

УРОВЕНЬ КОРТИЗОЛА И ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ГОМЕОСТАЗА В ОРГАНИЗМЕ РЫБ НА ФОНЕ ПРОБИОТИКА СПОРОТЕРМИНА

Романова Елена Михайловна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой «Биология, ветеринарная генетика, паразитология и экология»

Спирина Елена Владимировна, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Биология, ветеринарная генетика, паразитология и экология»

Романов Василий Васильевич, кандидат технических наук, доцент кафедры «Информатики»

Шадыева Людмила Алексеевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Биология, ветеринарная генетика, паразитология и экология»

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

432017, г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, 1; тел. 8(8422)55-23-75; e-mail: elspirin@yandex.ru

Ключевые слова: аквакультура, африканский сом, пробиотик споротермин, эритроциты, микроядерный тест, кортизол.

С целью повышения продуктивности и экологической чистоты рыбы в технологиях выращивания объектов аквакультуры все чаще используются биологически активные вещества, в том числе пробиотики. Целью работы было исследование уровня кортизола и результатов процесса формирования микроядер в эритроцитах периферической крови африканского сома при выращивании в условиях УЗВ на фоне пробиотика споротермина и без него. Отбор крови осуществляли прижизненно, концентрацию кортизола определяли, используя коммерческие наборы «Кортизол-ИФА». Для проведения микроядерного теста мазки крови фиксировались в фиксаторе Май-Грюнвальда, окрашивались в красителе Романовский-Гимза, производили подсчет количества клеток с микроядрами на 2000 клеток. Были установлены различия по частоте встречаемости микроядер и их типам между группой рыб, выращенных с использованием споротермина и без него. Было обнаружено достоверное трехкратное превышение концентрации кортизола в крови африканских сомов, при традиционной технологии содержания, по сравнению с содержанием кортизола у рыб, выращенных с использованием споротермина. Использование споротермина привело также к уменьшению частоты встречаемости микроядер в периферической крови клариевых сомов. На фоне споротермина доля клеток с микроядрами типа А снизилась с 2,9 до 1,9. Эритроциты периферической крови с микроядрами типов Б и В при использовании споротермина не обнаруживались. Полученные результаты свидетельствуют, что микроядерный тест может быть успешно использован для прогностической оценки цитогенетического гомеостаза при выращивании рыб в условиях индустриальной аквакультуры.

Исследования выполнялись при поддержке РФФИ по гранту 18-416-730005.

Введение

Индустриальная аквакультура XXI столетия - интенсивно развивающаяся отрасль сельского хозяйства. Ее прогресс позволяет повысить производство товарной продукции, создать оптимальные параметры гидрохимического режима среды обитания рыб, оптимизировать их кормление в течение всего процесса выращивания [1].

Процесс выращивания рыб в условиях индустриальной аквакультуры постоянно совершенствуется в направлении оптимизации производства для повышения эффективности и рентабельности. Одним из эффективных путей повышения производительности аквакультуры является использование пробиотиков [2, 3].

В современных условиях в качестве объекта индустриального рыборазведения все большую популярность приобретает африканский клариевый сом (*Clarias gariepinus*), так как

он по скорости роста превосходит все виды рыб, выращиваемых в индустриальной аквакультуре [4].

Выращивание клариевого сома в условиях замкнутого водоснабжения (УЗВ) сопровождается комплексом стрессовых факторов, возникающих при отлове, пересадке, в результате высокой плотности посадки и др. [5-7]. В условиях стресса в организме рыб происходит усиленная секреция катехоламинов, таких как адреналин и норадреналин, а также кортизола [8]. Известно, что кортизол способен вызвать подавление иммунитета [9], активировать процессы катаболизма, влиять на ход митотического деления кроветворных клеток [8]. Катехоламины способствуют расщеплению липидов и глюкозы, усиливают тромбоцитопоз [8].

В своих исследованиях мы использовали кортизол как индикатор уровня стресса. В качестве второго индикатора негативного действия

среды обитания на организм рыб был использован микроядерный тест. Его применяют для обнаружения микроядер в эритроцитах периферической крови рыб и других биологических видов. В доступных источниках литературы отсутствуют сведения об уровне кортизола и содержании микроядер в эритроцитах африканского клариевого сома при выращивании в УЗВ. Полученные результаты являются новыми.

