

УДК: 619:615.36:575.224.46
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.3.354

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИГЕНТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ГИДРОФИЛЬНЫХ КРИОФРАКЦИЙ НЕКОТОРЫХ ТКАНЕЙ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Востроилова Г.А. – д-р биол. наук, глав. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-2960-038X); Шабанов Д.И. – науч. сотр. (ORCID 0000-0002-1574-1317); Корчагина А.А. – канд. ветеринар. наук, стар. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-8561-417X); Хохлова Н.А. – канд. ветеринар. наук, стар. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-6861-2554); Сыромятников М.Ю. – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-9028-0613); Стрельников Н.А. – мл. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-0781-7713); Некрасов А. В. – стар. лаб. (ORCID 0000-0002-5957-1583).

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии»

* am7d@mail.ru

Ключевые слова: гидрофильная криофракция плаценты, гидрофильная криофракция селезенки, митомицин С, микроядерный тест, митохондриальная ДНК, qPCR, белые лабораторные мыши.

Key words: hydrophilic cryofraction of the placenta, hydrophilic cryofraction of the spleen, mitomycin C, micronucleus test, mitochondrial DNA, qPCR, white laboratory mice.

Финансирование: Материалы подготовлены в рамках конкурса Российского научного фонда 2023 года ««Проведение фундаментальных научных исследований и поисковых научных исследований малыми отдельными научными группами»» (соглашение № 24-26-00034 от 29.12.2023 г). <https://rscf.ru/project/24-26-00034/>.

Поступила: 27.08.2024

Принята к публикации: 20.09.2024

Опубликована онлайн: 01.10.2024



РЕФЕРАТ

В условиях экологического неблагополучия и высокой антропогенной нагрузки в сельскохозяйственной деятельности возникает задача поддержания целостности генома животных. Одним из способов решения этой задачи является применение препаратов, обладающих антимутагенным действием. Фармацевтические субстанции, полученные из тканей животных, являются перспективными компонентами таких препаратов благодаря их антиоксидантному, радиопротекторному действию. В связи с этим, целью настоящей работы явилось исследование генопротекторного действия гидрофильной криофракции плаценты (ГКПК) и её смеси с гидрофильной криофракцией селезенки крупного рогатого скота (ГКСПК) у мышей с цитогенетической нестабильностью, индуцированной генотоксикантом – митомицином С (MMC). Генопротекторное действие исследуемых субстанций оценивали по снижению частоты микроядер полихроматофильных эритроцитов (МЯПХЭ) в костном мозге мышей после введения MMC. Также определяли количество повреждений в митохондриальной ДНК (мтДНК) печени мышей с помощью количественной полимеразной цепной реакции. В результате проведенных исследований установлено, что ГКПК и

ГКСПК не проявляли токсического, мутагенного и ДНК-повреждающего действия. Курсовое введение ГКПК и ГКСПК вызывало снижение частоты МЯПХЭ в костном мозге мышей, с индуцированной цитогенетической нестабильностью на 38,8 и 42,3% ($p<0,05$), относительно животных, которым вводили только MMC. При курсовом введении ГКПК и ГКСПК мышам, получившим MMC, обнаружена тенденция к уменьшению количества повреждений mtДНК печени мышей. Так при курсовом введении ГКСПК наблюдалось снижение количества повреждений mtДНК на 48,0 % и 32,4 % в двух фрагментах mtДНК, соответственно, относительно мышей, которым вводили только MMC. Таким образом, при курсовом введении ГКСПК тенденция к ДНК-протекторному действию была более выражена, относительно ГКПК. Эти данные свидетельствуют о наличии у ГКПК и ГКСПК антимутагенного и ДНК-протекторного действия, которое в большей мере проявляется ГКСПК, вероятно, за счет антиоксидантного эффекта.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Высокая антропогенная нагрузка, некоторые заболевания и лекарственные средства способны вызывать нарушения целостности генома сельскохозяйственных животных [1]. Генотоксические поражения могут являться причиной наследственных и онкологических патологий, а также выступать фактором, играющим существенную роль в этиопатологии сердечно-сосудистых, нейродегенеративных заболеваний, репродуктивных потерь, бесплодия и старения [2]. Так хромосомные аномалии и геномные транслокации становятся причиной ранней эмбриональной смертности и низкой fertильности у крупного рогатого скота (КРС) [3]. Поэтому разработка фармацевтических субстанций, способных поддерживать целостность генома сельскохозяйственных животных является актуальной проблемой ветеринарии.

