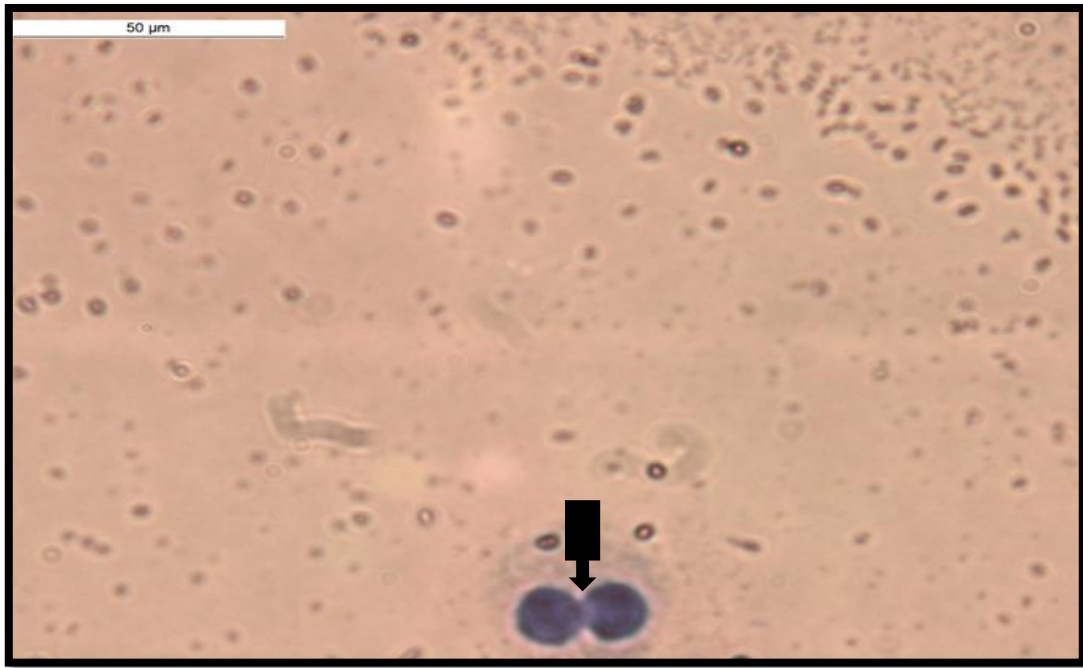
Табела. 1. Резултати од истражувањето

---

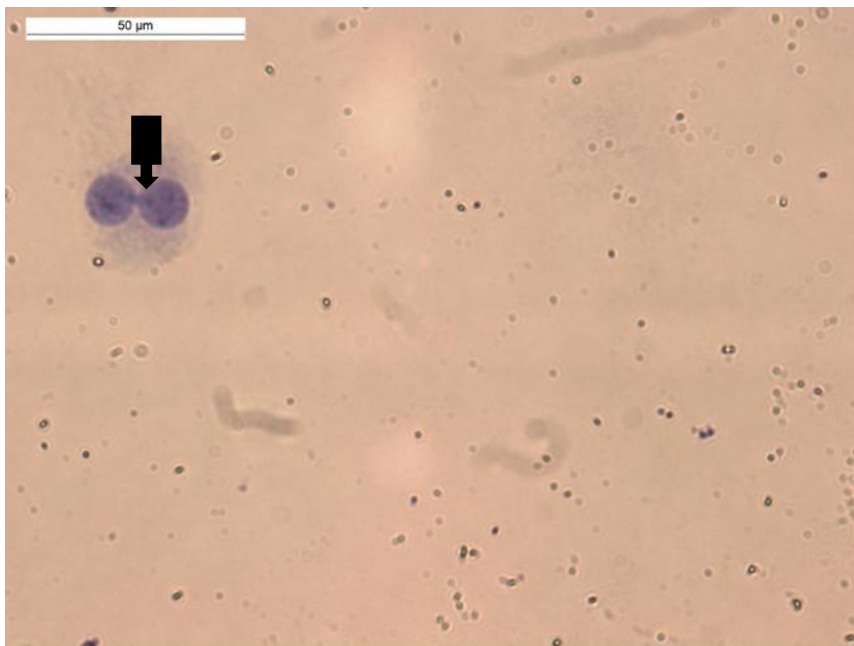
Од друга страна, постојат и низа други истражувања на оваа тематика. Имено, истражувањата на Корџаг et al., (2010) укажуваат дека средната медијална вредност на микронуклеуси кај општа здрава популација во Хрватска изнесува 7 микронуклеуси на 1000 бинуклеарни клетки, додека вкупниот број се движи од 4-12 микронуклесии.

Исто така овие истражувања потврдуваат дека навиката за пушење како параметар влијае на бројот на микронуклеусите кај општата популација во Хрватска. Пушачите на возраст од 31-40 год. имале 27% повеќе микронуклеуси во споредба со непушачите.

Имено, појавата на микронуклеуси е важен индикатор и параметар во сите генотоксиколошки истражувања, истиот укажува на оштетувања на геномот и цитогенетски промени кои се акумулирани во подолг временски период и кои укажуваат за стабилноста на генетската конфигурација (Murgia, 2008). Истиот параметар укажува на оштетувања во молекулата на ДНК или хромозомите, како и промени во клеточната делба. Понатаму, освен појавата на микронуклеуси во предвид беа земени и други цитогенетски промени кои упатуваат на нестабилност во геномот и ризик од појава на канцер (Fenech, 2007). Од сите тие кај овие испитаници регистриравме појава на нуклеоплазматични мостови (сл.13,сл.14), нуклеарни пупки (сл.15) на самата јадрена мембрана и појава на мултинуклеарни клетки.



