

<https://doi.org/10.23946/2500-0764-2019-4-3-95-101>

ОЦЕНКА ГЕНОТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ДЕЙСТВИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ С ПОМОЩЬЮ МИКРОЯДЕРНОГО ТЕСТА НА ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

МИНИНА В.И.^{1,2*}, БУСЛАЕВ В.Ю.²

¹ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН», г. Кемерово, Россия

²ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, г. Кемерово, Россия

Резюме

Цель. Обобщить современный опыт использования микроядерного теста с цитохалазиновым блоком на лимфоцитах крови человека *in vitro* (cytokinesis-block micronucleus assays - CBMN) для оценки генотоксических эффектов действия современных противоопухолевых препаратов.

Материал и методы. Проведен поиск литературных источников, опубликованных в базах MedLine, Scopus, Web of Science, TOXLINE, The Cochrane Library, в которых оценка повреждений ДНК (с использованием CBMN *in vitro*) проводилось после действия противоопухолевых препаратов на клетки. Всего было обнаружено 172 исследования, посвященных изучению мутагенного потенциала противоопухолевых агентов с помощью классического теста L-CBMN, в том числе 89 работ были выполнены в формате «нагрузки» клеток препаратами *in vitro*, из них 41 статья была опубликована за последние 10 лет.

Результаты. В работах продемонстрировано значимое увеличение частоты микроядер, протрузий, нуклеоплазматических мостов и уменьшение показателей пролиферации (при

сопоставлении с контролем) при действии данных препаратов в дозо-зависимом и зависимом от времени действия препаратов режиме. Результаты микроядерного анализа согласуются с данными других генетических тестов, выполнявшихся одновременно с CBMN (метод ДНК-комет, учет хромосомных аберраций, анализ мутаций в генах домашнего хозяйства, FISH).

Заключение. Микроядерный тест позволяет надежно оценивать мутагенный потенциал современных противоопухолевых препаратов в соматических клетках организма и по сравнению с другими методами обладает важными преимуществами: позволяет одновременно учитывать кластогенные, анеугенные и цитостатические эффекты; характеризуется большей скоростью проведения анализа с возможностью автоматизации. Это свидетельствует о перспективности широкого применения микроядерного теста при тестировании генотоксических эффектов современных противоопухолевых препаратов.

Ключевые слова: генотоксические эффекты; микроядра; лимфоциты; противоопухолевые препараты; химиотерапия.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:

Минина В.И., Буслаев В.Ю. Оценка генотоксических эффектов действия противоопухолевых препаратов с помощью микроядерного теста на лимфоцитах крови человека // *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2019. Т. 4, №3. С. 95-101.

REVIEW ARTICLE

ESTIMATING GENOTOXIC EFFECTS OF ANTICANCER DRUGS USING CYTOKINESIS-BLOCK MICRONUCLEUS ASSAY ON HUMAN LYMPHOCYTES

VARVARA I. MININA^{1,2*}, VLADISLAV YU. BUSLAEV²

¹Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (18, Sovetskiy Prospekt, Kemerovo, 650000), Russian Federation

²Kemerovo State University (6, Krasnaya Street, Kemerovo, 650000), Russian Federation

English ▶

Abstract

Here we review the current experience of using cytokinesis-block micronucleus (CBMN) assay on cultures of human lymphocytes to evaluate genotoxic effects of anticancer drugs. Having performed search in PubMed, Scopus, Web of Science, TOXLINE, and the Cochrane Library, we identified a total of 172 relevant studies. Out of them, 89 were conducted *in vitro*, and 41 were published within the last decade. The mentioned studies concordantly demonstrated a significant increase in micronuclei, protrusions, nucleoplasmic bridges, and a de-

crease in proliferation in cells treated with anticancer drugs in a time- and dose-dependent manner. Notably, the results of CBMN assay are consistent with the data obtained from other cytogenetic techniques (comet assay, chromosomal aberration analysis, analysis of mutations in housekeeping genes, and fluorescence in situ hybridisation).

Conclusion. CBMN assay permits a reliable evaluation of the mutagenic effects related to anticancer drugs.