Отдельный интерес представляет влияние генотоксикантов на митохондриальный геном, поскольку его нарушения связывают с дефектами окислительного метаболизма, патологиями развития нервной и мышечной тканей [4]. Некоторые фармацевтические субстанции, полученные из тканей селезенки или плаценты человека и животных, а также препараты, полученные на их основе, продемонстрировали своё противовоспалительное, иммуномодулирующее, адаптогенное, противорадиационное и антиоксидантное действие, что делает их перспективным объектом исследования в отношении их потенциального генопротекторного действия [5, 6, 7]. Ранее нами был продемон-

стрирован антикластогенный эффект препарата аминоселетон, содержащего гидрофильную криофракцию селезенки КРС [8]. Научный интерес также представляет исследование антимутагенного действия гидрофильной криофракции плаценты КРС отдельно и в смеси с гидрофильной криофракцией селезенки КРС, а также их ДНК-защитного действия по отношению к митохондриальной ДНК (mtДНК).

В связи с этим целью настоящей работы явилось исследование генопротекторного действия гидрофильной криофракции плаценты и её смеси с гидрофильной криофракцией селезенки крупного рогатого скота.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В качестве биологической тест-системы использовали белых лабораторных мышей-самцов ($n=48$) массой тела $26,0\pm2,0$ г разведения вивария ФГБНУ «ВНИИПФиТ». Подопытные животные содержались в стандартных условиях вивария. Доступ к воде и корму был свободным.

Объектом исследования были две фармацевтические субстанции: гидрофильная криофракция плаценты крупного рогатого скота (ГКПК) и её смесь с гидрофильной криофракцией селезенки крупного рогатого скота в соотношении 1:1 (ГКСПК), полученные в лаборатории до-клинических исследований и моделирования биологических систем ФГБНУ «ВНИИПФиТ». В качестве препарата положительного контроля использовали Митомицин С Kyowa (MMC, Kyowa Hakko Kirin CO LTD, Япония) [9].

Были сформированы следующие группы экспериментальных животных по 6 мышей-самцов в каждой (Таблица 1).

Генопротекторное действие исследуемых субстанций оценивали по снижению частоты микроядер полихроматофильных эритроцитов (МЯПХЭ) в костном мозге мышей после введения экспериментального мутагена. Исследование частоты микроядер проводили после получения препаратов клеток костного мозга с окраской по Романовскому-Гимзе [10]. Изучение препаратов проводили при увеличении $\times 1000$ с помощью микроскопа Микромед-3 (Микромед, Китай). Исследовали частоту микроядер на 1000 полихроматофильных эритроцитов (ПХЭ), всего изучали 2000 ПХЭ на животное. Также учитывали долю ПХЭ на 500 эрит-

роцитов, включая ПХЭ и нормохромные эритроциты (НЭ) [11].

Количество повреждений митохондриальной ДНК (мтДНК) определяли относительно повреждений мтДНК мышей из группы негативного контроля (Группа I) с помощью количественной полимеразной цепной реакции (qPCR) [12]. Для этого при помощи набора ПРОБА-ГС (ДНК-технология, Россия) выделяли тотальную ДНК из 50 мг печени мышей исследуемых групп, согласно инструкции производителя. Количество повреждений мтДНК измеряли с помощью qPCR длинных фрагментов с использованием ПЦР смеси 5x qPCRmix-HS SYBR (“Евроген”, Россия) на амплификаторе DTLite 4 (“ДНК-технология”, Россия) [13].

