



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

Цитомный анализ: современный универсальный инструмент медико-биологических и эколого-гигиенических исследований (обзор литературы). Часть 1

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

Понимание связи злокачественного перерождения клеток с генетической нестабильностью существует уже давно. Такие маркеры генетической нестабильности, как микроядра (МЯ) и ядерные аномалии (нуклеоплазматические мосты (НПМ) и протрузии ядра), рассматриваются как признаки злокачественного роста. Однако долгое время в них видели лишь побочный продукт генетической нестабильности, удобный инструмент для её изучения. Только исследования последних десятилетий с привлечением новейших методов молекулярно-генетического анализа (секвенирования генома индивидуальной клетки, длительного прижизненного микрофотографирования и мечения индивидуальных хромосом, гибридизации in situ и т. д.) позволили установить, что перестройки генетического материала раковых клеток являются гораздо более глубокими и массивными, чем представлялось ранее. Кроме того, оказалось, что МЯ играют активную роль в поддержании состояния хромосомной нестабильности в клеточной популяции. В данном обзоре изложены современные представления о процессах, приводящих к возникновению нестабильных геномов, — о явлении «геномного хаоса» и его частном случае, хромотрипсии. Также рассмотрены молекулярно-биологические особенности МЯ и их роль в жизни клетки и целого организма. Рассмотрено значение МЯ как диагностических и прогностических показателей при онкологических, нейродегенеративных и многих других заболеваниях. Большое внимание уделено применению цитомного анализа на лимфоцитах периферической крови и эпителиоцитах человека в медицинских исследованиях. Высказывается предположение, что в медицинских исследованиях цитомный анализ может служить инструментом для выявления людей, относящихся к группе повышенного генетического риска. При подборе литературы использованы базы данных PubMed, Web of Science, ResearchGate, Scopus, eLibrary.

Ключевые слова: обзор; цитомный анализ; микроядра; генетическая нестабильность; онкология; нейродегенеративные заболевания

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 1. *Гигиена и санитария*. 2021; 100(10): 1151-1156. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-10-1151-1156>

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 31.10.2021

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 1

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

The understanding of the connection between malignant cell transformation and genetic instability has existed for a long time. Such markers of genetic instability as micronuclei (MN) and nuclear abnormalities - nucleoplasmic bridges (NPM) and nuclear buds are signs of malignant growth. However, they were seen only as a by-product of genetic instability, a convenient tool for its study for a long time. Only the studies of recent decades that used the latest methods of molecular genetic analysis (genome sequencing of an individual cell, long-term intravital microscopy and individual chromosomes labelling, hybridization in situ, etc.) have made it possible to establish that the rearrangements of the genetic material in cancer cells are much deeper and more massive than it thought to be. In addition, MN turned out to play an active role in maintaining the state of chromosomal instability in the cell population. This review outlines the current understanding of the processes leading to the emergence of unstable genomes - the phenomenon of «genomic chaos» and its particular case, chromotripsis. The molecular biological features of MN and their role in cellular life and the life of the whole organism are also considered. The significance of MN as diagnostic and prognostic indicators in oncological, neurodegenerative and many other diseases has been analyzed. Much attention is paid to the use of cytome analysis of peripheral blood lymphocytes and human epithelial cells in medical research. It has been suggested that, when used in medical research, cytome analysis can serve as a tool to identify individuals with higher cancer risk. We used the PubMed, Web of Science, ResearchGate, Scopus, eLibrary databases as the sources of literature.

Keywords: review; cytomic analysis; micronuclei; genetic instability; oncology; neurodegenerative diseases

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 1. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2021; 100(10): 1151-1156. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-10-1151-1156> (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

Понимание связи злокачественного перерождения клеток с генетической нестабильностью формировалось на протяжении практически всего XX века [1–4]. Уже довольно давно ядерные аномалии стали рассматривать как признак злокачественного роста [5]. Огромное число работ посвящено изучению таких показателей генетической нестабильности, как микроядра (МЯ), межъядерные нуклеоплазменные мосты (НПМ) и ядерные почки (протрузии) при онкологических заболеваниях [4, 6, 7]. При этом значительное увеличение частот ядерных аномалий наблюдается не только в клетках опухоли, но и в «суррогатных» тканях, в частности, в лимфоцитах периферической крови [8] и в слушающихся эпителиальных клетках [9].

Исследования последнего десятилетия с использованием новейших методов молекулярно-генетического анализа позволили установить, что перестройки генетического материала раковых клеток являются гораздо более глубокими и массивными, чем представлялось ранее [10]. Так, было описано явление «геномного хаоса» – катастрофическое событие, в результате которого формируется в высокой степени изменённый, «хаотический» геном, содержащий как множественные структурные, так и количественные aberrации [10, 11]. Частным случаем геномного хаоса является привлекающий широкое внимание «хромотриписис», когда перестройки затрагивают лишь одну или несколько хромосом [12, 13]. Кроме того, к геномному хаосу относят и процесс, приводящий к образованию высокогетерогенной клеточной популяции, даже если индивидуальные клетки в этой популяции имеют геномы с ограниченным количеством повреждённых хромосом [11].

Толчком к возникновению геномного хаоса может служить клеточный кризис (в частности, вызванный применением противоопухолевых препаратов), результатом которого оказывается множественная фрагментация хромосом. Хромосомные фрагменты затем воссоединяются случайным образом, формируя хаотический геном [10]. Наиболее высокий уровень генетического хаоса имеет место на ранних стадиях злокачественной трансформации. Большая часть возникших при этом вариантов оказывается нежизнеспособной, однако некоторые геномы содержат комбинации генов, обеспечивающие клетке селективные преимущества в критических условиях. Такие клетки в ходе дальнейшего развития опухоли образуют клоны, присутствующие в опухоли [10]. Было отмечено, что процесс геномного хаоса может быть индуцирован стрессами различных типов, в том числе обработкой противоопухолевыми препаратами в дозах, соответствующих применяемым в клинике [14].

Таким образом, очевидно, что дальнейшее изучение генетической нестабильности на молекулярном уровне приведёт к более глубокому пониманию механизмов и причин злокачественного перерождения клеток и будет иметь большое значение для медицины.

Одним из основных биомаркеров хромосомной нестабильности являются МЯ. Долгое время МЯ считались лишь побочными продуктами нестабильности, удобным инструментом для её изучения [15], хотя связь МЯ с пульверизацией хромосом была обнаружена ещё в 1968 году [16]. Однако в последние годы были проведены глубокие исследования как молекулярно-биологических особенностей МЯ, так и их значения в жизни клетки и целого организма. Результаты этих исследований во многом оказались неожиданными [17]. Было показано, что МЯ отличаются от основного ядра по ряду важнейших параметров. Так, МЯ в большинстве случаев имеют дефектную ядерную оболочку с обширными, unrepaired-ными гэпами в двойной мембране с областями, лишёнными ламины или конденсированного хроматина, и низким содержанием белков ядерных пор. В раковых клетках более 60% МЯ претерпевают коллапс ядерной оболочки [18]. Уменьшение плотности ядерных пор приводит к нарушению нуклеоплазматического транспорта, что в свою очередь затрагивает процессы метаболизма ДНК. Так, репарация повреждённых ДНК в МЯ проходит иначе, чем в основном ядре,

и приводит к образованию однопольных структур ДНК, потенциально дестабилизирующих геном клетки [19–21]. Репликация ДНК в МЯ неэффективна и происходит асинхронно с репликацией в ядре, примерно в 30% МЯ репликация продолжается в постсинтетической фазе клеточного цикла G2. При этом в ДНК МЯ в течение интерфазы накапливается большое количество повреждений [19, 22].

Методы микроскопирования живых клеток и мечения индивидуальных хромосом [23–25] дали возможность отслеживать происхождение и судьбу МЯ в отдельных клетках в реальном времени. Результаты этих исследований обобщены в подробном обзоре Guo и соавт. [17]. Так, вопреки господствовавшим ранее представлениям оказалось, что МЯ возникают не только в результате неправильной сегрегации хромосом в митозе, но могут являться следствием широкого спектра нарушений, произошедших в ходе какой-либо стадии клеточного цикла. События после образования МЯ могут развиваться по четырём основным направлениям: разрушение МЯ или клетки с МЯ, реинкорпорация МЯ в основное ядро, экструдия из клетки и персистенция в цитоплазме в течение нескольких последующих митозов [26]. Наибольший интерес представляет сохранение МЯ в клетке в течение одного или более клеточных поколений [27]. В клетках разных типов от 60 до более 90% МЯ проходит через первый митоз и присутствует в одной из дочерних клеток, и в последующих поколениях значительная часть дочерних клеток продолжает содержать МЯ [22, 28]. Интересно, что хромосома, заключённая в МЯ, в большинстве случаев формирует неполноценный кинетохор, что препятствует её включению в дочернее ядро и дальнейшее стабильное наследование. Если в ходе митоза она всё же включается в дочернее ядро, то этот дефект, по-видимому, преодолевается [29]. Авторы предполагают, что образование МЯ представляет собой защитный механизм клетки, исключающий наследование избыточной хромосомы и/или повреждённой ДНК.

