



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

Интерпретация сдвигов значений некоторых показателей цитомного анализа букальных эпителиоцитов

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

РЕЗЮМЕ

Введение. Учёт микроядер (МЯ) в эпителии слизистой оболочки щеки широко используют для оценки воздействия на человека генотоксичных факторов. Цитомный анализ делает тест более чувствительным при выявлении факта экспозиции, но отнести сдвиги отдельных показателей к проявлению токсичности или генотоксичности сложно. Мы предположили, что анализ частот разных форм аномалий ядра в клетках разной степени зрелости может продвинуть наше понимание биологического смысла сдвигов этих показателей.

Материалы и методы. Проведён цитомный анализ с учётом степени зрелости эпителиоцитов в соскобах слизистой оболочки щеки детей 6–7 лет и для сравнения в уретелии мышей и крыс в контроле и после применения индуктора цистита и стандартного мутагена циклофосфамида (ЦФ).

Результаты. В соскобах слизистой оболочки щеки у детей частота клеток с конденсированным хроматином в ядре, кариорексисом и кариопинкозом существенно повышалась в промежуточных клетках, а частота двуядерных клеток (ДК), клеток с ядерными почками (ЯП) и кариолизисом – только по достижении терминально дифференцированного состояния. Анализ суспензионных препаратов эпителия мочевого пузыря лабораторных животных подтвердил преимущественное накопление ДК в поверхностных слоях. На модели цистита у крыс, вызванного однократным введением ЦФ в дозе 30 мг/кг, наблюдалось снижение частоты ДК в конце пролиферативной фазы посттравматической регенерации эпителия (14 дней после применения ЦФ). После выпавания мышам ЦФ в дозе 1,3 мг/кг/сут в течение 14 дней среди наиболее зрелых клеток было отмечено повышение частоты ДК.

Ограничение исследования – отсутствие оценки содержания ДНК в ядрах эпителиоцитов, не позволившее оценить формы полиплоидии, отличные от abortивного цитокинеза (эндоциклизование и эндомитоз).

Заключение. Получено подтверждение релевантности трактовки повышения частоты ДК в букальных эпителиоцитах экспонированных людей как проявления генотоксического воздействия. Снижение частоты ДК в ряде случаев может быть связано с восстановительной посттравматической регенерацией эпителия.

Ключевые слова: соскобы слизистой оболочки щеки человека; микроядерный тест; цитомный анализ; уретелий млекопитающих; двуядерные клетки

Соблюдение этических стандартов. Обследование детей (отбор проб слущивающегося эпителия щеки выполняли неинвазивным методом) проведено с соблюдением норм и правил, закреплённых в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации с разрешения и в присутствии родителей, заполнивших бланк добровольного информированного согласия на обследование своих детей. Эксперименты проведены в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS N 123), директивой Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/EC от 22.09.2010 г. о защите животных, используемых для научных целей.

Для цитирования: Юрченко В.В., Ахальцева Л.В., Кривцова Е.К., Ингель Ф.И. Интерпретация сдвигов значений некоторых показателей цитомного анализа букальных эпителиоцитов. Гигиена и санитария. 2024; 103(10): 1235–1242. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2024-103-10-1235-1242> <https://elibrary.ru/pjuahp>

Для корреспонденции: Юрченко Валентина Васильевна, e-mail: VYurchenko@cspmz.ru

Участие авторов: Юрченко В.В. – анализ и интерпретация данных литературы, взятие проб эпителиоцитов, приготовление препаратов для цитомного анализа, статистический анализ и описание результатов цитомного анализа, написание текста; Ахальцева Л.В. – поиск и анализ данных литературы, микроскопический анализ мазков слизистой оболочки детей, редактирование рукописи и подготовка её к печати; Кривцова Е.К. – микроскопический анализ суспензионных препаратов мочевого пузыря мышей и крыс; Ингель Ф.И. – обсуждение и редактирование рукописи. 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. 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».

Поступила: 05.07.2024 / Принята к печати: 02.10.2024 / Опубликована: 19.11.2024

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

Interpretation of shifts in the values of some indices of cytome analysis of buccal epithelial cells

Centre for Strategic Planning of the Federal medical and biological agency, Moscow, 119121, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Accounting for micronuclei (MN) in the epithelium of the buccal mucosa is widely used to identify human exposure to genotoxic factors. Cytome analysis makes the test more sensitive to detect exposure, but it remains difficult to attribute changes in individual indices to toxicity or genotoxicity. We hypothesized that analysis of the frequencies of different forms of nuclear abnormalities in cells of different degrees of maturity could promote our understanding of the biological meaning of shifts in these indicators.

Materials and methods. A cytome analysis was carried out taking into account the degree of maturity of epithelial cells in scrapings of the cheek mucosa in 6–7 years children, and, for comparison, in the urothelium of mice and rats in the control and after the administration of a cystitis inducer and the standard mutagen cyclophosphamide (CP).

Results. In scrapings of the buccal mucosa from children, the frequency of cells with condensed chromatin in the nucleus, karyorrhexis and karyopyknosis increased significantly in intermediate cells, and the frequency of binuclear cells (BN), cells with nuclear buds (NB) and karyolysis increased only upon reaching a terminally differentiated state. Analysis of suspension preparations of the bladder epithelium in laboratory animals confirmed the predominant accumulation of BN in the superficial layers. In a model of cystitis in rats caused by a single administration of CP at a dose of 30 mg/kg, a decrease in the frequency of BN was observed at the

end of the proliferative phase of post-traumatic epithelial regeneration (14 days after CP administration). After feeding mice with CP at a dose of 1.3 mg/kg/day for 14 days, an increase in the frequency of BN was noted among the most mature cells.

Limitation of the study is the lack of assessment of the DNA content in the nuclei of epithelial cells, which did not allow evaluating forms of polyploidy other than abortive cytokinesis (endocycling and endomitosis).

Conclusion. There was received confirmation of the relevance of interpretation the increase in the frequency of BNs in buccal epithelial cells in a group of exposed people as a manifestation of genotoxic effects; a decrease in the frequency of BNs in some cases may be associated with post-traumatic regeneration of the epithelium.

Keywords: scrapings of the mucous membrane of the cheek; micronucleus test; cytome analysis; mammalian urothelium; binucleate cells

Compliance with ethical standards. The examination of children (sampling of desquamated buccal epithelium was carried out using a non-invasive method) in compliance with the norms and regulations enshrined in the Declaration of Helsinki of the World Medical Organization with the permission and in the presence of parents who filled out a voluntary informed consent form for the examination of their children. The study carried out under the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experiments or Other Scientific Purposes (ETS N 123), Directive of the European Parliament and Council of the European Union 2010/63/EU of 22.09.2010 on the protection of animals used for scientific purposes.