Таблица 1 – Экспериментальные группы мышей

Группа	n животных	Применяемые препараты	Дозы	Способ введения	Кратность введения
I (негативный контроль)	6	Изотонический раствор NaCl	0,1 мл	Внутримышечно	Однократно
II	6	ГКПК	0,5мл/ кг	Внутримышечно	Однократно
III	6	ГКСПК	0,5мл/ кг	Внутримышечно	Однократно
IV	6	ГКПК	0,5мл/ кг	Внутримышечно	Однократно
		MMC	10,0 мг/ кг	Интраперitoneально	Однократно
V	6	ГКСПК	0,5мл/ кг	Внутримышечно	Однократно
		MMC	10,0 мг/ кг	Интраперitoneально	Однократно
VI	6	ГКПК	0,5мл/ кг	Внутримышечно	Трехкратно
		MMC	10,0 мг/ кг	Интраперitoneально	Однократно
VII	6	ГКСПК	0,5мл/ кг	Внутримышечно	Трехкратно
		MMC	10,0 мг/ кг	Интраперitoneально	Однократно
VIII (позитивный контроль)	6	MMC	10,0 мг/ кг	Интраперitoneально	Однократно

Примечание. Многократное введение препаратов проводили с интервалом в 24 ч; MMC вводили совместно с последней инъекцией исследуемой субстанции.

Измерение количества копий мтДНК проводили с помощью qPCR, используя фрагмент мтДНК, кодирующий гены 16S и Nd1 (16S-Nd1) и ядерный ген gapdh в качестве референса. Нормализованный уровень мтДНК (NLmtDNA) относительно ядерной ДНК рассчитывали по формуле 1.

$$NLmtDNA = 2^{-\Delta Cq}$$

Исследовали 2 участка мтДНК: участок, кодирующий 12S и 16S рРНК (12S - 16S) и участок, кодирующий митохондриальный ген ND5 (ND5) длиной 1739 и 1942 п.н. соответственно, с использованием опубликованных ранее праймеров [13].

Количество повреждений в мтДНК определяли по формуле 2:

$$D_{mtDNA} = \frac{(1 - 2^{-(\Delta long - \Delta short)}) \times \text{длина фрагмента (п.н.)}}{10000 \text{ (п.н.)}}$$

где D mtDNA – количество повреждений мтДНК на 10 000 п.н.; Δlong – разница между Сq контрольных и опытных длинных фрагментов; Δshort – разница между Сq контрольных и опытных коротких фрагментов. Для определения D mtDNA использовали по четыре мыши из группы [14].

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакетов программы STATISTICA 10 (Statsoft, USA). Сравнение выборок проводилось с использованием U-теста Майна-Уитни. Полученные результаты представляли как среднее арифметическое (M) ± стандартная ошибка (SE).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Нами были получены частоты МЯПХЭ в костном мозге мышей, исследуемых групп (рис. 1. А). Применение ГКПК (группа II) и ГКСПК (группа III) не приводило к изменению частоты ПХЭ с микроядрами в костном мозге мышей, относительно группы негативного контроля (группа I). Частота МЯПХЭ в группах I-III составляла 0,4±0,12; 0,55±0,15 и 0,51±0,13 % соответственно. Эти данные свидетельствуют об отсутствии мутагенного действия по отношению к клеткам

костного мозга мышей у исследуемых фармацевтических субстанций. Инъекция MMC в дозе 10 мг/кг отдельно (группа VIII) или совместно с однократным внутримышечным введением ГКПК (группа IV) и ГКСПК (группа V) приводила к значимому повышению частоты МЯПХЭ, так в группе IV она составляла 4,82±0,37 %, в группе V – 5,19±0,31 % и в группе VIII – 5,72±0,88 %. Таким образом, цитогенетическая нестабильность, индуцированная MMC, не снижалась при однократном совместном введении генотоксиканта и исследуемых субстанций, поскольку нами не выявлено статистически значимого снижения частоты МЯПХЭ в группах IV и V относительно группы VIII. В тоже время курсовое введение ГКПК (группа VI) и ГКСПК (группа VII) индуцировало снижение частоты МЯПХЭ на 38,8 и 42,3 % ($p<0,05$), соответственно, относительно группы позитивного контроля (группа VIII). Так в группе VI частота МЯПХЭ составила 3,5±0,56 %, а в группе VII – 3,3±0,54 %. Таким образом, курсовое введение ГКПК и ГКСПК оказывало генопротекторное действие на клетки костного мозга мышей. Представленные результаты согласуются как с полученными ранее нами данными, так и с данными о снижении частоты МЯПХЭ у мышей, которым вводили экстракт селезенки перед радиоактивным облучением [15, 16].

