

# Методы гигиенических исследований

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 57.086

Юрченко В.В., Кривцова Е.К., Юрцева Н.А., Ингель Ф.И.

## МИКРОЯДЕРНЫЙ ТЕСТ НА КЛЕТКАХ БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ И КУЛЬТУРЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА: СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровья» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119121, Москва

Для выявления мутагенной опасности различных факторов для человека чаще всего используются тесты по учёту микроядер в культивированных с цитохалазином В лимфоцитах периферической крови человека и/или в эпителиоцитах слизистой оболочки щеки. Тест на эпителиоцитах неинвазивный и несопоставимо легче в сборе и фиксации материала. Видимо поэтому имеется достаточное количество публикаций результатов метаанализа сравнений этих тестов, в которых доказывается возможность их взаимозамены. Целью настоящей работы является проверка гипотезы о взаимозаменяемости МТ на лимфоцитах и эпителии слизистой оболочки щеки путем сравнения их эффективности (по наличию/отсутствию эффекта). Мы отбирали публикации из массива данных по оценке любых факторов - от заболеваний до производственных и бытовых вредностей, но только тех, в которых у одних и тех же добровольцев брали и кровь для культивирования, и соскоб эпителия щеки. Исследования с отрицательным ответом на обеих тканях по сравнению с контрольной группой были исключены из рассмотрения. Наш анализ показал, что при оценке 30 различных факторов, воздействующих на человека, положительный результат на обеих тканях был получен для 17 факторов, только на лимфоцитах крови человека – для 7 факторов, и только на эпителии щеки – для 6 факторов. Кроме того, помимо указанных сравнений, в цитируемых статьях проявляются особенности каждого метода и проблемы, связанные с интерпретацией результатов, полученных в каждом из них. Для большей надежности выявления мутагенных факторов в генетико-гигиенических исследованиях представляется целесообразным использовать оба теста.

**Ключевые слова:** микроядерный тест; буккальный эпителий; культура лимфоцитов крови человека; параллельные исследования на 2 тканях; обзор.

**Для цитирования:** Юрченко В.В., Кривцова Е.К., Юрцева Н.А., Ингель Ф.И. Микроядерный тест на клетках буккального эпителия и культуре крови человека: сравнение эффективности. *Гигиена и санитария*. 2018; 97(12): 1244-1248. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-12-1244-1248>

**Для корреспонденции:** Ингель Фаина Исааковна, доктор биол. наук, и.о. зав. лаб. генетической токсикологии Института экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина ФГБУ «ЦСП» Минздрава России. E-mail: [fainaingel@mail.ru](mailto:fainaingel@mail.ru)

Yurchenko V.V., Krivtsova E.K., Urtseva N.A., Ingel F.I.

## COMPARISON OF AN EFFICIENCY BETWEEN MICRONUCLEUS TEST IN BUCCAL EPITHELIAL CELLS AND CULTURED HUMAN BLOOD LYMPHOCYTES

Centre for Strategic Planning, Russian Ministry of Health, Moscow, 119991, Russian Federation

To identify the mutagenic danger of various factors for humans often use two micronuclear tests – in peripheral blood lymphocytes cultivated with Cytochalasin B and in buccal mucosa epithelial cells. The last test is non-invasive and it is incomparably easier for collection and fixation an epithelial cells. Apparently, therefore, there is a sufficient number of publications of the results of meta-analysis of comparisons of these tests, which prove the possibility of their substitution. The aim of our work is to verify the hypothesis of interchangeability of micronuclei tests (MT) on lymphocytes and epithelium mucosa cells by comparing their effectiveness (presence/absence of effect). We selected publications from an array of data on the assessment of any factors - from diseases to industrial and household hazards, but only those in which the same volunteers were taken both tissues - blood for lymphocytes cultivation and scraping of buccal epithelium. Studies with negative response in both tissues compared to the control population were excluded from consideration. Our analysis showed that in the evaluation of 30 different factors affecting humans, a positive result in both tissues was obtained for 17 factors, only in human blood lymphocytes – for 7 factors, and only in buccal epithelium cells – for 6 factors. In addition to these comparisons, the cited articles show the features of each method and the problems associated with the interpretation of the results obtained in each of them. We concluded that for greater reliability of detection of mutagenic factors in genetic and hygienic studies it is advisable to use both tests.

**Key words:** micronucleus test; buccal epithelium; human blood lymphocyte culture; parallel studies on 2 tissues.

**For citation:** Yurchenko V.V., Krivtsova E.K., Urtseva N.A., Ingel F.I. Comparison of an efficiency between micronucleus test in buccal epithelial cells and cultured human blood lymphocytes. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)* 2018, 97(12): 1244-1248. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-12-1244-1248>

**For correspondence:** Faina I. Ingel, MD, Ph.D., DSci., Head of the Laboratory of Genetic Toxicology of the Centre for Strategic Planning, Russian Ministry of Health, Moscow, 119991, Russian Federation. E-mail: [fainaingel@mail.ru](mailto:fainaingel@mail.ru)

**Information about authors:** Yurchenko V.V., <http://orcid.org/0000-0002-9910-1762>; Ingel F.I., <http://orcid.org/0000-0002-2262-6800>; Krivtsova E.K., <http://orcid.org/0000-0002-5039-8980>.