For citation: Yurchenko V.V., Akhadtseva L.V., Krivtsova E.K., Ingel F.I. Interpretation of shifts in the values of some indices of cytome analysis of buccal epithelial cells. *Gigiena i Sanitariya / Hygiene and Sanitation, Russian journal.* 2024; 103(10): 1235–1242. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2024-103-10-1235-1242> <https://elibrary.ru/pjuahp> (In Russ.)

For correspondence: Valentina V. Yurchenko, e-mail: VYurchenko@cspmz.ru

Contribution: Yurchenko V.V. – analysis and interpretation of literature data, sampling of epithelial cells, preparation of preparations for cytome analysis, statistical analysis and description of the results of cytome analysis, writing an article; Akhadtseva L.V. – search and analysis of literature data, microscopic analysis of smears of the mucous membrane of children, manuscript editing and preparing for publication; Krivtsova E.K. – microscopic analysis of suspension preparations of the bladder of mice and rats; Ingel F.I. – discussion and editing of the manuscript. *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.

Acknowledgment. The work was carried out within the framework of the state assignment “Analysis of adaptation changes in the population living in areas where odor sources are located, with the aim of developing recommendations for health authorities on managing the risk of environmentally related diseases”.

Received: July 5, 2024 / Accepted: October 2, 2024 / Published: November 19, 2024

Введение

Плоский многослойный стратифицированный эпителий у млекопитающих представлен в коже, ротовой полости, гортани, пищеводе, влагалище, мочевом пузыре [1], где осуществляет барьерные функции по разным механизмам. Слизистая оболочка щеки покрыта самым толстым эпителием, который быстро обновляется и интенсивно слущивается на 90% в виде клеток V–VI стадий созревания [2, 3]. В ротовой полости в норме имеется популяция микроорганизмов, многие из которых вырабатывают токсичные вещества. Защиту от микробов обеспечивают антимикробные белки (катионные белки, кальпротектин, дефензин), интенсивно выделяемые эпителиоцитами, а также внутри- и внеэпителиальные лейкоциты, которые осуществляют фагоцитоз микробов с выделением протеолитических ферментов и реактивных форм кислорода. Некоторые участки слизистой оболочки обладают проницаемостью для ряда веществ, в частности йода, калия, натрия, аминокислот, лекарственных препаратов [3]. Эпителий слизистой оболочки щеки способен активировать проксимальные канцерогены [4–6].

Уретелий в норме непроницаем для ионов, воды и патогенов из мочи благодаря монослою поверхностных клеток, имеющих на апикальной мемbrane плотно соединённые между собой пластиинки трансмембранных белка уроплакина. Во время фазы наполнения мочевого пузыря поверхность клетки увеличивают свою апикальную поверхность за счёт экзоцитоза специализированных веретенообразных пузырьков, которые выдвигают уроплакини к поверхности, где они собираются в кристаллы. В фазе опорожнения эти клетки уменьшают свою апикальную поверхность за счёт эндоцитоза, задвигающего мембранные пластиинки внутрь клетки, где они подвергаются деградации [7, 8]. Эти процессы нуждаются в высоком уровне метаболизма, белкового синтеза и внутриклеточного транспорта. Уретелий является одной из самых медленно обновляющихся тканей, но в уретелии лабораторных животных можно стимулировать пролиферацию. В частности, ЦФ при однократном введении в интервале доз 30–200 мг/кг вызывал у крыс и мышей выраженный цистит, причём площадь и глубина некротизированных участков эпителия с последующим их отторжением зависели от дозы [9, 10]. Поражение уретелия связывают с экспрессией с мочой перекисных продуктов метаболизма ЦФ [11].

Цитомный анализ соскобов слизистой оболочки щеки предусматривает учёт наряду с МЯ и ЯП также и дегенерирующих эпителиоцитов. Их происхождение трактуют

неоднозначно. Лизис ядра определённо относят к некрозу, а феномены конденсированного хроматина в ядре, кариопикноза и кариорексиса могут возникать в результате как апоптоза, так и некроза [12]. Все формы смерти клетки относят к апоптозу, кроме лизиса, трактовка которого остаётся неоднозначной [13]. Все формы смерти, включая лизис ядра, относят к апоптозу [14]. Все морфологические проявления дегенерации называют разными типами клеточной гибели без попытки маркировать их как некроз или апоптоз [15].

Образование ДК связывают с ацитокинетическим митозом в базальном слое и повышение частоты ДК в группе экспонированных людей трактуют как показатель: 1) предположительно [12] или определённо [15] генотоксического воздействия; 2) чувствительности к анеуплоидии [13] или 3) нарушения пролиферации [14]. Пролиферативную способность эпителия предложено оценивать по соотношению частот так называемых базальных клеток (III–IV стадии созревания по классификации [2]) и частот нормальных дифференцированных клеток [13, 15]. В то же время появление в соскобе базальных клеток цитологи связывают с травмой эпителия или наличием в нём глубоких воспалительных процессов, а парабазальных клеток – с выраженной атрофией эпителия [3].

Таким образом, общепринятой является интерпретация только маркёров цитогенетических нарушений (МЯ и ЯП), поэтому можно признать актуальными любые подходы к уточнению биологического смысла сдвигов показателей цитомного анализа. Мы попытались проследить частоты ядерных аномалий по мере созревания клеток на мазках букального эпителия человека и для сравнения на препаратах диссоциированных клеток уретелия лабораторных животных в норме и после применения ЦФ.

Материалы и методы

В работе использованы результаты анализа мазков слизистой оболочки щеки 18 мальчиков и 19 девочек в возрасте 6–7 лет, представляющие собой часть материалов комплексного обследования [16]. Соскоб слизистой оболочки щеки выполняли деревянным шпателем. Мазки окрашивали 2%-м ацетоорсенином (Merck) и 1%-м зелёным светлым (ICN Biomedicals Inc., США).