Keywords: genotoxic effects; micronuclei; cytokinesis-block micronucleus assay; anticancer drugs; chemotherapy

Conflict of Interest: the authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

For citation:

Varvara I. Minina, Vladislav Yu. Buslaev. Estimating genotoxic effects of anticancer drugs using cytokinesis-block micronucleus assay on human lymphocytes. *Fundamental and Clinical Medicine*. 2019; 4 (3): 95-101.

Введение

Онкологические заболевания являются одной из основных причин смертности в мире. В 2018 году отмечено увеличение количества летальных исходов от злокачественных новообразований до 9,6 миллиона случаев [1].

Традиционные методы химиотерапии предполагают использование агентов, обладающих сильными цитотоксическими и деструктивными свойствами. Подавление путей DNA damage response (DDR), формирование большого количества повреждений молекулы ДНК, остановка клеточного деления и гибель клетки являются наиболее общим механизмом действия данных веществ на опухоли [2]. При этом эффективность применяемой химиотерапии у больных сильно варьирует в зависимости от индивиду-

альных молекулярно-генетических особенностей (как структурных, так и экспрессионных). Раковые клетки могут разработать способы обхода сигнальных путей апоптоза, что приводит к устойчивости к терапии. Нетрансформированные клетки организма (например, клетки крови при формировании солидных опухолей) также способны накапливать множество повреждений ДНК. Наиболее тяжелым клиническим проявлением побочных эффектов действия химиотерапевтических агентов является развитие вторичных опухолей [3].

В контексте исследования эффектов действия противоопухолевых препаратов высокоинформативным является анализ микроядер (МЯ) в соматических клетках. МЯ могут формироваться в результате фрагментации хромосом или от-

ставания целых хромосом на стадии анафазы митотического деления. Таким образом, данные структуры могут выступать в качестве маркера хромосомных повреждений, а также утраты целых хромосом. Кроме того, в рамках данного теста одновременно проводится учет показателей пролиферативной активности лимфоцитов и частоты клеток на стадиях митоза и апоптоза. При тестировании генотоксических эффектов действия различных факторов окружающей и производственной среды на человека широко используется учет МЯ в лимфоцитах крови с цитокинетическим блоком (cytokinesis-block micronucleus (L-CBMN) assay) [4, 5]. Правила подготовки препаратов и критерии оценки подробно описаны и стандартизованы [6]. Эксперименты *in vitro* с нагрузкой культур клеток модельных животных или опухолевых клеточных линий химиотерапевтическими агентами проводятся уже довольно давно. Примеров использования стандартизованного L-CBMN *in vitro* в данном контексте пока не очень много. Однако такой подход способен дать ценную информацию относительно особенностей индивидуальной чувствительности нативных клеток крови человека к действию конкретных терапевтических агентов еще до начала лечения. Кроме того, появляется возможность достаточно быстро и надежно тестировать генотоксические (или, напротив, антимуагенные) эффекты новых разрабатываемых препаратов.

Цель исследования

Обобщить современный опыт использования микроядерного теста с цитохалазиновым блоком на лимфоцитах крови человека (*in vitro*) для оценки генотоксических эффектов действия противоопухолевых препаратов.

Материалы и методы

Поиск научных статей для систематического обзора проведен при использовании электронных баз данных MedLine, Scopus, WebofScience, TOXLINE, The Cochrane Library. Отбор статей и их систематический обзор выполнялся в соответствии с правилами PRISMA [7]. В процессе поиска статей были использованы следующие *ключевые слова*: “cytokinesis-block micronucleus” или “micronuclei” или “cytogenetic damage” или “genotoxicity” в комбинации с “*in vitro*”, “antineoplastic” или “antiblastic” или “drug*” или “agent*” в сочетании с “human lymphocytes”.

Критерии включения. Для анализа были использованы статьи, полный текст которых был опубликован и представлен в базах Scopus, Web of Science, MedLine, TOXLINE, The Cochrane Library на английском языке. В данный систематический обзор были включены работы, опубликованные за последние 10 лет, в которых оценка повреждений генома проводилась с применением стандартного протокола L-CBMN теста в нативных лимфоцитах крови человека, подвергнутых действию химиотерапевтических препаратов *in vitro* [6].

