

УДК 576.315:57.087

Научная статья



Открытый доступ

DOI: 10.32634/0869-8155-2023-367-2-23-29

**И.П. Новгородова**

Федеральный исследовательский центр животноводства — ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста, поселок Дубровицы, городской округ Подольск, Московская обл., Российская Федерация

✉ novg-inna2005@yandex.ru

Поступила в редакцию:  
01.11.2022

Одобрена после рецензирования:  
30.12.2022

Принята к публикации:  
30.01.2023

Research article



Open access

DOI: 10.32634/0869-8155-2023-367-2-23-29

**Inna P. Novgorodova**

Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst, Dubrovitsy village, Podolsk city district, Moscow region, Russian Federation

✉ novg-inna2005@yandex.ru

Received by the editorial office:  
01.11.2022

Accepted in revised:  
30.12.2022

Accepted for publication:  
30.01.2023

## Возможности использования микроядерного анализа для выявления генных мутаций ЖИВОТНЫХ

### РЕЗЮМЕ

**Актуальность.** Основной целью проведения микроядерного анализа является выявление веществ, вызывающих цитотоксические повреждения и приводящие к образованию микроядер, содержащих отстающие фрагменты хромосом или целых хромосом. Для исследования хромосомных нарушений сейчас очень часто используют микроядерный анализ, так как он достаточно легкий в исполнении и не требует больших затрат.

**Методы и результаты.** Микроядра являются цитоплазматическими хроматинсодержащими телами, формирующимися при запаздывании в анафазе либо телофазе при клеточном делении или фрагментации ядра в процессе апоптоза. Метод микроядерного анализа используют в качестве биомаркера хромосомных aberrаций при исследовании на мутагенность, а также как маркер развития онкологических заболеваний. При количественных изменениях ДНК в клетке происходит образование микроядер. Именно их наличие и является показателем того, что организм был подвержен загрязнению окружающей среды (ядохимикаты, пестициды, радиация, тяжелые металлы и т. д.), приводящей к воспалительным и патологическим процессам. В последнее время проведено много исследований, направленных на изучение влияния факторов окружающей среды на генетический аппарат организма. Под действием мутагенов в пролиферирующих клетках образуются микроядра, подсчет которых позволяет проводить диагностику как генотоксического стресса, так и генетической нестабильности организма. Для определения ранних генетических изменений в организме человека и животных необходимы чувствительные и нетрудоемкие методы, к которым как раз можно отнести микроядерный анализ. В последнее время микроядерный анализ становится актуальным для использования его в животноводческой сфере, в основном при исследованиях, направленных на контроль качества животноводческой продукции, используемой в дальнейшем для питания человека.

**Ключевые слова:** микроядерный анализ, генотоксичность, биомониторинг, микроядра, лимфоциты, периферическая кровь

**Для цитирования:** Новгородова И.П. Возможности использования микроядерного анализа для выявления генных мутаций животных. *Аграрная наука*. 2023; 367(2): 23–29. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-367-2-23-29>

© Новгородова И.П.

## Possibilities of using micronucleus analysis to detect gene mutations in animals

### ABSTRACT

**Relevance.** The main purpose of micronuclear analysis is to identify substances that cause cytotoxic damage and lead to the formation of micronuclei containing lagging fragments of chromosomes or whole chromosomes. For the study of chromosomal disorders, micronuclear analysis is now very often used, since it is quite easy to perform and does not require large costs.

**Methods and results.** Micronuclei are cytoplasmic chromatin-containing bodies formed when delayed in anaphase or telophase during cell division or fragmentation of the nucleus during apoptosis. The method of micronuclear analysis is used as a biomarker of chromosomal aberrations in the study of mutagenicity, as well as as a marker of the development of oncological diseases. With quantitative changes in DNA in the cell, the formation of micronuclei occurs. It is their presence that is an indicator that the body was exposed to environmental pollution (pesticides, pesticides, radiation, heavy metals, etc.), leading to inflammatory and pathological processes. Recently, many studies have been conducted aimed at studying the influence of environmental factors on the genetic apparatus of the body. Under the influence of mutagens, micronuclei are formed in proliferating cells, the counting of which allows for the diagnosis of both genotoxic stress and genetic instability of the organism. To determine early genetic changes in humans and animals, sensitive and labor-intensive methods are needed, which can be attributed to micronuclear analysis. Recently, micronuclear analysis has become relevant for its use in the livestock sector, mainly in research aimed at quality control of livestock products used in the future for human nutrition.

**Key words:** micronucleus analysis, genotoxicity, biomonitoring, micronuclei, lymphocytes, peripheral blood

**For citation:** Novgorodova I.P. Possibilities of using micronucleus analysis to detect gene mutations in animals. *Agrarian science*. 2023; 367(2): 23–29. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-367-2-23-29> (In Russian).

© Novgorodova I.P.

## Введение / Introduction

Сейчас как никогда остро стоит вопрос безопасности пищевых продуктов. Именно поэтому животноводческую продукцию исследуют как на наличие в ней лекарственных средств, так и загрязняющих веществ в окружающей среде. В некоторых странах проводят отбор проб от животных и птиц для контроля содержания вредных веществ в организме (ксенобиотики, тяжелые металлы, наркотики и т. д.) [1]. Это является приоритетным направлением, так как позволяет оценивать генетическое здоровье людей, подвергающихся действию мутагенных веществ через продукты животного происхождения.

Например, N. Sandoval-Herrera с коллегами (2021) провел исследование на летучих мышах, являющихся одним из важных объектов в экосистеме и подвергающихся влиянию пестицидов при обработке сельскохозяйственных полей. Употребление мышами растений и семян с таких полей приводит к образованию микроядер, таким образом, подтверждается, что анализ микроядер может использоваться при оценке химической генотоксичности животных [2].