Также нами было изучено отношение ПХЭ к НЭ в костном мозге мышей, исследуемых групп (Рис. 1.Б) ГКПК (группа II) и ГКСПК (группа III) не индуцировали изменения доли ПХЭ в костном мозге мышей относительно животных группы I (48,8±2,26 %). Введение MMC (группа VIII) приводило к значимому снижению доли ПХЭ до 26,92±3,72 %, что было вызвано токсическим действием генотоксиканта на гематопоэтические клетки костного мозга мышей. Однократное или курсовое применение ГКПК и ГКСПК совместно с MMC не вызывало значимого увеличения доли ПХЭ в группах IV-VII, относительно группы VIII. Таким образом, в ходе эксперимента не выявлено

антитоксическое действие ГКПК и ГКСПК на клетки костного мозга мышей при MMC-индуцированной цитотоксичности.

Кроме того, было определено относительное количество копий mtДНК в печени мышей при введении ГКПК, ГКСПК и MMC (рис. 2.А). В группе негативного контроля оно составило $1,14 \pm 0,30$ и ста-

тистически значимо не отличалось у остальных исследуемых групп. Представленные данные свидетельствуют об отсутствии влияния ГКПК и ГКСПК на митохондриальный биогенез в печени мышей как отдельно, так и в присутствии MMC, что согласуется с полученными ранее данными [17].

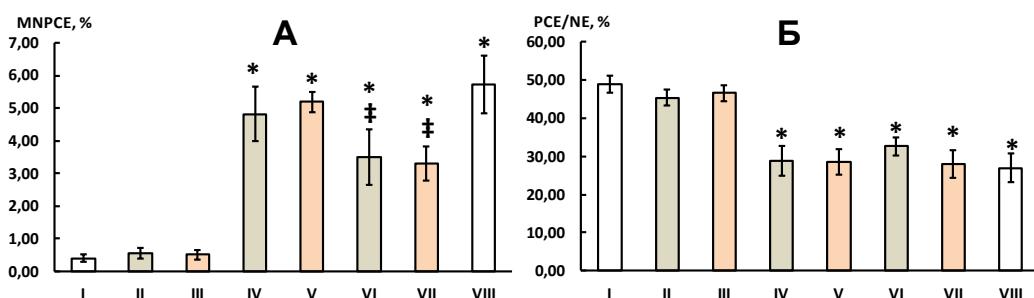


Рисунок 1 – Частота полихроматофильных эритроцитов с микроядрами (А) и доля полихроматофильных эритроцитов (Б) в костном мозге мышей: MNPCE – частота полихроматофильных эритроцитов с микроядрами, %; PCE/NE – отношение содержания полихроматофильных эритроцитов к нормохромным, %; I – VIII – исследуемые группы; * – статистически значимое отличие от группы I; # – статистически значимое отличие от группы VII.

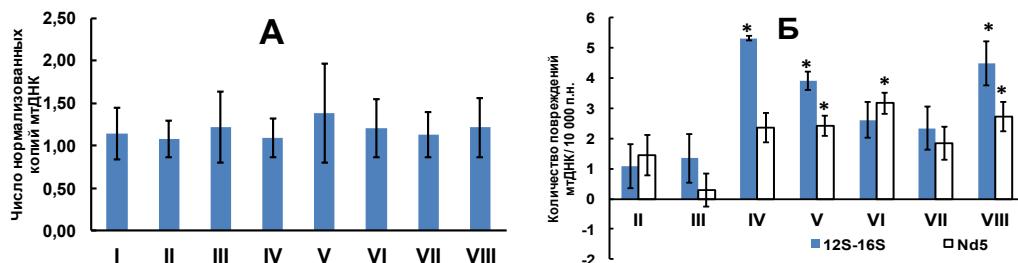


Рисунок 2 – Нормализованное число копий mtДНК печени мышей (А) и относительное количество повреждений mtДНК печени мышей (Б): 12S-16S – участок mtДНК, содержащий гены 12S-16S; Nd5 – участок mtДНК, содержащий ген Nd5; I – VIII – номера экспериментальных групп; Число нормализованных копий mtДНК – относительное количество копий mtДНК, нормализованное по ядерному гену gapdh; Количество повреждений mtДНК/10 000 п.н. – количество повреждений в mtДНК относительно 10 000 пар нуклеотидов; * – статистически значимое отличие от группы I ($p < 0,05$); $M \pm SE\%$ – среднее арифметическое \pm стандартная ошибка.