В проходящем свете на микроскопе Olympus BX41 при увеличении 10 × 100 анализировали все отдельно лежащие клетки, причём каждую из них относили к одной из трёх страт по степени зрелости в соответствии с [13]. От каждого

Таблица 1 / Table 1

Частоты независимых от пола нормальных и аномальных клеток (%) в эпителии слизистой оболочки щеки детей

Frequencies of sex-independent normal and abnormal cells (%) in the epithelium of the buccal mucosa in children

Клетки с указанным признаком Cells with the specified sign	Страты клеток по степени зрелости Cell strata by degree of maturity						Без выделения страт Without Identifying strata	
	Базальные (1) Basal (1)		Промежуточные (2) Intermediate (2)		Зрелые (3) Mature (3)			
	%	95% CI	%	95% CI	%	95% CI	%	95% CI
Микроядро Micronucleus	0.00	—	0.43 (1, 3)****	0.00–1.09	0.30	0.18–0.41	0.31	0.17–0.44
Ядерная почка Nuclear bud	0.00	—	0.14	0.00–0.42	1.27 (1, 2)***	0.85–1.70	1.21	0.81–1.61
Двудерные клетки Binucleate cells	0.00	—	0.32	0.00–0.91	13.62 (1, 2)***	12.09–15.15	12.67	11.30–14.03
Конденсированный хроматин в ядре Condensed chromatin in the nucleus	2.06 (2, 3)***	0.51–4.63	75.56	55.81–95.31	87.34	72.04–102.63	85.67	70.83–100.50
Кариорексис Karyorhexis	0.00 (2)*, (3)***	—	3.04	0.35–5.73	8.69	4.57–12.80	8.25	4.37–12.14
Кариопикноз Karyopyknosis	0.00 (2, 3)***	—	16.21	8.70–23.72	13.73	10.53–16.93	13.64	10.64–16.65

Примечание. Здесь и в табл. 2 представлены средние значения, % и 95%-й доверительный интервал среднего; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ по сравнению со стратой (1, 2, 3), указанной в скобках (критерий Манна – Уитни).

Note: Here and in Table 2 there are presented average values, % and 95% confidence interval of the mean are presented; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ compared to the stratum (1, 2, 3) indicated in parentheses (Mann – Whitney test).

ребёнка анализировали по 2000 нормальных клеток для учёта МЯ и ЯП и все аномальные клетки, среди которых отмечали ДК (все клетки с числом ядер более одного относили к ДК), клетки с конденсированным хроматином в ядре, с пикнозом, рексисом, лизисом ядра [13], а также с перинуклеарной вакуолью, которая маркирует начальную стадию некроза (микрофото см. [17]). Первичные данные каждого ребёнка (в том числе для каждой страты клеток) пересчитывали для приведения в соответствие со стандартным протоколом [13].

Для сравнения использовали эпителий мочевого пузыря контрольных животных из токсикологических экспериментов, проведённых в разные годы. Животных получали из Научного центра биомедицинских технологий (филиал «Столбовая»). В качестве стандартного мутагена и индуктора цистита применяли ЦФ. Использовали: 1) самцов крыс Wistar массой тела 220–240 г по шесть особей в группе. Крысам отрицательного контроля интрапракеально вводили физиологический раствор, положительного контроля – однократно интрапракеально ЦФ (Брынцалов – Ферейн) в дозе 30 мг/кг. Эвтаназию крыс производили в атмосфере углекислого газа через 14 дней после введения; 2) самцов мышей C57Bl/6/j массой тела 20–22 г по семь особей в группе, которым однократно вводили в желудок за 24 ч до эвтаназии дистиллированную воду или ЦФ (ООО «Биохимик») в дозе 10 мг/кг; 3) самцов мышей CBA/C57Bl/6/j массой 25–35 г по 7 особей в группе. Контролем служили интактные мыши, животных положительного контроля в течение двух недель содержали на ежедневно сменяющем растворе ЦФ 40 мг/л (Jenapharm). С учётом водопотребления суточная доза ЦФ составила 1,3 мг/кг. Эвтаназию мышей производили путём цервикальной дислокации.

Выделенный мочевой пузырь натягивали, выворачивая эпителием наружу, на шаблон из ватманской бумаги и выдерживали 20 дней в холодном 4%-м нейтральном формалине. После промывания в воде заливали холодным 50%-м раствором KOH и оставляли в нём при комнатной температуре на 7–9 ч, затем на шаблоне опускали в дистиллированную воду и осторожно смывали отслаивающейся эпителиальной пластины струёй из дозатора на 1 мл. Суспензию слегка пипетировали, центрифугировали 10 мин при 1000 об./мин, из осадка готовили мазок, который помещали на 10 мин в спиртово-уксусную смесь 3 : 1 и затем окрашивали так же, как и мазки сосковов слизистой оболочки щеки.

Перед просмотром препараты шифровали. Расшифровку выполняли после завершения цитомного анализа. Микроскопический анализ мазков проводили так же, как и мазков букальных клеток, но анализировали не 2000, а 1000 нормальных клеток на образец и выделяли страты иначе: за промежуточные (средние) принимали клетки, у которых ширина ободка цитоплазмы была примерно равна диаметру ядра. Клетки с более узким ободком считывали как мелкие, а с ободком шире диаметра ядра – как крупные. Морфологические признаки эпителиоцитов, а также размер терминально дифференцированных клеток в букальном эпителии и уретелии очень близки [15]. Принятый нами критерий «средних» клеток уретелия соответствует III стадии созревания букальных эпителиоцитов [2]. Столь молодые клетки очень редко встречаются в сосковах слизистой оболочки щеки, поэтому практически все клетки соска приблизительно соответствуют страте «крупных» клеток уретелия животных.

Статистическую обработку полученных результатов выполняли с помощью компьютерных программ Excel и Statistica for Windows, использовали критерии Манна – Уитни и χ^2 . Различия считали значимыми при $p < 0.05$.

Результаты

По данным цитомного анализа у детей были выявлены половые различия. Мы сочли допустимым раздельно анализировать только зависимые от пола аномалии. Не зависящие от пола показатели представлены в табл. 1, а раздельные для мальчиков и девочек – в табл. 2. Среди базальных клеток из дегенерирующих встречались лишь клетки с конденсированным хроматином в ядре (см. табл. 1) и с вакуолью – у девочек (см. табл. 2). Клетки с лизисом ядра в целом встречались не реже, чем с вакуолью, но в базальных и даже в промежуточных клетках лизис ядра не наблюдался (см. табл. 2). Следовательно, частоты достаточно распространённых аномалий зависят от степени зрелости клеток.

Можно выделить две группы аномалий. В первой группе клетки с конденсированным хроматином в ядре, кариорексисом, кариопикнозом (см. табл. 1) и с вакуолью (см. табл. 2) значимо накапливались уже в страте промежуточных клеток без существенного изменения их частоты при переходе в терминально дифференцированное состояние. Во второй частота кариолизиса, ДК и ЯП были значимо повышенны

Таблица 2 / Table 2

Частоты зависимых от пола нормальных и аномальных клеток (%) в эпителии слизистой оболочки щеки детей

Frequencies of sex-dependent normal and abnormal cells (%) in the epithelium of the buccal mucosa of children