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

**Acknowledgment.** The study had no sponsorship.

Received: 28 March 2018

Accepted: 20 December 2018

В последнее время для выявления нестабильности генома человека, ассоциированной с действием различных факторов среды, наиболее часто используют микроядерный тест (МТ), который обычно выполняют на лимфоцитах периферической крови или на клетках эпителия слизистой оболочки щеки. В первом случае кровь культивируют в присутствии блокатора цитотомии, что позволяет включать в анализ, как правило, только свежеподелившиеся (двуядерные) лимфоциты. Во втором случае для анализа используют мазок, приготовленный непосредственно из соскоба слизистой щеки. В обоих тестах главным показателем цитогенетического эффекта является повышение частоты клеток с микроядрами (МЯ) как маркер поврежденный хромосом, нестабильности генома и повышенного риска рака.

Микроядра образуются в митозе и содержат отставшие хромосомы или ацентрические фрагменты хромосом, образовавшиеся из нерепарированных двуниевых разрывов ДНК, а также ДНК, образовавшуюся в результате избыточной репликации [1]. Преимуществами МТ на буккальном эпителии считаются неинвазивность и возможность непосредственно оценить локальную экспозицию полости рта к воде, пище и воздуху [2]. Системная экспозиция эпителия щеки через кровяное русло подразумевается, но, по мнению экспертов международного проекта по изучению и стандартизации микроядерных тестов, не является доказанной [3]. Есть основания полагать, что цитогенетические повреждения в лимфоцитах больше зависят от внутренней среды организма, а в буккальных эпителиоцитах – от состояния желудочно-кишечного тракта [4]. Кроме того, продолжительность жизни лимфоцитов в кровяном русле без прохождения митоза измеряется годами, а эпителий слизистой оболочки щеки полностью обновляется примерно за неделю [5 - 7]. В опытах на животных было показано, что покоящиеся клетки могут накапливать потенциальные повреждения ДНК, которые реализуются в нарушениях хромосом во время митоза [8, 9]. В то же время, популяция быстро обновляющихся клеток постоянно освобождается от клеток с цитогенетическими повреждениями. Косвенным подтверждением этому является различие фоновых уровней частоты МЯ в двух тестах – до 10–30% в двуядерных лимфоцитах и до 1% в буккальных эпителиоцитах. Тогда в условиях продолжительной системной экспозиции МТ на лимфоцитах крови может оказаться чувствительнее теста на эпителии щеки.

В литературе имеется несколько примеров сравнения чувствительности двух тестов по результатам исследований, в которых от одних и тех же людей брали и кровь для культивирования с цитохалазином Б, и мазок эпителия слизистой оболочки щеки (см. например, [10]). В этой работе за показатель эффективности принимали логарифм кратности превышения средней частоты клеток с микроядрами в основной группе добровольцев над средним значением в группе сравнения. Коэффициент корреляции двух МТ составил 74%, что породило устойчивое мнение об их взаимозаменяемости. Однако этот результат представляется искусственно завышенным по двум причинам:

1) из 19 работ, принятых авторами к рассмотрению, в семи превышения эффекта в экспонированной популяции над контролем не было обнаружено ни в одном МТ, а хорошо известно, что уровень корреляций между «нулевыми» эффектами существенно выше, чем между «ненулевыми»;

2) для оценки корреляций авторы использовали не реальные уровни цитогенетических эффектов, а их логарифмы, хотя известно, что процедура логарифмирования приводит к существенной линейаризации корреляций.

Целью настоящей работы является проверка гипотезы о взаимозаменяемости МТ на лимфоцитах и эпителии слизистой оболочки щеки путём учёта наличия или отсутствия эффекта при оценке эффектов различных факторов.

В своем анализе мы стремились возможно полно охватить литературу по оценке генотоксических эффектов любых факторов (от заболеваний до производственных и бытовых вредностей), выполненной с одновременным применением обоих тестов у одних и тех же людей. Это условие позволяет исключить влияние на ответ объёма выборки, сопутствующих факторов и особенностей экспозиции в конкретных обследованиях (все случаи отступления от этого условия отмечены в тексте). Для сравнения отбирали только те публикации, в которых хотя бы

### Сравнение двух микроядерных тестов у человека для выявления эффектов нестабильности генома при заболеваниях и воздействии различных средовых факторов