Присутствие МЯ в клетке приводит к увеличению продолжительности клеточного цикла (как интерфазы, так и митоза), а также к увеличению клеточной гибели и числа патологических митозов [28].

Сохранение МЯ в ряду клеточных поколений поддерживает состояние генетической нестабильности в клеточной популяции. Длительное одностороннее наследование МЯ является причиной возникновения каскада анеуплоидных клеток после единичного события образования МЯ (рис. 1, см. на вклейке). Кроме того, незавершённая репликация ДНК МЯ может привести к образованию хроматинных фрагментов, то есть индуцировать структурную анеуплоидию в клетках, содержащих МЯ [17]. В то же время показано, что «избыточная» хромосома в анеуплоидных клетках может нарушать сегрегацию других хромосом [30]. Секвенирование ДНК одиночных клеток, содержащих МЯ, выявило чрезвычайно высокий уровень анеуплоидии в таких клетках, причём, как правило, это была множественная анеуплоидия. Следует отметить, что в большинстве случаев МЯ содержит не более одной хромосомы, так что анеуплоидия должна затрагивать и основное ядро [17].

Появляется всё больше данных, что единичное событие образования МЯ может повлечь за собой реорганизацию генома и увеличение разнообразия кариотипов в клеточной популяции [17, 31]. В частности, к такой реорганизации может привести реинкорпорация хромосомы из МЯ, содержащей значительное число повреждений, в ядро дочерней клетки [22]. Более того, существует тесная связь между МЯ и хромотриписисом, хотя МЯ и не являются единственной причиной этого явления [31–33]. Исходя из того, что процесс хромотриписиса обычно касается одной хромосомы, представляется очевидным, что эта хромосома должна быть хотя бы временно изолирована от остального генома. Хромосома, включённая в МЯ, вполне удовлетворяет этому требованию [33]. Как уже отмечалось, репликация ДНК в МЯ происходит асинхронно с таковой в основном ядре, что само по себе может приводить к образованию одно- и дупольных

разрывов вследствие репликативного стресса. При вступлении клетки в митоз хромосома из МЯ также подвергается процессу конденсации, хотя она фактически ещё находится в S-фазе («преждевременная конденсация хромосомы») [32]. В результате неполностью реплицированная хромосома распадается на фрагменты (рис. 2, см. на вклейке). В некоторых случаях количество таких фрагментов может превышать 50 [16]. В дальнейшем фрагменты включаются в одно или оба дочерних ядра. После попадания в нуклеоплазму фрагменты могут воссоединиться по механизму негомологичного соединения концов с образованием производной хромосомы [34]. Неизвестно, могут ли в результате этого процесса образоваться полноценные хромосомы. Однако у растений наблюдались подобные перестройки, способные сохраняться в последующих поколениях [35]. Это позволяет предположить, что в результате хромотриписа могут возникать структуры, достаточно стабильные для их наследования. Если же дочерняя клетка включает лишь несколько фрагментов разрушенной хромосомы, они могут формировать маленькую кольцевую хромосому, которая становится первым этапом образования экстрахромосомной кольцевой ДНК как в здоровых, так и в раковых клетках [12, 17].

Как уже отмечалось, хромотрипис тесно связан с канцерогенезом. Так, в некоторых неохромосомах клеток липосаркомы обнаружена ДНК нескольких хромосом и патологическая амплификация (до 100 копий) важных для развития раковой опухоли генов [36]. Феномен хромотриписа регистрируется у больных со злокачественными новообразованиями различного генеза и локализации [37]. В частности, в единичных клетках регенерирующей печени мышей были обнаружены цитогенетические признаки хромотриписа при индуцированном гепатоканцерогенезе [38].

Таким образом, МЯ могут рассматриваться и как источник возникновения хромосомной нестабильности *de novo*, и как показатель степени хромосомной нестабильности в данной системе [33].

Следует отметить, что НПМ также являются не только визуализацией образования дицентрических хромосом, но и поддерживают хромосомную нестабильность в ряду клеточных поколений. Так, M. Fenech и соавт. описали цикл разрывов – воссоединений НПМ [39]. Поскольку разрыв моста происходит случайным образом, в результате, как правило, образуются две хромосомы, одна из которых содержит дупликацию, а другая – делецию некоторой группы генов, прилежащих к точке разрыва. При попадании такой хромосомы в дочернее ядро липкие концы хроматид снова соединяются с образованием дицентрической хромосомы, и цикл повторяется. При этом в дочерних ядрах накапливаются генетические повреждения в виде как делеций, так и амплификаций определённых участков ДНК. Удаление амплифицированных последовательностей из ядра может привести к возникновению МЯ. По утверждению авторов, этот механизм является одним из ключевых источников хромосомной нестабильности в клетке (рис. 3, см. на вклейке).

Значение МЯ для процессов канцерогенеза не исчерпывается их связью с геномной нестабильностью. Были получены данные, свидетельствующие в пользу участия МЯ в индукции врождённого иммунитета [40–42], а также в активации экспрессии воспалительных цитокинов [41]. Harding и соавт. показали, что индуцированная повреждениями ДНК экспрессия маркеров воспаления коррелирует с появлением ядер атипичной формы и МЯ [42]. Высказывалось предположение, что МЯ и некоторые другие аномалии структуры ядра (ядерные протрузии, НПМ) следует рассматривать как биомаркеры для оценки активации иммунного ответа в раковых тканях и для стратегии иммунотерапии [43].

Utani и соавт. отмечали связь возникновения МЯ в клетках HeLa с апоптозом [27]. Это позволяет предположить, что МЯ инициируют апоптоз. Возможно, в процесс гибели клеток, содержащих МЯ, вовлечены факторы системы врождённого иммунитета, которые активируются ДНК, освобождённой из разрушенных МЯ [44, 45]. В та-

ком случае сочетание терапии, индуцирующей образование МЯ, со стимулированием иммунной системы представляет новые возможности в лечении онкологических заболеваний [46].

Кроме того, частота МЯ при радио- и химиотерапии коррелирует с интенсивностью ответа, вследствие чего может служить показателем эффективности лечения [47].

В ряде работ отмечалось, что повышенный уровень МЯ не только является маркером развившегося заболевания, но может иметь и прогностическое значение. Так, Wang и соавт. показали, что у больных острой лейкемией частота МЯ в лимфоцитах значительно повышена по сравнению со здоровыми людьми и практически совпадает с таковой у пациентов с солидными опухолями. При разделении больных острой лейкемией на две группы – с частотой МЯ ниже среднего уровня (7,5%) и выше его – оказалось, что больные из первой группы имеют значительно больший шанс достижения полной или частичной ремиссии, и более того, выживаемость пациентов из группы с высоким уровнем МЯ существенно ниже. Таким образом, частота МЯ в лимфоцитах периферической крови у больных острой лейкемией имеет важное значение для прогноза течения болезни [7].

В клетках уротелиального эпителия больных раком мочевого пузыря уровень МЯ также был увеличен, при этом у пациентов с рецидивирующей опухолью частота МЯ была выше, чем у лиц с первичной опухолью, хотя это повышение не было статистически значимым. Наконец, была установлена значимая положительная корреляция частоты МЯ со степенью развития опухоли, что делает этот показатель важным инструментом при ведении пациентов [9].

При изучении различных форм рака лёгких с использованием лимфоцитов периферической крови, культивированных в условиях цитокинетического блока, El-Zein и соавт. обнаружили значительное превышение частот МЯ, НПМ и ядерных почеч у онкологических больных над этими показателями в группе сравнения, причём у пациентов с мелкоклеточным раком лёгких частота НПМ оказалась значительно выше, чем при других формах рака [48]. Аналогичным образом у пациентов с раком лёгких по отношению к здоровым людям наблюдалась тенденция к увеличению частоты нарушений в клетках буккального эпителия. Цитогенетические нарушения носили одинаковый характер как у мужчин, так и у женщин. Снижение уровня этих показателей наблюдалось после радикального лечения [49].

Частоту МЯ, а также другие показатели цитомного спектра предлагали использовать как предиктивный маркер при солидных опухолях, в частности, при раке головы и шеи [8], а также как показатель при отслеживании эффективности лечения больных колоректальным раком [50] и раком груди [51]. Проспективные когортные исследования [52] показали, что более высокие частоты МЯ в лимфоцитах периферической крови человека связаны с более высоким риском развития рака. У здоровых обследуемых выявлена связь частоты МЯ в лимфоцитах периферической крови с семейным анамнезом заболевания раком [53].