Клетки с указанным признаком Cells with the specified trait	Страты клеток по степени зрелости Cell strata by degree of maturity						Без выделения страт Without identifying strata	
	Базальные (1) Basal (1)		Промежуточные (2) Intermediate (2)		Зрелые (3) Mature (3)			
	%	95% CI	%	95% CI	%	95% CI	%	95% CI
<i>Мальчики / Boys</i>								
Нормальные клетки Normal cells	9.14 •	5.64 ÷ 12.65	42.69 (1, 3)***	33.04 ÷ 52.34	767.12	726.06–808.19	816.39	779.52–853.26
Кариолизис Karyolysis	0.00		0.00		37.78 (1, 2)***, •	23.46–52.09	36.05 ••	23.33–48.76
Перинуклеарная вакуоль Perinuclear vacuole	0.00 (2, 3)***, •		21.44	8.25–34.63	13.02	9.05–16.98	13.16	9.28–17.04
<i>Девочки / Girls</i>								
Нормальные клетки Normal cells	16.29	9.90–22.68	53.78 (1, 3)***	41.74–65.83	787.24	758.09–816.39	857.31	828.95–885.67
Кариолизис Karyolysis	0.00		0.00		20.25 (1, 2)***	14.66–25.84	18.77	13.51–24.03
Перинуклеарная вакуоль Perinuclear vacuole	7.09 (2)**, (3)*	0.00–14.20	24.34	11.07–37.62	16.88	10.13–23.63	17.12	10.34–23.90

П р и м е ч а н и е. • $p < 0.05$, •• $p < 0.01$ по сравнению с девочками (критерий Манна – Уитни).N o t e: • $p < 0.05$, •• $p < 0.01$ compared to girls (Mann – Whitney test).

только в страте терминально дифференцированных клеток. Справедливость последнего заключения в отношении ДК нуждается в обосновании, поскольку полиплоидная клетка крупнее диплоидной, что может дать шанс отнести её к более высокой страте. Если бы ДК образовывались в базальном слое, их частота в вышележащих слоях оставалась бы постоянной (в настоящем исследовании 12,67%); см. табл. 1). В этом случае среди просмотренных 48 580 промежуточных

клеток следовало бы ожидать 62 ДК вместо наблюдавшихся двух ДК ($p < 0.001$; критерий χ^2). Динамику частоты таких редких аномалий, как МЯ, невозможно оценить на этом материале.

Результаты цитомного анализа эпителия слизистой оболочки мочевого пузыря лабораторных животных представлены в табл. 3, 4. Дегенеративно изменённые клетки встречались крайне редко. В мазках уретерия контрольных крыс

Таблица 3 / Table 3

Частоты нормальных и аномальных клеток (%) в уретелии крыс в норме и через 14 дней после применения циклофосфамида

Frequencies of normal and abnormal cells (%) in the urothelium of rats in normal conditions and 14 days after application of cyclophosphamide

Клетки с указанным признаком Cells with the specified trait	Контроль Control				Циклофосфамид 30 мг/кг однократно интраптхеально Cyclophosphamide 30 mg/kg × 1 intratracheal			
	Страты клеток Cell strata			Без выделения страт Without identifying strata	Страты клеток Cell strata			Без выделения страт Without identifying strata
	мелкие (1) small (1)	средние (2) average (2)	крупные (3) large (3)		мелкие (1) small (1)	средние (2) average (2)	крупные (3) large (3)	
Нормальные клетки Normal cells	825.83 776.33–875.34	117.00 (1, 3)*** 76.06–157.94	57.17 29.47–84.86	–	726.17 •• 587.51–864.82	187.17 ••• 97.48–276.85	86.67 ••• 29.16–144.17	–
Митоз Mitosis	0.00	0.00	0.00	0.00	0.19 0.00–0.69	10.03 0.00–32.95	0.00	1.17 • 0.00 ÷ 3.09
Микроядро Micronucleus	0.20 0.00–0.73	0.00	3.33 (1)* 0.00–11.90	0.33 0.00 ÷ 0.75	5.45 •• 0.15–10.75	10.55 • 1.98–19.11	3.34 0.00–9.53	5.50 ••• 2.56 ÷ 8.44
Ядерная почка Nuclear bud	2.58 1.45–3.71	2.42 0.00–0.88	3.33 0.00–11.90	2.67 2.25 ÷ 3.08	10.21 ••• 5.15–15.27	8.30 0.03–16.57	6.94 0.00–24.80	9.50 ••• 5.46 ÷ 13.54
Двудерные клетки Binucleate cells	39.34 24.90–53.77	198.65 (1, 3)*** 161.32–235.99	637.53 477.38–797.69	93.83 69.92 ÷ 117.75	22.54 ••• 10.24–23.09	113.27 ••• 94.90–131.64	351.29 ••• 194.80–507.77	64.17 49.16 ÷ 79.17
Конденсированный хроматин Condensed chromatin	0.00	0.00	0.00	0.00	0.39 (0.00 ÷ 1.14)	5.43 0.00 ÷ 16.09	0.00	0.83 • (0.00 ÷ 2.47)

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 4 приведены средние значения, % и 95%-е доверительные интервалы среднего; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ по сравнению с клетками указанного размера (1, 2, 3); • $p < 0.05$, •• $p < 0.01$; ••• $p < 0.001$ по сравнению с контролем (критерий χ^2).N o t e: Here and in Table 4 there are presented average values means, % and 95% confidence intervals of the mean are given; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ compared to cells of the indicated size (1, 2, 3); • $p < 0.05$, •• $p < 0.01$; ••• $p < 0.001$ compared with control (χ^2 test).

Таблица 4 / Table 4

Частоты нормальных и аномальных клеток (%) в уротелии мышей в норме и после применения циклофосфамида
Frequencies of normal and abnormal cells (%) in the urothelium of rats in normal conditions and after application of cyclophosphamide

