



Кривцова Е.К., Ингель Ф.И., Ахальцева Л.В.

## Цитомный анализ: современный универсальный инструмент медико-биологических и эколого-гигиенических исследований (обзор литературы). Часть 2\*

ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью»  
Федерального медико-биологического агентства, 119121, Москва, Россия

*Во второй части обзора приведены примеры использования цитомного анализа как на лимфоцитах периферической крови, так и на эпителиоцитах человека при изучении профессиональных рисков, а также воздействия на геном таких вредных привычек, как употребление алкоголя и табака. Большое внимание уделено применению цитомного анализа в эколого-гигиенических исследованиях при изучении влияния на население как природных, так и антропогенных, особенно производственных, факторов. Подробно изложен метод цитомного анализа на первичной культуре лимфоцитов периферической крови человека в условиях цитокинетического блока (CBMN-цит тест) в его современном состоянии, а также кратко отражена история его развития. Разобран также метод цитомного анализа на букальных эпителиоцитах человека (BMN-цит). В обзоре приведены микрофотографии нарушений клетки, являющихся показателями этих тестов. При подборе литературы использованы базы данных PubMed, Web of Science, ResearchGate, Scopus, eLibrary.*

**Ключевые слова:** обзор; цитомный анализ; лимфоциты; букальные эпителиоциты; эколого-гигиенические исследования

**Для цитирования:** Кривцова Е.К., Ингель Ф.И., Ахальцева Л.В. Цитомный анализ: современный универсальный инструмент медико-биологических и эколого-гигиенических исследований (обзор литературы). Часть 2. *Гигиена и санитария*. 2021; 100(11): 1333-1338. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-11-1333-1338>

**Для корреспонденции:** Кривцова Елена Константиновна, науч. сотр. отд. профилактической токсикологии и медико-биологических исследований НИИ ЭЧ и ГОС им. А.Н. Сысина ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, 119121, Москва. E-mail: EKrivcova@cspmrz.ru

**Участие авторов:** Кривцова Е.К. — поиск источников литературы, анализ и интерпретация данных литературы, написание текста; Ингель Ф.И. — концепция и дизайн исследования, поиск источников литературы; Ахальцева Л.В. — поиск источников литературы, анализ и интерпретация данных литературы. Все соавторы — утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила: 27.04.2021 / Принята к печати: 28.09.2021 / Опубликована: 30.11.2021

Elena K. Krivtsova, Faina I. Ingel, Lyudmila V. Akhaltseva

## Cytomic analysis: a modern universal tool for biomedical and ecological and hygienic research (literature review). Part 2

Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks of the Federal Medical Biological Agency,  
Moscow, 119121, Russian Federation

*In the second part of the review, examples of cytoanalysis on both peripheral blood lymphocytes and human buccal epitheliocytes are given in the study of occupational risks and investigation of genome instabilities induced by alcohol and tobacco use. Much attention is paid to the cytoanalysis application in environmental and hygienic research and the studies directed to evaluating natural and anthropogenic load to the human population, especially industrial, factors. The method of cytoanalysis on primary culture of human peripheral blood lymphocytes cultivated with a cytokinetic block (CBMN-cyt test) in its current state is described in detail, and the history of its development is briefly reflected. The method of cytoanalysis on human buccal epitheliocytes (BMN-cyt) is also analyzed. The review contains photomicrographs of genetic cell damages that are markers in micronuclei (MN) tests. We used PubMed, Web of Science, ResearchGate, Scopus, eLibrary databases as the sources of literature.*

**Keywords:** review; cytoanalysis; lymphocytes; buccal epitheliocytes; ecological and hygienic research

**For citation:** Krivtsova E.K., Ingel F.I., Akhaltseva L.V. Cytomic analysis: a modern universal tool for biomedical and ecological, and hygienic research (Literature review). Part 2. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2021; 100(11): 1333-1338. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-11-1333-1338> (In Russ.)

**For correspondence:** Helena K. Krivtsova, MD, researcher of the Department of Preventive Toxicology and Biomedical Research in the Centre for Strategic Planning of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, 119121, Russian Federation. E-mail: EKrivcova@cspmrz.ru

### Information about authors:

Krivtsova E.K., <https://orcid.org/0000-0002-5039-8980>

Ingel F.I., <https://orcid.org/0000-0002-2262-6800>

Akhaltseva L.V., <https://orcid.org/0000-0002-3619-3858>

**Contribution:** Krivtsova E.K. — search of literature sources, analysis and interpretation of literature data, writing a text; Ingel F.I. — the concept and design of the study, a search of literature sources; Akhaltseva L.V. — search of literature sources, analysis and interpretation of literature data. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgement.** The study had no sponsorship.

Received: April 27, 2021 / Accepted: September 28, 2021 / Published: October 31, 2021

Нестабильность генома имеет огромное значение для понимания природы и механизмов патологических процессов, в том числе в организме человека. Нарушения генетического аппарата являются важнейшим результатом неблагоприятного воздействия внешних факторов на организм, а следовательно, показатели нестабильности генома могут служить биомаркерами при изучении опасности различных воздействий. В частности, цитомный анализ находит широкое применение при оценке профессиональных рисков. Так, повышение частоты микроядер (МЯ) в лимфоцитах периферической крови и буккальных эпителиоцитах выявлено у медицинских работников, подвергающихся воздействию закиси азота в операционных [1] и противоопухолевых препаратов [2, 3]. Данные ряда цитогенетических исследований указывают на повышенный уровень повреждений ДНК, в том числе с образованием МЯ, у медицинских работников, подвергающихся хроническому воздействию низких доз ионизирующего излучения при выполнении диагностических процедур [4]. В исследовании [5] выявлено достоверное увеличение частоты МЯ в культуре лимфоцитов периферической крови работников ядерной медицины, подвергающихся хроническому ионизирующему излучению от 1,2 до 48,56 мЗв, в период работы по сравнению с отпускным периодом. Увеличение показателей генотоксического и цитотоксического воздействия рабочей среды отмечалось у рабочих добывающей и деревообрабатывающей промышленности [6, 7], у подвергающихся воздействию цементной пыли [8] и пестицидов [9], у сварщиков [10], причём в последнем случае возрастание частоты МЯ и показателей цитотоксичности ассоциировалось с повышенным содержанием некоторых тяжёлых металлов в биологических жидкостях испытуемых. Повышенная частота ядерных аномалий была найдена у лиц, занятых на сборе и переработке мусора в Бразилии [11]. Нужно отметить, что для исследований в этой области наиболее эффективным часто оказывается анализ клеток буккального и назального эпителия, что связано с ингаляционным путём воздействия токсических веществ [2].