Как показали исследования последних лет, нейродегенеративные заболевания также характеризуются высокой степенью генетической нестабильности [54–56]. Так, экспансия тандемов повторяющихся последовательностей ДНК является причиной около 40 нейродегенеративных, неврологических и нейромышечных заболеваний человека [57]. При болезни Альцгеймера была отмечена повышенная активность транспозонов [58]. Thadathil и соавт. приводят доказательства решающей роли двунитевых разрывов ДНК в патогенезе болезни Альцгеймера, Паркинсона и бокового амиотрофического склероза (БАС) [56]. При различных нейродегенеративных заболеваниях, а также при разных формах преждевременного старения существенную роль в патогенезе играют нарушения репарационных систем, особенно эксцизионной репарации [58, 59]. В случае болезни Альцгеймера, а также ряда других заболеваний отмечается повышенный уровень анеуплоидии, в том числе в клетках

мозга [60, 61]. В лимфоцитах пациентов с болезнью Альцгеймера была обнаружена анеуплоидия по хромосомам 13 и 21 [62], а в клетках буккального эпителия – по хромосомам 17 и 21 [63]. При этом в обоих случаях анеуплоидия по 21-й хромосоме встречалась чаще.

Во многих исследованиях было зафиксировано повышенное число МЯ как в клетках больных некоторыми нейродегенеративными заболеваниями, так и у представителей групп повышенного риска развития нейродегенерации [61]. Petrozzi и соавт. использовали метод FISH, чтобы сравнить природу МЯ при болезнях Альцгеймера и Паркинсона. Хотя при обоих заболеваниях уровень МЯ был значительно повышен, в случае болезни Альцгеймера МЯ в большинстве своём содержали целую хромосому, тогда как при болезни Паркинсона – хромосомные фрагменты. Полученные данные говорят о разных механизмах образования МЯ при этих болезнях [64]. Важно отметить, что при лечении болезни Паркинсона препаратом L-DOPA уровень МЯ у пациентов снижается до нормы, хотя уровень оксидативных повреждений ДНК остаётся высоким [65].

Повышение частоты МЯ происходит также при нормальном старении [66]. Наличие МЯ в клетке представляется широко распространённым морфологическим изменением, связанным с клеточным старением [67]. Клетки, содержащие МЯ, секретируют воспалительные цитокины подобно старым клеткам, тем самым инициируя воспалительные процессы в организме [42]. Таким образом, можно предположить, что увеличение частоты МЯ с возрастом является не только следствием, но и причиной старения [17].

Весьма информативным оказывается цитомный анализ – расширенное исследование с учётом и других ядерных аномалий, а также показателей, характеризующих процессы пролиферации и гибели клеток. Так, Thomas и соавт. наблюдали изменения цитомного спектра в буккальном эпителии как при нормальном старении, так и при болезни Альцгеймера, однако характер изменений резко различался. При нормальном старении отмечалось увеличение частот карioreкиса, конденсации хроматина и базальных клеток [66], тогда как при болезни Альцгеймера все эти показатели оказались существенно ниже, чем в группе сравнения [68]. В то же время в буккальных эпителиоцитах пациентов с синдромом Дауна было значительно увеличено содержание МЯ и двуядерных клеток, а частоты карioreкиса, пикноза и конденсации хроматина заметно снижены [66], что сближает синдром Дауна с болезнью Альцгеймера. При этом в лимфоцитах периферической крови у больных с синдромом Дауна частота МЯ была на уровне контроля или даже несколько ниже [69, 70]. Интересно, что ответ на обработку мутагеном (митомичином С) оказался гораздо более выраженным в лимфоцитах лиц с синдромом Дауна, особенно возрастных (37–55 лет), чем в контроле [70]. Спонтанный уровень МЯ также резко увеличивается с возрастом в буккальных клетках лиц с синдромом Дауна [71]. Всё это говорит о повышенной чувствительности генома пациентов с синдромом Дауна к повреждающим воздействиям.

Важную группу составляют женщины, в молодом возрасте родившие детей с синдромом Дауна. Показано, что риск развития болезни Альцгеймера у таких женщин повышен в 5 раз по сравнению со средним показателем [72]. У матерей, родивших

в возрасте старше 35 лет ребёнка с синдромом Дауна, такого повышения не наблюдалось. В лимфоцитах молодых матерей детей с синдромом Дауна обнаружено увеличение частоты МЯ и нарушений сегрегации 21-й хромосомы [73]. Показана также корреляция частоты МЯ в лимфоцитах таких женщин с полиморфизмом гена *MTHFR*, являющегося ключевым регулятором метаболизма фолата и гомоцистеина [74].

Круг болезней, при которых выявляется повышение уровня МЯ, постоянно расширяется. Так, изменение параметров цитомного анализа отмечалось при серповидноклеточной анемии в клетках буккального эпителия [75], при системной красной волчанке [76], при неалкогольном стеатогепатите [77], при системных склерозах [78], ожирении [79], бесплодии [80], у пациентов с хронической болезнью почек [81], при диабете 2-го типа и сопутствующей ему нефропатии [82]. Повышение частот МЯ наблюдалось в лимфоцитах детей, страдающих аутоиммунными заболеваниями [83], а также у молодых людей с аллергиями. Причём в последнем случае отмечалась связь между уровнем IgA и частотой МЯ в лимфоцитах обследуемых [84].

При спиноцеребеллярной атаксии типа 2 в буккальных эпителиоцитах наблюдается значительное увеличение частот МЯ, карioreкиса, пикноза и конденсации хроматина. Установлена значимая корреляция между частотой двуядерных клеток и продолжительностью болезни. Авторы предполагают, что частоты МЯ и двуядерных клеток могут быть использованы в качестве биомаркеров при этой болезни [85].

Повышение частоты МЯ в лимфоцитах и двуядерных клеток в буккальных эпителиоцитах при снижении частоты пикноза и конденсации хроматина в буккальных клетках отмечается также у пожилых пациентов с синдромом хрупкости костей [86].

Grindel и соавт. показали, что частота МЯ в буккальных эпителиоцитах больных диабетом 2-го типа значительно повышена и коррелирует со степенью тяжести болезни (в частности, с уровнем гликозилированного гемоглобина и уровнем глюкозы в плазме), а также зависит от типа лечения [87].

Тревожные данные получили Milosevic-Ethordevic и соавт.: гестагены, применяемые для сохранения беременности, вызывают дозозависимое увеличение частоты МЯ [88]. Furness и соавт. установили, что повышение уровня МЯ в лимфоцитах беременных женщин на 20-й неделе беременности позволяет выявить женщин с повышенным риском развития поздних тяжёлых осложнений беременности [89].

Этот перечень можно продолжать.

Таким образом, уровень МЯ в лимфоцитах и буккальных эпителиоцитах в сочетании с другими показателями цитомного спектра может оказаться удобным биомаркером как при прогнозе развития ряда заболеваний, так и при мониторинге эффективности лечения [65, 90]. Поскольку спектр заболеваний, при которых изменяются эти показатели, слишком широк, биомаркеры генетической нестабильности должны рассматриваться не как прогностический признак какого-либо конкретного заболевания, а как характеристика состояния обследуемого субъекта и могут являться сигналом для отнесения его к группе риска. Нужно отметить, что с применением близнецового анализа была показана высокая степень наследуемости частот как спонтанных, так и индуцированных мутациями МЯ. Этот факт также подчёркивает значение частоты МЯ как прогностического показателя [91].

Литература

(п.п. 1–36, 39–48, 50–53, 55–59, 61–91 см. References)

37. Мамаев Н.Н., Гиндина Т.Л., Бойченко Э.Г. Хромотрипсис в онкологии: обзор литературы и собственное наблюдение. *Клиническая онкогематология*. 2017; 10(2): 191–205. <https://doi.org/10.21320/2500-2139-2017-10-2-191-205>
38. Урываева И.В., Микаелян А.С., Дашенкова Н.О., Маршак Т.Л. Хромотрипсис при гепатоканцерогенезе: роль микроядерных аберраций и полиплоидии. *Известия Российской академии наук. Серия биологическая*. 2018; (5): 461–8. <https://doi.org/10.1134/S0002332918050168>
49. Бяхова М.М., Сычева Л.П., Журков В.С., Астраханцев А.Ф., Космынин А.А., Одишелдзе Н.В. и соавт. Цитогенетический статус больных раком желудочно-кишечного тракта до и после лечения. *Вопросы онкологии*. 2014; 60(1): 52–5.
54. Юров Ю.Б., Ворсанова С.Г., Соловьев И.В., Юров И.Ю. Нестабильность хромосом в нервных клетках человека в норме и при нервно-психических заболеваниях. *Генетика*. 2010; 46(10): 1352–5.
60. Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Демидова И.А., Колотий А.Д., Куринная О.С., Кравец В.С. и соавт. Биомаркеры неонкологических болезней мозга, обусловленных хромосомной нестабильностью, у детей. *Научный результат. Медицина и фармация*. 2018; 4(2): 8–17. <https://doi.org/10.18413/2313-8955-2018-4-2-0-2>