Мы определили относительное количество повреждений mtДНК в клетках печени мышей после однократной инъекции ГКПК (группа II) и ГКСПК (группа III) (рис. 2. Б). Введение ГКПК (группа II)

не индуцировало статистически значимых изменений в количестве повреждений mtДНК, относительно группы I во фрагментах 12S-16S и ND5, число повреждений mtДНК составляло $1,07 \pm 0,85$ и

1,45±0,77, соответственно. Применение ГКСПК также не вызвало значимого увеличения в количестве повреждений мтДНК. Так в группе III во фрагментах 12S-16S и ND5, число повреждений мтДНК составляло 1,34±0,81 и 0,29±0,55, соответственно. Эти данные могут выступать свидетельством отсутствия у ГКПК и ГКСПК ДНК-повреждающего, генотоксического действия. Инъекция генотоксиканта – MMC в дозе 10 мг/кг (группа VIII) приводила к статистически достоверному ($p<0,05$) увеличению количества повреждений мтДНК во фрагментах 12S-16S и ND5 до 4,50±0,84 и 2,72±0,49, соответственно. Совместная инъекция MMC с ГКПК (группа IV) и ГКСПК (группа V) приводила к значимому ($p<0,05$) увеличению количества повреждений мтДНК в печени относительно группы негативного контроля. Во фрагменте 12S-16S количество повреждений составляло 5,32±0,08 и 3,91±0,30 для групп IV и V, соответственно, а для фрагмента ND5 2,35±0,49 и 2,42±0,33 соответственно. При этом количество повреждений мтДНК во фрагменте ND5 у группы IV относительно группы I возрастало не значимо. Вместе с тем, нами не отмечено статистически достоверного снижения количества повреждений мтДНК как в группах IV и V (однократное введение исследуемых субстанций), так и в группах VI и VII (курсовое введение ГКПК и ГКСПК) относительно группы позитивного контроля (группа VIII). При этом в группе VI количество повреждений составило 2,61±0,59 и 3,17±0,34 во фрагментах 12S-16S и ND5, а в группе VII количество повреждений составило 2,34±0,72 и 1,84±0,56 во фрагментах 12S-16S и ND5, соответственно. Трехкратное введение ГКПК перед интраперitoneальной инъекцией MMC (группа VI) приводило к значимому повышению ($p<0,05$) количества повреждений мтДНК относительно группы I только во фрагменте ND5, в то время как количество повреждений мтДНК в группе VII статистически значимо не отличалось от группы негативного контроля в обоих исследуемых фрагментах.

Таким образом, хотя нами не получены однозначные данные по снижению повреждения мтДНК печени мышей, индуцированного митомицином С, при введении ГКПК и ГКСПК наблюдалась тенденция к снижению количества повреждений, которая выражалась в отсутствии значимых отличий от группы I. Наибольшее снижение количества повреждений мтДНК было обнаружено после курсового введения ГКСПК (группа VII). Так во фрагменте 12S-16S их число сократилось на 48,0 % и на 32,4 % во фрагменте ND5 относительно показателей позитивного контроля. В то время как введение ГКПК приводило к меньшему снижению количества повреждений мтДНК. Представленные данные, вероятно, могут являться свидетельством ДНК-протекторного действия ГКСПК при его курсовом введении по отношению к мтДНК печени мышей. Действительно, другие исследования демонстрируют ДНК-протекторный эффект экстракта плаценты при облучении ионизирующей радиацией, проявляющийся благодаря её противовоспалительному действию [18, 19].

Обнаруженный генопротекторный и ДНК-защитный эффект ГКПК и ГКСПК, вероятно, может быть обусловлен их антиоксидантным действием, которое проявляется благодаря содержанию в их составе витаминов и регуляторных молекул [6]. Для различных экстрактов животных тканей показано наличие в их составе малых пептидов и молекул массой 5-15 Да, которые, по-видимому, обладают различным спектром биологических эффектов, что обуславливает отличия в генопротекторном действии ГКПК и ГКСПК [20].