Фактор	индукция МЯ		Источник
	лимфоциты	щека	
Носительство нелеченого рака	+	+	[12, 13]
Хроническая болезнь почек	+	+	[14]
Красный плоский лишай	+	+	[15]
Лишаевидные контактные реакции	–	+	[15]
Синдром Бехчета	+	+	[16]
Атаксия-телеангиэктазия (синдром Луи-Бара)	+	–	[17]
Болезнь Альцгеймера	+	–	[18]
Синдром Дауна	–	+	[18, 19]
Противоопухолевая химиотерапия	+	–	[6, 20]
Применение фолата при лечении язвенной болезни кишечника	+	+	[4]
Медсёстры с цитостатиками	+	–	[21]
Медсёстры с цитостатиками	+	+	[22]
Медсёстры с цитостатиками	–	+	[23, 24]
Производство цитостатиков	–	+	[25]
Мышьяк на производстве меди	+	+	[26]
Производство обуви	+	+	[27, 28]
Свинец в воздухе на производстве	+	+	[29, 30]
Работа с красками	+	–	[31]
Работа с красками	+	+	[32]
Шестивалентный хром на производстве	+	+	[33]
Работа на копировальных аппаратах	+	+	[34]
Пыль на открытых угольных разрезах	+	+	[35, 36]
Окись этилена	+	–	[37]
Формальдегид	–	+	[38]
Формальдегид	+	+	[2, 39, 40]
Потребление бездымного табака (тагас (жвачка))	+	+	[41, 42]
Табакокурение	+	+	[43]
Продукты горения сахарного тростника	+	+	[44]
Мышьяк с питьевой водой	+	+	[45]
Озон	+	+	[46, 47]
Дефицит В12, фолата, цинка, β-каротина	+	+	[48]
Потребление красного мяса	–	+	[49]
Рентгенодиагностика	+	–	[50]
Потребление оливкового масла	–	+	[50]

Примечание. Курсивом выделены канцерогены для человека.

в одном тесте было обнаружено превышение генотоксических эффектов у экспериментального контингента над группой сравнения.

Основные результаты анализа приведены в таблице, где канцерогенные факторы (в основном первой группы) [11] выделены курсивом.

До недавнего времени считалось, что поскольку в основном злокачественные новообразования у человека имеют эпителиальное происхождение, повышение частоты МЯ у онкологиче-

ских больных следует ожидать именно в эпителиальных клетках. Из таблицы видно, что оба теста в этом плане оказались одинаково эффективными [12, 13]. В то же время оба теста дали возможность обнаружить повышение частоты клеток с микроядрами и при обследовании детей с хронической болезнью почек: средняя частота МЯ в лимфоцитах была увеличена в 5 раз, в буккальных эпителиоцитах – в 9,3 раза по сравнению со здоровыми детьми [14].

**Красный плоский лишай** (*oral lichen planus*) представляет собой хроническое воспалительное аутоиммунное заболевание, при котором цитотоксическая активность Т-лимфоцитов направлена против эпителиальных клеток слизистых оболочек и кожи (плоский лишай некоторые исследователи объединяют в одну группу с плоскоклеточной карциномой или, в крайнем случае, относят к предраковым образованиям). Лишаевидные контактные реакции (*oral lichenoid contact reactions*), морфологически трудно отличимые от красного плоского лишая, развиваются в результате контакта слизистой оболочки с лекарственными или зубопротезными материалами и не несут повышенного риска развития рака ротовой полости. Однако при обоих заболеваниях обнаруживалась повышенная частота клеток с МЯ как в эпителии ротовой полости (в 15,3 и 17,9 раза соответственно), так и в культуре лимфоцитов (в 3,2 и в 2,3 раза – последнее не значимо) [15]. По мнению авторов работы, различие в ответах лимфоцитов и эпителия щеки при данных заболеваниях представляет дополнительную возможность для их дифференцированной диагностики.

Эти примеры показывают, что повышение частоты клеток с МЯ (как у детей с хронической почечной недостаточностью или в эпителии щеки при лишаевидной реакции) нельзя категорически считать маркером повышенного риска по раку.

**Болезнь Бехчета** (Behcet's disease) представляет собой мультисистемный воспалительный васкулит неясной этиологии (возможно, с иммунологическим компонентом), для которого характерны образование афт (язвочек) в полости рта и половых органах, артриты, поражения кожи и глаз, желудочно-кишечные и неврологические проявления и, как выяснилось, нарушения хромосом, которые выявляются как МЯ в лимфоцитах и эпителии щеки (превышение над здоровыми соответственно в 1,6 и 2,5 раза) [16].

**Синдром Луи-Бара** также является мультисистемным заболеванием, для которого характерны прогрессирующая мозжечковая атакия, хореоатетоз (*choreoathetosis*) и нарушение движения глаз. Телеангиэктазия (расширение венул) начинается в 2–8 летнем возрасте с конъюнктивы глаз и затем распространяется на другие экспонированные участки кожи. В основе заболевания лежит нестабильность генома, обусловленная дефектом системы репарации ДНК. Пациенты имеют много нарушений в иммунной системе и в 10% случаев у них развиваются лимфопролиферативные злокачественные опухоли [51]. По данным [17] у больных синдромом Луи-Бара частота МЯ в лимфоцитах была повышена в 3 раза при нормальном уровне МЯ в эпителии щеки.