References

- Boveri T. *Zur Frage der Entstehung Maligner Tumoren*. Jena; 1914.
- Comings D.E. A general theory of carcinogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1973; 70(12): 3324–8. <https://doi.org/10.1073/pnas.70.12.3324>
- Cecener G., Egeli U., Tasdelen I., Tunca B., Duman H., Kizil A. Common fragile site expression and genetic predisposition to breast cancer. *Teratog. Carcinog. Mutagen.* 1998; 18(6): 279–91. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1520-6866\(1998\)18:6%3C279:aid-tcm2%3E3.3.co;2-1](https://doi.org/10.1002/(sici)1520-6866(1998)18:6%3C279:aid-tcm2%3E3.3.co;2-1)
- Bonassi S., El-Zein R., Bolognesi C., Fenech M. Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes and cancer risk: evidence from human studies. *Mutagenesis.* 2011; 26(1): 93–100. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq075>
- Koss L.G. *Diagnostic Cytology and Its Histopathologic Bases*. Philadelphia, Toronto; 1979: 3(1–2).
- Torres-Bugarin O., Ventura-Aguilar A., Zamora-Perez A., Gomez-Meda B.C., Ramos-Ibarra M.L., Morgan-Villela G., et al. Evaluation of cisplatin+5-FU, and ifosfamide+epirubicin regimens using the micronuclei test and nuclear abnormalities in the buccal mucosa. *Mutat. Res.* 2003; 539(1–2): 177–86. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(03\)00163-3](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(03)00163-3)
- Wang R.C., Yang L., Tang Y., Bai O. Micronucleus expression and acute leukemia prognosis. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2013; 14(9): 5257–61. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2013.14.9.5257>
- George A., Dey R., Bhuria V., Banerjee S., Ethirajan S., Siluvaimuthu A., et al. Nuclear anomalies, chromosomal aberrations and proliferation rates in cultured lymphocytes of head and neck cancer patients. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2014; 15(3): 1119–23. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2014.15.3.1119>
- Espinoza F., Cecchini L., Morote J., Marcos R., Pastor S. Micronuclei frequency in urothelial cells of bladder cancer patients, as a biomarker of prognosis. *Environ. Mol. Mutagen.* 2019; 60(2): 168–73. <https://doi.org/10.1002/em.22252>
- Liu G., Stevens J.B., Horne S.D., Abdallah B.Y., Ye K., Bremer S., et al. Genome chaos: survival strategy during crisis. *Cell Cycle.* 2014; 13(4): 528–37. <https://doi.org/10.4161/cc.27378>
- Heng H.H., Stevens J.B., Liu G., Bremer S.W., Ye K.J., Reddy P.V., et al. Stochastic cancer progression driven by non-clonal chromosome aberrations. *J. Cell Physiol.* 2006; 208(2): 461–72. <https://doi.org/10.1002/jcp.20685>
- Stephens P.J., Greenman C.D., Fu B., Yang F., Bignell G.R., Mudie L.J., et al. Massive genomic rearrangement acquired in a single catastrophic event during cancer development. *Cell.* 2011; 144(1): 27–40. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.11.055>
- Meyerson M., Pellman D. Cancer genomes evolve by pulverizing single chromosomes. *Cell.* 2011; 144(1): 9–10. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.12.025>
- 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>
- Surrallés J., Carbonell E., Marcos R., Degraffi F., Antoccia A., Tanzarella C. A collaborative study on the improvement of the micronucleus test in cultured human lymphocytes. *Mutagenesis.* 1992; 7(6): 407–10. <https://doi.org/10.1093/mutage/7.6.407>
- Kato H., Sandberg A.A. Chromosome pulverization in human cells with micronuclei. *J. Natl. Cancer Inst.* 1968; 40(1): 165–79.
- Guo X., Ni J., Liang Z., Xue J., Fenech M.F., Wang X. The molecular origins and pathophysiological consequences of micronuclei: new insights into an age-old problem. *Mutat. Res.* 2019; 799: 1–35. <https://doi.org/10.1016/j.mrrrev.2018.11.001>
- Hatch E.M., Fischer A.H., Deerinck T.J., Hetzer M.W. Catastrophic nuclear envelope collapse in cancer cell micronuclei. *Cell.* 2013; 154: 47–60. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.06.007>
- Terradas M., Martin M., Tusell L., Genesca A. DNA lesions sequestered in micronuclei induce a local defective-damage response. *DNA Repair.* 2009; 8(10): 1225–34. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2009.07.004>
- Terradas M., Martin M., Hernandez L., Tusell L., Genesca A. Nuclear envelope defects impede a proper response to micronuclear DNA lesions. *Mutat. Res.* 2012; 729(1–2): 35–40. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2011.09.003>
- Tang Z., Yang J., Wang X., Zeng M., Wang J., Wang A., et al. Active DNA end processing in micronuclei of ovarian cancer cells. *BMC Cancer.* 2018; 18(1): 426. <https://doi.org/10.1186/s12885-018-4347-0>
- Crasta K., Ganem N.J., Dagher R., Lantermann A.B., Ivanova E.V., Pan Y., et al. DNA breaks and chromosome pulverization from errors in mitosis. *Nature.* 2012; 482(7383): 53–8. <https://doi.org/10.1038/nature10802>
- Yasui M., Koyama N., Koizumi T., Senda-Murata K., Takashima Y., Hayashi M., et al. Live cell imaging of micronucleus formation and development. *Mutat. Res. Fundam. Mol. Mech. Mutagen.* 2010; 692(1–2): 12–8. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2010.07.009>
- Thompson L.L., McManus K.J. A novel multiplexed, image-based approach to detect phenotypes that underlie chromosome instability in human cells. *PLoS One.* 2015; 10(4): e0123200. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123200>
- Imle A., Polser B., Alexander S., Klein C.A., Friedl P. Genomic instability of micronucleated cells revealed by single-cell comparative hybridization. *Cytometry A.* 2009; 75(7): 562–8. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.20733>
- Hintzsch H., Hemmann U., Poth A., Utesch D., Lott J., Stopper H. Fate of micronuclei and micronucleated cells. *Mutat. Res.* 2017; 771: 85–98. <https://doi.org/10.1016/j.mrrrev.2017.02.002>
- Utani K., Kohno Y., Okamoto A., Shimizu N. Emergence of micronuclei and their effects on the fate of cells under replication stress. *PLoS One.* 2010; 5(4): e10089. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010089>