Активно изучается поступление токсикантов в организм человека при потреблении алкоголя, курении и их негативное влияние на состояние стабильности генома. Например, исследование с участием 200 человек выявило значимо более высокую частоту МЯ в буккальных эпителиоцитах у людей, жующих табак, по сравнению с курильщиками и контрольной группой [12]. Частота МЯ повышалась с увеличением продолжительности и интенсивности потребления табака [13]. У курящих обследуемых частота МЯ и ядерных почек в культуре лимфоцитов крови была выше, чем у некурящих, при этом показатели значимо отличались только у мужчин [14]. На частоту этих показателей оказывало влияние количество выкуриваемых сигарет в день и количество лет курения. Обследование мужчин выявило прямую корреляцию частоты МЯ в лимфоцитах периферической крови и потребления алкоголя [14]. Значительно более высокая частота МЯ в лимфоцитах периферической крови наблюдалась у курильщиков ( $p < 0,05$ ), причём она не была связана с возрастом интенсивностью курения [15]. Однако в буккальном эпителии частота апоптотических клеток существенно повышалась с увеличением возраста участников и продолжительности курения (критерий Фишера  $F = 8,649$ ;  $p < 0,01$  и  $F = 5,389$ ;  $p < 0,05$  соответственно). Результаты цитогенетического анализа лимфоцитов и буккальных эпителиоцитов в этом исследовании имели значительную положительную корреляцию, что указывает на взаимодополняемость этих тестов.

В эколого-гигиенических исследованиях цитомный анализ показал свою высокую эффективность. Благодаря относительной простоте исполнения и малой инвазивности только этот тест и гораздо менее информативный анализ частоты аберраций хромосом позволяют изучать генотоксические эффекты на больших когортах людей. Можно сказать, в этой области применение цитомного анализа стало рутинным. Приведём лишь несколько примеров подобных исследова-

ний. Sordo и соавт. изучали влияние возросшего уровня пыли в метро г. Мехико на беременных женщин и новорождённых. Авторы определяли ассоциацию частоты генетических повреждений в лимфоцитах пуповинной крови и периферической крови матерей с уровнем экспозиции матери к мелкодисперсным взвешенным частицам  $PM_{2,5}$  (размером менее 2,5 мкм) и  $PM_{10}$  (менее 10 мкм) в течение последнего месяца беременности. Была обнаружена статистически значимая положительная ассоциация частоты МЯ в пуповинной крови с уровнем  $PM_{2,5}$  на станциях метро вблизи места проживания матери. Помимо этого частота МЯ в лимфоцитах как материнской, так и пуповинной крови была выше в образцах, отобранных в сухой сезон (более высокое содержание взвешенных веществ в атмосферном воздухе), чем в дождливый. Авторы делают вывод, что  $PM_{2,5}$  способны проникать через плаценту и вызывать генетические повреждения в клетках эмбриона, что повышает вероятность заболеваний в дальнейшем — в детстве или во взрослой жизни [16].

Подобным образом в исследовании, проведённом во Вьетнаме в местности, загрязнённой мышьяком, показано, что частоты МЯ и разрывов ДНК в лимфоцитах пуповинной крови ассоциируют с уровнем мышьяка как в пуповинной крови, так и в организме матери [17].

Многочисленные работы посвящены сравнению частот генетических повреждений у лиц, проживающих в районах с высоким уровнем загрязнения (как от природных, так и от производственных источников), и жителей «чистых» районов. Так, в Бразилии у жителей местности, богатой минеральными ресурсами и имеющей высокую природную радиоактивность, отмечали значительное увеличение частот МЯ и ядерных аномалий — ядерных почек, двуядерных клеток, клеток с пикнозом ядра. Авторы связывают с этим высокий уровень онкологических заболеваний в данном районе [18].

Аналогичным образом в Колумбии у лиц, живущих вблизи угольных карьеров, частоты МЯ в лимфоцитах оказались значительно повышены, причём большая часть МЯ содержала целую хромосому (анеугенный эффект), хотя наблюдалась и МЯ лишь с фрагментом хромосомы. Была выявлена высокозначимая корреляция уровня  $PM_{2,5}$  с частотой МЯ. Авторы делают вывод о том, что  $PM_{2,5}$  представляют наибольший риск для здоровья людей, живущих вблизи открытых угольных карьеров [19].

В районе добычи свинца содержание свинца в крови детей оказалось в полтора раза выше, чем в группе сравнения, хотя и оставалось значительно ниже максимально допустимого уровня. С этим показателем коррелировала частота МЯ в лимфоцитах, превышая таковую у детей из группы сравнения более чем вдвое. При этом МЯ были как центромер-положительные, так и центромер-отрицательные, причём у экспонированных детей вклад центромер-положительных МЯ в общее число МЯ оказался существенно повышен, что позволяет говорить об анеугенном действии свинца [20].