Критерии исключения. Исключались исследования, проведенные без указания контрольных, фоновых значений частоты микроядер; эксперименты, в которых использовались другие типы клеток (не лимфоциты крови человека) или учитывалось менее 1000 двухядерных клеток; также не включались исследования, анализирующие последствия контакта с комплексом противоопухолевых препаратов *in vivo*.

В результате поиска научных статей по ключевым словам всего было найдено 172 опубликованных исследования, посвященных изучению мутагенного потенциала противоопухолевых агентов с помощью классического микроядерного теста, в том числе 89 работ были выполнены в формате эксперимента *in vitro*, из них 41 статья была опубликована за последние 10 лет. В большинстве экспериментов использовались различные типы опухолевых и нетрансформированных клеток. В 17 работах использовали нативные лимфоциты крови человека, обработанные противоопухолевыми препаратами *in vitro*. Данный метод в экспериментах был дополнен другими цитогенетическими и молекулярно-генетическими подходами, такими как анализ хромосомных аберраций метафазных хромосом [8], метод флюоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) [9], homozygotization assay [10], метод учета ДНК-комет [11].

Результаты

Исследования «классических» химиотерапевтических агентов с помощью L-CBMN assay *in vitro*

В качестве противоопухолевых препаратов в клинической практике широкое применение находят алкилирующие цитостатики, которые могут приводить к появлению одиночных или двойных разрывов ДНК, подавлять контроль-

ные точки клеточного цикла и индуцировать митотическую катастрофу в опухолевых клетках [12]. С использованием теста L-SBMN было показано, что лимфоциты крови человека также отличаются высокой чувствительностью к данным препаратам. Так, было продемонстрировано дозозависимое повышение частоты МЯ, уменьшение митотического индекса и одновременно с этим статистически значимое увеличение частоты клеток с абберациями хромосом (фрагменты, кольца, дицентрические хромосомы) при действии циклофосфида [8] и бендамустина [10].

Неоднократно описывался генотоксический потенциал цитостатических антибиотиков типа митомицина С и блеомицина, в том числе с помощью учета МЯ [9, 13, 14, 15]. Данные препараты характеризуются направленным действием на молекулу ДНК и участвуют в формировании разрывов её цепей [16], ингибируют встраивание тимидина в молекулу ДНК, характеризуются усилением оксидативного стресса и повреждением митохондрий. В последние годы было установлено, что экстракт солодки (*Glycyrrhiza glabra*) способен снижать генотоксический и цитотоксический эффекты действия митомицина С [17], а эфирное масло мастики (*Pistacia lentiscus*) таким действием не обладает [18]. Интересно, что блеомицин-индуцированный уровень МЯ оказался статистически значимо выше в лимфоцитах крови больных диабетом 2 типа с нефропатиями, что отражает их повышенную чувствительность к данному агенту [19].

Разработка подходов по изучению вовлечения специфических хромосом в образование микроядер представляет собой новое направление молекулярной цитогенетической диагностики веществ, рассматриваемых в качестве генотоксикантов. С применением FISH с центромерными (сеп) и whole-chromosome painting (wcp) пробами была установлена вовлеченность 8, 15 и 20 хромосом в формирование микроядер под действием митомицина С и 1, 9, 20 хромосом – при действии блеомицина [9].

Сравнительная токсикологическая характеристика трех широко используемых цитостатиков с различным механизмом действия (5-фторурацила, цисплатина и этопозида) проводилась в экспериментах с использованием лимфоцитов периферической крови человека, а также клеток печени *Danio rerio* (*zebrafish liver*) и клеточной линии гепатомы человека (*HepG2*)

[11]. Оказалось, что максимальную чувствительность к действию данных препаратов проявляют не опухолевые клетки и не лимфоциты, а клетки печени рыб *Danio rerio*. Это ставит вопрос о безопасности применения данных цитостатиков, учитывая возможность их попадания в водные объекты с различными смывами.

