

КЛИНИЧЕСКИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© ПЕТРАШОВА Д.А., КОЛОМЕЙЧУК С.Н., 2021

Петрашова Д.А.¹ Коломейчук С.Н.^{2,3}

ПОЛИМОРФНЫЙ ВАРИАНТ *IN/DEL* ГЕНА АНГИОТЕНЗИНПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА (АПФ) И ДЕСТАБИЛИЗАЦИЯ ГЕНОМА У ДЕТЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ НА КРАЙНЕМ СЕВЕРЕ

¹ФИЦ Кольский научный центр РАН, 184209, Апатиты, Россия;

²ФИЦ Карельский научный центр РАН, 185910, Петрозаводск, Россия;

³ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет», 163000, Архангельск, Россия

В последние годы отмечается значительный рост диагностирования артериальной гипертензии среди детей и подростков. Особенно риску возникновения данной патологии подвержены дети, проживающие в условиях Крайнего Севера. Существует потребность в недорогой, неинвазивной и простой диагностике риска возникновения патологий в детском возрасте. Ранее было установлено, что генотип DD полиморфного маркера in/del гена АПФ обнаруживается у людей, попадающих в группу риска развития сердечно-сосудистых патологий. В работе применили микроядерный тест на клетках буккального эпителия и генетический анализ. Всего были обследованы 77 школьников из города Апатиты, в возрасте 15-17 лет. Нами показано, что у носителей аллеля D отмечена тенденция к повышению частоты клеток с микроядрами. При гомозиготном варианте I/I частота встречаемости клеток с кариопикнозом достоверно выше, чем у носителей аллеля D. Полиморфный маркер in/del гена АПФ ассоциирован с апоптотическими изменениями в клетках исследуемых детей. Полиморфный маркер in/del гена АПФ можно использовать как прогностический маркер процессов дестабилизации генома на ранних стадиях развития организма человека.

Ключевые слова: генетический полиморфизм; буккальный эпителий; микроядерный тест; ангиотензинпревращающий фермент; высокие широты, Арктика.

Для цитирования: Петрашова Д.А., Коломейчук С.Н. Полиморфный вариант *in/del* гена ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) и дестабилизация генома у детей, проживающих на Крайнем Севере. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66 (10): 635-640. DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-10-635-640>

Для корреспонденции: Петрашова Дина Александровна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр., и.о. зав. лаб. мед. и биол. технологий; e-mail: dinapetrashova@mail.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование было поддержано бюджетными темами 0186-2019-0009 и 0218-2019-0077.

Благодарности. Авторы выражают искреннюю благодарность ст. научному сотруднику, канд. биол. наук В.В. Пожарской и мл. научному сотруднику Т.С. Новиковой за помощь в организации исследования и взятие образцов буккального эпителия у школьников.

Поступила 27.05.2021

Принята к печати 25.06.2021

Petrashova D.A.¹, Kolomeichuk S.N.^{2,3}

EFFECT OF ANGIOTENSIN-I CONVERTING ENZYME GENE INSERTION/DELETION POLYMORPHISM ON GENOME INSTABILITY IN CHILDREN LIVING IN RUSSIAN ARCTIC

¹Kola Science Centre, Russian Academy of Sciences, Apatity, 184209, Russia;

²Karelian Science Center, Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, 185910, Russia;

³North State Medical University, 163000, Arhangelsk, Russia

Main risks of arterial hypertension manifest in childhood. Children living in the Far North are especially susceptible to this. There is a need for an inexpensive, non-invasive and simple diagnosis of the risk of childhood pathologies. It was previously found that the genotype DD of the in/del polymorphic marker of the ACE gene is found in people at risk of developing cardiovascular pathologies. Buccal micronucleus cytome assay and genetic analysis were used in the work. In total, 77 schoolchildren from the city of Apatity, aged 15-17 years old, were examined. We have shown that carriers of the D allele have a tendency to an increase in the frequency of cells with micronuclei. In the case of homozygous I/I variant, the frequency of occurrence of cells with karyopycnosis is significantly higher than in carriers of allele D. Polymorphic marker in/del of the ACE gene is associated with apoptotic changes in the cells of the studied children. The in/del polymorphic marker of the ACE gene can be used as a prognostic marker of the processes of genome destabilization at the early stages of development of the human body.