По нейро-дегенеративным заболеваниям мы не нашли работ с одновременным применением двух МТ, но пациенты с **болезнью Альцгеймера** и **синдромом Дауна** были обследованы в каждом тесте неоднократно. В обзоре [18] показано, что повышенная частота клеток с МЯ обнаруживалась у пациентов с болезнью Альцгеймера в лимфоцитах, а при болезни Дауна – только в эпителиоцитах, хотя семьи с больными синдромом Дауна имели повышенный риск по болезни Альцгеймера, и наоборот.

Преимущественное проявление мутагенного эффекта цитостатиков в лимфоцитах при лечении больных раком может быть связано с парентеральным их применением [6, 20]. Для медсестёр онкологических больниц, которые разводят, смешивают и вводят пациентам антинеопластические препараты, основным путём поступления этих веществ в организм является кожный путь, а ингаляционное воздействие гораздо менее документировано и допускается как дополнительное [52].

В ряде публикаций экспозицию цитостатиками оценивали по выведению с мочой одного из применяемых веществ. Так, при содержании циклофосфана в моче на уровне 0,02–9,14 мкг/24 ч положительный ответ в МТ наблюдали только в лимфоцитах, что подтверждает сомнение в системной экспозиции эпителия через кровяное русло [21]. Однако при более высокой

экспозиции ( $0,44 \pm 0,26$  мкг/мл мочи) генотоксическое действие наблюдали в обеих тканях, причём эффекты наблюдались очень небольшие – в пределах удвоения контрольного уровня [22]. В то же время у медсестёр, контактировавших с анеугенным препаратом винорелбин – ингибитором веретена деления, не работающим в интерфазных клетках, положительный ответ наблюдали только в эпителии ротовой полости, причём преобладали центромера-позитивные МЯ [24, 25]. Аналогичные эффекты наблюдали у рабочих по производству этого препарата [26].

В разных цехах по производству меди концентрация неорганического мышьяка в воздухе была определена в диапазоне 6–80 мг/м<sup>3</sup> (ПДК в воздухе рабочей зоны для неорганических соединений мышьяка<sup>1</sup> составляет 0,04/0,01 мг/м<sup>3</sup>), содержание мышьяка в ногтях рабочих в среднем составило  $7,63 \pm 7,24$  мкг/г (в группе сравнения –  $0,51 \pm 0,05$  мкг/г), метаболитов мышьяка в моче –  $54,04 \pm 42,26$  мкг/л (в группе сравнения –  $11,01 \pm 10,84$  мкг/л) [26]. Ни у одного из рабочих не было кожных проявлений интоксикации. При этом превышение частоты МЯ над контролем было 1,96-кратным в двуядерных лимфоцитах и 2,29-кратным в эпителии ротовой полости без корреляции с уровнем экспозиции.

Генотоксическую опасность условий **обувного производства** в МТ на лимфоцитах [27] и буккальных эпителиоцитах [28] оценивали на разных фабриках. Превышение частот клеток с МЯ над группой сравнения в обоих тестах были невелики, но достоверны. По результатам анализа воздуха рабочей зоны эффекты в исследовании на лимфоцитах связали, предположительно, с воздействием бензола и метилдифенилдиазоцианата, на эпителии щеки – с содержанием толуола.

Свинец классифицирован как возможный канцероген для человека (группа 2б). У рабочих заводов по производству химических веществ и по производству и реутилизации свинцовых кислотных аккумуляторов для автомобилей содержание свинца в крови было выше, чем в контроле, но в пределах норматива (70 мкг/100 мл). Активность антиоксидантных ферментов (каталазы, супероксиддисмутазы) была понижена. Частота клеток с МЯ в обеих тканях была увеличена слабо по сравнению с контролем, но различия всё же были значимы [29, 30]. Частота клеток с МЯ коррелировала с годами экспозиции [30].

Канцерогенную опасность работы с красками связывают с экспозицией к органическим растворителям и металлам, что сопровождается окислительным стрессом и угнетением антиоксидантных ферментов. У маляров было отмечено снижение активности супероксиддисмутазы (но не каталазы), причём частота МЯ не изменялась в обеих тканях, но в двуядерных лимфоцитах статистически значимо повышалась частота ядерных почеч<sup>2</sup>, которая коррелировала ( $r = 0,42$ ,  $p < 0,029$ ) с продолжительностью экспозиции (ч/сут) [31]. У рабочих завода по производству олифы, красок и лаков частота МЯ была значимо повышена в 1,4 раза в лимфоцитах и в 1,9 раза – в эпителии щеки [32].

Повышенную частоту клеток с МЯ в обеих тканях обнаружили у рабочих, контактировавших с шестивалентным хромом в гальванических цехах [33], с компонентами тонеров у работающих на ксерокопировальных аппаратах [34], а также с угольной пылью на открытых угольных разработках [35, 36].

У рабочих химического производства, на котором окись этилена используется как промежуточный продукт и присутствует в воздухе рабочей зоны ( $2\text{--}5$  ppm/8 ч), повышенные частоты МЯ нашли в двуядерных лимфоцитах, но не в эпителии ротовой полости [37]. Одновременно с этим у рабочих было установлено накопление аддуктов окиси этилена в гемоглобине.