Клетки с указанным признаком Cells with the specified sign	Контроль Control				Циклофосфамид 1,3 мг/кг/день × 14 дней в/жел Cyclophosphamide 1,3 mg/kg/day × 14 days p. o.			
	Страты клеток Cell strata			Без выделения страт Without identifying strata	Страты клеток Cell strata			Без выделения страт Without identifying strata
	мелкие (1) small (1)	средние (2) average (2)	крупные (3) large (3)		мелкие (1) small (1)	средние (2) average (2)	крупные (3) large (3)	
Нормальные клетки Normal cells	731.00 644.07–817.93	260.86 (1, 3)*** 172.72–349.00	8.14 2.31–13.98	–	635.29* ** 585.70–684.87	357.14* ** 310.86–403.43	7.57 2.34–12.80	–
Митоз Mitosis	0	0	0	0	0	0.46 0.00–1.60	0	0.13 0.00–0.37
Микроядро Micronucleus	0.80 0.09–1.51	0.42 0.00–1.11	0	0.86 0.19–1.52	0.22 0.00–0.75	0.87 0.00–2.24	11.90 0.00–41.03	0.75 0.00–0.37
Ядерная почка Nuclear bud	7.41 4.56–10.25	3.81 (3)* 0.00–8.74	15.04 0.00–51.83	3.57 2.37–4.77	8.54 4.27–12.81	2.38 0.00–5.16	0	3.13 2.26–3.99
Двуядерные клетки Binucleate cells	20.61 8.38–32.85	64.41 (1, 3)*** 30.41–98.42	952.38 835.86–1068.90	38.29 24.42–52.15	16.77* 8.80–24.75	50.09 35.59–64.59	779.55* 533.29–1025.81	33.50 26.51–40.49
Конденсированный хроматин Condensed chromatin	0	0	0	0	2.20* ** 0.98–3.42	4.19* ** 1.64–6.74	0	2.75* ** (1.38–4.12)
	Контроль Control				Циклофосфамид 10 мг/кг однократно в/жел за сутки до эвтаназии Cyclophosphamide 10 mg/kg × 1 p.o. one day before euthanasia			
Нормальные клетки Normal cells	508.83 280.38–737.29	477.50 (1, 3)*** 255.48–699.52	13.67 3.76–23.57	–	558.57* ** 424.79–692.35	432.57* ** 299.61–565.53	8.86* ** 6.06–11.65	–
Митоз Mitosis	0	0	0	0	1.17* 0.00–3.01	0.54 0.00–1.39	0	1.00* 0.08–1.92
Микроядро Micronucleus	1.37 0.00–3.19	1.19 0.00–3.47	15.91 (1, 2)*** 0.00–41.82	1.29 0.59–1.91	2.01 0.25–3.77	1.84 0.00–4.80	14.29 0.00–49.24	2.00 0.00–4.27
Ядерная почка Nuclear bud	4.87 0.42–9.33	4.61 0.06–11.02	0	3.71 2.33–5.10	8.40* 4.71–12.09	6.71* 3.90–9.52	0	7.71 5.40–10.02* *
Двуядерные клетки Binucleate cells	12.33 2.15–22.51	35.55 (1, 3)*** 15.98–55.12	708.50 323.96–1000	30.7 17.9–43.5	7.96 3.23–12.69	33.88 19.90–47.86	780.83* ** 661.04–900.62	25.9 74.0–155.3
Конденсированный хроматин Condensed chromatin	0	0.50 0.00–1.80	18.52 (2)**, (1)*** 0.00–66.12	0.50 0.00–1.41	3.06* * 0.32–5.79	5.69* * 0.00–11.92	11.90 0.00–41.03	4.00* ** 1.01–6.99

иногда находили клетки с перинуклеарной вакуолью, но их частота не изменялась после применения ЦФ. Пикноз, рексис и лизис ядра отсутствовали. Частота клеток с конденсированным хроматином в ядре в страте клеток средней величины была выше, чем среди мелких: интактные мыши СВА/C57Bl6/j (см. табл. 4) и все варианты экспозиции животных к ЦФ (см. табл. 3, 4). Частота ДК в уротелии была в 50–75 раз выше, чем в букальных мазках детей (сравнение между стратой крупных клеток уротелия и букальными клетками без выделения страт представлена в разделе «Материалы и методы»). В уротелии ДК обнаруживали во всех стратах, и их частота также увеличивалась по мере созревания клеток как у контрольных животных, так и после применения ЦФ.

По данным табл. 3, в уротелии крыс через 14 дней после нанесения травмы ещё протекали митозы, наблюдался повышенный уровень клеток с МЯ и ЯП, в основном за счёт клеток среднего размера и мелких. Частота ДК была снижена по всем стратам. Через сутки после введения ЦФ в дозе 10 мг/кг (см. табл. 4) у мышей появлялись первые митозы, соответственно частоты клеток с МЯ и ЯП не изменились значимо, а частота ДК была снижена только среди крупных клеток.

После поступления ЦФ в организм мышей с питьевой водой на уровне 1,3 мг/кг/сут в течение 14 дней (см. табл. 4) митозы наблюдались в основном в мелких клетках, ЯП – в мелких и средних, частота клеток с МЯ не изменилась значимо. Частота ДК была повышена среди крупных клеток.

Обсуждение

Результаты наших исследований показали, что в соскобах слизистой оболочки щеки дегенерирующие клетки накапливались по мере приближения к моменту эксфолиации. Возможно, это необходимо для облегчения свободного слущивания за счёт разрушения многочисленных десмосом, прочно соединяющих шипы живых соседних клеток [3]. Появление дегенерирующих клеток в условиях гомеостаза связывают с реализацией программы дифференцировки [3, 12, 13]. Вероятно, программа дифференцировки уротелицитов не предусматривает смерти в форме пикноза, рексиса или лизиса ядра, которые не были обнаружены даже после экспозиции животных ЦФ.

Полиплоидизация необходима для полноценного функционирования определённых типов клеток млекопитающих и человека (гепатоциты, секреторные альвеолярные клетки

молочной железы, уротелиоциты, эпидермис, кардиомиоциты, гигантские клетки трофобласта, мегакариоциты, пигментные эпителиальные клетки сетчатки, β -клетки поджелудочной железы и др. [7, 18–20]. Физиологическую полиплоидизацию в саморазвивающихся, растущих или регенерирующихся тканях, выполняющих специализированные функции (продукция белка, барьер органа или генерация жёстких структур), связывают с накоплением повреждений ДНК в циклах деления, предшествующих терминальной дифференцировке [7, 19]. Полиплоидизация возникает в связи с функциональной необходимостью интенсификации обмена при наличии «окна возможностей», которое появляется, например, в гепатоцитах отъёмшей в момент их перехода на самостоятельное питание, в молочной железе в конце беременности или после родов. Форма полиплоидии зависит от профиля экспрессии основных регуляторов клеточного цикла [1, 19, 20]. Так, в опытах на мышах *in vivo* было показано, что через несколько дней экспериментального нокаута митотической киназы Cdk1 (эссенциальный кофактор контроля G2/M) или Plk1 (контроль расхождения хромосом в митозе) на гистологических срезах эпидермиса и слизистой оболочки ротовой полости мышей клетки базального слоя, накопившие маркёры повреждения ДНК γH2X и пролиферации Ki-67, переключались с митоза на эндоциклизацию (в случае Cdk1) или ацитокинетический митоз (в случае Plk1) и проходили преждевременную терминальную дифференцировку. В базальном слое встречались клетки, которые метились одновременно на цитокератины K5 (специфический маркёр базальной клетки) и K15 (специфический маркёр терминально дифференцированной клетки) [1].

В наших опытах после экспозиции животных к ЦФ наблюдалось как снижение, так и увеличение частоты ДК в уротелии. Через две недели после однократного введения ЦФ в дозе 30 мг/кг ещё не закончилась пролиферативная фаза регенерации (см. табл. 3). Нельзя сказать определённо, за счёт какой страты клеток происходит пролиферация, но исследования показывают, что через сутки после индукции цистита индекс мечения бромдезоксиуридином промежуточных клеток был в три раза выше, чем базальных [21]. После введения ЦФ в дозе 30 мг/кг заметно снижение частоты ДК во всех стратах (см. табл. 3). Через сутки после введения ЦФ мышам в дозе 10 мг/кг пролиферативная фаза регенерации едва начинается, соответственно нет повышения частот клеток с МЯ или ЯП, но частота ДК уже снижена в страте крупных клеток.