Key words: genetic polymorphism; angiotensin converting enzyme; micronucleus; buccal cells; Buccal micronucleus cytome assay; high latitude; Arctic.

For citation: Petrashova D.A., Kolomeichuk S.N. Effect of Angiotensin-I Converting Enzyme Gene Insertion/Deletion Polymorphism on genome instability in children living in Russian Arctic. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2021; 66 (10): 635-640 (in Russ.). DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-10-635-640>

For correspondence: Petrashova Dina Alexandrovna; e-mail: dinapetrashova@mail.ru

Information about authors:

Petrashova D.A., <https://orcid.org/0000-0003-3997-637X>;
Kolomeichuk S.N., <https://orcid.org/0000-0003-3104-3639>.

Conflict of interest. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study supported by government budgetary orders № 0186-2019-0009 and № 0218-2019-0077.

Received 27.05.2021

Accepted 27.06.2021

Введение. Климатические условия Арктики, связанные с аномальными сезонными колебаниями температуры и освещенности, негативно влияют на здоровье человека. Системный анализ, проведенный В.П. Казначеевым и соавт. [1], выявил комплекс изменений, которые возникают у населения на Крайнем Севере в виде синдрома «полярного напряжения». Этот синдром является специфической формой хронического психоэмоционального стресса, важными проявлениями которого являются сердечно-сосудистые заболевания. В литературе имеются сведения, что ранние проявления данной патологии выявлены и в детском возрасте [2]. Следует отметить, что своевременная диагностика факторов риска и эффективное лечение в сочетании с массовой профилактикой образа жизни могут дать максимальный эффект. В ходе эпидемиологических многоцентровых исследований установлено, что в регионах России частота первичной артериальной гипертензии (АГ) у детей и подростков имеет существенные отличия и составляет от 1 до 18% [3, 4]. Это связано как с различием возрастных групп обследуемых, так и с особенностями территорий проживания (климат, антропогенное загрязнение, социально-экономическая составляющая). В целом, вопрос эпидемиологии АГ у детей малоизучен, в особенности с учетом влияния условий окружающей среды и социальных факторов. Данный аспект определяет актуальность проблемы для современной педиатрии. Существует острая необходимость в неинвазивной и доступной диагностике риска возникновения и развития патологий у детей. Данные по частоте встречаемости клеток с микроядрами и апоптотическими процессами могут применяться в качестве интегрального индикатора негативных процессов в организме. Микроядерный тест обладает высоким уровнем репрезентативности и успешно применяется в клинической практике для диагностики и прогноза течения ряда заболеваний [5].

Целью нашей работы являлась оценка уровня цитогенетических нарушений в клетках буккального эпителия у носителей разных вариантов полиморфного маркера гена АПФ в группе детей старшего школьного возраста, проживающих в высоких широтах. Выбор детей старшего школьного возраста для исследования обусловлен высокой чувствительностью к генотоксическим агентам [6] и простотой анкетных опросов по сравнению с другими возрастными группами.

Материал и методы. Обследование проведено в соответствии с принципами Хельсинской декларации об этических принципах медицинских исследований. Комитет по этике при Минздраве Республики Карелия одобрил протокол данного исследования (протокол № 41 от 06.09.2018 г.). Исходная выборка включала в себя 126 школьников в возрасте 15-17 лет. В исследовании в итоге приняли участие 77 школьников, проживающих в

городе Апатиты Мурманской области (коэффициент ответа – 61,1%). Родители или опекуны школьников были заранее ознакомлены с методами исследования и подписали информированное согласие.