Слика 13.  
Нуклеоплазматични мостови



Слика 14.  
Нуклеоплазматични мостови



Слика 15.

#### Нуклеарни пупки

Понатаму, за спроведување на биомониторинг неопходно е да се располага со сензитивни и специфични аналитички методи.

Тоа значи можност да се одредат хемиските супстанции и/или нивните метаболити во многу ниски концентрации и во релативно мали количини на примероците од биолошкиот материјал. Лабораторијата за здравствена екологија во Центарот за контрола и превенција на болестите (CDC-Centers for Disease Control and Prevention) во САД, во рамките на својата програма за биомониторинг врши одредување над 200 хемиски супстанции и/или нивните разградни продукти во крвта, серумот или урината и тоа во примероци чии количини се движат од 5  $\mu$ L до 5 mL од биолошкиот материјал (WHO-World Health Organization, 2002). Со тоа тие го утврдуваат нивото на непрофесионална изложеност на нивната општа популација. Врз основа на овие податоци, може понатаму да се одреди дополнителното учество на професионалната експозиција во вкупната експозициска доза кај испитуваните работници.

---

## 5. Заклучок (Conclusion)

Резултатите од оваа професионално истражување, покажуваат дека вкупниот број на микронуклеуси утврдени во 1000 бинуклеарни лимфоцити изнесува од 5-23. Табелата покажува дека зголемен број на микронуклеуси е евидентирано главно кај работници кои имаат работен стаж поголем од 15год. и се на возраст над 50год. Евидентно е што зголемен број на микронуклеуси евидентиравме кај пушачи во споредба со непушачите. Исто така кај жени кои се на возраст над 50 год. забележавме зголемен број на микронуклеуси во споредба со мажите на истата возраст.

Имено, појавата на микронуклеуси е важен индикатор и параметар во сите генотоксиколошки истражувања, истиот укажува на оштетувања на геномот и цитогенетски промени кои се акумулирани во подолг временски период и кои укажуваат за стабилноста на генетската конфигурација. Истиот параметар укажува на оштетувања во молекулата на ДНК или хромозомите, како и промени во клеточната делба. Понатаму, освен појавата на микронуклеуси во предвид беа земани и други цитогенетски промени кои упатуваат на нестабилност во геномот и ризик од појава на канцер. Од сите тие кај овие испитаници регистриравме појава на нуклеоплазматични мостови (сл.13,сл.14), нуклеарни пупки (сл.15) на самата јадрена мембрана и појава на мултинуклеарни клетки.

Цитогенетскиот мониторинг во хуманата популација укажува дека хроничната изложеност на организмот на различни физички и хемиски агенци покажува потенцијална генотоксичност т.е. влијае врз генетскиот материјал на експонираната индивидуа. Тоа значи дека поголеми дози од овие агенци дејствуваат летално, токсично или канцерогено, додека малите дози можат да имаат кумулативен ефект, да се одржуваат подолг временски интервал и последиците да се забележат во некои од наредните генерации.

---

## Користена литература (References)

1. Burcham PC. Internal hazards: baseline DNA damage by endogenous products of normal metabolism. *Mutat Res* 1999;443:11-36.
2. Василевска, М., 2005. Цитогенетски статус на некои растителни видови од природни и култивирани популации во загадена и чиста животна средина. Магистерски труд. Скопје.
3. Grover, I.S., Kaur, S. 1999. Genotoxicity of wastewater samples from sewage and industrial effluent detected by the *Allium* root anaphase aberration and micronucleus assays, *Mutation Res.*
4. Дуанчиќ Вјекослав, „Основе хистологије човека“ - Медицинска књига Београд-Загреб 1983.
5. Кочубовски Михаил, „Хигиена со медицинска екологија“, 2011.
6. Layman LC. Human gene mutations causing infertility. *J Med Genet* 2002.
7. Miller B, Nusse M. Analysis of micronuclei induced by 2-chlorobenzylidene malonitrile (CS) using fluorescence in situ hybridization with telomeric and centromeric DNA probes and flow cytometry. *Mutagenesis* 1993.
8. Murgia E, Ballardini M, Bonassi S, Rossi AM, Barale R. Validation of micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes as early cancer risk biomarker in a nested case-control study. *Mutat Res* 2008;639:27-34.
9. Robbins *Pathologic Basis of Disease*, Cotran, Kumar, Robbins, 4th Edition, 1999.
10. Romanenko, V., Stoyka, Y., Cytogenetic methods in biomonitoring of surface waters, Institute of Hydrobiology of National Academy of Sciences of Ukraine, Geroev Stalingrada ave., 12, Kiev.
11. Stefanovska H., 2009, *Allium* тест за акутна токсичност на отпадните води, дипломска работа
12. Tucker, JD, Preston RJ. Chromosome aberrations, micronuclei, aneuploidy, sister chromatid exchanges and cancer risk assessment. *Mutat Res* 1996;365:147- 59.
13. Fenech M, Morley AA. Kinetochores detection in micronuclei: an alternative method for measuring chromosome loss. *Mutagenesis* 1989.

- 
14. Fenech M. Important variables that influence base-line micronucleus frequency in cytokinesis-blocked lymphocytes a biomarker for DNA damage in human populations. *MutatRes* 1998;404:155-65.
  15. Heddle JA, Cimino MC, Hayashi M, Romagna F, Shelby MD, Tucker JD, Vanparys PH, MacGregor JT. Micronuclei as an index of cytogenetic damage: past, present, and future. *Environ Mol Mutagen* 1991;18:277-91.
  16. WHO. *Environmental Health in Emergencies and Disasters: A Practical Guide*. 2002: Geneva.