Обращают на себя внимание противоречивые результаты оценки экспозиции к формальдегиду. Две из этих работ [38, 39] очень близки по дизайну: материал брали у студентов до и после цикла из нескольких занятий в анатомических классах (группы 25 и 29 человек); средневзвешенная концентрация формальдегида в классах в пересчете на 8-часовой рабочий день составила 0,34 и 0,33 ppm, т. е. практически одинаковая. Различалась толь-

<sup>1</sup> Гигиенические нормативы химических веществ в окружающей среде. Санкт-Петербург, НИО «Профессионал», 2007. 767 стр.

<sup>2</sup> Ядерные почки считаются одним из проявлений повреждения генома, указывающие на процесс элиминации из ядра незаконно амплифицированной ДНК [1].

ко продолжительность цикла экспозиции. После 56-дневного цикла повышение частоты МЯ нашли только в эпителии щеки [38], а после 85-дневного – в обеих тканях (в 12 раз над фоном в эпителии и в 1,28 раз – в двуядерных лимфоцитах) [39]. В то же время при обследовании работников патологических/анатомических лабораторий, имевших дело с более низкими средними концентрациями формальдегида (0,16 и 0,28 ppm/8 ч), превышение частоты МЯ наблюдали в обеих тканях (более выраженное в эпителиоцитах), которое прямо коррелировало с годами экспозиции [2, 40].

Оценка применения бездымного табака в виде разнообразных жвачек имела огромное значение для разработки и распространения МТ в эпителиоцитах щеки. К тому времени эпидемиологи уже рассчитали дополнительный риск рака, который хорошо коррелировал со степенью повышения частоты клеток с МЯ в эпителии щеки. Оказалось, что МТ на лимфоцитах [41] позволяет выявить генотоксичность жвачки не хуже, чем проведённый параллельно МТ на эпителиоцитах [42]. Также оба теста дали положительный ответ при оценке табакокурения [43].

По результатам генетико-гигиенического обследования практики здорового населения в нашу таблицу попали только три работы, авторы которых обнаружили повышенные частоты клеток с МЯ<sup>3</sup>: при оценке воздушного загрязнения продуктами горения сахарного тростника [44], потребления питьевой воды с повышенным содержанием мышьяка [45] и при повышенном содержании озона в атмосфере [46, 47].

Нам не удалось найти оценки дефицита антиоксидантных микронутриентов с параллельным применением двух МТ, но 14 исследований с анализом лимфоцитов и 8 исследований эпителии щеки показали сходный ответ в двух тестах [48].

Следует добавить, что сопутствующие факторы, существенно влияющие на частоту клеток с МЯ, могут не совпадать для двух тканей. Так, с количеством принятых рентгенодиагностических процедур за три года наблюдения коррелировала частота МЯ только в лимфоцитах [50], а с потреблением оливкового масла и красного мяса – только в эпителии слизистой оболочки щеки [49].

## Заключение

Подводя итог, следует заключить, что при оценке генотоксических эффектов самых разных факторов в МТ было получено 28 положительных ответов в обеих тканях, но только в лимфоцитах крови – 8 и только в эпителии слизистой оболочки щеки – 8.

Таким образом, проанализировав более 40 публикаций, отобранных среди всех доступных для прочтения, в которых обнаружено превышение генотоксических эффектов у экспериментального контингента над группой сравнения, мы выявили более 36% качественных расхождений между результатами двух тестов. Это не позволяет считать микроядерные тесты на лимфоцитах крови, культивируемых в условиях цитокинетического блока, и клетках буккального эпителия взаимозаменяемыми и экстраполировать наблюдения с одного типа клеток на другой. На наш взгляд, правильное предположить, что тесты на лимфоцитах и эпителиоцитах дополняют друг друга и поэтому для более надёжной оценки генотоксических эффектов у человека целесообразно одновременное их применение.

Еще одним результатом проведённого анализа является заключение о том, что повышение частоты клеток с МЯ (как у детей с хронической почечной недостаточностью или в эпителии щеки при лишасвидной реакции) нельзя категорически считать маркером повышенного риска по раку.

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках государственного задания «Анализ изменений адаптации у населения, проживающего в районах размещения предприятий - источников запаха, с целью разработки рекомендаций для органов здравоохранения по управлению риском возникновения экологически обусловленных заболеваний» № 056-00111-18-00.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

<sup>3</sup> В абсолютном большинстве обследований практически здорового населения генотоксические эффекты выявлены не были, поэтому они не вошли в данный анализ.

## Литература

(п.п. 1–7, 10, 12–54 см. в References)

- Юрченко В. В. 2007. Микроядерный тест на гепатоцитах. В кн. *Поллиорантный микроядерный тест в эколого-гигиенических исследованиях*. М., Гениус, 43-87.
- Юрченко В. В., Ингель Ф. И., Кривцова Е. К., Юрцева Н. А., Ревазова Ю. А. 2009. Оценка мутагенной активности Акрена на трех тканях млекопитающих. *Токсикол. вестник*. 5: 15-18.
- Худoley В. В. *Канцерогены: характеристики, закономерности, механизмы действия*. СПб: НИИ Химии СПбГУ. 1999. 419 с.