На первом этапе работ мы проводили анкетирование по специальному опроснику [7]. Критерии исключения: злокачественные образования в анамнезе, наличие хронических заболеваний легких, диабет и ожирение, курение, употребление алкоголя, употребление витаминов в течение месяца, простудные заболевания в течение месяца, прохождение рентгенологических исследований в течение полугода, высокий уровень тревожности.

Молекулярно-генетическая диагностика полиморфизма гена АПФ проводилась методом полимеразной цепной реакции как описано ранее [8]. Образец слюны детей объемом 200 мкл использовался для выделения ДНК с помощью набора Диа_M (Россия) согласно инструкциям производителя.

Микроядерный тест на буккальном эпителии проводился согласно международному протоколу [9]. Анализировалось не менее 2000 клеток для каждого образца при увеличении 1000x с использованием масляной иммерсии (AXIOSTAR PLUS, Karl Zeiss). В данном исследовании определялись следующие показатели: (а) клетки с нарушением ДНК (микроядро, ядерная почка, разбитое яйцо и прочие протрузии); (б) клетки с нарушением пролиферации (двуядерные клетки, круговая насечка); (с) показатели клеточной смерти (конденсация хроматина, карирексис, пикноз, кариолизис и клетки с апоптотическими телами).

Статистический анализ данных проводили с помощью среды R. Достоверность различий частот аллелей и генотипов в группах оценивали с помощью критерия χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность. Достоверность различий между группами с разными полиморфизмами гена АПФ определяли согласно критерию Стьюдента при нормальном распределении и критерию Манна-Уитни при распределении, отличном от нормального. Критический уровень для подтверждения нулевой гипотезы принимался в 5% ($p < 0,05$).

Результаты. Всего были обследованы 77 школьников из города Апатиты, в возрасте 15-17 лет, из них 41 девочка, 36 мальчиков. Основные показатели исследуемой выборки представлены в табл. 1. Половой состав выборки соответствовал половозрастной структуре населения Мурманской области [10].

В нашем исследовании частоты клеток с микроядрами достоверно не различались для изучаемых генотипов и не превышали показатели среднепопуляционной нормы в 2-4% [11].

Для исследования роли In/Del полиморфизма гена АПФ в развитии и прогрессировании нестабильности генома у детей Мурманской области мы определили генотип АПФ методом ПЦР-ПДРФ [12]. Распределение

Характеристика исследуемой выборки

Параметр	Результат
Пол, мужской/женский, (%)	34 / 43 (44,1 % / 55,9 %)
ИМТ, кг/м ²	20,85
Физическая активность	
Да	44 (42,7 %)
Нет	59 (56,4%)
Употребление алкоголя, <i>n</i> (%)	
Регулярное (каждую неделю)	19(10,2%)
Не употребляю	166(89,8%)
Курение, <i>n</i> (%)	
Курю	110 (18,3%)
Не курю	491(81,7%)

аллелей и генотипов полиморфного маркера In/Del гена АПФ подчинялось закону Харди-Вайнберга ($\chi^2=0,77$; $p=0,82$) и не отличалось от ранее описанного для выборки детей Северо-Запада [13].

Анализ частоты встречаемости цитогенетических нарушений при различных вариантах полиморфного маркера I/D гена АПФ показал при генотипе D/D достоверно более низкие показатели частоты встречаемости двудерных клеток и клеток с протрузиями по типу развитое яйцо и прочими протрузиями ядра. При этом у носителей генотипа D/D частота клеток с круговой насечкой выше, чем у носителей других генотипов. Наблюдается тенденция по увеличению частоты встречаемости клеток с микроядрами у носителей D аллеля, однако, различия из-за малой выборки не достоверны. При гетерозиготном варианте I/D частота встречаемости клеток с ядерными почками достоверно ниже, а с кариорексисом достоверно выше, чем при гомозиготных вариантах I/I и D/D. При гомозиготном варианте I/I частота встречаемости клеток с кариопикнозом достоверно выше, чем у носителей аллеля D (табл. 2).