На клетках печени было установлено, что в посттравматической восстановительной регенерации участвуют и ДК, деление которых может иметь разный исход. Так, клетка с двумя диплоидными ядрами может дать одну октопloidную клетку с двумя тетрапloidными ядрами или две одноядерные тетрапloidные клетки, что в итоге приводит к снижению частоты ДК [20]. Аналогичный процесс может протекать и в букальном эпителии. Например, после орального поступления прооксиданта делагила (хлороквин) (пять дней в неделю в дозе 5 мг/кг в течение 60 дней) на срезах слизистой оболочки щеки крыс на фоне индуцированной эрозии эпителия наблюдали увеличение митотического индекса и снижение частоты ДК [22]. Снижение частоты ДК

в соскобах слизистой оболочки щеки изредка находили у экспонированных людей, например, после химиотерапии отдалённых опухолей [23] или при хроническом катаральном гингивите [24].

В наших опытах после выпаивания ЦФ в течение двух недель в дозе 1,3 мг/кг/сут, не способной индуцировать МЯ, частота ДК повышалась в страте крупных клеток, предположительно, за счёт длительной слабой экспозиции мутагеном (см. табл. 4). В мазках экспонированных людей сравнительно часто находили повышение частоты ДК без изменения значений МЯ и ЯП. Например, у работающих в условиях облучения природными источниками ионизирующего излучения [25]; у лиц, контактирующих с пестицидами [26]; у пациентов, страдающих периодонтитом [27]; у пациентов после дентальной радиографии [28] и др.

Применительно к букальному эпителию мы можем привести только косвенные свидетельства генотоксической природы ДК. Так, при комплексном обследовании мужчин в возрасте 20–74 лет в трёх городах России у 124 из них проводили цитомный анализ мазков слизистой оболочки щеки [29]; у 123 оценивали варианты генов системы детоксикации ксенобиотиков (PON, CYP TA1, GSTT1); у 77 проводили анализ метафаз в лимфоцитах периферической крови, в том числе у 57 – с добавлением и без добавления метилметансульфоната (MMS) за четыре часа до фиксации в конечной концентрации 1,25 и 5 мМ [30, 31]. Частота ДК в эпителии щеки была значимо выше у добровольцев при наличии «ускоренного» аллеля цитохрома 1A1 (по Пирсону $R = 0,23$; $p = 0,01$), гомозиготности по «ускоренному» аллелю параоксаназы 54 ($R = 0,20$; $p = 0,03$) или нулевого варианта глютатионсульфотрансферазы T1 ($R = 0,19$; $p = 0,04$), а также при наличии в целом «неблагоприятного генотипа», который характеризуют «ускоренная» I фаза и (или) «замедленная» II фаза метаболизации ($R = 0,25$; $p = 0,03$). Кроме того, корреляционный анализ выявил сопряжённость частоты ДК в эпителии щеки и частоты обменов хромосомного типа в лимфоцитах исключительно в вариантах с экспозицией к MMS, причём эта связь была сильнее выражена при низком уровне воздействия (по Пирсону $r = 0,54$; $p < 0,001$), чем при высоком ($r = 0,23$; $p = 0,03$).

Заключение

В мазках букального эпителия детей клетки с перинуклеарной вакуолью, конденсированным хроматином в ядре, кариорексисом и кариопикнозом заметно накапливались по мере созревания при переходе от базальных клеток к промежуточным без статистически значимого изменения частоты в дальнейшем.

В мазках букального эпителия частоты клеток с двумя ядрами, кариолизисом и ЯП возрастили значимо только при достижении терминально дифференцированного состояния.

Получено подтверждение релевантности трактовки повышения частоты ДК в букальных эпителиоцитах группы экспонированных людей как проявления генотоксического воздействия. Снижение частоты ДК в ряде случаев может быть связано с восстановительной посттравматической регенерацией эпителия.

Литература

(п.п. 1, 4–13, 18–21, 23, 27, 28 см. References)

- Быкова И.А., Агаджанян А.А., Банченко Г.В. Цитологическая характеристика отпечатков слизистой оболочки полости рта с применением индекса дифференцировки клеток. *Лабораторное дело*. 1987; (1): 33–5.
- Диденко И.Ю., Петров А.В., Спицин В.В. Структурно-функциональная организация слизистой оболочки полости рта у человека в норме. *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2012; 1(4): 9–24. <https://elibrary.ru/pvdsly>
- Кирсанов К.И., Сычева Л.П., Лесовая Е.А., Жидкова Е.М., Власова О.А., Осипова А.В. и др. Применение букального микроядерного цитомного теста для оценки цитогенетического статуса медперсонала, контактирующего с противоопухолевыми препаратами. *Генетика*. 2022; 58(5): 530–9. <https://doi.org/10.31857/S0016675822050058> <https://elibrary.ru/ugcujq>
- Ингель Ф.И., Юрченко В.В., Ахальцева Л.В., Кривцова Е.К., Коняшко М.А., Юрцева Н.А. и др. *Атлас эффектов нестабильности генома человека в тестах на генотоксичность. Микроскопический цитомный анализ в микроядерном тесте*. М.; 2024.
- Юрченко В.В., Ингель Ф.И., Малышева А.Г., Ахальцева Л.В., Кривцова Е.К., Юрцева Н.А. и др. Влияние состава загрязнения атмосферного воздуха на генотоксические эффекты в эпителиоцитах щеки детей. *Гигиена и санитария*. 2022; 101(2): 201–10. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-2-201-210> <https://elibrary.ru/ueqmnb>