На молекулярном, клеточном и хромосомном уровне могут отражать свое действие различные вещества, к которым относятся как химические (ядохимикаты, в том числе пестициды), так радиационные [3, 4]. Эти вещества являются генотоксичными и вызывают повреждение генетического материала (генные мутации, хромосомные изменения, повреждения ДНК). Такие изменения могут приводить не только к мутациям, но и к различным повреждениям клеток (с последующей их гибелью) и даже к онкологическим заболеваниям [2, 5].

Нарушение целостности генетических структур клеток приводит к наследственным изменениям, передающимся по наследству. Достаточно давно известно, что мутации половых клеток, подверженных генотоксическому действию, приводят к увеличению количества абортов, мертворождению, врожденным порокам и различным наследственным заболеваниям.

## Обсуждение / Discussion

Многочисленные исследования, некоторые из которых были проведены около 100 лет назад, позволили выявить отрицательное действие различных химических, физических и биологических факторов на геном человека и животных, вызывающих различные мутации, в том числе нестабильность генома [6, 7]. Такие изменения, как поломка хромосом и неправильная сегрегация, относятся к необратимым генетическим повреждениям, для выявления которых используют достаточно простые цитогенетические методы [8].

Цитогенетические тесты являются наиболее эффективными для оценки состояния здоровья животных. Для определения воздействия различных генотоксических веществ на организм человека (или животных) можно использовать несколько тестов, позволяющих выявлять носителей наследственных аномалий [8]. Для выявления мутагенности, в том числе оценки разрывов ДНК, наиболее доступными методами являются кометный анализ (CA) и микроядерный анализ (MNA). В основном такие методы используются в качестве биомаркеров для выявления повреждения ДНК. Остановимся более подробно на микроядерном анализе.

При хромосомных нарушениях в интерфазных клетках образуются микроядра, свидетельствующие о цитогенетических повреждениях, зачастую происходящих вследствие действия факторов окружающей среды на

человека и животных [9]. Таким образом, происходит патологическое деление клеток, сопровождающееся весьма часто образованием относительно разных по размеру ядер. Размеры микроядер могут отличаться. Так, крупные в основном наблюдаются при действии мутагенов, маленькие — при снижении клеток к регенерации и репарации [10, 11].

Микроядра впервые были обнаружены в эритроцитах более 100 лет назад гематологами Хауэллом и Джолли и впоследствии так и названы — тельца Хауэлла-Джолли (тельца Джолли) [12, 13]. Теодор Бовери (Theodor Heinrich Boveri) в 1902 г. выявил аномальное строение хромосом в клетках опухолей [14]. Этот же ученый предположил, что аномальное число хромосом в клетке возникает из-за митотических ошибок. В последующих исследованиях других ученых было доказано, что во время митоза неправильная сегрегация хромосом сопровождается образованием ядерной мембраны микроядер [15].

Микроядерный тест был разработан W. Schmid в 1970 г., хотя есть версии, что он был предложен в 1970–1973 гг. несколькими учеными. W. Schmid идентифицировал микроядра как маленькие базофильные круглые включения внутри эритроцитов [8, 16]. P. Countryman и J. Heddle (1976) предложили использовать микроядра для диагностики повреждений хромосом в лимфоцитах периферической крови. Позже на его основании был разработан метод микроядерного блока цитокинов (CBMN), позволяющий специфически оценивать микроядра в клетках, завершивших деление ядра [17].

Микроядра образуются из ядерного хроматина и в интерфазе находятся в цитоплазме клеток. Имеют округлую форму и размер намного меньше, чем ядро клетки [15, 18, 19]. Во время телофазы они окружены ядерной мембраной [3] и могут визуализироваться в цитоплазме. Деление клеток сопровождается образованием одиночных или множественных микроядер, при этом в ядра дочерних клеток могут включаться целые хромосомы или их фрагменты.

Формирование микроядер наблюдается при апоптозе, зачастую при нарушении иммунного ответа организма на внешние воздействия [3], и могут появляться в клетках любой пролиферирующей ткани. При этом происходит образование клеток с неполным набором хромосом с дальнейшим развитием мутаций и, как следствие, наследственных заболеваний. Во многих исследованиях было описано, что увеличение частоты микроядер в периферических лимфоцитах связано с повышенным риском рака на популяционном уровне, что позволило рассматривать этот признак в качестве маркера развития онкологии [5, 20].

Генетические повреждения, приводящие к хромосомным aberrациям, сопровождаются образованием микроядер. Увеличение их количества является показателем неблагоприятного воздействия и позволяет проводить диагностику и контроль за процессами, происходящими в организме (хромосомные нарушения) [21]. Для проведения микроядерного анализа необходима световая микроскопия, при которой проводят дифференциальный подсчет лейкоцитов и изучают профили эритроцитов [22].

M. Fenec (2000) в своих исследованиях выявил, что частота микроядер в значительной степени определяется генетическими факторами и тем самым представляет промежуточный фенотип между механизмами репарации молекулярной ДНК и фенотипом рака [23]. Микроядра рассматривают в качестве биомаркеров

структурных и числовых хромосомных аберраций при тестировании на мутагенность и биомониторинг [24].

Микроядерный анализ используют для выявления взаимосвязи между повреждением ДНК и бесплодием, в то же время бесплодие наблюдается при наличии микроядер в сперматидях, положительная корреляция была отмечена при повреждении ДНК спермы и наличием микроядер в периферической крови мужчин. Рассматривают возможность использования микроядер в лимфоцитах периферической крови и репродуктивных тканях в качестве биомаркера бесплодия и осложнений беременности у человека [9].