Корреляционный анализ цитогенетических нарушений показал, что при всех трех генотипах частота встречаемости клеток с ядерными почками достоверно связана с возрастом частоты встречаемости клеток с кариолизисом ($r_{I/I}=0,64$, $p=0,013$; $r_{I/D}=0,34$, $p=0,029$; $r_{D/D}=0,51$, $p=0,018$). Для генотипа I/I показана достоверная положительная корреляция частоты встречаемости клеток буккального эпителия кариопикнотическими изменениями с частотами встречаемости клеток с такими нарушениями ядра как микроядра ($r=0,64$, $p=0,013$) и ядерные почки ($r=0,62$, $p=0,019$). Стоит отметить, что для гомозигот по аллелю D выявлены следующие достоверные связи с частотой встречаемости клеток с апоптозом: положительная с частотой встречаемости клеток с микроядрами ($r=0,43$, $p=0,049$) и отрицательная с частотой встречаемости клеток с ядерными почками ($r=-0,51$, $p=0,018$).

Обсуждение. Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера In/Del гена АПФ соответствует данным авторов, исследовавших детское население Северо-Запада России [13]. Отмечено, что носители аллеля D характеризуются повышенным уровнем

активности АПФ в плазме крови, в сердечной мышце и в тканях, и, следовательно, им свойствен более высокий уровень ангиотензина II. Среди людей, отнесенных к группе риска развития ишемической болезни сердца, инфаркта миокарда, постинфарктных осложнений, инсулинорезистентности и сахарного диабета генотип DD выявлен у 28–31%. Аллель D достоверно ассоциирован с более высокой активностью белкового продукта гена ACE и проявлением силовых и координационных способностей у спортсменов [14].

Микроядра являются признанными биомаркерами генотоксического действия различных факторов. Они описаны как отдельная часть генетического материала вне основного ядра. Считается, что микроядра являются либо фрагментом хромосомы, отделившемся при ее повреждении, либо одной или несколькими целыми хромосомами, отстающими в анафазе и не включенными в основное ядро [15]. Согласно литературным данным, наиболее ранним проявлением риска развития рака полости рта является увеличение частоты клеток с микроядрами в буккальном эпителии [16]. В нашем исследовании у детей-носителей аллеля D имеется тенденция к повышению частоты встречаемости клеток буккального эпителия с микроядрами. Наши данные согласуются с результатами, полученными Ф.И. Ингель [17] от образцов школьников, проживающих в экологически неблагоприятных условиях. Автором было обнаружено снижение частоты апоптоза и повышение частоты микроядер в культивированных клетках крови детей, находящихся в состоянии эмоциональной дезадаптации.

В ряде работ показано, что у носителей генотипа D/D выявлен достоверно более высокий уровень систолического артериального давления [12, 18]. Стоит отметить экспериментальные данные о том, что носительство генотипа D/D может повышать риск гипертрофии левого желудочка после инфаркта миокарда [13, 18], а также частоту хронической сердечной недостаточности у пациентов с ИБС. К.И. Губаев и соавт. [19] показали, что генотип DD можно использовать как маркер ухудшения сердечной функции. Следовательно, гомозиготы по аллелю D – это люди с риском инфаркта миокарда, ишемической болезни сердца и именно у них нарушены процессы репарации, увеличивающие количество ядерных почек.