- Reimann H., Stopper H., Hintzsch H. Long-term fate of etoposide-induced micronuclei and micronucleated cells in HeLa-H2B-GFP cells. *Arch. Toxicol.* 2020; 94(10): 3553–61. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02840-0>
- Soto M., Garcia-Santisteban I., Krenning L., Medema R.H., Raaijmakers J.A. Chromosomes trapped in micronuclei are liable to segregation errors. *J. Cell Sci.* 2018; 131(13): jcs214742. <https://doi.org/10.1242/jcs.214742>
- Nicholson J.M., Macedo J.C., Mattingly A.J., Wangsa D., Camps J., Lima V., et al. Chromosome mis-segregation and cytokinesis failure in trisomic human cells. *eLife.* 2015; 4: e05068. <https://doi.org/10.7554/elife.05068>
- Zhang C.Z., Spektor A., Cornils H., Francis J.M., Jackson E.K., Liu S., et al. Chromothripsis from DNA damage in micronuclei. *Nature.* 2015; 522(7555): 179–84. <https://doi.org/10.1038/nature14493>
- Terzoudi G.I., Karakosta M., Pantelias A., Hatzi V.I., Karachristou I., Pantelias G. Stress induced by premature chromatin condensation triggers chromosome shattering and chromothripsis at DNA sites still replicating in micronuclei or multinucleate cells when primary nuclei enter mitosis. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* 2015; 793: 185–98. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2015.07.014>
- Terradas M., Martin M., Genesca A. Impaired nuclear functions in micronuclei results in genome instability and chromothripsis. *Arch. Toxicol.* 2016; 90(11): 2657–67. <https://doi.org/10.1007/s00204-016-1818-4>
- Ly P., Teitz L.S., Kim D.H., Shoshani O., Skaletsky H., Fachinetti D., et al. Selective Y centromere inactivation triggers chromosome shattering in micronuclei and repair by non-homologous end joining. *Nat. Cell Biol.* 2017; 19(1): 68–75. <https://doi.org/10.1038/ncb3450>
- Tan E.H., Henry I.M., Ravi M., Bradnam K.R., Mandakova T., Marimuthu M.P., et al. Catastrophic chromosomal restructuring during genome elimination in plants. *eLife.* 2015; 4: e06516. <https://doi.org/10.7554/elife.06516>
- Garsed D.W., Marshall O.J., Corbin V.D., Hsu A., Di Stefano L., Schroder J., et al. The architecture and evolution of cancer neochromosomes. *Cancer Cell.* 2014; 26(5): 653–67. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.09.010>
- Mamaev N.N., Gindina T.L., Boychenko E.G. Chromothripsis in oncology: literature review and case report. *Klinicheskaya onkologematologiya.* 2017; 10(2): 191–205. <https://doi.org/10.21320/2500-2139-2017-10-2-191-205> (in Russian)
- Uryvaeva I.V., Mikaelyan A.S., Dashenkova N.O., Marshak T.L. Chromothripsis in hepatocarcinogenesis: the role of a micronuclear aberration and polyploidy. *Izvestiya Rossiyskoy akademii nauk. Seriya biologicheskaya.* 2018; 45(5): 419–25. <https://doi.org/10.1134/S1062359018050163> (in Russian)
- Fenech M., Kirsch-Volders M., Natarajan A.T., Surrallés J., Crott J.W., Parry J., et al. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis.* 2011; 26(5): 125–32. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.09.010>
- Bartsch K., Knittler K., Borowski C., Rudnic S., Damme M., Aden K., et al. Absence of RNase H2 triggers generation of immunogenic micronuclei removed by autophagy. *Hum. Mol. Genet.* 2017; 26(20): 3960–72. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddx283>
- Mackenzie K.J., Carroll P., Martin C.A., Murina O., Fluteau A., Simpson D.J., et al. cGAS surveillance of micronuclei links genome instability to innate immunity. *Nature.* 2017; 548(7668): 461–5. <https://doi.org/10.1038/nature23449>
- Harding S.M., Benci J.L., Irianto J., Discher D.E., Minn A.J., Greenberg R.A. Mitotic progression following DNA damage enables pattern recognition within micronuclei. *Nature.* 2017; 548(7668): 466–70. <https://doi.org/10.1038/nature23470>
- Russo A., Degraffi F. Molecular cytogenetics of the micronucleus: Still surprising. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* 2018; 836(Pt. A): 36–40. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2018.05.011>
- Sun L., Wu J., Du F., Chen X., Chen Z.J. Cyclic GMP-AMP synthase is a cytosolic DNA sensor that activates the type I interferon pathway. *Science.* 2013; 339(6121): 786–91. <https://doi.org/10.1126/science.1232458>
- Gecara N.O. DNA damage-induced immune response: Micronuclei provide key platform. *J. Cell Biol.* 2017; 216(10): 2999–3001. <https://doi.org/10.1083/jcb.201708069>
- Mitchison T.J., Pineda J., Shi J., Florian S. Is inflammatory micronucleation the key to a successful anti-mitotic cancer drug? *Open Biol.* 2017; 7(11): 170182. <https://doi.org/10.1098/rsob.170182>
- Widel M., Jedrus S., Owczarek S., Konopacka M., Lubecka B., Kolsza Z. The increment of micronucleus frequency in cervical carcinoma during irradiation in vivo and its prognostic value for tumour radiocurability. *Br. J. Cancer.* 1999; 80(10): 1599–607. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6690569>
- 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>
- Byakhova M.M., Sycheva L.P., Zhurkov V.S., Astrakhantsev A.F., Kosmynin A.A., Odishelidze N.V., et al. Cytogenetic status of patients with cancer of the gastrointestinal tract before and after treatment. *Voprosy onkologii.* 2014; 60(1): 52–5. (in Russian)
- Nikolouzakis T.K., Stivaktakis P.D., Apalaki P., Kalliantaki K., Sapsakos T.M., Spandidos D.A., et al. Effect of systemic treatment on the micronuclei frequency in the peripheral blood of patients with metastatic colorectal cancer. *Oncol. Lett.* 2019; 17(3): 2703–12. <https://doi.org/10.3892/ol.2019.9895>
- Aboalela N., Lyon D., Elswick R.K., Kelly D.L., Brumelle J., Bear H.D., et al. Perceived stress levels, chemotherapy, radiation treatment and tumor characteristics are associated with a persistent increased frequency of somatic chromosomal instability in women diagnosed with breast cancer: a one year longitudinal study. *PLoS One.* 2015; 10(7): e0133380. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133380>
- Bonassi S., Znaor A., Ceppi M., Lando C., Chang W.P., Holland N., et al. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes

- predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis*. 2007; 28(3): 625–31. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgl117>
53. 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>
 54. Yurov Yu.B., Vorsanova S.G., Solov'ev I.V., Yurov I.Yu. Instability of chromosomes in human nerve cells (normal and with neurological diseases). *Genetika*. 2010; 46(10): 1194–6. <https://doi.org/10.1134/S1022795410100121> (in Russian)
 55. Hou Y., Song H., Croteau D.L., Akbari M., Bohr V.A. Genome instability in Alzheimer disease. *Mech. Ageing. Dev.* 2017; 161(Pt. A): 83–94. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2016.04.005>
 56. Thadathil N., Hori R., Xiao J., Khan M.M. DNA double-strand breaks: a potential therapeutic target for neurodegenerative diseases. *Chromosome Res.* 2019; 27(4): 345–64. <https://doi.org/10.1007/s10577-019-09617-x>
 57. Schmidt M.H.M., Pearson C.E. Disease-associated repeat instability and mismatch repair. *DNA Repair (Amst.)*. 2016; 38: 117–26. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2015.11.008>
 58. Guo C., Jeong H.H., Hsieh Y.C., Klein H.U., Bennett D.A., De Jager P.L., et al. Tau activates transposable elements in Alzheimer's disease. *Cell Rep.* 2018; 23(10): 2874–80. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.05.004>
 59. Talhaoui I., Matkarimov B.T., Tchenio T., Zharkov D.O., Saparbaev M.K. Aberrant base excision repair pathway of oxidatively damaged DNA: Implications for degenerative diseases. *Free Radic. Biol. Med.* 2017; 107: 266–77. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.11.040>
 60. Vorsanova S.G., Yurov Yu.B., Demidova I.A., Koloty A.D., Kurinnaya O.S., Kravets V.S., et al. Biomarkers for childhood nonmalignant brain diseases associated with chromosome instability. *Nauchnyy rezul'tat. Meditsina i farmatsiya*. 2018; 4(2): 8–17. <https://doi.org/10.18413/2313-8955-2018-4-2-0-2> (in Russian)
 61. 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>
 62. Migliore L., Botto N., Scarpato R., Petrozzi L., Cipriani G., Bonucelli U. Preferential occurrence of chromosome 21 malsegregation in peripheral blood lymphocytes of Alzheimer's disease patients. *Cytogenet. Cell Genet.* 1999; 87(1–2): 41–6. <https://doi.org/10.1159/000015389>
 63. Thomas P., Fenech M. Chromosome 17 and 21 aneuploidy in buccal cells is increased with ageing and in Alzheimer's disease. *Mutagenesis*. 2008; 23(1): 57–65. <https://doi.org/10.1093/mutage/gem044>
 64. Petrozzi L., Lucetti C., Scarpato R., Gambaccini G., Trippi F., Bernardini S., et al. Cytogenetic alterations in lymphocytes of Alzheimer's disease and Parkinson's disease patients. *Neurol Sci.* 2002; 23(Suppl. 2): 97–8. <https://doi.org/10.1007/s100720200087>
 65. Gnana Oli R., Fazeli G., Kuhn W., Walitza S., Gerlach M., Stopper H. No increased chromosomal damage in L-DOPA treated patients with Parkinson's disease: a pilot study. *J. Neural Transm.* 2010; 117(6): 737–46. <https://doi.org/10.1007/s00702-010-0401-z>
 66. Thomas P., Harvey S., Gruner T., Fenech M. The buccal cytome and micronucleus frequency is substantially altered in Down's syndrome and normal ageing compared to young healthy controls. *Mutat. Res.* 2008; 638(1–2): 37–47. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2007.08.012>
 67. Fenech M., Bonassi S. The effect of age, gender, diet and lifestyle on DNA damage measured using micronucleus frequency in human peripheral blood lymphocytes. *Mutagenesis*. 2011; 26(1): 43–9. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq050>
 68. Thomas P., Hecker J., Faunt J., Fenech M. Buccal micronucleus cytome biomarkers may be associated with Alzheimer's disease. *Mutagenesis*. 2007; 22(6): 371–9. <https://doi.org/10.1093/mutage/gem029>
 69. Maluf S.W., Erdtmann B. Genomic instability in Down syndrome and Fanconi anemia assessed by micronucleus analysis and single-cell gel electrophoresis. *Cancer Genet. Cytogenet.* 2001; 124(1): 71–5. [https://doi.org/10.1016/s0165-4608\(00\)00322-8](https://doi.org/10.1016/s0165-4608(00)00322-8)
 70. Scarfi M.R., Cossarizza A., Monti D., Bersani F., Zannotti M., Lioi M.B., et al. Age-related increase of mitomycin C-induced micronuclei in lymphocytes from Down's syndrome subjects. *Mutat. Res.* 1990; 237(5–6): 247–52. [https://doi.org/10.1016/0921-8734\(90\)90006-d](https://doi.org/10.1016/0921-8734(90)90006-d)
 71. Ferreira F.L., Pra D., Martino-Roth M.G., Garcias G.L. Buccal micronucleus frequency is associated with age in Down syndrome. *Genet. Mol. Res.* 2009; 8(4): 1231–7. <https://doi.org/10.4238/vol8-4gmr636>
 72. Schupf N., Kapell D., Lee J.H., Ottman R., Mayeux R. Increased risk of Alzheimer's disease in mother of adults with Down's syndrome. *Lancet*. 1994; 344(8919): 353–6. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(94\)91398-6](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(94)91398-6)
 73. Migliore L., Boni G., Bernardini R., Trippi F., Colognato R., Fontana I., et al. Susceptibility to chromosome malsegregation in lymphocytes of women who had a down syndrome child in young age. *Neurobiol. Ageing*. 2006; 27(5): 710–6. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2005.03.025>
 74. Coppede F., Colognato R., Bonelli A., Astrea G., Bargagna S., Siciliano G., et al. Polymorphisms in folate and homocystein metabolising genes and chromosome damage in mothers of Down syndrome children. *Am. J. Med. Genet. A.* 2007; 143A(17): 2006–15. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.31886>
 75. Naga M.B.S.S., Gour S., Nallagutta N., Ealla K.K.R., Velidandla S., Manikya S. Buccal micronucleus cytome assay in sickle cell disease. *J. Clin. Diagn. Res.* 2016; 10(6): ZC62–4. <https://doi.org/10.7860/jcdr/2016/19984.7998>
 76. Al-Rawi Z.S., Gorial F., Tawfiq R.F., Mohammed A.K., Al-Naaimi A.S., Al'aadmi M.A., et al. Brief report: a novel application of buccal micronucleus cytome assay in systemic lupus erythematosus: a case-control study. *Arthritis Rheumatol.* 2014; 66(10): 2837–41. <https://doi.org/10.1002/art.38764>
 77. Karaman H., Karaman A., Donmez-Altuntas H., Bitgen N., Hamurcu Z., Ogus A., et al. Investigation of genome instability in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *World J. Gastroenterol.* 2013; 19(32): 5295–301. <https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i32.5295>
 78. 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.
 79. Donmez-Altuntas H., Sahin F., Bayram F., Bitgen N., Mert M., Guclu K., et al. Evaluation of chromosomal damage, cytostasis, cytotoxicity, oxidative DNA damage and their association with body-mass index in obese subjects. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ Mutagen.* 2014; 771: 30–6. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2014.06.006>
 80. Laanani I., Boutelis S., Bennoune O., Belaaloui G. Buccal micronucleus cytome biomarkers in Algerian couples with idiopathic infertility. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ Mutagen.* 2018; 835: 32–5. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2018.08.010>
 81. Rangel-Lopez A., Paniagua-Medina M.E., Urban-Reyes M., Cortes-Arredondo M., Alvarez-Aguilar C., Lopez-Meza J., et al. Genetic damage in patients with chronic kidney disease, peritoneal dialysis and haemodialysis: a comparative study. *Mutagenesis*. 2013; 28(2): 219–25. <https://doi.org/10.1093/mutage/ges075>
 82. 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/gev029>
 83. Mihaljevic O., Zivancevic-Simonovic S., Milosevic-Djordjevic O., Djurdjevic P., Jovanovic D., Todorovic Z., et al. Apoptosis and genome instability in children with autoimmune disease. *Mutagenesis*. 2018; 33(5–6): 351–7. <https://doi.org/10.1093/mutage/gey037>
 84. Herrstrom P., Bratt L., Holmen A., Hogstedt B. Micronuclei in lymphocyte subsets in relation to immune proteins and allergic disease. *Mutat. Res.* 1998; 405(1): 35–40. [https://doi.org/10.1016/s0027-5107\(98\)00125-0](https://doi.org/10.1016/s0027-5107(98)00125-0)
 85. Cuello-Almarales D., Almaguer-Mederos L., Vazquez-Mojena Y., Almaguer-Gotay D., Zayas-Feria P., Laffita-Meza J.M., et al. Buccal cell micronucleus frequency is significantly elevated in patients with spinocerebellar ataxia type 2. *Arch. Med. Res.* 2017; 48(3): 297–302. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2017.06.008>
 86. Sanchez-Flores M., Marcos-Perez D., Lorenzo-Lopez L., Maseda A., Millan-Calenti J.C., Bonassi S., et al. Frailty syndrome and genomic instability in older adults: suitability of the cytome micronucleus assay as a diagnostic tool. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* 2018; 73(7): 864–72. <https://doi.org/10.1093/geron/glx258>
 87. Grindel A., Brath H., Nersesyan A., Knasmueller S., Wagner K.H. Association of genomic instability with HbA1c levels and medication in diabetic patients. *Sci. Rep.* 2017; 7: 41985. <https://doi.org/10.1038/srep41985>
 88. Milosevic-Ethordevic O., Gruzic D., Marinkovic D., Arsenijevic S., Bankovic S. Effect of various doses of gestogens on micronuclei frequency in human peripheral blood lymphocytes of pregnant women. *Hum. Reprod.* 2003; 18(2): 433–6. <https://doi.org/10.1093/humrep/deg068>
 89. Furness D.L.F., Dekker G.A., Hague W.M., Khong T.Y., Fenech M.F. Increased lymphocyte micronucleus frequency in early pregnancy is associated prospectively with pre-eclampsia and/or intrauterine growth restriction. *Mutagenesis*. 2010; 25(5): 489–98. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq032>
 90. Franzke B., Halper B., Hofmann M., Oesen S., Pierson B., Cremer A., et al. The effect of six months of elastic band resistance training, nutritional supplementation or cognitive training on chromosomal damage in institutionalized elderly. *Exp. Gerontol.* 2015; 65: 16–22. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2015.03.001>
 91. Surowy H., Rinckle A., Luedeke M., Stuber M., Wecker A., Varga D., et al. Heritability of baseline and induced micronucleus frequencies. *Mutagenesis*. 2011; 26(1): 111–7. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq059>