В исследовании влияния химической нагрузки на уровень цитогенетических нарушений у городского населения (с индексом загрязнения атмосферы 10,3 по содержанию формалина, бенз(а)пирена и диоксидов азота) отмечен более высокий уровень частоты буккальных эпителиоцитов с МЯ и протрузиями по сравнению с условно-контрольной группой сельских жителей [21]. В группе школьников 11–13 лет, проживающих в областном центре, в атмосферном воздухе которого содержится ряд загрязняющих веществ в концентрациях, превышающих ПДК, выявлено достоверное повышение буккальных эпителиоцитов с МЯ, протрузиями, апоптотическими телами и двуядерных клеток по сравнению с учащимися этой же возрастной категории, проживающими в посёлке [22]. Показано повышение уровня цитогенетических нарушений у детей, проживающих в более загрязнённом районе крупного центра чёрной металлургии, выявлена высокая достоверная связь кариологических показателей с некоторыми химическими загрязнителями атмосферного воздуха [23]. Количество клеток с цитогенетическими изменениями (МЯ и протрузии) у детей,

живущих в районах, загрязнённых диоксинами, было увеличено наряду с ускорением процесса пролиферации и замедлением процесса апоптоза [24]. Изученные параметры не зависели от возраста и пола. У детей, проживающих в условиях загрязнения почвы нефтепродуктами на уровне 1%, отмечено достоверное повышение частоты буккальных эпителиоцитов с МЯ в 5 раз, апоптического индекса – в 3 раза, клеток с двумя и более ядрами – в 1,6 раза [25].

В вулканической области Португалии с гидротермальной системой концентрация радона в помещении положительно коррелировала с частотой буккальных эпителиоцитов с МЯ у местных жителей [26]. У детей, проживающих в районе с высоким содержанием радона, в эпителиоцитах слизистой оболочки щеки выявлено значительное увеличение числа двуядерных клеток, суммарной частоты клеток с МЯ и протрузиями, ядерными вакуолями, пикнотических ядер и апоптозных тел по сравнению с группой сравнения [27]. Частота ядерных нарушений в клетках буккального эпителия соответствовала частоте aberrаций метафазных хромосом в лимфоцитах периферической крови.

У детей младшего школьного возраста, проживающих в пяти городах Италии, частота МЯ в буккальных эпителиоцитах оказалась выше в городах с более загрязнённым воздухом, причём средняя частота МЯ зимой была почти вдвое выше, чем поздней весной [28].

В городе с целлюлозно-бумажным производством (ЦБП) (г. Коряжма) изучали эффекты нестабильности генома в лимфоцитах и клетках буккального эпителия у детей 8–9 лет. Результаты исследования выявили значимое снижение основных показателей нестабильности генома в лимфоцитах крови, включая частоты клеток с МЯ и нуклеоплазматическими мостами (НПМ), частоту апоптоза и изменение спектра клеточных популяций, по мере удаления от ЦБП школ, которые посещали обследованные дети. В то же время в буккальных эпителиоцитах статистически значимой оказалась только разница частот клеток с конденсированным хроматином, причём и этот показатель был максимальным у учащихся школ, ближайших к ЦБП [29].

В связи с вышеизложенным становится очевидной актуальность выявления в окружающей среде потенциально канцерогенных веществ. На основании исследований, проведённых в г. Магнитогорске, Ингель Ф.И. и Легостаева Т.Б. с соавт. предложили алгоритм, позволяющий выбирать такие вещества. Суть подхода состоит в анализе корреляций между составом загрязнения изучаемого компонента среды и генотоксическими эффектами у населения. Обнаружение высокозначимых корреляционных связей позволяет предположить у конкретных веществ потенциальную мутагенную и/или канцерогенную активность [30].

Лимфоциты периферической крови человека оказались удобной суррогатной тканью для изучения эффектов нестабильности генома как при самых разных заболеваниях, так и при различных воздействиях [31–35]. Помимо этого особое значение при обследованиях человека приобретает учёт МЯ в клетках буккального эпителия [36], а также в слушающихся эпителиальных клетках других органов (например, уротелиального эпителия, эпителия шейки матки, назального эпителия) [37–39]. Эти органы являются «пограничными» между организмом и внешней средой и первыми принимают на себя удар повреждающих воздействий [39]. При этом очень существенно, что отбор проб для исследования – процедура неинвазивная.

И все же, пожалуй, в настоящее время наиболее широко используется метод цитомного анализа на первичной культуре лимфоцитов человека, культивируемых в условиях цитокинетического блока (тест СБМН-сут) [40, 41]. В настоящее время этот метод применяется для решения широкого круга задач: 1) для выявления токсических эффектов и изучения механизмов действия отдельных физических, химических или биологических факторов и их сочетаний на клетки крови здоровых доноров *in vitro*; 2) для оценки одного или нескольких показателей нестабильности генома, связан-

ных с действием комплексов внешних факторов, в частности производственных; 3) для изучения особенностей и механизмов формирования индивидуальной чувствительности генома человека в норме и при различных патологиях [41]. Тест СБМН был разработан Fenech и Morley в 1985 году [42]. Суть метода состоит в остановке деления клеток в культуре на стадии цитокинеза с помощью цитохалазина В, ингибитора формирования веретена деления. В результате клетки, прошедшие одно митотическое деление, становятся двуядерными, при этом сохраняя способность к дальнейшему делению ядер. Это даёт возможность учитывать маркеры нестабильности генома только в клетках, прошедших в культуре лишь один митоз, что позволяет получить более чёткий результат, особенно в случае цитостатического действия изучаемого агента [43] (рис. 1, микрофото 1, см. на вклейке).

Первоначально предполагалось учитывать только уровень МЯ и НПМ (см. рис. 1, микрофото 2, 3, см. на вклейке) в двуядерных клетках – показатель, характеризующий генотоксичность, но позже спектр показателей был существенно расширен. Стала очевидной необходимость включить в анализ учёт «ядерных почек» (иначе – протрузии типа «разбитое яйцо») (см. рис. 1, микрофото 4, см. на вклейке), так как они являются механизмом элиминации амплифицированной ДНК и, вероятно, ДНК-репаративных комплексов [44, 45].