## References

- Fenech M., Chang W. P., Kirsch-Volders M., Holland N., Bonassi S., Zeiger E. 2003. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutation Research*. 534 (1-2): 65-75.
- Ladeira C., Viegas S., Carolino E., Prista J., Gomes M. C., Brito M. 2011. Genotoxicity biomarkers in occupational exposure to formaldehyde – the case of histopathology laboratories. *Mutation Research*. 721 (1): 15-20.
- Holland N., Bolognesi C., Kirsch-Volders M., Bonassi S., Zeiger E., Knasmueller S., Fenesch M. 2008. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: The HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutation Research*. 659: 93-108.
- Holland N., Harmatz P., Golden D., Hubbard A., Wu Y.-Y., Bae J., Chen C., Huen K., Heyman M. B. 2007. Cytogenetic damage in blood lymphocytes and exfoliated epithelial cells of children with inflammatory bowel disease. *Pediatric Research*. 61: 209-214.
- Topinka J., Sram R. J., Sirinjan G., Kocisova J., Binkova B., Fojtikova I. Mutagenicity studies on paracetamol in human volunteers. II. Unsheduled DNA synthesis and micronucleus test. *Mutation Research*. 1989. 223 (3): 147-152.
- Sarto F., Tomanin R., Giacomelli L., Canova A., Raimondi F., Ghiotto C., Fiorentino M.V. 1990. Evaluation of chromosomal aberrations in lymphocytes, oral mucosa and hair root cells of patients under antitubercular therapy. *Mutation Research*. 228: 157-169.
- Moore L. E., Warner M. L., Smith A. H., Kalman D., Smith M. T. 1996. Use of the fluorescent micronucleus assay to detect the genotoxic effects of radiation and arsenic exposure in exfoliated human epithelial cells. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 27 (3): 176-184.
- Yurchenko V.V., Podolnaya M.A., Ingel F.I., Krivtsova E.K., Belyaeva N.N., Nedachin A.E., Revazova Yu.A., Rakhmanin Yu.A. Micronucleus test in buccal epithelial cells. In. *“Poply-organ Micronucleus Test in Ecological and Hygienic Studies”*: 43-87. The Monograph (Eds. Yu. A. Rakhmanin, L.P. Sycheva). Russian Academy of Medical Sciences. A. N. Sysin State Research Institute of Human Ecology and Environmental Hygiene. Moscow, Genius, 2007. P.220-267.
- Yurchenko V.V., Ingel F.I., Krivtsova Ye. K., Yurtseva N.A., Revazova Yu. A. Assessment of ACREP<sup>3</sup> mutagenic activity using three mammalian tissues. *Toxicological Vestnik* 2009; (5): 15-18
- Ceppi M., Biasotti B., Fenech M., Bonassi S. Human population studies with the exfoliated buccal micronucleus assay: Statistical and epidemiological issues, 2010. *Mutation Research*. 705: 11–19.
- Khudoley V.V. *Carcinogens: Characteristics, Consistent patterns, Mechanisms of Action*. Sankt-Petersburg, Chemistry Scientific Research Institute of St-Petersburg University. 1999: 419.
- Yildirim I. H., Yesilada E., Yologlu S. Micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes and exfoliated buccal cells of untreated cancer patients. *Russian Journal of Genetics*. 2006. 42 (5): 705-710.
- Burgas S., Coskun E., Demircigil G. C., Kocabas N. A., Cetindag F., Sunter O., Edinsel H. 2011. Micronucleus frequencies in lymphocytes and buccal epithelial cells from patients having head and neck cancer and their first-degree relatives. *Mutagenesis*. 26 (2): 351-356.
- Demircigil G. C., Aykanat B., Fidan K., Bayrakci U. S., Buyukkarakoz B., Karakayali H., Haberal M., Baskin N., Buyan N., Burgas S. 2010. Genotoxicity assessment by micronucleus assay in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells of children with chronic kidney disease. *Toxicological Letters*. 196. Suppl. S. 168.
- Saruhanoglu A., Ergun S., Kaya M., Warnakulasuriya S., Erbagci M., Ozturk S., Deniz E., Ozel S., Cefle K., Palanduz S., Tanyeri H. 2013. Evaluation of micronuclear frequencies in both circulating lymphocytes and buccal epithelial cells of patients with oral lichen planus and oral lichenoid contact reactions. *Oral Diseases*. 20: 521-527.