Целью нашей работы было исследование уровня кортизола и результатов процесса формирования микроядер в эритроцитах периферической крови африканского клариевого сома при выращивании в условиях УЗВ на фоне пробиотика споротермина и без него.

Объекты и методы исследований

Объектом исследования являлись самки африканского клариевого сома (*Clarias gariepinus*), выращиваемые в УЗВ объемом 3,8 м³ при температуре 26 С, с содержанием кислорода в воде не ниже 4 мг/л. Рыбам экспериментальной группы в корма вводили пробиотик споротермин из расчета 4 г на 1 кг корма.

Отбор крови осуществляли прижизненно путем декапитации в пробирки, содержащие ЭДТА, затем пробирки центрифугировали в течение 7 минут при 3000 об/мин, хранение плазмы осуществлялось при температуре минус 12–18°С. Концентрацию кортизола определяли согласно инструкции производителя, используя коммерческие наборы «Кортизол-ИФА» (Хема, Россия).

Оценку микроядерного теста производили согласно методическим указаниям по разработке нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения от 3 сентября 2009 г. n 14702.

Мазки крови клариевых сомов фиксировались в фиксаторе Май-Грюнвальда, окрашивались в красителе Романовский-Гимза [10]. Затем производили подсчет количества клеток с микроядрами, просматривая 2000 клеток. Микроядром считали округлое хроматиновое тело с непрерывным гладким краем, находящееся в цитоплазме и лежащее отдельно от ядра, но в одной плоскости с ним, имеющее окраску той же интенсивности и одинаковый рисунок хроматина.

Определение микроядер в периферической крови клариевого сома производили согласно критериям Дж. Мерча [11].

Статистическая обработка производилась с помощью пакета «STATISTICA-6» [12]. Различия считались значимыми при $p=0,05$. Были определены основные статистические характеристики изучаемых параметров (\bar{X} , Me, D).

Распределение, полученное при исследовании, носило непараметрический характер по большинству изученных параметров, поэтому были использованы непараметрические методы анализа различий между независимыми выборками, а именно критерий однородности Вилкоксона –U.

Результаты исследований

В ходе исследования была произведена оценка концентрации кортизола в периферической крови клариевых сомов, выращенных с использованием пробиотика споротермина. Она составила $8,4 \pm 0,1$ нмоль/л. При выращивании рыбы по традиционной технологии (без пробиотика) концентрация кортизола была в несколько раз выше и составляла $23,8 \pm 0,9$ нмоль/л, (рис. 1).

Было обнаружено достоверное превышение концентрации кортизола в крови клариевых сомов контрольной группы, по сравнению с содержанием кортизола у рыб, выращенных с использованием споротермина, где уровень кортизола

был почти в 3 раза меньше. По данным литературных источников высокий уровень кортизола способен оказать воздействие на ядерный аппарат клетки, вызывая его фрагментацию, сопровождающуюся повреждением генетического материала [13, 14] и

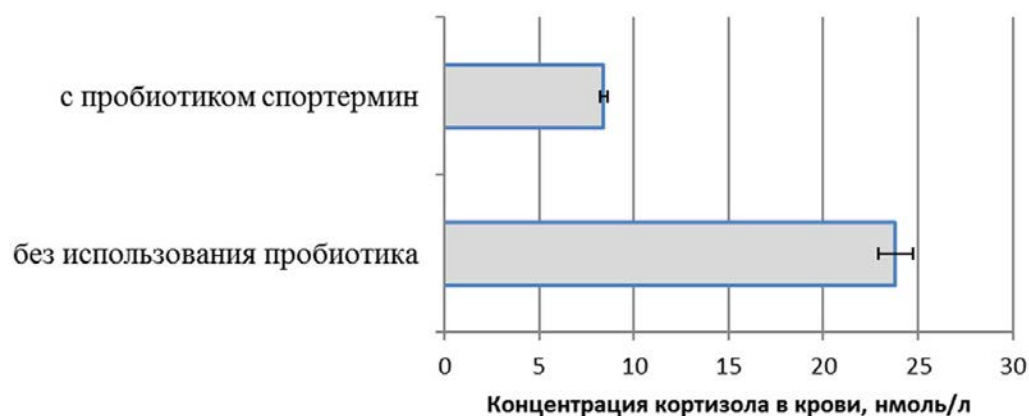


Рис. 1 – Уровень кортизола у клариевых сомов (*Clarias gariepinus*)

образованием микроядер.