Дополнительную информацию даёт учёт частоты МЯ в одноядерных клетках, характеризующий уровень предсуществующих генетических повреждений в лимфоцитах донора [46] (см. рис. 1, микрофото 5). В дальнейшем стали учитывать частоту полиядерных клеток (см. рис. 1, микрофото 6–8), исходя из предположения, что такие клетки успели пройти два или более митотических цикла и, таким образом, являются ускоренно делящимися [47]. Строго говоря, полиядерные клетки могут возникать в результате аномальных полифокальных митозов [48], но в любом случае они представляют собой один из признаков генетической нестабильности. Соотношение частот одно-, дву- и полиядерных клеток характеризует пролиферативные способности клеток в данной культуре [41, 47]. Eastmond и Tucker предложили для оценки пролиферативного потенциала культуры использовать такой показатель, как индекс деления ядер (NDI):

$$NDI = (M_1 + 2M_2 + 3M_3 + 4M_4)/N,$$

где  $M_1$ – $M_4$  – количество клеток с 1–4 ядрами,  $N$  – общее количество учтённых живых клеток [49].

Наконец, учёт клеток в состоянии апоптоза и некроза (см. рис. 1, микрофото 9, 10) даёт возможность определять интенсивность гибели клеток [46]. Таким образом, в современном виде СБМН-сут тест позволяет оценивать целый комплекс генотоксических и цитотоксических эффектов, таких как разрывы, перестройки и потери хромосом, амплификация генетического материала, частоты некроза и апоптоза, цитостатическое действие и воздействие на пролиферацию клеток [50], что выводит этот тест на уровень цитомного анализа.

В соответствии с международными методическими рекомендациями, разработанными для применения этого теста на ФГА-стимулированных лимфоцитах крови человека [47, 51], фиксация культуры проводится в момент, когда максимальное число клеток прошло только один митоз и, следовательно, содержит два ядра. При этом в культуре всегда присутствует значительное число одноядерных клеток. Это клетки либо не ответившие на митогенный сигнал, либо успевшие поделиться до добавления цитохалазина В. Кроме того, в заметном количестве встречаются полиядерные клетки.

Основным показателем, регистрируемым в этом методе, остаётся частота генетических повреждений (МЯ и НПМ) в двуядерных клетках. Разработаны критерии учёта этих структур [52].

Как отмечалось выше, учёту подлежат также ядерные почки. В ряде исследований показано, что ядерные почки



могут служить серьёзным прогностическим показателем, особенно при изучении злокачественных новообразований [53, 54]. Помимо этого определяется также спектр клеточных популяций, то есть соотношение одно-, дву- и полиядерных клеток, на основании чего вычисляется индекс репликации ядер, а также частоты клеток в процессе апоптоза и некроза.

Общепринятый протокол не предполагает учёта МЯ в полиядерных клетках. Однако в ряде исследований показано, что уровень повреждений генома в полиядерных клетках (см. рис. 1, микрофото 11, 12) оказывается значительно более чувствительным показателем, чем таковой в клетках двуядерных. В некоторых случаях он может оказаться решающим при оценке генотоксичности воздействия [41, 55, 56]. Как размер популяций полиядерных клеток в культуре, так и частота МЯ в них резко возрастают под действием генотоксической нагрузки. Более того, в наших исследованиях были установлены корреляции числа клеток различной ядерности и уровней генетических повреждений в них с важными показателями физиологического состояния организма [41]. Надо отметить, что ещё в 2000 году Fenech обсуждал теоретическую возможность повышения частоты МЯ при прохождении клетками в культуре более одного деления — в том случае, если генотоксическое воздействие индуцирует генетическую нестабильность в дочерних клетках [43]. Всё это говорит о недооценённости значения полиядерных клеток при изучении генетической нестабильности.

Неоднократно предпринимались попытки оценить сопоставимость результатов СВМN-теста, полученных в разных лабораториях. В одном из таких исследований был отмечен широкий разброс спонтанных частот двуядерных клеток с МЯ, зафиксированных в 25 лабораториях из 16 стран. В значительной степени такой разброс может быть объяснён расхождениями в деталях постановки эксперимента и критериях учёта [57]. Но несмотря на расхождения, почти во всех исследованиях отмечалось увеличение частоты двуядерных клеток, содержащих МЯ, с возрастом донора, а также гендерный эффект: частота клеток с МЯ у женщин была в среднем на 19% выше, чем у мужчин. В дальнейшем под руководством Fenech был разработан и проведён беспрецедентный международный проект с целью унификации результатов проводимых исследований. В ходе этого эксперимента препараты, полученные из одной и той же культуры клеток, подвергнутой гамма-облучению в разных дозах, анализировали в 34 лабораториях из 21 страны [51]. Для проведения этого анализа были разработаны критерии учёта показателей, упомянутые выше, а также определён стандартный набор статистических методов для оценки результатов. Несмотря на отсутствие методических расхождений, разница в полученных данных оказалась весьма значительной. Наименьшие ошибки выявились при определении индекса

деления ядер, тогда как показатели, отражающие генетические повреждения, различались в несколько раз, а иногда и на порядок. Тем не менее все счётчики зафиксировали увеличение частот всех типов повреждений клеток в зависимости от дозы облучения, что говорит о применимости метода при изучении генотоксических воздействий. Авторы настаивают на необходимости «калибровать» счётчики с использованием стандартного набора стёкол или изображений, а также на обязательном использовании внутрилабораторных положительных и отрицательных контролей для получения сопоставимых результатов исследований [51].