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В результате проведенных исследований установлено, что ГКПК и ГКСПК не проявляли токсического, мутагенного и ДНК-повреждающего действия. Курсовое введение ГКПК и ГКСПК вызывало снижение частоты МЯПХЭ в костном мозге мышей, с индуцированной цитогенетической нестабильностью на 38,8 и 42,3 %, относительно животных, которым вводи-

ли только генотоксикант — митомицин. Эти данные свидетельствуют об антимутагенном действии ГКПК и ГКСПК. Кроме того, при курсовом введении ГКПК и ГКСПК мышам, получившим инъекцию митомицина, наблюдалась тенденция к уменьшению количества повреждений mtДНК печени мышей. Так при курсовом введении ГКСПК наблюдалось снижение количества повреждений mtДНК на 48,0 % и 32,4 % во фрагментах mtДНК 12S-16S и ND5 соответственно относительно мышей, которым вводили только митомицин. Таким образом, при курсовом введении ГКСПК тенденция к ДНК-протекторному действию была более выражена, относительно ГКПК. Эти изменения, вероятно, могут быть обусловлены антиоксидантным эффектом ГКПК и ГКСПК.

STUDY OF ANTIGENOTOXIC EFFECT OF HYDROPHILIC CRYOFRACTION OF SOME TISSUE OF CATTLE

Vostroilova G.A. – doctor of Biological Sciences, Chief Researcher (ORCID 0000-0002-2960-038X); **Shabanov D.I.*** – Researcher (ORCID 0000-0002-1574-1317); **Korchagina A.A.** – candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher (ORCID 0000-0002-8561-417X); **Khokhlova N.A.** – candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher (ORCID 0000-0001-6861-2554); **Syromyatnikov M.Yu.** – candidate of Biological Sciences, Principal Researcher (ORCID 0000-0001-9028-0613); **Strelnikov N.A.** – Junior Researcher (ORCID 0000-0002-0781-7713); **Nekrasov A.V.** – Senior Laboratory Assistant (ORCID 0000-0002-5957-1583).

All-Russian Research Veterinary Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy

*am7d@mail.ru

Financing: The materials were prepared within the framework of the 2023 Russian Science Foundation competition “Conducting fundamental scientific research

and exploratory scientific research by small individual scientific groups” (agreement No. 24-26-00034 dated 12/29/2023). <https://rscf.ru/project/24-26-00034/>.

ABSTRACT

In conditions of environmental distress and high anthropogenic load in agricultural activities, the task of maintaining the integrity of the animal genome arises. One way to solve this problem is to use drugs that have an antimutagenic effect. Pharmaceutical substances obtained from animal tissues are promising components of such drugs due to their antioxidant and radioprotective effects. In this regard, the purpose of this work was to study the genoprotective effect of hydrophilic cryofraction of the placenta (HCPC) and its mixture with hydrophilic cryofraction of the spleen of cattle (HCSPC) in mice with cytogenetic instability induced by the genotoxicant - mitomycin C (MMC). The genoprotective effect of the studied substances was assessed by reducing the frequency of micronuclei of polychromatophilic erythrocytes (MNPCE) in the bone marrow of mice after administration of MMC. The amount of damage in mitochondrial DNA (mtDNA) in mouse liver was also determined using quantitative polymerase chain reaction. As a result of the studies, it was established that HCPC and HCSPC did not exhibit toxic, mutagenic or DNA-damaging effects. A course of administration of HCPC and HCSPC caused a decrease in the frequency of MNPCE in the bone marrow of mice, with induced cytogenetic instability by 38.8 and 42.3% ($p < 0.05$), relative to animals that were administered only MMC. With a course of administration of HCPC and HCSPC to mice that received MMC, a tendency was found to reduce the amount of mtDNA damage in the liver of mice. Thus, with a course of administration of HCSPC, a decrease in the amount of mtDNA damage was observed by 48.0% and 32.4% in two mtDNA fragments, respectively, relative to mice that were administered only MMC. Thus, with a course of administration of HCSPC, the tendency towards a DNA-protective effect was more pronounced rela-