В статье немецких авторов [20] обсуждаются особенности интерпретации результатов L-SBMN тестов в зависимости от времени внесения генотоксических агентов в культуры клеток (в начале культивирования или после 44–48 часов после стимулирования клеток ФГА). В качестве мутагенов использовали метилметансульфонат (MMS), этилметансульфонат (EMS), N-нитрозо-N-этилмочевина (этилнитрозомочевина; ЕНУ), оксид стирола (SO), анти-B[a]P-7,8-дигидродиол-9,10-эпоксид (BPDE) и митомицин С (ММС). Было показано, что большинство препаратов индуцировали формирование микроядер после культивирования и только ММС начинает действовать уже на старте культивирования. В связи с этим G. Speit с коллегами полагают, что SBMN метод в целом менее чувствителен к действию мутагенов/кластогенов, когда повреждения индуцируются на старте клеточных культур.

По мнению итальянских авторов [21], использование классического варианта SBMN может оказаться не лучшим выбором для тестирования генотоксических эффектов митотических ядов, взаимодействующих с тубулином, образующим микротрубочки в клетке (колхицин, винкристин, нокадазол, паклитаксел, доцетаксел). Данные агенты приводят к накоплению мононуклеарных клеток, главным образом, через митотическое проскальзывание. Формирование МЯ в мононуклеарах – довольно интригующее событие, главным образом потому, что для индукции МЯ требуется деление клетки. В настоящее время обсуждаются различные механизмы формирования одноклеточных лимфоцитов с МЯ. Эта клетка может представлять собой лимфоцит, в котором МЯ образовалось во время последнего деления в виде лимфобласта и который не может делиться *in vitro*; клетку с особенно быстрой циклическостью; лимфоцит, нечувствительный к цитохалазину В; последствия митотического проскальзывания, явления, при котором митотически арестованная клетка снова входит в клеточный цикл и таким образом порождает тетраплоидную клетку. Sara Guccini

предполагает, что при использовании классического метода учета МЯ в двухядерных клетках возможна существенная недооценка событий в мононуклеарах [21].

Исследования генотоксических эффектов новых перспективных противоопухолевых препаратов с помощью L-CBMN assay in vitro

Использование ингибиторов протеинкиназ представляет собой новый и перспективный подход к терапии рака с высокой специфичностью к опухолевым клеткам и меньшей токсичностью для нормальных клеток [22–25]. Однако результаты исследований генотоксических эффектов действия таких препаратов пока неоднозначны [26].

Генотоксический потенциал иматиниба (imatinib mesylate) в отношении лимфоцитов крови был выявлен с помощью метода ДНК-комет [27]; не зарегистрирован в тесте Эймса, в экспериментах с клетками лимфомы мыши, костного мозга крысы, клетками яичников китайского хомячка, однако в экспериментах с нагрузкой *in vitro* нативных лимфоцитов периферической крови человека, а также с клетками печени *Danio rerio* и клетками гепатомы HepG2 было выявлено повышение уровня МЯ; причем только в лимфоцитах было отмечено повышение частоты нуклеоплазматических мостов и ядерных протрузий [28]. Таким образом, при использовании таргетных препаратов нельзя полностью исключить повышение риска для здоровья человека и для дикой природы (например, при попадании в водоемы).

Остается практически неизученным генотоксический потенциал современных препаратов для иммунотерапии, которые блокируют рецепторы цитотоксических Т-лимфоцитов и стимулируют Т-клеточно-опосредованный противоопухолевый иммунный ответ (таких как ипилимумаб, дабрафениб и вемурафениб и другие).

Интересные результаты сравнительно недавно были получены при тестировании противоопухолевых агентов природного происхождения. Так, при тестировании фомоксанта А – соединения, выделенного из эндофитного гриба *Phomopsis longicolla*, связанного с морскими водорослями *Bostrychia radicans*, с помощью L-CBMN и метода ДНК-комет были выявлены генотоксические и цитостатические эффекты действия этого соединения на опухолевые клетки HL60, но не на нативные лимфоциты крови человека [29].

Активно обсуждается безопасность и эффективность использования в онкологии препаратов растительного происхождения. С использованием CBMN изучались эффекты воздействия эфирного масла крапивы двудомной *Urtica dioica* на лимфоциты крови человека. Была выявлена значимая положительная корреляция между концентрацией эфирного масла, вносимого в культуру, и частотой микроядер, хромосомных аберраций, частотой клеток в апоптозе или некрозе [30]. Показано, что ванильная кислота в дозе 1 мг/мл значительно снижала частоту клеток с микроядрами, а в высокой дозе – 2 мг/мл проявляла уже генотоксический эффект на ДНК [15]. В то же время при совместном внесении в культуры ванильной кислоты (как в дозе 1 мг/мл, так и 2 мг/мл) и ММС наблюдалось снижение уровня микроядер в двухядерных лимфоцитах по сравнению с действием ММС на лимфоциты крови без добавок.