Поэтому на следующем этапе исследования был произведён подсчёт микроядер в эритроцитах периферической крови клариевых сомов. У исследуемых особей были обнаружены микроядра трёх типов (рис. 2).

Тип А – микроядра, у которых отсутствовала связь с ядром; тип Б – микроядра, имеющие структуру и окраску «похожие» на ядро клетки; тип В – крупные микроядра, диаметр которых варьирует от одной десятой до одной трети диаметра ядра [11].

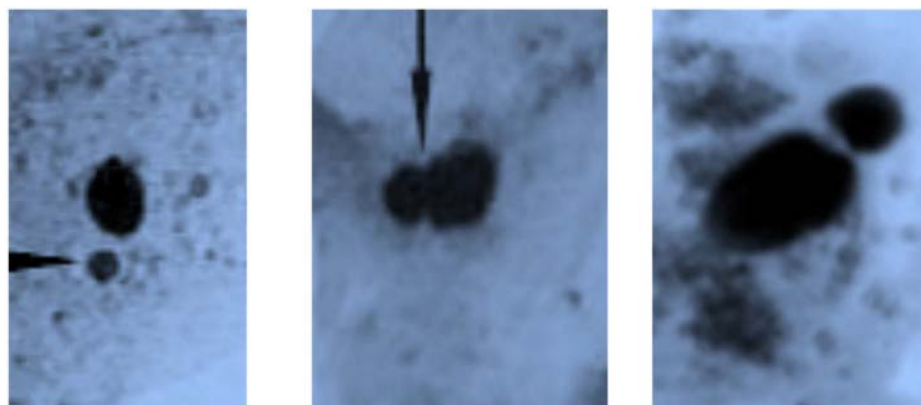
Затем произвели подсчёт доли эритроцитов периферической крови, имевших микроядра. Были получены результаты, демонстрировавшие положительное влияние споротермина на цитогенетический гомеостаз (рис.3).

При анализе препаратов периферической крови африканского клариевого сома (*Clarias gariepinus*), выращенных с использованием споротермина, были обнаружены клетки с микроядрами типа А, микроядра других типов не были обнаружены, в то время, как у особей, выращиваемых по традиционной технологии без споротермина, встречались клетки с микроядрами всех типов.

Обсуждение

Согласно литературным данным [14, 16], микроядра - это округлые, относительно небольшие структуры, состоящие из хроматина, который находится в интерфазном состоянии и присутствует в цитоплазме клеток. Чаще всего микроядра по своей структуре схожи со структурой ядра клетки, но более мелкие по размерам. Были выявлены и описаны случаи, когда в состав микроядер входили целые хромосомы [14] или фрагменты хромосом [15, 16]. Микроядра возникают при перемещении из ядра в цитоплазму абберантных хроматиновых структур, затем вокруг них формируется оболочка, этот процесс происходит в телофазе митоза [17]. Чаще всего формирование микроядер происходит при замедлении процесса расхождения хромосом в анафазе митоза [18].

В анафазе митоза сестринские хромати-



Тип А Тип Б Тип В
Рис. 2 – Типы микроядер в эритроцитах периферической крови клариевых сомов (*Clarias gariepinus*).