Впоследствии та же группа авторов организовала аналогичное международное исследование и на буккальных эпителиоцитах как здоровых людей (контрольная группа), так и больных раком, проходящих курс радиационной терапии [58]. Предварительно был предложен расширенный протокол проведения цитомного анализа на клетках буккального эпителия (BMNcyt), предусматривающий помимо показателей генотоксичности в дифференцированных клетках (МЯ, ядерные почки) (рис. 2, микрофото 1–3, см. на вклейке) учёт двуядерных клеток (считаются признаком нарушения цитокinesis) (см. рис. 2, микрофото 4, см. на вклейке), а также клеток на разных стадиях клеточной гибели (клетки с конденсацией хроматина, кариорексисом, пикнозом ядра и кариолизисом) (см. рис. 2, микрофото 5–9, см. на вклейке). Помимо этого предполагалось определять частоты эпителиоцитов на разных стадиях дифференциации [59]. При сравнении результатов анализа одних и тех же проб разными лабораториями наибольшая вариабельность наблюдалась при определении стадий дифференциации и гибели клеток, в то же время все лаборатории фиксировали значительное увеличение частот МЯ, ядерных почек и двуядерных клеток вследствие радиационного облучения. Наиболее близки оказались результаты определения частоты МЯ в дифференцированных одноядерных и двуядерных клетках, а также частот одно- и двуядерных клеток. При этом воспроизводимость результатов внутри одной лаборатории была высокой. По итогам этого исследования авторы также рекомендуют проводить «калибрование» счётчиков в случае совместных работ в нескольких исследовательских центрах [58]. Конечная цель этих программ состоит в том, чтобы анализ МЯ (по утверждённым протоколам) стал обычной диагностической практикой в актуальных парадигмах и стратегиях профилактики заболеваний нового тысячелетия, основанных на персонализированной профилактике повреждения ДНК [60].

Следует отметить, что в нашей стране подобные сличительные исследования не проводились, хотя в перспективе применения цитомного анализа как в медицинских обследованиях, так и в эколого-гигиеническом мониторинге необходимость такой работы очевидна.

## Литература

(п.п. 1–20, 26, 28, 31–35, 38, 40, 42–54, 56–60 см. References)

- Волкова А.Т., Целоусова О.С., Потапова И.А. Цитогенетический мониторинг риска воздействия окружающей среды на здоровье жителей Республики Башкортостан. *Анализ риска здоровью*. 2014; (3): 56–60. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2014.3.07>
- Ладнова Г.Г., Истомин А.В., Курочинская М.Г., Силютин В.В. Цитогенетические показатели буккального эпителия школьников, проживающих на территориях с разным уровнем загрязнения атмосферного воздуха. *Гигиена и санитария*. 2016; 95(5): 428–31. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2016-95-5-428-431>
- Бяхова М.М., Сычева Л.П., Журков В.С., Гельштейн В.С., Сухарева И.В., Шишкина Л.И. и соавт. Кариологические и иммунологические показатели у детей в условиях различного загрязнения атмосферного воздуха. *Гигиена и санитария*. 2010; 89(3): 9–11.
- Сычева Л.П., Можаяева Т.Е., Умнова Н.В., Жученко Н.А., Зиеп В.Х., Туэт Х.А. Цитогенетические и другие кариологические показатели в эксфолиативных буккальных клетках у вьетнамских детей из района применения диоксинсодержащих гербицидов. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2008; (1): 19–23.
- Джамбетова П.М., Молочаева Л.Г., Махтиева А.Б., Сычева Л.П. Оценка влияния загрязнения почв нефтепродуктами на цитогенетический статус и показатели апоптоза в клетках буккального эпителия у детей. *Экологическая генетика*. 2009; 7(4): 34–40. <https://doi.org/10.17816/ecogen.7434-40>
- Мейер А.В., Дружинин В.Г., Ларионов А.В., Толочко Т.А. Генотоксические и цитотоксические эффекты в буккальных эпителиоцитах детей, проживающих в экологически различающихся районах Кузбасса. *Цитология*. 2010; 52(4): 305–10.
- Юрченко В.В., Ингель Ф.И., Юрцева Н.А., Кривцова Е.К., Ахальцева Л.В. Эффекты нестабильности генома в лимфоцитах и эпителиоцитах щёки детей в городе с целлюлозно-бумажным производством. *Гигиена и санитария*. 2019; 98(12): 1392–401. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-12-1392-1401>

## Review article

30. Ингель Ф.И., Легостаева Т.Б., Антипанова Н.А., Кривцова Е.К., Юрцева Н.А. Система выявления потенциально канцерогенных соединений, приоритетных для гигиенической регламентации в атмосферном воздухе. *Гигиена и санитария*. 2012; 91(6): 33–6.
36. Юрченко В.В. Цитогенетические нарушения в эпителии щеки человека при экспозиции генотоксикантами. *Токсикологический вестник*. 2005; 6: 14–21.
37. Сычева Л.П., Шереметьева С.М. Микроядерный тест на клетках уротелиального эпителия. В кн.: *Поллиорганный микроядерный тест в эколого-гигиенических исследованиях*. М.; 2007: 277–86.
39. Коваленко М.А., Сычева Л.П. Микроядерный тест на клетках назального эпителия. В кн.: *Поллиорганный микроядерный тест в эколого-гигиенических исследованиях*. М.; 2007: 268–76.
41. Ингель Ф.И. Микроядерный метод на лимфоцитах периферической крови человека. В кн.: *Поллиорганный микроядерный тест в эколого-гигиенических исследованиях*. М.; 2007: 168–219.
55. Ингель Ф.И., Кривцова Е.К., Юрцева Н.А., Антипанова Н.А., Легостаева Т.Б. Нестабильность и чувствительность генома здоровых детей в Магнитогорске. *Гигиена и санитария*. 2013; 92(3): 20–7.