17. Кривцова Е.К., Юрченко В.В., Ингель Ф.И., Юрцева Н.А., Синицына Е.Р., Макарова А.С. Применение цитомного анализа букального эпителия в системе гигиенической оценки условий обучения студентов разных факультетов одного вуза. *Гигиена и санитария*. 2018; 97(2): 179–87. https://doi.org/10.47470/0016-9900-2018-97-2-179-187 https://elibrary.ru/lbsbj
22. Глазунов О.А., Глазунова С.А., Мороз В.Е. Влияние токсиканта делагила на морфологические изменения в слизистой оболочке полости рта крыс при разном уровне поступления алиментарных полифенолов. *Journal of Education, Health and Sport*. 2015; 5(12): 326–32. https://doi.org/10.5281/zenodo.35466
24. Базарный В.В., Полушкина Л.Г., Максимова А.Ю., Светлакова Е.Н., Семеникова Е.А. Цитологическая характеристика процессов пролиферации и апоптоза в букальном эпителии при хроническом гингивите. *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2019; 16(1): 22–6. https://doi.org/10.22138/2500-0918-2019-16-1-22-26 https://elibrary.ru/galmno
25. Петрашова Д.А., Белишева Н.К., Пелевина И.И., Мельник Н.А., Зользер Ф. Генотоксические эффекты в букальном эпителии горняков, работающих в условиях облучения природными источниками ионизирующего излучения. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2011; 13(1–7): 1792–6. https://elibrary.ru/plvtfid
26. Илюшина Н.А., Демидова Ю.В., Макарова М.А., Илюшин А.Г., Егорова О.В., Березняк И.В. и др. Цитоморфологический анализ эксфолиативных клеток букального эпителия у работников, имеющих контакт с пестицидами. *Токсикологический Вестник*. 2021; 29(4): 22–9. https://doi.org/10.36946/0869-7922-2021-29-4-22-29 https://elibrary.ru/pmosqh
29. Юрченко В.В., Кривцова Е.К., Подольная М.А., Ревазова Ю.А., Зыкова И.Е. Использование микроядерного теста на эпителии слизистой оболочки щеки человека. *Гигиена и санитария*. 2008; (6): 53–6. https://elibrary.ru/kfsidp
30. Сидорова И.Е., Ревазова Ю.А., Сафонов В.В. Изучение генетического полиморфизма и цитогенетических нарушений у лиц, имевших контакт с токсичными химическими соединениями. *Гигиена и санитария*. 2004; (6): 59–62. https://elibrary.ru/mxxerg
31. Ревазова Ю.А., Хрипач Л.В., Сидорова И.Е., Юрченко В.В., Зыкова И.Е. Комплексный подход в оценке нестабильности генома человека. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2006; (4): 36–41. https://elibrary.ru/hsynfr

References

1. Sanz-Gómez N., de Pedro I., Ortigosa B., Santamaría D., Malumbres M., de Cárcer G., et al. Squamous differentiation requires G2/mitosis slippage to avoid apoptosis. *Cell Death Differ*. 2020; 27(8): 2451–67. https://doi.org/10.1038/s41418-020-0515-2
2. Bykova I.A., Agadzhanyan A.A., Banchenko G.V. Cytological characteristics of imprints of the oral mucosa using the cell differentiation index. *Laboratornoe delo*. 1987; (1): 33–5. (in Russian)
3. Didenko I.Yu., Petrov A.V., Spitsin V.V. Structural and functional organization of human oral cavity mucous membrane in the norm. *Zhurnal anatomii i gistolopatologii*. 2012; 1(4): 9–24. https://elibrary.ru/pvdsly (in Russian)
4. Liu Y., Sundqvist K., Belinsky S.A., Castonguay A., Tjälve H., Grafström R.C. Metabolism and macromolecular interaction of the tobacco-specific carcinogen 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone in cultured explants and epithelial cells of human buccal mucosa. *Carcinogenesis*. 1993; 14(11): 2383–8. https://doi.org/10.1093/carcin/14.11.2383
5. Vondracek M., Xi Z., Larsson P., Baker V., Mace K., Pfeifer A., et al. Cytochrome P450 expression and related metabolism in human buccal mucosa. *Carcinogenesis*. 2001; 22(3): 481–8. https://doi.org/10.1093/carcin/22.3.481
6. Spivack S.D., Hurteau G.J., Jain R., Kumar S.V., Aldous K.M., Gierthy J.F., et al. Gene-environment interaction signatures by quantitative mRNA profiling in exfoliated buccal mucosal cells. *Cancer Res*. 2004; 64(18): 6805–13. https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-04-1771
7. Wang J., Batourina E., Schneider K., Souza S., Swayne T., Liu C., et al. Polyploid superficial cells that maintain the urothelial barrier are produced via incomplete cytokinesis and endoreplication. *Cell Rep*. 2018; 25(2): 464–77.e4. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.09.042
8. Birder L.A., Kullmann F.A. Role of neurogenic inflammation in local communication in the visceral mucosa. *Semin. Immunopathol*. 2018; 40(3): 261–79. https://doi.org/10.1007/s00281-018-0674-0
9. Fukushima S., Arai M., Cohen S.M., Jacobs J.B., Friedell G.H. Scanning electron microscopy of cyclophosphamide-induced hyperplasia of the rat urinary bladder. *Lab. Invest*. 1981; 44(2): 89–96.
10. Choi S.H., Byun Y., Lee G. Expressions of uroplakins in the mouse urinary bladder with cyclophosphamide-induced cystitis. *J. Korean Med. Sci*. 2009; 24(4): 684–9. https://doi.org/10.3346/jkms.2009.24.4.684
11. Abraham P., Rabi S. Protein nitration, PARP activation and NAD⁺ depletion may play a critical role in the pathogenesis of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in the rat. *Cancer Chemother. Pharmacol*. 2009; 64(2): 279–85. https://doi.org/10.1007/s00280-008-0868-6
12. Tolbert P.E., Shy C.M., Allen J.W. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mutat. Res*. 1992; 271(1): 69–77. https://doi.org/10.1016/0165-1161(92)90033-i
13. Bolognesi C., Knasmüller S., Nersesyan A., Thomas P., Fenech M. The HUMNx1 scoring criteria for different cell types and nuclear anomalies in the buccal micronucleus cytome assay – an update and expanded photogallery. *Mutat. Res*. 2013; 753(2): 100–13. https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2013.07.002
14. Kirsanov K.I., Lesovaya E.A., Zhidkova E.M., Vlasova O.A., Osipova A.V., Lylova E.S., et al. Buccal micronucleus cytome assay for the evaluation of cytogenetic status of healthcare professionals contacting with anti-cancer drugs. *Genetika*. 2022; 58(5): 530–9. https://doi.org/10.1134/S1022795422050052 https://elibrary.ru/hyxjaf (in Russian)
15. Ingel F.I., Yurchenko V.V., Akhaltseva E.K., Kryvtsova E.K., Konyashkina M.A., Yurtseva N.A., et al. *Atlas of the Effects of Human Genome Instability in Genotoxicity Tests. Microscopic Cytome Analysis in the Micronucleus Test [Atlas effektov nestabil'nosti genoma cheloveka v testakh na genotoksichnost' Mikroskopicheskii tsitomnyi analiz v mikroyadernom teste]*. Moscow; 2024. (in Russian)
16. Yurchenko V.V., Ingel F.I., Malysheva A.G., Akhaltseva L.V., Kryvtsova E.K., Yurtseva N.A., et al. Influence of the composition of atmospheric air pollution on genotoxic effects in the buccal epithelial cells in children. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2022; 101(2): 201–10. https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-2-201-210 https://elibrary.ru/ueqmnb (in Russian)
17. Kryvtsova E.K., Yurchenko V.V., Ingel F.I., Urtseva N.A., Sinityna E.R., Makarova A.S. Buccal micronucleus cytome assay in the system of the hygienic evaluation of learning conditions of students of different faculties of the same university. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2018; 97(2): 179–87. https://doi.org/10.47470/0016-9900-2018-97-2-179-187 https://elibrary.ru/lbsbj (in Russian)
18. Sladky V.C., Eichin F., Reiberger T., Villunger A. Polyploidy control in hepatic health and disease. *J. Hepatol*. 2021; 75(5): 1177–91. https://doi.org/10.1016/j.jhep.2021.06.030
19. Gandalillas A., Molinuevo R., Sanz-Gómez N. Mammalian endoreplication emerges to reveal a potential developmental timer. *Cell Death Differ*. 2018; 25(3): 471–6. https://doi.org/10.1038/s41418-017-0040-0
20. Fang J., de Bruin A., Villunger A., Schiffeler R., Lei Z., Sluijter J.P.G. Cellular polyploidy in organ homeostasis and regeneration. *Protein Cell*. 2023; 14(8): 560–78. https://doi.org/10.1093/procel/pwac064
21. Colopy S.A., Bjorling D.E., Mulligan W.A., Bushman W. A population of progenitor cells in the basal and intermediate layers of the murine bladder urothelium contributes to urothelial development and regeneration. *Dev. Dyn*. 2014; 243(8): 988–98. https://doi.org/10.1002/dvdy.24143
22. Glazunov O.A., Glazunova S.A., Moroz V.E. The influence of the toxicant delagil on the morphological changes in the oral mucosa of rats in the different levels of receipts of alimentary polyphenols. *Journal of Education, Health and Sport*. 2015; 5(12): 326–32. http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.35466 (in Russian)
23. Torres-Bugarín O., Ventura-Aguilar A., Zamora-Perez A., Gómez-Meda B.C., Ramos-Ibarra M.L., Morgan-Villela G., et al. Evaluation of cisplatin + 5-FU, carboplatin + 5-FU, and ifosfamide + epirubicine 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
24. Bazarnyi V.V., Polushina L.G., Maksimova A.Y., Svetlakova E.N., Sementsova E.A. Cytological characteristics of the proliferation and apoptosis processes on buccal epithelium in chronic gingivitis. *Vestnik Ural'skoi meditsinskoi akademicheskoi nauki*. 2019; 16(1): 22–6. https://doi.org/10.22138/2500-0918-2019-16-1-22-26 https://elibrary.ru/galmno (in Russian)
25. Petrasheva D., Belisheva N., Pelevina I., Melnik N., Zolder F. Genotoxic effects in buccal epithelia at miners, working in the conditions of irradiation by natural sources of ionizing radiation. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiiskoi akademii nauk*. 2011; 13(1–7): 1792–6. https://elibrary.ru/plvtfid (in Russian)
26. Ilyushina N.A., Demidova Yu.V., Makarova M.A., Ilyushin A.G., Egorova O.V., Bereznjak I.V., et al. Cytogenetic analysis in exfoliated buccal epithelial cells of the workers who come into contact with pesticides. *Toksikologicheskii Vestnik*. 2021; 29(4): 22–9. https://doi.org/10.36946/0869-7922-2021-29-4-22-29 https://elibrary.ru/pmosqh (in Russian)
27. Tadin A., Gavić L., Roguljić M., Babić M., Galić I., Želježić D. Assessment of cytogenetic damage to exfoliated gingival cells in patients with chronic generalized periodontitis. *Acta Clin. Croat*. 2021; 60(2): 209–15. https://doi.org/10.20471/acc.2021.60.02.06
28. Luke A.M., Khair Al M.B., Kudrutullah S., Mathew S., Fanas S.A., Shetty K.P., et al. Evaluation of genotoxicity in buccal mucosa of patients subjected to X-rays by degenerative nuclear alterations study. *Res. J. Pharm. Technol*. 2021; 14(11): 5845–8. https://doi.org/10.52711/0974-360X.2021.01017