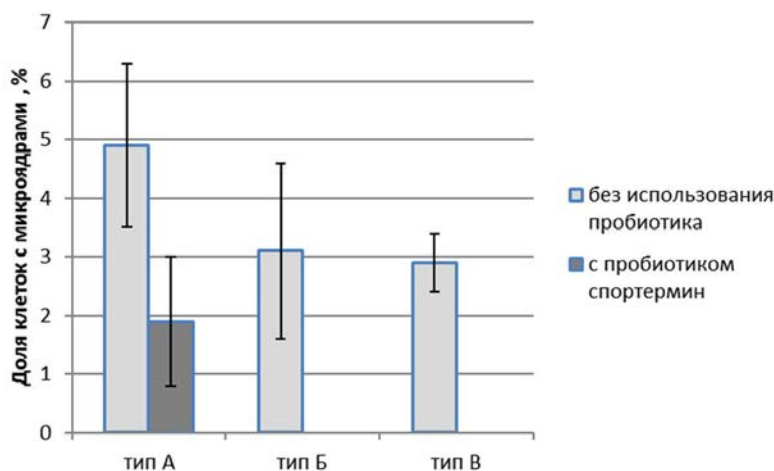


Рис. 3 - Доля клеток с микроядрами разных типов

ды передвигаются к полюсам клетки за счёт сокращения тубулина в микротрубочках веретена деления и растягивания сестринских хроматид, образовавшихся при разрыве центромеры хромосом, стоящих в области экватора и образующих метафазную пластинку. При нормальном процессе деления одна хроматида совершает движение к одному полюсу, другая движется к другому. Если же происходит нарушение микротрубочек веретена деления, то происходит нерасхождение хроматид и образуется отстающая хроматида, она не попадает в ядро вновь образовавшейся клетки и приводит к формированию микроядра [19, 20]. Таким образом, формирование микроядер происходит из запаздывающих хроматид, которые находятся в материнской клетке или фрагментов ядерного материала, возникающего во время митоза; а может из хромосом, выведенных в мини-клетки, с последующим слиянием их с дочерними клетками [21-23].

Затем, в клетках, содержащих микроядра, происходит нарушение деления, за счёт актива-

ции защитных механизмов репликации или репарации ДНК. Клетке с микроядрами могут вступить в апоптоз или образуют двуядерные клетки [24, 25].

Заключение

При оценке цитогенетического гомеостаза африканского клариевого сома, выращиваемого в условиях УЗВ, были получены результаты, свидетельствующие о том, что споротермин, поступающий с пищей, способствует снижению уровня кортизола в крови рыб и частоты образования клеток с микроядрами в эритроцитах периферической крови африканского клариевого сома.

Можно полагать, что феномен повышения уровня цитогенетического гомеостаза обусловлен снижением уровня кортизола под действием споротермина и соответственно снижением повреждающего воздействия кортизола на фазы митотического цикла.

Полученные результаты также свидетельствуют, что споротермин повышает адаптационную пластичность африканских сомов к воздействию стресс-факторов, возникающих при выращивании в условиях УЗВ.

Оценка уровня повреждения ядер эритроцитов периферической крови с выделением микроядер может быть использована в качестве индикатора физиологического статуса африканского сома (*Clarias gariepinus*). Это позволит своевременно формировать прогностическую оценку и осуществлять раннюю диагностику развития патологического процесса в организме рыб, выращиваемых в условиях установок замкнутого водоснабжения.

Библиографический список

1. Seasonal studies of caviar production and the growth rate of the african catfish (*Clarias Gariepinus*, Burchell, 1822) / E. M. Romanova, V. N. Lyubomirova, V. V. Romanov, M. E. Mukhitova, T. M. Shlenkina // Egyptian journal of aquatic research . - 2018. - Vol. 44, № 4. - P. 315-319.
2. Артеменков, Д. В. Выращивание клариевого сома (*Clarias gariepinus*) на комбикормах с добавками пробиотика субтилис в условиях УЗВ: 06.04.01 -рыбное хозяйство и аквакультура: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук / Дмитрий Владимирович Артеменков. – Москва: Российский государственный аграрный университет, МСХА имени К.А. Тимирязева, 2013. – 23 с.
3. Пробиотики в аквакультуре / Е. А. Котова, Н. А. Пышманцева, Д. В. Осепчук, А. А. Пыш-

манцева, Л. Н. Тхакушинова : сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства. - 2012. – Т. 3, № 1-1. - С. 100 - 103.

4. Конструирование функционального рыбного продукта в условиях индустриальной аквакультуры / В. В. Романов, Е. М. Романова, В. Н. Любомирова, М. Э. Мухитова // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2018. - № 1. – С. 151-156.

5. Факторы, влияющие на рост осетровых рыб в индустриальной аквакультуре / С. В. Пономарев, Н. В. Болонина, Б. Т. Сариев, А. Н. Тюменов, Ю. М. Баканева // Вестник Новосибирского государственного аграрного университета. - 2010. - № 4 (16). - С. 52-55.

6. Тауфик, Л. УЗВ - современные технологии аквакультуры / Л. Тауфик, А. Невский // Управление качеством. - 2019. - № 1. - С. 66-69.

7. Ростовцев, А. А. К вопросу развития аквакультуры на юге Западной Сибири / А. А. Ростовцев, Е. В. Егоров, В. Ф. Зайев // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. - 2015. - № 6 (247). - С. 89-96.

8. Камшилова, Т. Б. Влияние аналога кортизола и транспортного стресса на частоту встречаемости микроядер в эритроцитах периферической крови стерляди *Acipenser ruthenus* L / Т. Б. Камшилова, В. Р. Микряков, Д. В. Микряков // Биология внутренних вод. - 2013. - № 2. – С. 94-96.