Т. Глазко с коллегами (2013) изучала влияние результативности микроядерного теста на возраст животных, сезон, видовую принадлежность и эколого-географические условия воспроизводства. Доказано, что повышенный уровень частоты встречаемости клеток с цитогенетическими аномалиями в периферической крови статистически достоверно коррелирует с количеством морфологически дефектных сперматозоидов, в дальнейшем приводящих к нарушениям функций — воспроизводительной и репродуктивной. Для распознавания таких аномалий используют показатели частоты встречаемости эритроцитов с микроядрами [25].

Серьезным фактором является то, что микроядерный анализ — важный биомаркер *in vivo* и *in vitro* и широко используется в молекулярной эпидемиологии и цитогенетике [26]. Этот анализ рассматривается в качестве перспективного метода в вопросах изучения влияния факторов окружающей среды на генетический аппарат организма. Метод основан на особенностях пролиферирующих клеток образовывать такие ядерные структуры, как микроядра, под действием мутагенов [22].

Микроядра в 1959 г. были предложены в качестве маркеров цитогенетических повреждений [12]. Позже, в 1970 г., микроядерный анализ K. Bolter и W. Schmid стали использовать как цитогенетический тест [27], после чего его стали применять на полихроматических эритроцитах костного мозга [28] и лимфоцитах [17].

Микроядерный анализ позволяет проводить исследования, направленные на изучение воздействия вредных веществ на разных стадиях клеточного цикла клеток [10]. Достаточно много исследований описано с использованием микроядер для выявления цитогенотоксичности и мутагенности различных соединений.

А. Водунон с коллегами (2008) выявила увеличение количества эритроцитов с микроядрами у больных людей с atopической бронхиальной астмой. При этом отмечалась прямо пропорциональная зависимость микроядер от степени тяжести заболевания [29].

В исследованиях С. Касимова и других ученых (2020) был проведен цитогенетический анализ с целью оценки стабильности генетического аппарата у студентов разных национальностей (русские, казахи, туркмены) в буккальном эпителии. В ходе работы были выявлены как половые, так и национальные отличия в изучаемых группах людей [10].

Также этот метод применяют на эукариотических клетках и для исследования хромосомных аберраций, так как для этого не требуется анализ кариотипа. Образование микроядер широко используется в качестве биомаркера генотоксичности у людей, модельных организмов, а в последнее время и у диких животных [2, 8, 30, 31].

При цитогенетическом анализе с целью оценки стабильности генетического аппарата стали применять микроядерный тест [32]. Есть ряд исследований раз-

личных ученых, направленных на изучение образования микроядер при таких заболеваниях, как сахарный диабет, онкология и аллергия [33].

При лечении онкологических заболеваний используют химиотерапевтические препараты, которые в свою очередь также приводят к мутационной нагрузке. Для выявления их действия на организм применяют микроядерный тест, позволяющий проводить диагностику кластогенных и цитотоксических эффектов [34].

В странах ЕС и Японии микроядерный анализ является обязательным тестом, используемым при токсикологических исследованиях. В литературе описано достаточно много результатов применения микроядерного теста на таких видах, как рыбы, мыши, крысы, лягушки, голуби, ящерицы и гадюки [35]. Но не следует упускать альтернативу использования этого метода как важного показателя физиологического состояния организма [36].

Микроядерный тест является надежным, доступным, точным. Для его проведения необходимо минимальное время, и немаловажный фактор — независимость анализа от вида кариотипа (большое количество хромосом, хромосомы небольших размеров), позволяющим определять хромосомные потери с большой точностью, а также возможностью использования на тканях с низкой митотической активностью [10].

В то же время к недостаткам микроядерного анализа относятся: зависимость используемых методов фиксации и окраски (необходимо специальное окрашивание для более точного выявления типа хромосомных аберраций с нарушениями); отличие уровня клеток с микроядрами в разных органах и тканях у одного и того же организма неодинаково; для определения типа хромосомных аберраций и идентификации хромосом необходимо использовать микроядерный тест параллельно с другими методами [9, 37].

Немаловажным условием для проведения эксперимента является то, что необходимо учитывать пол, возраст и физиологические особенности исследуемого организма, так как частота микроядер может изменяться в зависимости от этих показателей.

Как уже говорилось выше, повышенная частота микроядер указывает на хромосомное повреждение, происходящее при снижении жизнеспособности клеток. Этот фактор как раз и рассматривается в качестве маркера нестабильности их функционирования. Микроядра образуются в ходе хромосомных разрывов (кластогенез) либо нарушения митотического аппарата (анеугенез) в процессе эритропоэза в костном мозге или селезенке.

Наличие микроядер в клетках свидетельствует о количественных изменениях ДНК в живой клетке, а также генотоксическом стрессе и (или) генетической нестабильности организма. Клетки, содержащие микроядра, являются информативным показателем того, что организм был подвержен действию различных факторов, в том числе загрязнению окружающей среды, вызывающих воспалительные и патологические процессы.

В исследованиях М. Елькиной и ее коллег (2011) был проведен анализ внутривидовой генетической дифференциации у монгольского скота, в том числе крупного рогатого скота, яков и овец, в зоне рискованного животноводства Гоби с использованием микроядерного теста. По результатам проведенных исследований была отмечена повышенная стабильность генетического аппарата [38].

Так, Е. Романова и Е. Рябина (2019) проводили исследования, направленные на изучение качества

среды для мониторинга генотоксического загрязнения с использованием микроядерного анализа (гематологические и цитогенетические показатели прудовых лягушек). По результатам работы этих ученых были даны рекомендации по применению данного метода с целью оценки экологического состояния не только популяции организмов, но и среды обитания [39].