## References

1. Lewinska D., Stepnik M., Krajewska W., Arkusz J., Stanczyk M., Wronska-Nofer T. Increased incidence of micronuclei assessed with the micronucleus assay and the Fluorescence in Situ Hybridization (FISH) technique in peripheral blood lymphocytes of nurses exposed to nitrous oxide. *Mutat. Res.* 2005; 581(102): 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2004.10.018>
2. Cavallo D., Ursini C.L., Omodeo-Sale E., Iavicoli S. Micronucleus induction and FISH analysis in buccal cells and lymphocytes of nurses administering antineoplastic drugs. *Mutat. Res.* 2007; 628(1): 11–8. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2006.10.014>
3. Kopjar N., Garaj-Vrhovac V., Kasuba V., Rozgaj R., Ramic S., Pavlica V., et al. Assessment of genotoxic risks in Croatian health care workers occupationally exposed to cytotoxic drugs: A multi-biomarker approach. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 2009; 212(4): 414–31. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2008.10.001>
4. Andreassi M.G. The biological effects of diagnostic cardiac imaging on chronically exposed physicians: the importance of being non-ionizing. *Cardiovasc. Ultrasound.* 2004; 2: 25. <https://doi.org/10.1186/1476-7120-2-25>
5. Sahin A., Tatar A., Oztas S., Seven B., Varoglu E., Yesilyurt A., et al. Evaluation of the genotoxic effects of chronic low-dose ionizing radiation exposure on nuclear medicine workers. *Nucl. Med. Biol.* 2009; 36(5): 575–8. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2009.02.003>
6. Rohr P., da Silva J., da Silva F.R., Sarmento M., Porto C., Debastiani R., et al. Evaluation of genetic damage in open-cast coal mine workers using the buccal micronucleus cytome assay. *Environ. Mol. Mutagen.* 2013; 54(1): 65–71. <https://doi.org/10.1002/em.21744>
7. Bruschiweiler E.D., Hopf N.B., Wild P., Huynh C.K., Fenech M., Thomas P., et al. Workers exposed to wood dust have an increased micronucleus frequency in nasal and buccal cells: results from a pilot study. *Mutagenesis.* 2014; 29(3): 201–7. <https://doi.org/10.1093/mutage/geu003>
8. Krishna L., Sampson U., Annamala P.T., Unni K.M., Binukumar B., George A., et al. Genomic instability in exfoliated buccal cells among cement warehouse workers. *J. Occup. Environ. Med.* 2020; 11(1): 33–40. <https://doi.org/10.15171/joem.2020.1744>
9. Cobanoglu H., Coskun M., Coskun M., Cayir A. Results of buccal micronucleus cytome assay in pesticide-exposed and non-exposed group. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2019; 26(19): 19676–83. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05249-0>
10. Wultsch G., Nersesyan A., Kundi M., Jakse R., Beham A., Wagner K-H., et al. The sensitivity of biomarkers for genotoxicity and acute cytotoxicity in nasal and buccal cells of welders. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 2014; 217(4–5): 492–8. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2013.09.005>
11. Brina K.R., Carvalho T.S., Ardenghi P.G., da Silva L.B. Micronuclei and other nuclear anomalies in exfoliated buccal cells of urban solid waste collectors and recyclers in southern Brasil. *Chemosphere.* 2018; 193: 1058–62. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.119>
12. Dash K.C., Nishat R., Kumar H., Mishra S., Raghuvanshi M., Bajoria A. Comparative study of micronuclei count in patients with different tobacco-related habits using exfoliated buccal epithelial cells: a tool for assessment of genotoxicity. *J. Contemp. Dent. Pract.* 2018; 19(9): 1076–81.
13. Gopal K.S., Padma M. Evaluation of cytogenetic damage in the form of micronuclei in oral exfoliated buccal cells in tobacco users. *Indian J. Dent. Res.* 2018; 29(6): 773–80. [https://doi.org/10.4103/ijdr.IJDR\\_218\\_17](https://doi.org/10.4103/ijdr.IJDR_218_17)
14. Nefic H., Handzic I. The effect of age, sex, and lifestyle factors on micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes of the Bosnian population. *Mutat Res.* 2013; 753(1): 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2013.03.001>
15. Haveric A., Haveric S., Ibrulj S. Micronuclei frequencies in peripheral blood and buccal exfoliated cells of young smokers and non-smokers. *Toxicol. Mech. Methods.* 2010; 20(5): 260–6. <https://doi.org/10.3109/15376516.2010.482962>
16. Sordo M., Maciel-Ruiz J.A., Salazar A.M., Robles-Morales R., Veloz-Martinez M.G., Pacheco-Limon J.H., et al. Particulate matter-associated micronuclei frequencies in maternal and cord blood lymphocytes. *Environ. Mol. Mutagen.* 2019; 60(5): 421–7. <https://doi.org/10.1002/em.22275>
17. Navasumrit P., Chaisatra K., Promvijit J., Parnlob V., Waraprasit S., Chompoobut C., et al. Exposure to arsenic in utero is associated with various types of DNA damage and micronuclei in newborns: a birth cohort study. *Environ. Health.* 2019; 18(1): 51. <https://doi.org/10.1186/s12940-019-0481-7>
18. Marcon A.E., Navoni J.A., de Oliveira Galvao M.F., Garcia A.C.F.S., do Amaral V.C., Petta R.A., et al. Mutagenic potential assessment associated with human exposure to natural radioactivity. *Chemosphere.* 2017; 167: 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.09.136>