9. Фомина, Л. Л. Влияние кортизола на некоторые иммунологические показатели карпов / Л. Л. Фомина, Д. И. Березина, Е. А. Пересторонина // Молочнохозяйственный вестник. - 2019. - № 2 (34). - С. 41-52.

10. Fenech, M. The in vitro micronucleus technique / M. Fenech // Mutation Research. - 2000. - № 455. - P. 81-95.

11. Mersh, J. Induction of micronuclei in gametocytes and gill cells of zebra mussels, *Dreissena polymorpha*, exposed to clastogens / J. Mersh, M. N. Beauvais, P. Nagel // Mutation Research. – 1996. - № 371. - P. 47–55.

12. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – Москва : МедиаСфера, 2000. - 312 с.

13. Gökalp Muranli, F. D. Induction of micronuclei and nuclear abnormalities in erythrocytes of mosquito fish (*Gambusia affinis*) following exposure to the pyrethroid insecticide lambda_cyhalothrin / F. D. Gökalp Muranli, U. Güner // Genetic Toxicol and Environ. Mutagenesis.

- 2011. - Vol. 726. - P. 104 - 108.

14. Микроядерный анализ в оценке цитогенетической нестабильности / Н. Н. Ильинских, А. С. Ксенц, В. Н. Ильинских [и др.]. – Томск : ТГПУ, 2011. – 312 с.

15. Крюков, В. И. Частота микроядер в клетках крови рыб пресных водоёмов полуострова Таймыр / В. И. Крюков, П. В. Кочкарёв // Образование, наука и производство. - 2013. - № 1. – С. 35-37.

16. Alimba, C. G. Cytogenotoxicity and histopathological assessment of Lekki Lagoon and Ogun River in *Synodontis clarias* (Linnaeus, 1758) / C. G. Alimba, Joseph Saliu, O. A. Ubani-Rex // Toxicological & Environmental Chemistry. - 2015. – Vol. 97, № 2. – P. 221-234.

17. Evaluation of chromosome aberrations, sister chromatid exchange and micronuclei in cultured cord-blood lymphocytes of newborns of women treated for epilepsy during pregnancy / M. Witzczak, I. Kociszewska, J. Wilczynski [et al.]

// Mutation Research. - 2010. - Vol. 701(2). - P.111-117.

18. Ahmed, S. A. Harabawy Sublethal toxicity of carbofuran pesticide on the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822): Hematological, biochemical and cytogenetic response / S. A. Ahmed, Th. A. Ibrahim Ahmed // Ecotoxicology and Environmental Safety. - 2014. – Vol. 103. – P. 61-67.

19. Шахтамиров, И. Я. Микроядерный тест в эритроцитах рыб, обитающих в зонах стойких органических загрязнителей бассейна реки Терек / И. Я. Шахтамиров, В. Ю. Кравцов, В. П.

Терлецкий // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. - 2014. - № 34. - С. 89-92.

20. Пашков, А. Н. Микроядерный тест: прошлое, настоящее и будущее / А. Н. Пашков // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. - 2016. - № 3. - С. 150.

21. Kaur, J. Micronucleus to distinguish adenocarcinoma from reactive mesothelial cell in effusion fluid / J. Kaur, P. Dey // Diagnostic Cytopathology. – 2010. - № 38(3). – P. 177-179.

22. Evaluation of the genotoxicity of 10 selected dietary/environmental compounds with the in vitro micronucleus cytokinesis-block assay in an interlaboratory comparison / J. Katic, E. Cemeli, A. Baumgartner [et al.] // Food and chemical toxicology. – 2010. - № 48(10). - P. 2612-2623.

23. Low-dose radiation employed in diagnostic imaging causes genetic effects in cultured cells / M. V. Ponzinibbio, C. Crudeli, P. Peral-García [et al.] // Acta Radiologica. – 2010. - № 51(9). – P. 1028-1033.

24. Emergence of micronuclei and their effects on the fate of cells under replication stress / K-i. Utani, Y. Kohno, A. Okamoto [et al.] // PLoS ONE. – 2010. - № 5(4).

25. Basal levels of DNA damage detected by micronuclei and comet assays in untreated breast cancer patients and healthy women / R. A. Santos, A. C. Teixeira, M. B. Mayorano [et al.] // Clinical and Experimental Medicine. – 2010. - № 10(2):87. - P. 92.