Заключение

В результате анализа исследований, представленных в данной работе, были выявлены дифференциальные генотоксические эффекты действия противоопухолевых препаратов на лимфоциты крови человека [8–11, 13–15, 17–21, 28], показана согласованность результатов L-CBMN assay и других методов оценки генотоксического потенциала (метод ДНК-комет, учет хромосомных аберраций, уровень мутаций в генах домашнего хозяйства) [8–11]. Сочетание CBMN assay и молекулярно-цитогенетической диагностики (FISH) позволило установить особенности вовлечения индивидуальных хромосом в формирование микроядер [9]. Определены методические ограничения и возможности метода L-CBMN при тестировании генотоксичности противоопухолевых препаратов [20, 21]. В сравнении с другими цитогенетическими методами можно отметить, что CBMN assay обладает такими преимуществами, как возможность одновременного учета кластогенных, анеугенных и цитостатических эффектов; большая скорость анализа с возможностью автоматизации; большая статистическая мощность исследования. Проведение подобных оценок *in vitro* до начала лечения способно дать ценную информацию относительно особенностей индивидуальной чувствительности пациента к действию данного препарата. Результаты подобных исследований в комбинации с данными фармакогенети-

ческих тестов могут способствовать коррективке персонализированных режимов применения противораковых препаратов в клинической практике.

Источник финансирования

Исследование было поддержано государ-

ственным заданием на 2019-2021 гг. № ГЗ 0352-2019-0011.

Funding

The study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (State Assignment for Research, 2019-2021, № 0352-2019-0011).

Литература / References:

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394-424. DOI: 10.3322/caac.21492
2. Khanna A. DNA damage in cancer therapeutics: a boon or a curse? *Cancer Res.* 2015;75(11):2133-2138. DOI: 10.1158/0008-5472
3. Ramadan G, El-Beih NM, Zahra MM. Egyptian sweet marjoram leaves protect against genotoxicity, immunosuppression and other complications induced by cyclophosphamide in albino rats. *Br J Nutr.* 2012;108:1059-1068. DOI: 10.1017/S0007114511006210
4. Kirsch-Volders M, Fenech M, Bolognesi C. Validity of the Lymphocyte Cytokinesis-Block Micronucleus Assay (L-CBMN) as biomarker for human exposure to chemicals with different modes of action: A synthesis of systematic reviews. *Mutat Res.* 2018;836(Pt A):47-52. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2018.05.010
5. Villarini M, Gianfredi V, Levorato S, Vannini S, Salvatori T, Moretti M. Occupational exposure to cytostatic/antineoplastic drugs and cytogenetic damage measured using the lymphocyte cytokinesis-block micronucleus assay: A systematic review of the literature and meta-analysis. *Mutat Res.* 2016;770(Pt A):35-45. DOI: 10.1016/j.mrrev.2016.05.001
6. Fenech M, Chang WP, Kirsch-Volders M, Holland N, Bonassi S, Zeiger E; HUMicronNucleus project. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutat Res.* 2003;534(1-2):65-75. DOI: 10.1016/s1383-5718(02)00249-8
7. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gøtzsche PC, Ioannidis JP, Clarke M, Devereaux PJ, Kleijnen J, Moher D. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. *BMJ.* 2009;339:b2700. DOI: 10.1136/bmj.b2700
8. Samarth R, Khan T, Srivas S, Mishra P, Tiwari R. Evaluation of cyclophosphamide-induced genotoxicity and cytotoxicity in cultured human lymphocytes. *J Radiat Cancer Res.* 2018;9(1):28.
9. Hovhannisyan G, Aroutiounian R, Babayan N, Harutyunyan T, Liehr T. Comparative analysis of individual chromosome involvement in micronuclei induced by mitomycin C and bleomycin in human leukocytes. *Mol Cytogenet.* 2016;9(1):1-7. DOI: 10.1186/s13039-016-0258-4
10. Pereira TS, Sant'anna JR de, Morais JF, Yajima JPR de S, Mathias PC de F, Franco CC da S, Castro-Prado M. Assessment of bendamustine-induced genotoxicity in eukaryotic cells. *Drug Chem Toxicol.* 2019; 42(4):394-402. DOI: 10.1080/01480545.2018.1458236
11. Gajski G, Gerić M, Žegura B, Novak M, Nunić J, Bajrektarević D, Garaj-Vrhovac V, Filipič M. Genotoxic potential of selected cytostatic drugs in human and zebrafish cells. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2016;23(15):14739-14750. DOI: 10.1007/s11356-015-4592-6
12. Merli M, Ferrario A, Basilico C, Maffioli M, Caramazza D, Appio L, Arcaini L, Passamonti F. Novel agents in indolent lymphomas. *Ther Adv Hematol.* 2013;4(2):133-148. DOI: 10.1177/2040620712466865
13. Pawar AA, Vikram A, Tripathi DN, Padmanabhan S, Ramarao P, Jena G. Modulation of mitomycin C-induced genotoxicity by acetyl- and thio- analogues of salicylic acid. *In Vivo.* 2009;23(2):303-730.
14. Gutiérrez-Enríquez S, Ramón Y Cajal T, Alonso C, Corral A, Carrasco P, Cornet M, Sanz J, Ribas M, Baiget M, Diez O. Ionizing radiation or mitomycin-induced micronuclei in lymphocytes of BRCA1 or BRCA2 mutation carriers. *Breast Cancer Res Treat.* 2011;127(3):611-622. DOI: 10.1007/s10549-010-1017-6.
15. Erdem MG, Cinkilic N, Vatan O, Yilmaz D, Bagdas D, Bilaloglu R. Genotoxic and anti-genotoxic effects of vanillic acid against mitomycin C-induced genomic damage in human lymphocytes in vitro. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2012;13(10):4993-4998.
16. Chen J, Ghorai MK, Kenney G, Stubbe J. Mechanistic studies on bleomycin-mediated DNA damage: multiple binding modes can result in double-stranded DNA cleavage. *Nucleic Acids Res.* 2008;36(11):3781-3790.
17. Yavuz Kocaman A, Güzelkokar M. The genotoxic and antigenotoxic potential of the methanolic root extract of *Glycyrrhizaglabra* L. on human peripheral blood lymphocytes. *Drug Chem Toxicol.* 2018;41(3):368-375. DOI: 10.1080/01480545.2018.1435686
18. Vlastos D, Drosopoulou E, Efthimiou I, Gavriilidis M, Panagaki D, Mpatziou K, Kalamara P, Mademtzoglu D, Mavragani-Tsipidou P. Genotoxic and Antigenotoxic Assessment of Chios Mastic Oil by the in Vitro Micronucleus Test on Human Lymphocytes and the In Vivo Wing Somatic Test on *Drosophila*. *PLoS One.* 2015;10(6):e0130498. DOI: 10.1371/journal.pone.0130498
19. 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):627-633.
20. Speit G, Linsenmeyer R, Schütz P, Kuehner S. Insensitivity of the in vitro cytokinesis-block micronucleus assay with human lymphocytes for the detection of DNA damage present at the start of the cell culture. *Mutagenesis.* 2012;27(6):743-747. DOI: 10.1093/mutage/ges041
21. Guccini S, Lombardi S, Pisani A, Piaggi S, Scarpato R. Effects of spindle poisons in peripheral human lymphocytes by the in vitro cytokinesis-block micronucleus assay. *Mutagenesis.* 2012;27(6):749-758. DOI: 10.1093/mutage/ges044