29. Yurchenko V.V., Krivtsova Ye.K., Podolnaya M.A., Revazova Yu.A., Zykova I.Ye. Use of micronuclear test to the human buccal mucosal epithelium. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2008; (6): 53–6. <https://elibrary.ru/kfsidp> (in Russian)
30. Sidorova I.Ye., Revazova Yu.A., Safronov V.V. Study of genetic polymorphism and cytogenetic disorders upon chemical exposures. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2004; (6): 59–62. <https://elibrary.ru/mxxerg> (in Russian)
31. Revazova Yu.A., Khrapach L.V., Sidorova I.Ye., Yurchenko V.V., Zykova I.Ye. A complex approach to evaluation of human genome instability. *Vestnik Rossiskoi akademii meditsinskikh nauk*. 2006; (4): 36–41. <https://elibrary.ru/hsynfr> (in Russian)

Сведения об авторах

Юрченко Валентина Васильевна, канд. мед. наук, вед. науч. сотр. отд. профилактической токсикологии и медико-биологических исследований ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, 119121, Москва, Россия. E-mail: VYurchenko@cspmz.ru

Ахальцева Людмила Вячеславовна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. отд. профилактической токсикологии и медико-биологических исследований ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, 119121, Москва, Россия

Кривцова Елена Константиновна, науч. сотр. отд. профилактической токсикологии и медико-биологических исследований ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, 119121, Москва, Россия

Ингель Фаина Исааковна, доктор биол. наук, вед. науч. сотр. отд. профилактической токсикологии и медико-биологических исследований ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, 119121, Москва, Россия

Information about the authors

Valentina V. Yurchenko, DSc (Medicine), leading researcher of the Department of Preventive Toxicology and Biomedical Studies of the Centre for Strategic Planning of the Federal medical and biological agency, Moscow, 119121, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-4377-245X> E-mail: VYurchenko@cspmz.ru

Lyudmila V. Akhaltseva, PhD (Biology)), senior researcher of the Department of Preventive Toxicology and Biomedical Studies of the Centre for Strategic Planning of the Federal medical and biological agency, Moscow, 119121, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-3619-3858> E-mail: LHalceva@cspmz.ru

Elena K. Krivtsova, researcher of the Department of Preventive Toxicology and Biomedical Studies of the Centre for Strategic Planning of the Federal medical and biological agency, Moscow, 119121, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-5039-8980> E-mail: E.K.Krivcova@mail.ru

Faina I. Ingel, DSc (Biology), leading researcher of the Department of Preventive Toxicology and Biomedical Studies of the Centre for Strategic Planning of the Federal medical and biological agency, Moscow, 119121, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-2262-6800> E-mail: FIngel@cspfmba.ru