В ходе исследований С. Подберезко и С. Мельнова (2020) был изучен цитогенетический статус амфибий в водоемах с различной антропогенной нагрузкой. На основании полученных результатов было выявлено большое содержание микроядер в наиболее загрязненном водоеме (больше чем в 11 раз,  $p < 0,05$ ), о чем свидетельствовала частота встречаемости хромосомных aberrаций [40].

А. Бигалиев с коллегами (2020) проводил цитогенетические исследования рыб, содержащихся в загрязненных водоемах, и выявил, что на таких территориях количество клеток с микроядрами увеличивается в 1,5–2 раза. Такая же тенденция была отмечена и у людей, проживающих на загрязненных территориях в данной местности [41].

С. Смородинская в своих исследованиях (2022) выявляла взаимосвязь возникновения микроядер в эритроцитах рыб *Danio rerio* с воздействием на организм пищевой добавки ликопина. В ходе эксперимента было выяснено, что ликопин не имеет генотоксического воздействия и может использоваться в различных продуктах питания [42].

В 2000 году отмечалось повышенное внимание лабораторий, работающих в области экологического мутагенеза с использованием микроядерного анализа. Было опубликовано много статей, основанных на этих исследованиях. Микроядерный анализ был применен в вирусологии. Например, было доказано, что белок TAX вируса Т-лейкемии человека типа I и II вызывает увели-

чение частоты микроядер [43]. Такая же картина наблюдалась при заболевании вирусом Эпштейна — Барр [44] и при ВПЧ [45, 46]. В работах S. Duensing и K. Munger была выявлена прямая связь индукции микроядер с онкобелками Е6 и Е7 ВПЧ [47].

В отличие от большинства молекулярных изменений, поломка хромосом и неправильная сегрегация относятся к необратимым генетическим повреждениям, которые можно легко обнаружить в подвергшихся воздействию организмах с помощью простых методов. Стоит учитывать тот факт, что иногда микроядра могут путать с гранулами тучных клеток. Необходимо помнить, что форма клеток круглая или овальная с четкими краями и они всегда равномерно окрашены [35].

Микроядерный анализ был применен на различных клетках, таких как безъядерные эритроциты, сперматиды, ооциты, в том числе эмбрионах, для изучения трансплацентарной активности. Разностороннее использование этого метода открывает перспективы для раннего прогнозирования наследственных заболеваний, оценки мутагенности при экологических катастрофах [48, 49].

### Выводы / Conclusion

Актуальность проведения микроядерного теста становится наиболее востребованной вследствие роста экологических катастроф, загрязнения окружающей среды, а также использования генетически модифицированных продуктов. Методики анализа микроядер в медицине для различных тканей стандартизированы, в то время как в сельском хозяйстве необходимо проводить целенаправленное изучение данного метода на разных видах животных. Это позволит определить причину возникновения многих заболеваний, а также использовать данный анализ с целью мониторинга экологической обстановки.

Автор несет ответственность за свою научную работу и представленные данные в научной статье.

The author is responsible for his scientific work and the data presented in the scientific article.

### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания 0445-2021-0005 при финансовой поддержке фундаментальных научных исследований Минобрнауки РФ.

### FUNDING

The work was carried out within the framework of the state task 0445-2021-0005 with the financial support of fundamental scientific research of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Крюков В.И., Власова Е.Ю. Влияние гиповитаминоза на частоту микроядер в эритроцитах периферической крови индейки домашней (MELEAGRIS GALLOPAVO). *Биология в сельском хозяйстве*. 2019; 3(24): 2-9.
2. Sandoval-Herrera N., Paz Castillo J., Montalvo L.G.H. and Welch K.C. Micronucleus Test Reveals Genotoxic Effects in Bats Associated with Agricultural Activity. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2021; 40(1): 202-207. <https://doi.org/10.1002/etc.4907>.
3. Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nature Protocols*. 2007; 2(5): 1084-1104. doi:10.1038/nprot.2007.77.
4. Симаков Ю.Г., Никитин И.А., Иванов С.А., Штерман В.С., Штерман С.В., Сидоренко М.Ю., Сидоренко Ю.И. Изучение токсикологических характеристик растительных экстрактов для использования в продуктах спортивного питания. *Пищевая промышленность*. 2021; 11: 74-79. DOI 10.52653/PPI.2021.11.11.009.

### REFERENCES

1. Kryukov V.I., Vlasova E.Yu. Effect of hypovitaminosis on the frequency of micronuclei in peripheral blood erythrocytes of domestic turkey (MELEAGRIS GALLOPAVO). *Biology in agriculture*. 2019; 3(24): 2-9. (In Russian).
2. Sandoval-Herrera N., Paz Castillo J., Montalvo L.G.H. and Welch K.C. Micronucleus Test Reveals Genotoxic Effects in Bats Associated with Agricultural Activity. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2021; 40(1): 202-207. <https://doi.org/10.1002/etc.4907>.
3. Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nature Protocols*. 2007; 2(5): 1084-1104. doi:10.1038/nprot.2007.77.
4. Simakov Yu.G., Nikitin I.A., Ivanov S.A., Shterman V.S., Shterman S.V., Sidorenko M.Yu., Sidorenko Yu.I. Study of the toxicological characteristics of plant extracts for use in sports nutrition products. *Food industry*. 2021; 11: 74-79. DOI 10.52653/PPI.2021.11.11.009. (In Russian).