Частота встречаемости цитогенетических нарушений в клетках буккального эпителия при различных полиморфных вариантах гена АПФ

Показатели	I/I	I/D	D/D
<i>n</i>	14	42	21
Цитогенетические нарушения, ‰			
Частота клеток с микроядрами, W	2,3±0,39	2,8±0,3	2,8±0,42
Частота клеток с ядерными почками, t	1,8±0,85 ^{I/D}	0,5±0,15 ^{I/I, D/D}	1,6±0,96 ^{I/D}
Частота клеток с протрузией «разбитое яйцо», t	0,7±0,2 ^{D/D}	0,7±0,15 ^{D/D}	0,6±0,2 ^{I/I, I/D}
Частота клеток с прочими протрузиями, t	0,9±0,32 ^{I/D, D/D}	1,0±0,16 ^{I/I, D/D}	0,6±0,24 ^{I/I, I/D}
Показатели пролиферации, ‰			
Частота клеток с двумя ядрами, W	1,8±0,34	2,1±0,38	1,3±0,43
Частота клеток с круговой насечкой, t	0,4±0,17 ^{D/D}	0,4±0,09 ^{D/D}	0,6±0,17 ^{I/I, I/D}
Стадии деструкции ядра, ‰			
Частота клеток с конденсацией хроматина, W	3,3±0,66	4,7±0,48	4,3±0,55
Частота клеток с кариолизисом, W	58,5±3,31	59,2±2,06	56,9±3,06
Частота клеток с кариорексисом, t	0,1±0,04 ^{I/D}	0,2±0,03 ^{I/I, D/D}	0,1±0,04 ^{I/D}
Частота клеток с кариопикнозом, t	0,4±0,16 ^{I/D, D/D}	0,3±0,04 ^{I/I}	0,3±0,07 ^{I/I}
Частота клеток с апоптозными телами, W	4,6±0,92	3,9±0,4	4,1±0,63

Примечание. I/I, I/D, D/D (обозначенные верхним регистром) указывают, с каким вариантом генотипа имеются статистически достоверные различия ($p < 0,05$); t – достоверность различий между группами определялась с помощью критерия Стьюдента; W – достоверность различий между группами определялась с помощью критерия Манна-Уитни.

Ядерная почка и «разбитое яйцо» – важные митогенетические нарушения при проведении микроядерного теста. На данный момент, общепризнанного механизма появления данного вида протрузий пока нет. Существует точка зрения, что протрузии являются результатом дегенеративных клеточных изменений [20]. Одни авторы считают, что эти ядерные аномалии возникают в результате воздействия генотоксических эффектов [21–23], эпигенетических процессов [24] или отделения части ядра во время S-фазы [25]. Другие исследователи рассматривают протрузии как результат цитогенетических нарушений [26–29]. В то же время предполагается, что появление ядерных почечек может быть связано с элиминацией амплифицированной ДНК и процессами репарации ДНК [20, 24, 25, 30].

М. Zakrzewski-Jakubiak с соавт. [31] было описано, что физиологические функции при сердечной недостаточности и активность ренин-ангиотензина имеют полигенную природу. Одновременное исследование нескольких генетических полиморфизмов в одной и той же популяции выявило, что только комбинации генотипов были связаны с клиническими данными и результатами эхокардиографии.

Следовательно, комплексный подход с применением набора генетических маркеров и цитогенетики будет более эффективным для выявления более тяжелых больных, чем отдельные гены-кандидаты. Продолжение данного исследования с большим количеством испытуемых является актуальным для выяснения механизмов риска сердечно-сосудистых патологий.

Заключение. Полиморфный маркер *in/del* гена АПФ ассоциирован с апоптотическими изменениями в клетках обследуемых детей. Полиморфный маркер *in/del* гена АПФ можно использовать как прогностический маркер процессов дестабилизации генома на ранних стадиях развития организма человека.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 6, 9, 11, 12, 14, 16, 18, 20–28, 30, 31 см. REFERENCES)