К статье Кривцовой Е.К., Ингель Ф.И., Ахальцевой Л.В.
 Цитомный анализ: современный универсальный инструмент
 медикобиологических и экологигиенических исследований (обзор литературы). Часть 1
 To the article by Krivtsova E.K., Ingel F.I., Akhaltseva L.V.
 Cytomic analysis: a modern universal tool of medical-biological and ecological-hygienic research
 (literature review). Part 1

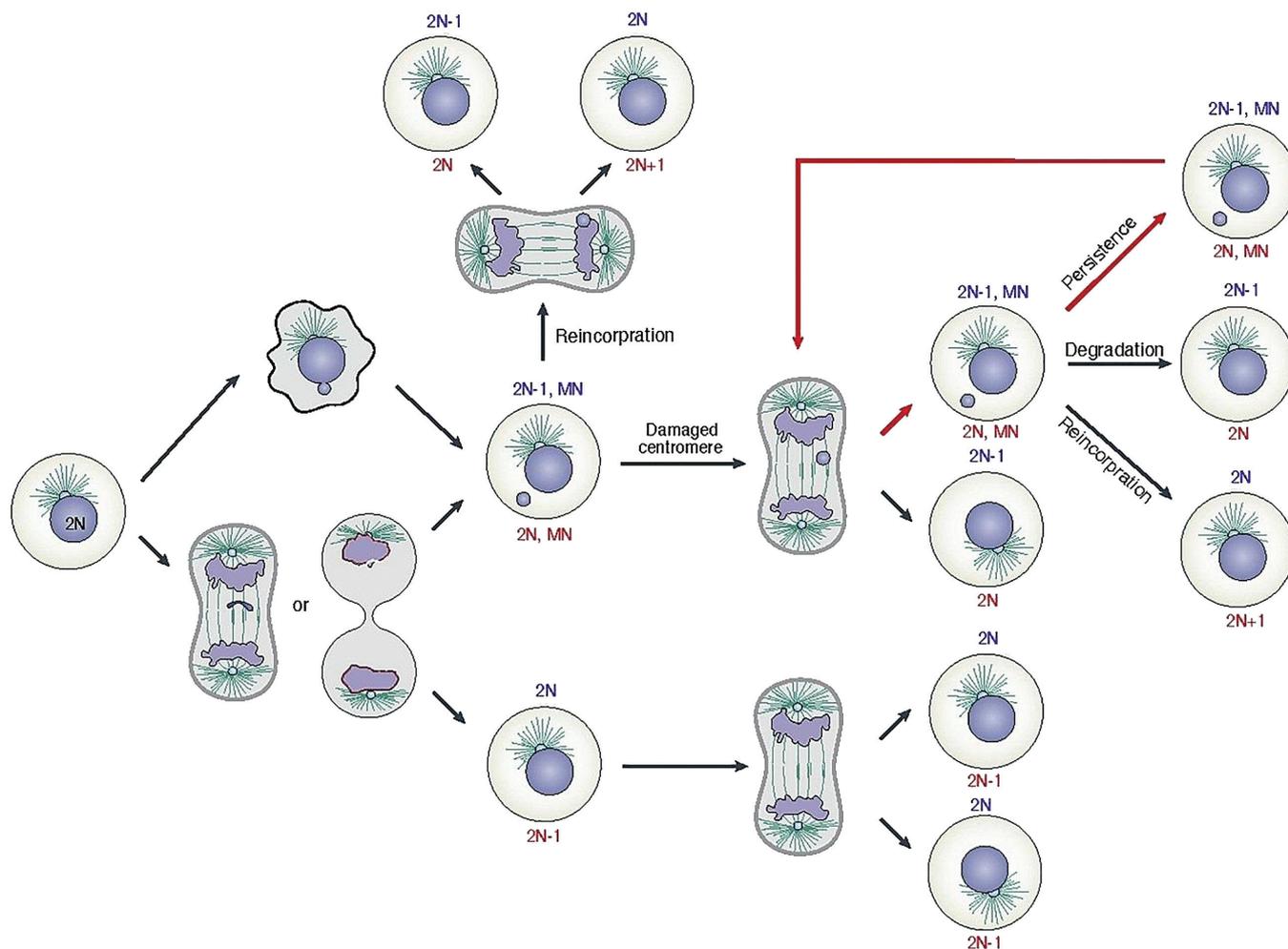


Рис. 1. Микроядра как причина и биомаркер анеуплоидии в основном ядре (Guo X. и соавт., 2019).

2N-клетка содержит диплоидный набор хромосом; MN – микроядро.

Включение хромосомы в МЯ, по-видимому, часто приводит к необратимой потере способности собирать нормальный кинетохор. В результате такая хромосома не сегрегирует и вновь образует МЯ, которое включается в одну из дочерних клеток. Если отстающая хромосома изначально наследуется правильно, то что клетки первого поколения, содержащие МЯ, обладают правильным количеством хромосом (хотя и одной в составе МЯ), то одностороннее наследование приведет к тому, что клетка, не содержащая МЯ, окажется гипоплоидной (синие символы). В то же время, если МЯ оказывается в клетке с полноценным дочерним ядром (2N), то такая клетка, и её потомство, содержащее МЯ, будут гиперпloidными, тогда как клетка, не содержащая МЯ, и ее потомство будут гипопloidными (красные символы). Если МЯ сохраняется, то одностороннее наследование МЯ будет продолжаться. Если же МЯ деградировано или вытеснено, это приведет к образованию гипопloidной или зупloidной клетки в случае, если МЯ находится в «правильной» или «неправильной» клетках соответственно. Если хромосомы, включенные в МЯ, обладают функциональной центромерой, одностороннее наследование приведет к гипопloidному или гиперпloidному потомству в случае, если МЯ находится в «правильной» или «неправильной» клетках соответственно.

Fig. 1. MN are cause and biomarker of numerical aneuploidy in PN (Guo X. et al., 2019).

2N the cell contains a diploid set of chromosomes; MN – micronucleus.

2N the cell contains a diploid set of chromosomes; MN is a micronucleus. The inclusion of a chromosome in the MN, apparently, often leads to an irreversible loss of the ability to assemble the normal kinetochore. As a result, such a chromosome does not segregate and again forms MN, which is included in one of the daughter cells. If the lagging chromosome is initially inherited correctly, so that the first generation cells containing MN have the correct number of chromosomes (albeit one in the MN), then unilateral inheritance will lead to the fact that the cell without MN will be hypoploid (blue symbols). At the same time, if MN is in a cell with a full-fledged daughter nucleus (2N), then such a cell and its progeny containing MN will be hyperploid, while a cell not containing MN and its progeny will be hypoploid (red symbols). If MN is preserved, then one-way inheritance of MN will continue. If MN is degraded or displaced, this will lead to the formation of a hypoploid or euploid cell if MN is in the "correct" or "wrong" cells, respectively. If the chromosomes included in the MN have a functional centromere, unilateral inheritance will result in hypoploid or hyperploid offspring if the MN is in "correct" or "wrong" cells, respectively.

К статье Кривцовой Е.К., Ингель Ф.И., Ахальцевой Л.В.
 Цитомный анализ: современный универсальный инструмент
 медикобиологических и экологигиенических исследований (обзор литературы). Часть 1
 To the article by Krivtsova E.K., Ingel F.I., Akhaltseva L.V.
 Cytomic analysis: a modern universal tool of medical-biological and ecological-hygienic research
 (literature review). Part 1

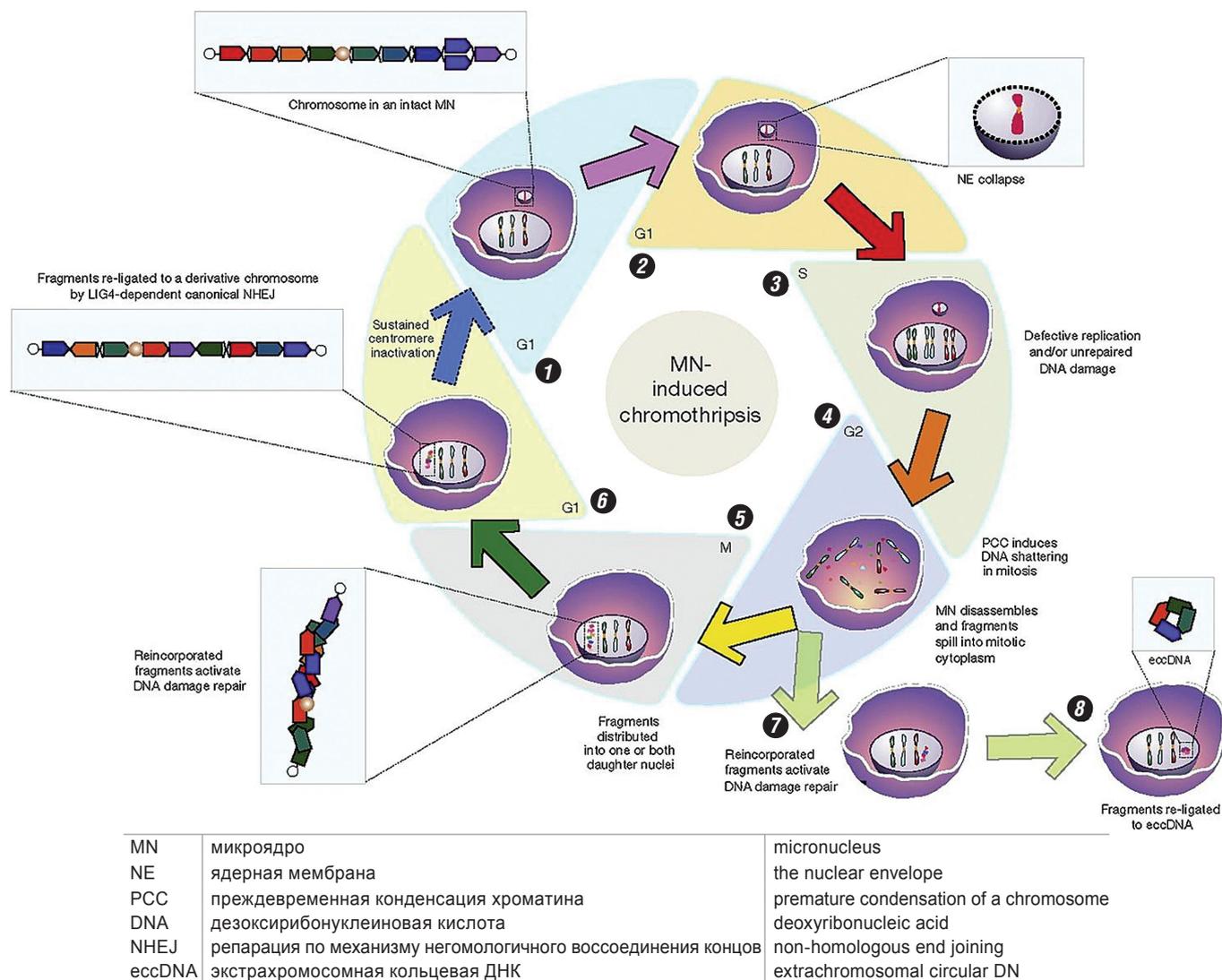


Рис. 2. Модель хромосомных перестроек, индуцированных хромотрипсисом, возникшим в микроядре (Guo X. и соавт., 2019).