22. Ling Y, Zhang Z, Zhang H, Huang Z. Protein Kinase Inhibitors as Therapeutic Drugs in AML: Advances and Challenges. *Curr Pharm Des.* 2017;23(29):4303-4310. DOI: 10.2174/1381612823666170703164114
23. Janku F. Phosphoinositide 3-kinase (PI3K) pathway inhibitors in solid tumors: From laboratory to patients. *Cancer Treat Rev.* 2017;59:93-101. DOI: 10.1016/j.ctrv.2017.07.005
24. Dreas A, Mikulski M, Milik M, Fabritius CH, Brzózka K, Rzymiski T. Mitogen-activated Protein Kinase (MAPK) Interacting Kinases 1 and 2 (MNK1 and MNK2) as Targets for Cancer Therapy: Recent Progress in the Development of MNK Inhibitors. *Curr Med Chem.* 2017;24(28):3025-3053. DOI: 10.2174/0929867324666170203123427.
25. Ardito F, Giuliani M, Perrone D, Troiano G, Lo Muzio L. The crucial role of protein phosphorylation in cell signaling and its use as targeted therapy (Review). *Int J Mol Med.* 2017;40(2):271-280. DOI: 10.3892/ijmm.2017.3036
26. Smolkova B, Dusinska M, Gabelova A. Nanomedicine and epigenome. Possible health risks. *Food Chem Toxicol.* 2017;109(Pt 1):780-796. DOI: 10.1016/j.fct.2017.07.020
27. Maia Filho PA, Almeida Filho TP, Moreina-Nunes CFA, Burbano RR, de Lemos JAR, de Oliveira EHC, Cavalcanti BC, Pereira JF, Barbosa MC, Duarte FB, de Castro MF, Quixadá ATS, Lemes RPG. Genotoxicity associated with the use of tyrosine kinase inhibitors in patients with chronic myeloid leukemia. *Environ Mol Mutagen.* 2018;59(3):260-262. DOI: 10.1002/em.22164
28. Novak M, Žegura B, Nunić J, Gajski G, Gerić M, Garaj-Vrhovac V, Filipič M. Assessment of the genotoxicity of the tyrosine kinase inhibitor imatinibmesylate in cultured fish and human cells. *Mutat Res.* 2017;814:14-21. DOI: 10.1016/j.mrgtox.2016.12.002
29. Pavão GB, Venâncio VP, de Oliveira AL, Hernandez LC, Almeida MR, Antunes LM, Debonsi HM. Differential genotoxicity and cytotoxicity of phomoxanthone A isolated from the fungus *Phomopsis longicolla* in HL60 cells and peripheral blood lymphocytes. *Toxicol In Vitro.* 2016;37:211-217. DOI: 10.1016/j.tiv.2016.08.010
30. Gül S, Demirci B, Başer KH, Akpulat HA, Aksu P. Chemical composition and in vitro cytotoxic, genotoxic effects of essential oil from *Urtica dioica* L. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2012;88(5):666-771. DOI: 10.1007/s00128-012-0535-9

Сведения об авторах

Минина Варвара Ивановна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории цитогенетики Института экологии человека, профессор отдела подготовки научных кадров высшей квалификации ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и угляхимии СО РАН», профессор кафедры генетики ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, г. Кемерово, Россия.

Вклад в статью: написание статьи.

ORCID: 0000-0003-3485-9123

Буслаев Владислав Юрьевич, магистр Института биологии, экологии и природных ресурсов ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, г. Кемерово, Россия.

Вклад в статью: поиск литературных данных.

ORCID: 0000-0001-5566-5323

Корреспонденцию адресовать:

Минина Варвара Ивановна,
650000, Россия, г. Кемерово, пр-т Советский, д.18
E-mail: vminina@mail.ru

Статья поступила: 05.07.2019 г.

Принята в печать: 31.08.2019 г.

Authors

Prof. Varvara I. Minina, DSc, Chief Researcher, Laboratory of Cytogenetics, Institute of Human Ecology, Federal Research Center for Coal and Coal Chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Kemerovo, Russian Federation; Professor, Department for Research Training, Federal Research Center for Coal and Coal Chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Kemerovo, Russian Federation; Professor, Department of Genetics, Kemerovo State University, Kemerovo, Russian Federation.

Contribution: wrote the manuscript.

ORCID: 0000-0003-3485-9123

Mr. Vladislav Yu. Buslaev, Master Student, Institute of Biology, Ecology, and Natural Resources, Kemerovo State University, Kemerovo, Russian Federation.

Contribution: performed a literature search.

ORCID: 0000-0001-5566-5323

Corresponding author:

Prof. Varvara I. Minina
18, Sovetskiy Prospekt, Kemerovo, 650000, Russian Federation
e-mail: vminina@mail.ru

Received: 05.07.2019

Accepted: 31.08.2019