16. Hamurcu Z., Donmez-Altuntas H., Borlu M., Demertas H., Ascioslu O. 2005. Micronucleus frequency in the oral mucosa and lymphocytes of patients with Behcet's disease. *Clinical and Experimental Dermatology*. 30: 565-569.
17. Tomanin R., Sarto F., Mazzotti D., Giacomelli L., Raimondi F., Trevisan C. 1990. Louis-Bar syndrome: spontaneous and induced chromosomal aberrations in lymphocytes and micronuclei in lymphocytes, oral mucosa and hair root cells. *Hum. Genet.* 85: 31-38.
18. Migliore L., Coppede F., Fenech M., Thomas P. 2011. Association of micronucleus frequency with neurodegenerative diseases. *Mutagenesis*. 26 (1): 85-92.
19. Tomas P., Harvey S., Gruner T., Fenesh M. The buccal cytome and micronucleus frequency is substantially altered in Down' syndrome and normal ageing compared to young healthy control. *Mutation Research*. 638: 37-47.
20. Minicucci E. M., Ribeiro D. A., de Camargo B., Costa M. C., Ribeiro L.R., Favero Salvadori D. M. 2008. DNA damage in lymphocytes and buccal mucosa cells of children with malignant tumours undergoing chemotherapy. *Clinical and Experimental Medicine*. 8 (2): 79-85.
21. Burgas S., Karahalil B., Bayrak P, Taşkın L, Yavuzaslan F, Böke-soy I, Anzion R.B.M., Bos R.P., Platini N. 1999. Urinary cyclophosphamide excretion and micronuclei in peripheral lymphocytes and in exfoliated buccal cells of nurses handling antineoplastics. *Mutation Research*. 439 (1): 97-104.
22. Rechadevi P. V., Sailaj N., Chandrasekhar M., Mahboob M., Rahman M. F., Grover P. 2007. Genotoxicity assessment in oncology nurses handling anti-neoplastic drugs. *Mutagenesis*. 22 (6): 395-401.
23. Cavallo D., Ursini C. L., Perniconi B., Francesco A. D., Giglio M., Rubino F. M., Marinaccio A., Iavicoli S. 2005. Evaluation of genotoxic effects induced by exposure to antineoplastic drugs in lymphocytes and exfoliated buccal cells of oncology nurses and pharmacy employees. *Mutation Research*. 587(1-2): 45-51.
24. Cavallo D., Ursini C. L., Omodeo-Sale E., Iavicoli S. 2007. Micronucleus induction and FISH analysis in buccal cells and lymphocytes of nurses administering antineoplastic drugs. *Mutation Research*. 628 (1): 11-18.
25. Cavallo D., Ursini C. L., Rondinone B., Iavicoli S. 2009. Evaluation of a suitable DNA damage biomarker for human biomonitoring of exposed workers. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 50 (9): 781-90.
26. Lewinska D., Palus J., Stepnik M., Dziubaltowska E., Beck J., Ryzdzynski K., Natarajan A. T., Nilsson R. 2007. Micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes and buccal mucosa cells of copper smelter workers, with special regard to arsenic exposure. *International Archive of Occupational Environmental Health*. 80 (5): 371-380.
27. Pitarque M., Vaglenov A., Nosko M., Pavlova S., Petkova V., Hirvonen A., Creus A., Norppa H., Marcos R. 2002. Sister chromatid exchanges and micronuclei in peripheral lymphocytes of shoe factory workers exposed to solvents. *Environ. Health Perspect.* 110 (4): 399-404.
28. Gonzales-Yebra A.L., Kornhauser C., Barbosa-Sabanero G., Perez-Luque E.L., Wrobel K. 2009. Exposure to organic solvents and cytogenetic damage in Exfoliated cells of the buccal mucosa from shoe workers. *International Archive of Occupational and Environmental Health*. 82 (3): 373-380.
29. Grover P., Rechadevi P. V., Danadevi K., Vuyyuri S. B., Mahboob M., Rahman M. F. 2010. Genotoxicity evaluation in workers occupationally exposed to lead. *International Journal for Hygiene and Environmental Health*. 213 (2): 99-106.
30. Chinde S., Kumari M., Devi K. R., Murty U. S., Rahman M. F., Kumari S. I., Mahboob M., Grover P. 2014. Assessment of genotoxic effects of lead in occupationally exposed workers. *Environmental Science and Pollution Research*. 21 (19): 11469-11480.
31. Cassini C., Calloni C., Bortoloni G., Garca S.C., Dornelles M. A., Henriques J.A.P., Erdtmann B., Salvador M. 2011. Occupational risk assessment of oxidative stress and genotoxicity in workers exposed to paints during a working week. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*. 24 (3): 308-319.
32. Diaz S., Fonseca G., Fernandes I. 1990. Analysis of lymphocytes and oral mucosa cell micronuclei in Cuban paint industry workers. *Hereditas*. 113: 77-80.
33. Benova D., Hadjidekova V., Hristova R., Nikolova T., Boulanova M., Georgieva I., Grigorova M., Popov T., Panev T., Georgieva R., Natarajan A. T., Darroudi F., Nilsson R. 2002. Cytogenetic effects of hexavalent chromium in Bulgarian chromium platers. *Mutation Research*. 514 (1-2): 29-38.