1 – фаза G1. Хромосома в интактном микроядре.
 2 – фаза G1. Происходит коллапс ядерной оболочки микроядра.
 3 – S-фаза. В микроядре идёт дефектная, замедленная репликация ДНК; репарация повреждений ДНК отсутствует.
 4 – фаза G2. Преждевременная конденсация хромосомы в микроядре вызывает её фрагментацию. Оболочка микроядра разрушается, фрагменты хромосомы оказываются в цитоплазме.
 5 – митоз. Хромосомные фрагменты попадают в одно или оба дочерних ядра.
 6 – фаза G1. В дочернем ядре фрагменты хромосомы активируют репарационные процессы и воссоединяются по механизму негомологичного соединения концов (NHEJ) с образованием производной хромосомы. Если часть фрагментов не попадает в дочернее ядро и образует новое микроядро, они так и остаются в виде фрагментов.
 7, 8 – если в дочернее ядро попало незначительное количество фрагментов, они воссоединяются с образованием экстрахромосомной кольцевой ДНК.

Fig. 2. Model of chromosomal rearrangements induced by chromotripsis arising in the micronucleus (Guo X. et al., 2019).

1 – phase G1. The chromosome is in an intact micronucleus. 2 – phase G1. The nuclear envelope of the micronucleus collapses. 3 – S-phase. There is a defective, delayed DNA replication in the micronucleus; DNA damage is not repaired. 4 – phase G2. Premature condensation of a chromosome in a micronucleus causes its fragmentation. The micronucleus membrane is destroyed, fragments of the chromosome end up in the cytoplasm. 5 – mitosis. Chromosomal fragments fall into one or both of the daughter nuclei. 6 – phase G1. Chromosome fragments activate repair processes in the daughter nucleus and are reunited by the mechanism of non-homologous end joining (NHEJ) to form a derivative of the chromosome. If some of the fragments do not enter the daughter nucleus and form a new micronucleus, they remain in the form of fragments. 7, 8 – if an insignificant number of fragments got into the daughter nucleus, they reunite with the formation of extrachromosomal circular DNA.

К статье Кривцовой Е.К., Ингель Ф.И., Ахальцевой Л.В.
 Цитомный анализ: современный универсальный инструмент
 медикобиологических и экологогигиенических исследований (обзор литературы). Часть 1

To the article by Krivtsova E.K., Ingel F.I., Akhaltseva L.V.
 Cytomic analysis: a modern universal tool of medical-biological and ecological-hygienic research
 (literature review). Part 1

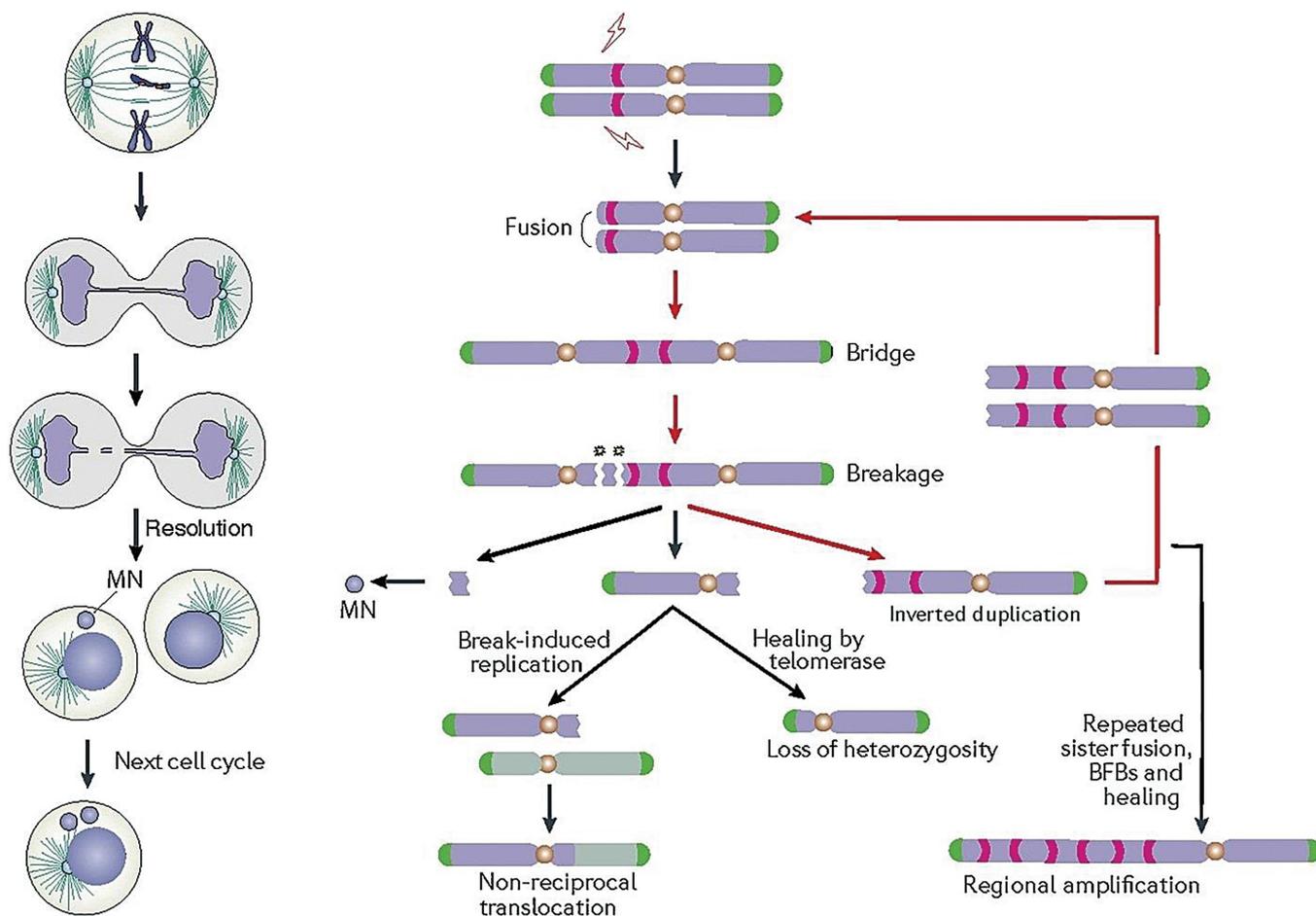


Рис. 3. Связь возникновения микроядер и индукции структурных хромосомных aberrаций в микроядре и основном ядре (Guo X. и соавт., 2019).

MN – микроядра; цикл BFB – цикл разрыва – воссоединения моста.

Циклы разрыва – воссоединения моста (BFB) могут возникать, когда слияние сестринских хроматид создает дицентрическую хромосому. Во время анафазы веретено митоза притягивает эту дицентрическую хромосому к противоположным полюсам веретена, в результате чего образуются повсеместно наблюдаемые анафазные мосты. В конечном итоге происходит разрыв дицентрической хромосомы. Часто фрагменты, возникающие при этом, образуют МЯ в одной или обеих дочерних клетках в конце митоза. После репликации повреждённые концы сестринских хроматид снова сливаются с образованием дицентрической хромосомы. Повторяющиеся циклы BFB, которые происходят между сестринскими хроматидами, могут привести к региональной амплификации. Однако циклы BFB могут быть остановлены в результате теломераза-зависимого восстановления теломер. Если этот процесс происходит после разрыва, он может привести к образованию терминальной делеции хромосомы и потере гетерозиготности. С другой стороны, повреждённые хромосомы могут быть восстановлены путём репликации, вызванной разрывом, что приводит к нераспространяемой транслокации.

Fig. 3. Relationship between the occurrence of micronuclei and the induction of structural chromosomal aberrations in the micronucleus and the main nucleus (Guo X. et al., 2019).

MN – micronucleus; BFB – Breakage-fusion – bridge (BFB) cycles can occur when sister chromatids fusion generates a dicentric chromosome. During anaphase, the mitotic spindle pulls this dicentric chromosome towards opposite spindle poles, thereby generating the widely observed anaphase bridges. During cell division, the dicentric chromosome undergoes breakage. Often, some fragments give rise to MN in one or both daughter cells at the end of mitosis. After replication, the broken ends of sister chromatids fuse again, giving rise to another dicentric chromosome. Repeated cycles of BFB that occur between sister chromatids can result in regional amplification. However, BFB cycles can be interrupted by telomerase-mediated telomere healing. If this process occurs following breakage, it can result in the formation of a terminal chromosome deletion and loss of heterozygosity. Alternatively, broken chromosomes can be repaired by break-induced replication, yielding a non-reciprocal translocation.