1. Казначеев В.П., Куликов В.Ю. Синдром полярного напряжения и некоторые вопросы экологии человека в высоких широтах *Вестник АН СССР*. 1980; 1:74 – 82.
2. Сухорукова О.В. Распространенность, диагностика и профилактика артериальной гипертензии у детей школьного возраста. Смоленск: Смоленская госмедакадемия; 2008.
3. Леонтьева И.В., Агапитов Л.И. Суточное мониторирование артериального давления в дифференциальной диагностике артериальной гипертензии у подростков. *Российский кардиологический журнал*. 2000; 4(24):18–23.
4. Александров А.А., Кисляк О.А., Леонтьева ИВ, Розанов В.Б. Диагностика, лечение и профилактика артериальной гипертензии у детей и подростков. Российские рекомендации (второй пересмотр). *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2009; 8(4):253–88.
5. Таболин В.А., Ильина А.Я., Макацария А.Д., Якунина Л.Н., Анастасевич Л.А., Немировский В.Б., и др. Клиническое значение показателей гемостаза в генезе заболеваний новорожденных раннего неонатального периода, родившихся у женщин с кардиоваскулярной патологией. *Педиатрия*. 2006; 85 (1):22–6.
7. Петрашова Д.А. Цитогенетические особенности буккального эпителия у школьников старшего возраста, проживающих в высоких и средних широтах. *Клиническая лабораторная диагно-*