19. Espitia-Perez L., da Silva J., Espitia-Perez P., Brango H., Salcedo-Arteaga S., Hoyos-Giraldo L.S., et al. Cytogenetic instability in populations with residential proximity to open-pit coal mine in Northern Colombia in relation to PM 10 and PM 2.5 levels. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2018; 148: 453–66. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.10.044>
20. Kapka L., Baumgartner A., Siwiska E., Knudsen L.E., Anderson D., Mielzynska D. Environmental lead exposure increases micronuclei in children. *Mutagenesis.* 2007; 22(3): 201–7. <https://doi.org/10.1093/mutage/gem004>
21. Volkova A.T., Tselousova O.S., Potapova I.A. Cytogenetic monitoring of the risk of environmental impact on public health in the Republic of Bashkortostan. *Analiz riska zdorov'yu.* 2014; (3): 57–61. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2014.3.07> (in Russian)
22. Ladnova G.G., Istomin A.V., Kurochitskaya M.G., Silyutina V.V. Cytogenetic indices of buccal epithelium in schoolchildren residing in territories with different levels of the air pollution. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal).* 2016; 95(5): 428–31. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2016-95-5-428-431> (in Russian)
23. Byakhova M.M., Sycheva L.P., Zhurkov V.S., Gelshteyn V.S., Sukhareva I.V., Shishkina L.I., et al. Karyological and immunological parameters in children under conditions of varying ambient air pollution. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal).* 2010; 89(3): 9–11. (in Russian)
24. Sycheva L.P., Mozhaeva T.E., Umnova N.V., Zhuchenko N.A., Ziep B.Kh., Tuet Kh.A. Cytogenetic and other cariological parameters of exfoliative buccal cells in Vietnamese children from areas where dioxin-containing herbicides were applied. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk.* 2008; (1): 19–23. (in Russian)
25. Dzhambetova P.M., Molochaeva L.G., Makhtieva A.B., Sycheva L.P. Assessment of influence of petroleum pollutions of soils on the cytogenetic status and indexes of apoptosis in the cells of buccal epithelium of children. *Ekologicheskaya genetika.* 2009; 7(4): 34–40. <https://doi.org/10.17816/ecogen7434-40> (in Russian)
26. Linhares D.P.S., Garcia P.V., Silva C., Barroso J., Kazachkova N., Pereira R., et al. DNA damage in oral epithelial cells of individuals chronically exposed to indoor radon (222 Rn) in a hydrothermal area. *Environ. Geochem. Health.* 2018; 40(5): 1713–24. <https://doi.org/10.1007/s10653-016-9893-2>
27. Meyer A.V., Druzhinin V.G., Larionov A.V., Tolochko T.A. Genotoxic and cytotoxic effects in buccal cells of children living in ecologically different Kuzbass areas. *Tsitologiya.* 2010; 52(4): 305–10. (in Russian)
28. Villarini M., Levorato S., Salvatori T., Ceretti E., Bonetta S., Carducci A., et al. Buccal micronucleus cytome assay in primary school children: A descriptive analysis of the MAPEC\_LIFE multicenter cohort study. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 2018; 221(6): 883–92. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2018.05.014>
29. Yurchenko V.V., Ingel F.I., Yurtseva N.A., Krivtsova E.K., Akhaltseva L.V. Effects of genome instability in lymphocytes and buccal epitheliocytes of children from the city with big pulp and paper industry. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal).* 2019; 98(12): 1392–401. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-12-1392-1401> (in Russian)
30. Ingel F.I., Legostaeva T.B., Antipanova N.A., Krivtsova E.K., Yurtseva N.A. System for choice of potentially carcinogenic compounds among ones, persisting in atmospheric air and having high priority for future hygienic regulation. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal).* 2012; 91(6): 33–6. (in Russian)
31. Migliore L., Coppede F., Fenech M., Thomas P. Association of micronucleus frequency with neurodegenerative diseases. *Mutagenesis.* 2011; 26(1): 85–92. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq067>
32. Porciello G., Scarpato R., Ferri C., Storino F., Cagetti F., Morozzi G., et al. Spontaneous chromosome damage (micronuclei) in systemic sclerosis and Raynaud's phenomenon. *J. Rheumatol.* 2003; 30(6): 1244–7.
33. Salimi M., Broumand B., Mozdarani H. Association of elevated frequency of micronuclei in peripheral blood lymphocytes of type 2 diabetes patients with nephropathy complications. *Mutagenesis.* 2016; 31(6): 627–33. <https://doi.org/10.1093/mutage/gew029>
34. Countryman I.P., Heddle A.J. The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutat. Res.* 1976; 41(2-3): 321–31. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(76\)90105-6](https://doi.org/10.1016/0027-5107(76)90105-6)
35. Holland N., Dave V., Venkat S., Wong H., Donde A., Balmes J.R., et al. Ozone inhalation leads to a dose-dependent increase of cytogenetic damage in human lymphocytes. *Environ. Mol. Mutagen.* 2015; 56(4): 378–87. <https://doi.org/10.1002/em.21921>
36. Yurchenko V.V. Cytogenetic disorders in the human cheek epithelium upon exposure to genotoxicants. *Toksikologicheskii vestnik.* 2005; 6: 14–21. (in Russian)
37. Sycheva L.P., Sheremet'eva S.M. Micronucleus test on urothelial epithelial cells. In: *Multiorgan Micronuclear test in Environmental Hygienic Research [Poliorgannyi mikroyadernyy test v ekologo-gigienicheskikh issledovaniyakh]*. Moscow; 2007: 277–86. (in Russian)