LEVEL OF CORTISOL AND PARAMETERS OF CYTOGENIC HOMEOSTASIS IN FISH ORGANISM AGAINST SPORE TERM PROBIOTICS

Romanova E.M., Spirina E.V., Romanov V.V., Shadyeva L.A.

FSBEI HE Ulyanovsk State Agrarian University

432017, Ulyanovsk, Novyi Venets Boulevard, 1; tel. 8(8422)55-23-75;

e-mail: elspirin@yandex.ru

Key words: aquaculture, African catfish, probiotic spore term, red blood cells, micronucleus test, cortisol.

With the aim of productivization and ecological safety of fish in growing technologies of aquaculture objects, biologically active agents are often used, including probiotics. The research aim was the study of cortisol level and results of the process of micronucleation in red blood cells of peripheral blood of African sharptooth catfish during growing in conditions of RAS against probiotics of spore term and without it. Blood selection was made for life, cortisol concentration was determined by the use of commercial kits «Cortisol-IFA». For the conduction of micronucleus test of blood films were recorded in anchor May- Gryunvald, they were colored in Romanovskiy- Gimza stain, circulation number of cells with micro nucleuses for 2000 cells was made. Differences were established according to degree of incidence of micronucleus and their types between fish group, grown with the use of spore-term and without it. Accurate three time concentration override of cortisol, in blood of sharptooth catfish was found, in traditional technological context as compared to containing of cortisol at fish, grown with the use of spore term. The use of spore term leded also to decrease of micronucleus incidence degree in peripheral blood of sharptooth catfish. Against spore term dose of cells with micronucleus of A type decreased from 2,9 to 1,9. Red blood cells of peripheral blood with micronucleus of B and V types during the use of spore term were not found. Obtained results show that micronucleus test can be successfully used during predictive appraisal of cytogenetic homeostasis during fish growing in conditions of industrial aquaculture.

Bibliography

1. Seasonal studies of caviar production and the growth rate of the african catfish (*Clarias Gariepinus*, Burchell, 1822) / E. M. Romanova, V. N. Lyubomirova, V. V. Romanov, M. E. Mukhitova, T. M. Shlenkina // Egyptian journal of aquatic research. - 2018. - Vol. 44, № 4. - P. 315-319.

2. Artemenkov, D. V. Breeding of sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) on all-mash with supplement feeds of probiotic subtilic in conditions: author's abstract on competition for degree of Master of Agricultural science: 06.04.01 fish farming and aquaculture / Artemenkov, Dmitry Vladimirovich. – Moscow: Russian state agrarian university, MAA named after K.A. Timiryazev, 2013. – 23 p.

3. Probiotics in aquaculture / E. A. Kotova, N. A. Pyshmatseva, D. V. Osepchuk, A. A. Pyshmantseva, L. N. Thakushinova: Collection of research papers of

All- Russian research and development centre of sheep and goat raising . - 2012. – V. 3, № 1-1. -P. 100 - 103.

4. Design of functional fish product in conditions of industrial aquaculture / V. V. Romanov, E. M. Romanova, V. N. Lyubomirova, M. E. Mukhitova // Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy. - 2018. - № 1. – P. 151-156.

5. Factors, influencing on the growth of sturgeon fish in industrial aquaculture/ S. V. Ponomarev, N. V. Bolonina, B. T. Sariev, A. N. Tumenov, Y. M. Bakaneva // Vestnik of Novosibirsk State Agrarian University. - 2010. - № 4 (16). - P. 52-55.

6. Taufik, L. RAS- Modern technologies of aquaculture/ L. Taufik, A. Nevsky // Quality control. - 2019. - № 1. - P. 66-69.

7. Rostovtsev, A. A. On the question of aquaculture and development in the South of West Siberia / A. A. Rostovtsev, E. V. Egorov, V. F. Zayev // Siberian vestnik of agricultural science. - 2015. - № 6 (247). - P. 89-96.

8. Kashmilova, T. B. Influence of cortisol analogue and transport stress on frequency of micronucleus in red blood cells of peripheral blood of sterlet *Acipenser ruthenus* L / T. B. Kashmilova, V. R. Mikryakov, D. V. Mikryakov // Biology of inland water. - 2013. - № 2. – P. 94-96.