- стика. 2019; 4:229-33. doi: 10.18821/0869-2084-2019-64-4-229-233.
8. Коломейчук С.Н., Алексеев Р.В., Путилов А.А., Мейгал А.Ю. Ассоциация полиморфных вариантов генов ACE и BDKRB2 с параметрами variability сердечного ритма у спортсменов Республики Карелии. *Вестник Российского государственного медицинского университета*. 2017; 4:50–8. doi: 10.24075/brsmu.2017-04-08.
10. Оценка численности постоянного населения на 1 января 2020 года и в среднем за 2019 год. Росстат; 2020.
13. Образцова Г.И., Глотов А.Е., Степанова Т.В., Иващенко Т.Э., Ковалев Ю.Р. Полиморфизм генов ренин-ангиотензиновой системы и рецептора брадикинина у детей и подростков с первичной артериальной гипертензией. *Артериальная гипертензия*. 2006; 12(2):156-60.
15. Сычева Л.П. Биологическое значение, критерии определения и пределы варьирования полного спектра кариологических показателей при оценке цитогенетического статуса человека. *Медицинская генетика*. 2007; 6(11):3-12.
17. Ингель Ф.И. Перспективы использования микроядерного теста на лимфоцитах человека, культивируемых в условиях цитокнетического блока: Часть 2. Факторы среды и индивидуальные особенности в системе оценки нестабильности генома человека. Дополнительные возможности теста. Методика проведения экспериментов и цитогенетического анализа. *Экологическая генетика*. 2006; 4: 38-53.
19. Губаев К.И., Насибуллин Т.Р., Закирова А.Н., Мустафина О.Е. Ассоциация полиморфных маркеров I/D гена ACE и A1166C гена AT2R1 с хронической сердечной недостаточностью ишемической этиологии в популяциях русских и татар республики Башкортостан. *Генетика*. 2006; 42:1447-51.
29. Мейер А.В., Толочко Т.А., Литвин А.В., Минина В.И., Кулемин Ю.Е. Кариологический статус букальных эпителиоцитов шахтёров с профессиональными лёгочными патологиями. *Гигиена и санитария*. 2018; 97(3):220-5. doi: 10.18821/0016-9900-2018-97-3-220-225.
- yskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta. 2017; 4: 50–8. (in Russian)
9. Thomas P., Holland N., Bolognesi C., Kirsch-Volders M., Bonassi S., Zeiger E., et al. Buccal micronucleus cytome assay. *Nature Protocols*. 2009; 4:825-37. doi: 10.1038/nprot.2009.53.
10. Estimated resident population as of January 1, 2020 and on average for 2019. *Rosstat*; 2020. (in Russian)
11. Tolbert P.E., Shy C.M., Allen J.W. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears – methods development. *Mutation Research*. 1992; 271:69-77. doi: 10.1016/0165-1161(92)90033-i.
12. Rigat B., Hubert C., Alhencgas F., Cambien F., Corvol P., Soubrier F. An insertion deletion polymorphism in the angiotensin i-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *Journal of Clinical Investigation*. 1990; 86:1343-6. doi: 10.1172/JCI114844.
13. Obraztsova G.I., Glotov A.E., Stepanova T.V., Ivashchenko T.Ye., Kovalev Yu.R. Polymorphism of the genes of the renin-angiotensin system and the bradykinin receptor in children and adolescents with primary arterial hypertension. *Arterial'naya gipertenziya*. 2006; 12(2):156-60. (in Russian)
14. Dias R.G., Gowdak M.M., Pereira A.C. Genetics and cardiovascular system: influence of human genetic variants on vascular function. *Genes and Nutrition*. 2011; 6:55-62. doi: 10.1007/s12263-010-0193-7.
15. Sycheva L.P. Biological value, scoring criteria and limits of a variation of a full spectrum karyological indexes of exfoliated cells for estimation of human cytogenetic status. *Meditsinskaya genetika*. 2007; 6(11):3-12. (in Russian)
16. Cardoso R.S., Takahashi-Hyodo S., Peitl P., Ghilardi-Neto T., Sakamoto-Hojo E.T. Evaluation of chromosomal aberrations, micronuclei, and sister chromatid exchanges in hospital workers chronically exposed to ionizing radiation. *Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis*. 2001; 21:431-9. doi: 10.1002/tcm.1030.
17. Ingel F.I. Prospects for the use of the micronucleus test on human lymphocytes cultured under the conditions of the cytoknetic block: Part 2. Environmental factors and individual characteristics in the system for assessing the instability of the human genome. Additional test capabilities. Experimental technique and cytogenetic analysis. *Ekologicheskaya genetika*. 2006; 4: 38-53. (in Russian)
18. Karaali Z.E., Agachan B., Yilmaz H., Isbir T. Angiotensin-converting enzyme I/D gene polymorphisms and effects of left ventricular hypertrophy in Turkish myocardial infarction patients. *Acta Cardiologica*. 2004; 59:493-7. doi: 10.2143/AC.59.5.2005221.
19. Gubaev K.I., Nasibullin T.R., Zakirova A.N., Mustafina O.E. Association of polymorphic markers I/D of gene ACE and A1166C of gene AT2R1 with ischemic chronic heart failure in the Russian and tatar populations of Bashkortostan Republic. *Genetika*. 2006; 42:1447-51. (in Russian)
20. Nersesyan A.K. Nuclear buds in exfoliated human cells. *Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2005; 588:64-8. doi: 10.1016/j.mrgentox.2005.06.010.
21. Serrano-Garcia L., Montero-Montoya R. Micronuclei and chromatid buds are the result of related genotoxic events. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 2001; 38:38-45. doi: 10.1002/em.1048.
22. Montero R., Serrano L., Davila V., Segura Y., Arrieta A., Fuentes R., et al. Metabolic polymorphisms and the micronucleus frequency in buccal epithelium of adolescents living in an urban environment. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 2003; 42:216-22. doi: 10.1002/em.10186.
23. Zeljezic D., Garaj-Vrhovac V. Chromosomal aberrations, micronuclei and nuclear buds induced in human lymphocytes by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid pesticide formulation. *Toxicology*. 2004; 200:39-47. doi: 10.1016/j.tox.2004.03.002.
24. Fenech M., Crott J.W. Micronuclei, nucleoplasmic bridges and nuclear buds induced in folic acid deficient human lymphocytes – evidence for breakage-fusion-bridge cycles in the cytokinesis-block micronucleus assay. *Mutation Research-Fundamental and Molecular*