5. Сутягина О.И., Кисурин-Евгеньева О.П. Морфофункциональные различия микроядер в культурах p53-положительных и p53-отрицательных опухолевых клеток человека. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2019; 167(6): 777-783.
6. Muller H. The production of mutations by X-rays. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* 1928; 68: 59. <http://dx.doi.org/10.1126/science.68.1751.59>.
7. Miyamae Y, Yamamoto M., Sasaki Y., Kobayashi H., Igarashi-Soga M., Shimoi K., Hayashi M. Evaluation of a tissue homogenization technique that isolates nuclei for the in vivo single cell gel electrophoresis (comet) assay: a collaborative study by five laboratories. *Mutation Research*. 1998; 418: 131-140.
8. Souto H.N., de Campos J nior E.O., Campos C.F., Rodrigues T.S., Pereira B.B., Morelli S. Biomonitoring birds: The use of a micronuclei test as a tool to assess environmental pollutants on coffee farms in southeast Brazil. *Environmental Science and Pollution Research*. 2018; 25: 24084-24092.
9. Fenech M. Micronuclei and their association with sperm abnormalities, infertility, pregnancy loss, pre-eclampsia and intra-uterine growth restriction in humans. *Mutagenesis*. 2011; 26(1): 63-67. doi:10.1093/mutage/geq084.
10. Касимова С.К., Ломтева Н.А., Кондратенко Е.И., Кузина Т.В., Сазбанова А.Д. Цитогенетические нарушения в клетках буккального эпителия студентов разных этнических групп. *Современные проблемы науки и образования*. 2020; 6: 186. DOI 10.17513/spno.30453.
11. Nikiforov-Nikishin D.L., Kochetkov N.I., Smorodinskaya S.V., Tatarenko P.Yu., Matveeva D.M. Toxicity of metal chelates mixture in aquatic environment at Danio rerio. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2021; 839(5): 052010. doi:10.1088/1755-1315/839/5/052010.
12. Kirsch-Volders M., Fenech M., Bolognesi C. Validity of the Lymphocyte Cytokinesis-Block Micronucleus Assay (L-CBMN) as biomarker for human exposure to chemicals with different modes of action: A synthesis of systematic reviews. *Mutation research. Genetic toxicology and environmental mutagenesis*. 2018; 836:47-52. doi:10.1016/j.mrgentox.2018.05.010.
13. Kirsch-Volders M., Fenech M. Micronucleus Assays with Human Lymphocytes for In Vitro Genetic Toxicology Testing. *In The Micronucleus Assay in Toxicology*. London, UK. 2019; 157-168. DOI:10.1039/9781788013604-00157.
14. Boveri T. Concerning the origin of malignant tumours by Theodor Boveri. Translated and annotated by Henry Harris. *Journal of Cell Science*. 2008; 121(1): 1-84.
15. Fenech M. Cytokinesis-Block Micronucleus Cytome Assay Evolution into a More Comprehensive Method to Measure Chromosomal Instability. *Genes*. 2020; 11: 1203. doi:10.3390/genes11101203.
16. Schmid W. The micronucleus test for cytogenetic analysis. *In Chemical Mutagens*. Springer, New York, NY, USA. 1976; 31-53.
17. Countryman P., Heddle J. The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutation research*. 1976; 41: 321-331.
18. Ye C.J., Sharpe Z., Alemara S., Mackenzie S., Liu G., Abdallah B., Horne S., Regan S., Heng H.H. Micronuclei and Genome Chaos: Changing the System Inheritance. *Genes*. 2019; 1: E 366. doi:10.3390/genes10050366.
19. Fenech M. Mechanisms by which genotoxins cause micronuclei and other nuclear anomalies. *The micronucleus assay in toxicology*. 2019; 8-23. DOI:10.1039/9781788013604-00008.
20. Trigos A.S., Pearson R.B., Papenfuss A.T., Goode D.L. How the evolution of multicellularity set the stage for cancer. *Br. J. Cancer*. 2018; 118: 145-152.
21. A. Dhawan, M. Bajpayel. Genotoxicity Assesment. *Methods and Protocols*. 2019; 378. <https://doi.org/10.1007/978-1-4339-9646-9>.
22. Davis A.K., Maney D.L. The use of glucocorticoid hormones or leucocyte profiles to measure stress in vertebrates: What's the difference? *Methods in Ecology and Evolution*. 2018; 9: 1556-1568.