34. Goud K. I., Hasan Q., Balakrishna N., Rao K. P., Ahuja Y. R. 2004. Genotoxicity evaluation of individuals working with photocopying machines. *Mutation Research*. 563(2): 151-158.
35. Rohr P., da Silva J, da Silva F. R., Sarmento M., Porto C., Debastiani R., dos Santos S. E. I., Dias J. F., Kvitko K. 2013. Evaluation of genetic damage in open-cast coal mine workers using the buccal micronucleus cytome assay. *Environ. Mol. Mutagenesis*. 54: 65-71.
36. Rohr P., Kvitko K., da Silva F. R., Menezes A. P. S., Porto C., Sarmento M., Decker N., Reyes J. M., Allgayer M da C., Furtado T. C., Salvador M., Branco C. 2013. Genetic and oxidative damage of peripheral blood lymphocytes in workers with occupational exposure to coal. *Mutation Research*. 758 (1-2): 23-28.
37. Ribeiro L.R., Salvadori D. M., Rios A. C., Costa S. L., Tates A. D., Tornquist M., Natarajan A. T. 1994. Biological monitoring of workers occupationally exposed to ethylene oxide. *Mutation Research*. 313: 81-87.
38. Ying C.J., Yan W. S., Zhao M. Y., Ye X. L., Xie H., Yin S.Y., Zhu X. S. 1997. Micronuclei in nasal mucosa, oral mucosa and lymphocytes in students exposed to formaldehyde vapor in anatomy class. *Bio-medical Environmental Sciences*. 10 (4): 452-455.
39. Suruda A., Schulte P., Boeniger M., Hayes R.B., Livingston G.K., Steenland K., Stewart P., Herrick R., Douthit D., Fingerhut M.A. 1993. Cytogenetic effects of formaldehyde exposure in students of mortuary science. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 2 (5): 453-460.
40. Viegas S., Ladeira C., Nunes C., Malta-Vacas, Gomes M., Brito M., Mendonca P., Prista J. 2010. Genotoxic effects in occupational exposure to formaldehyde: A study in anatomy and pathology laboratories and formaldehyde-resins production. *Journal of occupational medicine and toxicology*. 5: 25 <http://www.occup-med.com/content/5/1/25>.
41. Dönbak L., Celik M., Demirhan I., Nagas S. 2007. Genotoxic damage in Maras powder consumers from Kahramanmaraş province of Turkey. *Genetika*. 43 (5): 633- 638.
42. Saatci C., Ozkul Y., Tahiri S., Caglayan A.O., Turhan A.B., Dundar M. 2008. The effect of maras powder on DNA methylation and micronucleus formation in human buccal tissue. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 71(6): 396-404.
43. Zamani A. G., Durakbasi-Dursun H. G., Demirel S., Acar A. 2011. Evaluation of smoking genotoxicity in Turkish yang adults. *Indian J Hum Genet*. 17 (1): 7-12.
44. Silveira H. C. S., Schmidt-Carrizo M., Seidel E. H., Scapulatempo-Neto C., Longatto-Filho A., Carvalho A. L., Reis R. M. V., Saldva P. H. N. 2013. Emission generated by sugarcane burning promote genotoxicity in rural workers: a case study in Barretos, Brazil. *Environmental Health*. 12: 87- 92.
45. Ghosh P., Basu A., Singh K. K., Giri A. K. 2008. Evaluation of cell types for assessment of cytogenetic damage in arsenic exposed population. *Molecular Cancerogenesis*. 7: 45. doi:10.1186/1476-4598-7-45.
46. Chen C., Arjomandi M., Oin H., Balmes J., Tager I., Holland N. Cytogenetic damage in buccal epithelia and peripheral lymphocytes of yang healthy individuals exposed to ozone. 2006. *Mutagenesis*. 21 (2): 131-137.
47. Huen K., Gunn L., Duramad P., Jeng M., Scalf R., Holland N. 2006. Application of geographic information system to explore associations between air pollution and micronucleus frequencies in African American children and adults. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 47 (4): 236-246.
48. Thomas P., Wu J., Dhillon V., Fenech M. 2011. Effect of dietary intervention on human micronucleus frequency in lymphocytes and buccal cells. *Mutagenesis*. 26 (1): 69-76.
49. Pastor S., Gutierrez S., Creus A., Cebulska-Wasilewska et al. 2001. Micronuclei in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells of Polish farmers exposed to pesticides. *Mutation Research*. 495 (1-2): 147-156.
50. Pastor S., Gutierrez S., Creus A., Xamena N., Piperakis S., Marcos R. 2001. Cytogenetic analysis of Greek farmers using the micronucleus assay in peripheral lymphocytes and buccal cells. *Mutagenesis*. 16 (6): 539-545.
51. Waldmann T. A., Misiti J., Nelson D. L., Kraemer K. H. 1983. Ataxia-telangiectasia: a multisystem hereditary disease with immunodeficiency, impaired organ maturation, X-ray hypersensitivity and a high incidence of neoplasia. *Annals of Internal Medicine*. 99: 367-379.
52. Suspiro A., Prista J. 2011. Biomarkers of occupational exposure do anticancer agents: A minireview. *Toxicol. Lett*. 207: 42-52.