tive to HCPC. These data indicate that HCPC and HCSPC have antimutagenic and DNA protective effects, which are more pronounced by HCSPC, probably due to the high antioxidant effect.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- 1.Yimer, N., Chromosomal Anomalies and Infertility in Farm Animals: A Review / Yimer, N., Rosnina, Y.// Pertanika journal of tropical agricultural science. – 2014. – Vol. 37(1). – P. 1-18. Режим доступа: https://www.researchgate.net/publication/264786591_Chromosomal>Anomalies_and_Infertility_in_Farm_Animals_A_review
- 2.Дурнев, А. Д. Актуальные аспекты генетической токсикологии лекарственных средств / А. Д., Дурнев, А. К., Жанатаев // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. – 2022. – Т. 12, № 1. – С. 90-109. – DOI 10.30895/1991-2919-2022-12-1-90-109. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48261901>.
- 3.Iannuzzi, A., Chromosome Abnormalities and Fertility in Domestic Bovids: A Review. / A., Iannuzzi, P., Parma, L. Iannuzzi // Animals (Basel). – 2021. – Vol. 11(3). – P 802. – DOI 10.3390/ani11030802. Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33809390/>.
- 4.Russell, O. M., Mitochondrial Diseases: Hope for the Future. / O. M., Russell, G. S., Gorman, R. N., Lightowers, D. M. Turnbull// Cell. – 2020. – Vol. 181(1). – P 168-188. – DOI 10.1016/j.cell.2020.02.051. Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32220313/>.
- 5.Pogozhykh, O., Placenta and Placental Derivatives in Regenerative Therapies: Experimental Studies, History, and Prospects. / O., Pogozhykh, V., Prokopyuk, C., Figueiredo, D. Pogozhykh// Stem Cells Int. – 2018. – 4837930. – DOI 10.1155/2018/4837930. Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29535770/>.
- 6.Han, K. H., Porcine Splenic Hydrolysate has Antioxidant Activity in vivo and in vitro. / K. H., Han, K., Shimada, T., Hayaka-
wa, T. J., Yoon, M. Fukushima// Korean J Food Sci Anim Resour. – 2014. – Vol. 34 (3). – P. 325-332. – DOI 10.5851/kosfa.2014.34.3.325. Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26761173/>.
- 7.Najafi-Ghalehlu, N., Plumping up a Cushion of Human Biowaste in Regenerative Medicine: Novel Insights into a State-of-the-Art Reserve Arsenal. / N., Najafi-Ghalehlu, A., Feizkhah, M., Mobayen, Z., Pourmohammadi-Bejarpasi, S., Shekarchi, A. M., Roushandeh, M. H.Roudkenar, // Stem Cell Rev Rep. – 2022. – Vol. 18(8). – P. 2709-2739. – DOI 10.1007/s12015-022-10383-3. Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35505177/>.
- 8.Шабунин С. В. Антикластогенная активность аминоселетона при воздействии циклофосфамида на костный мозг мышей / С.В., Шабунин, Г.А., Востроилова, П.А. Паршин, Д.И., Шабанов, Н.А., Хохлова // Сельскохозяйственная биология. – 2021. – Т. 56, № 4. – С. 763-771. – DOI 10.15389/agrobiology.2021.4.763rus. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46589190>.
- 9.Sinitsky, M. Y., Mitomycin C induced genotoxic stress in endothelial cells is associated with differential expression of proinflammatory cytokines / M. Y., Sinitsky, A. G., Kutikhin, A. V., Tsepokina, D. K., Shishkova, M. A., Asanov, A. E., Yuzhalin, V. I., Minina, A. V., Ponasenko // Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen. – 2020. – No. 503252. – P. 858-860. – DOI 10.1016/j.mrgentox.2020.503252. Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33198933/>.
- 10.Jain, A. K. In Vivo Micronucleus Assay in Mouse Bone Marrow. / A. K., Jain, A. K.Pandey // Methods in Molecular Biology. – 2019. – Vol. 2031. – P. 135-146. – DOI 10.1007/978-1-4939-9646-9_7. Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31473958/>.
- 11.Миронов, А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Под ред. А.Н. Миронова. – Москва, Издательство: "Гриф и К", 2012. – 944с. Режим доступа: <https://rsmu.ru/fileadmin/>