9. Fomina, L. L. Influence of cortisol on some immunological indicators of carp / L. L. Fomina, D. I. Berezina, E. A. Perestoronina // Diary farm Vestnik. - 2019. - № 2 (34). - P. 41-52.

10. Fenech, M. The in vitro micronucleus technique / M. Fenech // Mutation Research. - 2000. - № 455. - P. 81-95.

11. Mersh, J. Induction of micronuclei in gametocytes and gill cells of zebra mussels, *Dreissena polymorpha*, exposed to clastogens / J. Mersh, M. N. Beauvais, P. Nagel // Mutation Research. – 1996. - № 371. - P. 47–55.

12. Rebrova, O. Y. Statistical analysis of medical information. Appliance of software package STATISTICA / O. Y. Rebrova. – Moscow : MediaSphere, 2000. - 312 p.

13. Gökalp Muranlı, F. D. Induction of micronuclei and nuclear abnormalities in erythrocytes of mosquito fish (*Gambusia affinis*) following exposure to the pyrethroid insecticide lambda_cyhalothrin / F. D. Gökalp Muranlı, U. Güner // Genetic Toxicol and Environ. Mutagenesis. - 2011. - Vol. 726. - P. 104 - 108.

14. Micronucleus analysis in cytogenetic instability / N. N. Ilyinskikh, A. S. Ksents, V. N. Ilyinskikh [et al.]. – Tomsk : TSPU, 2011. – 312 p.

15. Kryukov, V. I. Frequency of micronucleus in fish blood of fresh basins of Taimyr peninsula / V. I. Kryukov, P. V. Kochkaryov // Education, science and production. - 2013. - № 1. – P. 35-37.

16. Alimba, C. G. Cytogenotoxicity and histopathological assessment of Lekki Lagoon and Ogun River in *Synodontis clarias* (Linnaeus, 1758) / C. G. Alimba, Joseph Saliu, O. A. Ubani-Rex // Toxicological & Environmental Chemistry. - 2015. –Vol. 97, № 2. – P. 221-234.

17. Evaluation of chromosome aberrations, sister chromatid exchange and micronuclei in cultured cord-blood lymphocytes of newborns of women treated for epilepsy during pregnancy / M. Witczak, I. Kociszewska, J. Wilczynski [et al.] // Mutation Research. - 2010. - Vol. 701(2). - P.111-117.

18. Ahmed, S. A. Harabawy Sublethal toxicity of carbofuran pesticide on the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822): Hematological, biochemical and cytogenetic response / S. A. Ahmed, Th. A. Ibrahim Ahmed // Ecotoxicology and Environmental Safety. - 2014. – Vol. 103. – P. 61-67.

19. Shakhnamirov, I. Y. Micronucleus test in fish red blood cells, dwelling near persistent organic pollutant of river- basin Terek / I. Y. Shakhnamirov, V. Y. Kravtsov, V. P. Terletsky // Izvestiya of St Petersburg State Agrarian University. - 2014. - № 34. - P. 89-92.

20. Pashkov, A. N. Micronucleus test: past, present and future / A. N. Pashkov // Vestnik of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy. - 2016. - № 3. - P. 150.

21. Kaur, J. Micronucleus to distinguish adenocarcinoma from reactive mesothelial cell in effusion fluid / J. Kaur, P. Dey // Diagnostic Cytopathology. – 2010. - № 38(3). – P. 177-179.

22. Evaluation of the genotoxicity of 10 selected dietary/environmental compounds with the in vitro micronucleus cytokinesis-block assay in an interlaboratory comparison / J. Katic, E. Cemeli, A. Baumgartner [et al.] // Food and chemical toxicology. – 2010. - № 48(10). - P. 2612-2623.

23. Low-dose radiation employed in diagnostic imaging causes genetic effects in cultured cells / M. V. Ponzinibbio, C. Crudeli, P. Peral-García [et al.] // Acta Radiologica. – 2010. - № 51(9). – P. 1028-1033.

24. Emergence of micronuclei and their effects on the fate of cells under replication stress / K-i. Utani, Y. Kohno, A. Okamoto [et al.] // PLoS ONE. – 2010. - № 5(4).

25. Basal levels of DNA damage detected by micronuclei and comet assays in untreated breast cancer patients and healthy women / R. A. Santos, A. C. Teixeira, M. B. Mayorano [et al.] // Clinical and Experimental Medicine. – 2010. - № 10(2):87. - P. 92.