38. Gandhi G., Kaur B. Elevated frequency of micronuclei in uterine smears of cervix cancer patients. *Caryologia*. 2003; 56(2): 217–22. <https://doi.org/10.1080/00087114.2003.10589328>
39. Kovalenko M.A., Sycheva L.P. Micronucleus test on nasal epithelial cells. In: *Multiorgan Micronuclear test in Environmental Hygienic Research [Poliorganny mikroyadernyy test v ekologo-gigienicheskikh issledovaniyakh]*. Moscow; 2007: 268–76. (in Russian)
40. Ye C.Y., Sharpe Z., Alemara S., Mackenzie S., Liu G., Abdallah B., et al. Micronuclei and genome chaos: changing the system inheritance. *Genes*. 2019; 10(5): 366–87. <https://doi.org/10.3390/genes10050366>
41. Ingel F.I. Micronucleus method on human peripheral blood lymphocytes. In: *Multiorgan Micronuclear test in Environmental Hygienic Research [Poliorganny mikroyadernyy test v ekologo-gigienicheskikh issledovaniyakh]*. Moscow; 2007: 168–219. (in Russian)
42. Fenech M., Morley A. Solutions to the kinetic problem in the micronucleus assay. *Cytobios*. 1985; 43(172–3): 233–46.
43. Fenech M. A mathematical model of the in vitro micronucleus assay predicts false negative results if micronuclei are not specifically scored in binucleated cells or in cells that have completed one nuclear division. *Mutagenesis*. 2000; 15(4): 329–36. <https://doi.org/10.1093/mutage/15.4.329>
44. Haaf T., Raderschall E., Reddy G., Ward D.C., Radding C.M., Golub E.I. Sequestration of mammalian Rad51-recombination protein into micronuclei. *J. Cell Biol.* 1999; 144(1): 11–20. <https://doi.org/10.1083/jcb.144.1.11>
45. Shimizu N., Itoh N., Utiyama H., Wahl G.M. Selective entrapment of extrachromosomally amplified DNA by nuclear budding and micronucleation during S phase. *J. Cell Biol.* 1998; 140(6): 1307–20. <https://doi.org/10.1083/jcb.140.6.1307>
46. Kirch-Volders M., Fenech M. Inclusion of micronuclei in non-divided mononuclear lymphocytes and necrosis/apoptosis may provide a more comprehensive cytokinesis block micronucleus assay for biomonitoring purposes. *Mutagenesis*. 2001; 16(1): 51–8. <https://doi.org/10.1093/mutage/16.1.51>
47. Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nat. Protoc.* 2007; 2(5): 1084–104. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.77>
48. Stavropoulou V., Xie J., Henriksson M., Tomkinson B., Imreh S., Masucci M.G. Mitotic infidelity and centrosome duplication errors in cells overexpressing tripeptidyl-peptidase. *Cancer Res.* 2005; 65(4): 1361–8. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-2085>
49. Eastmond D.A., Tucker J.D. Identification of aneuploidy-inducing agents using cytokinesis-blocked human lymphocytes and an antikinetochore antibody. *Environ. Mol. Mutagen.* 1989; 13(1): 34–43. <https://doi.org/10.1002/em.2850130104>
50. Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus assay evolves into a “cytome” assay of chromosomal instability, mitotic dysfunction and cell death. *Mutat. Res.* 2006; 600(1–2): 58–66. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2006.05.028>
51. Fenech M., Bonassi S., Turner J., Lando C., Ceppi M., Chang W.P., et al. Human MicroNucleus project Intra- and inter-laboratory variation in the scoring of micronuclei and nucleoplasmic bridges in binucleated human lymphocytes. Results of an international slide-scoring exercise by the HUMN project. *Mutat. Res.* 2003; 534(1–2): 45–64. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(02\)00248-6](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(02)00248-6)
52. Fenech M., Chang W.P., Kirsch-Volders M., Holland N., Bonassi S., Zeiger E., et al. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutat. Res.* 2003; 534(1–2): 65–75. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(02\)00249-8](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(02)00249-8)
53. Koss L.G. *Diagnostic Cytology and its Histopathologic Bases. Volume 1*, 2. Philadelphia-Toronto; 1979.
54. El-Zein R.A., Abdel-Rahman S., Santee K.J., Yu R., Shete S. Identification of small and non-small cell lung cancer markers in peripheral blood using cytokinesis-blocked micronucleus and spectral karyotyping assays. *Cytogenet. Genome Res.* 2017; 152(3): 122–31. <https://doi.org/10.1159/000479809>
55. Ingel' F.I., Krivtsova E.K., Yurtseva N.A., Antipanova N.A., Legostaeva T.B. Volatility and sensitivity of the genome of healthy children in Magnitogorsk. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2013; 92(3): 20–7. (in Russian)
56. Martelli A., Robbiano L., Cosso M., Perrone C., Tagliazucchi A., Giuliano L., et al. Comparison of micronuclei frequencies in mono-, bi- and poly-nucleated lymphocytes from subjects of a residential suburb and subjects living near a metallurgical plant. *Mutat. Res.* 2000; 470(2): 211–9. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(00\)00108-x](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(00)00108-x)
57. Bonassi S., Fenech M., Lando C., Lin Y., Ceppi M., Chang W.P., et al. HUMAN MicroNucleus project: international database comparison for results with the cytokinesis-block micronucleus assay in human lymphocytes: 1. Effect of laboratory protocol, scoring criteria, and host factors on the frequency of micronuclei. *Environ. Mol. Mutagen.* 2001; 37(1): 31–45.
58. Bolognesi C., Knasmueller S., Nersesyan A., Roggeri P., Ceppi M., Bruzzone M., et al. Inter-laboratory consistency and variability in the buccal micronucleus cytome assay depends on biomarker scored and laboratory experience: Results from the HUMNxl international inter-laboratory scoring exercise. *Mutagenesis*. 2017; 32(2): 257–66. <https://doi.org/10.1093/mutage/gew047>
59. Bolognesi C., Knasmueller S., Nersesyan A., Thomas P., Fenech M. The HUMNxl scoring criteria for different cell types and nuclear anomalies in the buccal micronucleus cytome assay – An update and expanded photogallery. *Mutat. Res.* 2013; 753(2): 100–13. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2013.07.002>
60. Fenech M., Holland N., Zeiger E., Chang W.P., Burgaz S., Thomas Ph., et al. The HUMN and HUMNxl international collaboration projects on human micronucleus assays in lymphocytes and buccal cells – past, present and future. *Mutagenesis*. 2011; 26(1): 239–45. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq051>