5. Sutyagina O.I., Kisurina-Evgen'eva O.P. Morphofunctional differences in micronuclei in cultures of p53-positive and p53-negative human tumor cells. *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2019; 167(6): 777-783. (In Russian).
6. Muller H. The production of mutations by X-rays. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* 1928; 68: 59. <http://dx.doi.org/10.1126/science.68.1751.59>.
7. Miyamae Y, Yamamoto M., Sasaki Y., Kobayashi H., Igarashi-Soga M., Shimoi K., Hayashi M. Evaluation of a tissue homogenization technique that isolates nuclei for the in vivo single cell gel electrophoresis (comet) assay: a collaborative study by five laboratories. *Mutation Research*. 1998; 418: 131-140.
8. Souto H.N., de Campos J nior E.O., Campos C.F., Rodrigues T.S., Pereira B.B., Morelli S. Biomonitoring birds: The use of a micronuclei test as a tool to assess environmental pollutants on coffee farms in southeast Brazil. *Environmental Science and Pollution Research*. 2018; 25: 24084-24092.
9. Fenech M. Micronuclei and their association with sperm abnormalities, infertility, pregnancy loss, pre-eclampsia and intra-uterine growth restriction in humans. *Mutagenesis*. 2011; 26(1): 63-67. doi:10.1093/mutage/geq084.
10. Kasimova S.K., Lomteva N.A., Kondratenko E.I., Kuzina T.V., Sazbanova A.D. Cytogenetic disorders in buccal epithelial cells of students of different ethnic groups. *Modern problems of science and education*. 2020; 6: 186. DOI 10.17513/spno.30453. (In Russian).
11. Nikiforov-Nikishin D.L., Kochetkov N.I., Smorodinskaya S.V., Tatarenko P.Yu., Matveeva D.M. Toxicity of metal chelates mixture in aquatic environment at Danio rerio. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2021; 839(5): 052010. doi:10.1088/1755-1315/839/5/052010.
12. Kirsch-Volders M., Fenech M., Bolognesi C. Validity of the Lymphocyte Cytokinesis-Block Micronucleus Assay (L-CBMN) as biomarker for human exposure to chemicals with different modes of action: A synthesis of systematic reviews. *Mutation research. Genetic toxicology and environmental mutagenesis*. 2018; 836:47-52. doi:10.1016/j.mrgentox.2018.05.010.
13. Kirsch-Volders M., Fenech M. Micronucleus Assays with Human Lymphocytes for In Vitro Genetic Toxicology Testing. *In The Micronucleus Assay in Toxicology*. London, UK. 2019; 157-168. DOI:10.1039/9781788013604-00157.
14. Boveri T. Concerning the origin of malignant tumours by Theodor Boveri. Translated and annotated by Henry Harris. *Journal of Cell Science*. 2008; 121(1): 1-84.
15. Fenech M. Cytokinesis-Block Micronucleus Cytome Assay Evolution into a More Comprehensive Method to Measure Chromosomal Instability. *Genes*. 2020; 11: 1203. doi:10.3390/genes11101203.
16. Schmid W. The micronucleus test for cytogenetic analysis. *In Chemical Mutagens*. Springer, New York, NY, USA. 1976; 31-53.
17. Countryman P., Heddle J. The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutation research*. 1976; 41: 321-331.
18. Ye C.J., Sharpe Z., Alemara S., Mackenzie S., Liu G., Abdallah B., Horne S., Regan S., Heng H.H. Micronuclei and Genome Chaos: Changing the System Inheritance. *Genes*. 2019; 1: E 366. doi:10.3390/genes10050366.
19. Fenech M. Mechanisms by which genotoxins cause micronuclei and other nuclear anomalies. *The micronucleus assay in toxicology*. 2019; 8-23. DOI:10.1039/9781788013604-00008.
20. Trigos A.S., Pearson R.B., Papenfuss A.T., Goode D.L. How the evolution of multicellularity set the stage for cancer. *Br. J. Cancer*. 2018; 118: 145-152.
21. A. Dhawan, M. Bajpayel. Genotoxicity Assesment. *Methods and Protocols*. 2019; 378. <https://doi.org/10.1007/978-1-4339-9646-9>.
22. Davis A.K., Maney D.L. The use of glucocorticoid hormones or leucocyte profiles to measure stress in vertebrates: What's the difference? *Methods in Ecology and Evolution*. 2018; 9: 1556-1568.