REFERENCES

1. Kaznacheev V.P., Kulikov V.Yu. Polar stress syndrome and some issues of human ecology in high latitudes. *Vestnik AN USSR*. 1980; 1:74 – 82. (in Russian)
2. Sukhorukova O.V. Prevalence, diagnosis and prevention of arterial hypertension in school-age children. Smolensk: Smolenskaya gosudarstvennaya meditsinskaya akademiya; 2008. (in Russian)
3. Leont'eva I.V., Agapitov L.I. 24-hour monitoring of blood pressure in the differential diagnosis of arterial hypertension in adolescents. *Rossiyskiy kardiologicheskij zhurnal*. 2000; 4(24):18-23. (in Russian)
4. Aleksandrov A.A., Kisljak O.A., Leont'eva I.V., Rozanov V.B. Diagnostics, treatment and prevention of arterial hypertension in children and adolescents. Russian recommendations (second revision). *Kardiovaskulyarnaya terapiya I profilaktika*. 2009; 8(4). (in Russian)
5. Tabolin V.A., Il'ina A.Ja., Makacarija A.D., Jakunina L.N., Anastasevich L.A., Nemirovskij V.B. et al. Clinical significance of hemostasis indicators in the genesis of diseases of newborns of the early neonatal period born to women with cardiovascular pathology. *Pediatrics*. 2006; 85 (1):22-6. (in Russian)
6. Neri M., Ceppi M., Knudsen L.E., Merlo D.F., Barale R., Puntoni R., et al. Baseline micronuclei frequency in children: estimates from meta- and pooled analyses. *Health Perspectives*. 2005; 113:1226-9.
7. Petrashova D.A. Buccal epithelium cytogenetic status in schoolchildren living in high and middle latitudes. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2019; 4: 229-33. (in Russian)
8. Kolomeychuk S.N., Alekseev R.V., Putilov A.A., Meigal A.Yu. Association of polymorphic variants of ACE and BDKRB2 with heart rate variability in athletes of the Republic of Karelia. *Vestnik Rossi-*

CLINICAL MOLECULAR STUDIES

- Mechanisms of Mutagenesis*. 2002; 504:131-6. doi: 10.1016/s0027-5107(02)00086-6.
25. Shimizu N., Itoh N., Utiyama H., Wahl G.M. Selective entrapment of extrachromosomally amplified DNA by nuclear budding and micronucleation during S phase. *Journal of Cell Biology*. 1998; 140:1307-20. doi: 10.1083/jcb.140.6.1307.
 26. Gadhia P.K., Thumbar R.P., Kevadiya B. Cytome Assay of Buccal Epithelium for Bio-monitoring Genotoxic Assessment of Benzene Exposure among Petrol Pump Attendants. *International Journal of Human Genetics*. 2010; 10:239-45. doi: 10.1080/09723757.2010.11886112.
 27. Celik A., Yildirim S., Ekinci S.Y., Tasdelen B. Bio-monitoring for the genotoxic assessment in road construction workers as determined by the buccal micronucleus cytome assay. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2013; 92:265-70. doi: 10.1016/j.ecoenv.2013.01.030.
 28. Benedetti D., Nunes E., Sarmiento M., Porto C., dos Santos C.E.I., Dias J.F., et al. Genetic damage in soybean workers exposed to pesticides: Evaluation with the comet and buccal micronucleus cytome assays. *Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2013; 752:28-33. doi: 10.1016/j.mrgentox.2013.01.001.
 29. Meyer A.V., Tolochko T.A., Litvin A.V., Minina V.I., Kulemin Y.E. Karyological status of buccal epithelial cells of miners with occupational lung pathologies. *Gigiena i Sanitariya*. 2018; 97(3): 220-5. (in Russian)
 30. Shimizu N., Kamezaki F., Shigematsu S. Tracking of microinjected DNA in live cells reveals the intracellular behavior and elimination of extrachromosomal genetic material. *Nucleic Acids Research*. 2005; 33:6296-307. doi: 10.1093/nar/gki946.
 31. Zakrzewski-Jakubiak M, de Denus S, Dube MP, Belanger F, White M, Turgeon J. Ten renin-angiotensin system-related gene polymorphisms in maximally treated Canadian Caucasian patients with heart failure. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2008; 65:742-51. doi: 10.1111/j.1365-2125.2007.03091.x.