23. Fenech M. The in vitro micronucleus technique. *Mutation research*. 2000; 455: 81-95. [http://dx.doi.org/10.1016/s0027-5107\(00\)00065-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0027-5107(00)00065-8).
24. Haschka M., Karbon G., Fava L., Villunger A. Perturbing mitosis for anti-cancer therapy: is cell death the only answer? *EMBO Reproduction*. 2018; 19: e45440.
25. Глазко Т.Т., Косовский Г.Ю., Глазко В.И. Биомаркеры геномной нестабильности у животных сельскохозяйственных видов. *Известия ТСХА*. 2013; 2: 139-147.
26. Мальнева К.Е., Ячменева Л.А. Особенности строения микроядер буккального эпителия. *Международный студенческий научный вестник*. 2020; 2: 5.
27. Boller K., Schmid W. Chemical mutagenesis in mammals - Chinese hamster cells as an in vivo test system. *Hematological finding after treatment with tenimon, Humangenetik*. 1970; 11: 34-54.
28. Heddle J. A rapid in vivo test for chromosomal damage. *Mutation research*. 1973; 18: 187-190.
29. Водунон А.С., Пономарева Н.А., Абрамова З.И. Цитогенетические изменения в эритроцитах больных atopической бронхиальной астмой. *Ученые записки Казанского государственного университета*. 2008; 150(2): 101-105.
30. Benvindo-Souza M., Borges R.E., Pacheco S.M., de Souza Santos L.R. Genotoxicological analyses of insectivorous bats (Mammalia: Chiroptera) in central Brazil: The oral epithelium as an indicator of environmental quality. *Environmental Pollution*. 2019a; 245: 504-509.
31. Benvindo-Souz M., Borges R.E., Pacheco S.M., de Souza Santos L.R. Micronucleus and other nuclear abnormalities in exfoliated cells of buccal mucosa of bats at different trophic levels. *Environmental toxicology*. 2019b; 172: 120-127.
32. Sula E., Aliko V., Pagano M., Faggio C. Digital light microscopy as a tool in toxicological evaluation of fish erythrocyte morphological abnormalities. *Microscopy Research and Technique*. 2020; 83: 362-369. <https://doi.org/10.1002/jemt.23422>.
33. Гайдай Е.А., Дорофеева А.А., Крышень К.Л., Гайдай Д.С. Методические аспекты проведения ДНК-комет-теста в условиях in vivo в доклинических исследованиях. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2020; 3. <https://doi.org/10.29296/2618723X-2020-03-03>.
34. Минина В.И., Буслаев В.Ю. Микроядерный тест для оценки модификации генотоксического потенциала алкирующих агентов под действием фитохимических веществ. *Современные проблемы науки и образования*. 2019; 6: 196-196. DOI 10.17513/spno.29381.
35. Зверева Д.Е. Использование микроядерного теста при оценке генотоксических свойств лекарственных веществ. *Вестник совета молодых учёных и специалистов Челябинской области*. 2019; 2(25): 10-20.
36. Яковлева И.Н., Мусиенко Н.А., Дронов В.В., Майдан В.В., Бронникова А.М. Микроядерный тест на генотоксичность в птицеводстве. *Проблемы сельскохозяйственного производства на современном этапе и пути их решения: мат. междунар. научно-производственной конференции*. Белгород. 2012; 1: 139-141.
37. Chan Y.W., West, S.C. A new class of ultrafine anaphase bridges generated by homologous recombination. *Cell Cycle*. 2018; 17: 2101-2109. <https://doi.org/10.1080/15384101.2018.1515555>
38. Елькина М.А., Астафьева Е.Е., Карпушкина Т.В., Глазко Т.Т., Столповский Ю.А., Глазко В.И. Популяционно-генетическая дифференциация монгольских овец, крупного рогатого скота, яков в условиях хронического действия экологического стресса. *Известия ТСХА*. 2011; 2: 134-138.
39. Романова Е.Б., Рябинина Е.С. Скрининговый цитогенетический метод учета микроядер в крови прудовых лягушек как индикатор состояния водных биологических ресурсов. *Вестник Камчатского государственного технического университета*. 2019; 49: 43-49. DOI: 10.17217/2079-0333-2019-49- 43-49.
23. Fenech M. The in vitro micronucleus technique. *Mutation research*. 2000; 455: 81-95. [http://dx.doi.org/10.1016/s0027-5107\(00\)00065-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0027-5107(00)00065-8).
24. Haschka M., Karbon G., Fava L., Villunger A. Perturbing mitosis for anti-cancer therapy: is cell death the only answer? *EMBO Reproduction*. 2018; 19: e45440.
25. Glazko T.T., Kosovsky G.Yu., Glazko V.I. Biomarkers of genomic instability in agricultural animals. *Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy*. 2013; 2: 139-147. (In Russian).
26. Malneva K.E., Yachmeneva L.A. Features of the structure of the micronuclei of the buccal epithelium. *International Student Scientific Bulletin*. 2020; 2: 5. (In Russian).
27. Boller K., Schmid W. Chemical mutagenesis in mammals - Chinese hamster cells as an in vivo test system. *Hematological finding after treatment with tenimon, Humangenetik*. 1970; 11: 34-54.
28. Heddle J. A rapid in vivo test for chromosomal damage. *Mutation research*. 1973; 18: 187-190.
29. Vodunon A.S., Ponomareva N.A., Abramova Z.I. Cytogenetic changes in erythrocytes of patients with atopical bronchial asthma. *Scientific notes of Kazan State University*. 2008; 150(2): 101-105. (In Russian).
30. Benvindo-Souza M., Borges R.E., Pacheco S.M., de Souza Santos L.R. Genotoxicological analyses of insectivorous bats (Mammalia: Chiroptera) in central Brazil: The oral epithelium as an indicator of environmental quality. *Environmental Pollution*. 2019a; 245: 504-509.
31. Benvindo-Souz M., Borges R.E., Pacheco S.M., de Souza Santos L.R. Micronucleus and other nuclear abnormalities in exfoliated cells of buccal mucosa of bats at different trophic levels. *Environmental toxicology*. 2019b; 172: 120-127.
32. Sula E., Aliko V., Pagano M., Faggio C. Digital light microscopy as a tool in toxicological evaluation of fish erythrocyte morphological abnormalities. *Microscopy Research and Technique*. 2020; 83: 362-369. <https://doi.org/10.1002/jemt.23422>.
33. Gajdaj E.A., Dorofeeva A.A., Kryshen K.L., Gajdaj D.S. Methodological aspects of DNA-comet assay in vivo in preclinical research. *Laboratory Animals for Science*. 2020; 3: 16-24. <https://doi.org/10.29296/2618723X-2020-03-03> (In Russian).
34. Minina V.I., Buslaev V.Yu. A micronucleus test to assess the modification of the genotoxic potential of alkating agents under the action of phytochemicals. *Modern problems of science and education*. 2019; 6: 196-196. DOI 10.17513/spno.29381. (In Russian).
35. Zvereva D.E. The use of the micronucleus test in assessing the genotoxic properties of medicinal substances. *Bulletin of the council of young scientists and specialists of the Chelyabinsk region*. 2019; 2(25): 10-20. (In Russian)
36. Yakovleva I.N., Musienko N.A., Dronov V.V., Maidan V.V., Bronnikova A.M. Micronuclear test for genotoxicity in poultry farming. *Problems of agricultural production at the present stage and ways to solve them: Mat. intl. research and production conference*. Belgorod. 2012; 1: 139-141. (In Russian)
37. Chan Y.W., West, S.C. A new class of ultrafine anaphase bridges generated by homologous recombination. *Cell Cycle*. 2018; 17: 2101-2109. <https://doi.org/10.1080/15384101.2018.1515555>
38. Elkina M.A., Astafieva E.E., Karpushkina T.V., Glazko T.T., Stolpovsky Yu.A., Glazko V.I. Population-genetic differentiation of Mongolian sheep, cattle, yaks under conditions of chronic environmental stress. *Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy*. 2011; 2: 134-138. (In Russian).
39. Romanova E.B., Ryabinina E.S. Screening cytogenetic method for counting micronuclei in the blood of pond frogs as an indicator of the state of aquatic biological resources. *Bulletin of the Kamchatka State Technical University*. 2019; 49: 43-49. DOI: 10.17217/2079-0333-2019-49-43-49. (In Russian).

40. Подберезко С.А., Мельнов С.Б. Оценка уровня генотоксичности окружающей среды с помощью микроядерного теста на эритроцитах амфибий. *Вестник Палесского государственного университета*. 2020; 2: 3-11. (In Russian).
41. Бигалиев А.Б., Шалабаева К.З., Шимшиков Б.Е., Кобегенова С.С., Адилова Л.М., Кожакметова А.Н., Шарахметов С., Бурханова М.Н. Эколого-генетическая оценка последствий влияния радиации на загрязненных территориях. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2020; 24(7): 794-801. DOI 10.18699/VJ20.675.
42. Смородинская С.В. Разработка метода оценки безопасности пищевых добавок методом микроядерного теста на эритроцитах *Danio rerio*. *Товаровед продовольственных товаров*. 2022; 6: 404-412. Doi: 10.33920/igt-01-2206-05.
43. Semmes O., Majone F., Cantemir C., Turchetto L., Hjelle B., Jeang K. HTLV-I and HTLV-II Tax: differences in induction of micronuclei in cells and transcriptional activation of viral LTRs. *Virology*. 1996; 373-379.
44. Protection E. Frequency of micronucleated lymphocytes and Epstein-Barr virus contamination in Altai region residents living near the Semipalatinsk atomic test ground. *Probl. Radio Ecol. Environ. Prot.* 2003; 172-176.
45. Leal-Garza C., Cerda-Flores R., Leal-Elizondo E., Cortes-Gutierrez E. Micronuclei in cervical smears and peripheral blood lymphocytes from women with and without cervical uterine cancer. *Mutation research*. 2002; 515: 57-62.
46. Cassel A., Barcellos R., Silva C., Almeida S., Rossetti M. Association between human papillomavirus (HPV) DNA and micronuclei in normal cervical cytology. *Genetics and Molecular Biology*. 2014; 360-363.
47. Duensing S., Munger K. The human papillomavirus type 16 E6 and E7 onco-proteins independently induce numerical and structural chromosome instability. *Cancer Research*. 2002; 62: 7075-7082.
48. Крысанов Е.Ю., Ордзхоникдзе К.Г. Некоторые аспекты цитогенетического мониторинга. *Жизнь Земли: междисциплинарный научно-практический журнал*. 2018; 40(4): 403-407.
49. Зуб А.В., Загребин В.Л., Дворяшина И.А., Терентьев А.В. Возможность использования биологической модели пресноводной рыбы данио рерио в доклинических исследованиях. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2020; 1(73): 10-13. DOI 10.19163/1994-9480-2020-1(73)-10-13.
40. Podberezko S.A., Melnov S.B. Assessment of the level of environmental genotoxicity using a micronucleus test on amphibian erythrocytes. *Bulletin of Palesky state university*. 2020; 2: 3-11. (In Russian).
41. Bigaliev A.B., Shalabaeva K.Z., Shimshikov B.E., Kobegenova S.S., Adilova L.M., Kozhakhmetova A.N., Sharakhmetov S., Burkhanova M.N. Ecological-genetic assessment of the consequences of the influence of radiation on contaminated territories. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020; 24(7): 794-801. DOI 10.18699/VJ20.675. (In Russian).
42. Smorodinskaya S.V. Development of a method for assessing the safety of food additives using a micronucleus test on *Danio rerio* erythrocytes. *Food Products Commodity Expert*. 2022; 6: 404-412. Doi: 10.33920/igt-01-2206-05. (In Russian).
43. Semmes O., Majone F., Cantemir C., Turchetto L., Hjelle B., Jeang K. HTLV-I and HTLV-II Tax: differences in induction of micronuclei in cells and transcriptional activation of viral LTRs. *Virology*. 1996; 373-379.
44. Protection E. Frequency of micronucleated lymphocytes and Epstein-Barr virus contamination in Altai region residents living near the Semipalatinsk atomic test ground. *Probl. Radio Ecol. Environ. Prot.* 2003; 172-176.
45. Leal-Garza C., Cerda-Flores R., Leal-Elizondo E., Cortes-Gutierrez E. Micronuclei in cervical smears and peripheral blood lymphocytes from women with and without cervical uterine cancer. *Mutation research*. 2002; 515: 57-62.
46. Cassel A., Barcellos R., Silva C., Almeida S., Rossetti M. Association between human papillomavirus (HPV) DNA and micronuclei in normal cervical cytology. *Genetics and Molecular Biology*. 2014; 360-363.
47. Duensing S., Munger K. The human papillomavirus type 16 E6 and E7 onco-proteins independently induce numerical and structural chromosome instability. *Cancer Research*. 2002; 62: 7075-7082.
48. Krysanov E.Yu., Ordzhonikidze K.G. Some aspects of cytogenetic monitoring. *The Life of the Earth: interdisciplinary scientific and practical journal*. 2018; 40(4): 403-407. (In Russian).
49. Zub A.V., Zagrebina V.L., Dvoryashina I.A., Terentiev A.V. The possibility of using a biological model of freshwater zebrafish in preclinical studies. *Bulletin of the Volgograd State Medical University*. 2020; 1(73): 10-13. DOI 10.19163/1994-9480-2020-1(73)-10-13. (In Russian).

**ОБ АВТОРЕ:**

**Инна Петровна Новгородова,**  
кандидат биологических наук, Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста, п. Дубровицы, 60, Московская обл., 142132, Российская Федерация  
E-mail: novg-inna2005@yandex.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-4617-1644>

**ABOUT THE AUTHOR:**

**Inna Petrovna Novgorodova,**  
Candidate of Biological Sciences,  
Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst, 60, Dubrovitsy, Moscow region, 142132, Russian Federation  
E-mail: novg-inna2005@yandex.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-4617-1644>