- templates/DOC/Zakon_RF/
Mironov_Rukovodstvo_po_provedeniju_do_klinicheskikh_issledovanii_lekarstvennykh_sredstv.pdf.
12. Lehle, S. LORD-Q: a long-run real-time PCR-based DNA-damage quantification method for nuclear and mitochondrial genome analysis. / S., Lehle, D. G., Hildebrand, B., Merz, P. N., Malak, M. S., Becker, P., Schmeizer, F., Essmann, K., Schulze-Osthoff, O. Rothfuss, // Nucleic Acids Research. – 2014. – Vol. 42(6). – P. e41. – DOI 10.1093/nar/gkt1349. Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24371283/>.
13. Gureev, A. P., Simplified qPCR method for detecting excessive mtDNA damage induced by exogenous factors. / A. P., Gureev, E. A., Shaforostova, A. A., Starkov, V. N Popov, // Toxicology. - 2017. – Vol. 382. – P. 67-74. – DOI 10.1016/j.tox.2017.03.010. Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28286206/>.
14. Хорольская, В. Г., Влияние фенофибата на генотоксичность в мозге и печени и на экспрессию генов, регулирующих метаболизм жирных кислот, у мышей. / В. Г., Хорольская, А. П., Гуреев, Е. А., Шафоростова, В. Н. Попов, // Биомедицинская химия. – 2019. – Vol. 65(5). Р 388-397. – DOI 10.18097/PBMC20196505388. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=41255550>.
15. Востроилова, Г. А. Исследование влияния комплексного препарата интерамин на цитогенетическую стабильность клеток костного мозга мышей / Г. А., Востроилова, Д. И., Шабанов, А. А., Корчагина, Ю. С. Пархоменко, // Международный вестник ветеринарии. – 2022. – № 4. – С. 108-115. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2022.4.108. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=50230146>.
16. Дычко К.А., Рыжова Г.Л., Кравцова С.С., Кирьянова Н.Л., Кувшинов Н.Н., Гриднева В.И. Способ получения средства с адаптогенным и противолучевым действием. Патент RU 2142284 С1 (РФ) МПК6 А 61 К 35/28. Томский государственный университет (РФ). № 95110155/14. Заявл. 14.06.1995. Опубл. 10.12.1999. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=38138011>.
17. Шабанов Д. И. Исследование влияния митомицина на уровень повреждений митохондриальной ДНК у мышей *in vivo* / Д. И., Шабанов, Г. А., Востроилова, Е. В. Михайлов, М. Ю., Сыромятников, А. А., Корчагина, М. А., Селютина // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2023. – № 2(23). – С. 12-23. – DOI 10.17238/issn2541-8203.2023.2.12. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=54030767>.
18. Oh, E. DNA damage and protective effects of placental extracts in blood lymphocytes and lymphoid organs of mice exposed to gamma irradiation. / E., Oh, W., Jung, D., Sul // Journal of Radiation Research and Applied Sciences. – 2023. – Vol. 16(2). P. 100557. – DOI 10.1016/j.jrras.2023.100557. Режим доступа: https://www.researchgate.net/publication/371210075_DNA_damage_and_protective_effects_of_placental_extracts_in_blood_lymphocytes_and_lymphoid_organs_of_mice_exposed_to_gamma_irradiation.
19. Kawakatsu M., Placental extract protects bone marrow-derived stem/progenitor cells against radiation injury through anti-inflammatory activity. / M., Kawakatsu, Y., Urata, S., Goto, Y., Ono, T. S. Li, // Journal of Radiation Research. – 2013. – Vol. 54(2). – Р 268-276. – DOI 10.1093/jrr/rrs105. Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23154884/>.
20. Jee, J. P., Isolation and identification of steroidogenic peptides from calf spleen. / J. P., Jee, S. E., Jin, E., Ban, H. J., Lee, Y., Park, Y., Park, H. J., Maeng, H. T., Kim, C. K. Kim // Arch Pharm Res. – 2012. – Vol. 35(4). – Р. 653-658. – DOI 10.1007/s12272-012-0409-z. Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22553058/>.

REFERENCES

1. Yimer, N., Chromosomal Anomalies and Infertility in Farm Animals: A Review / Yimer, N., Rosrina, Y. // Pertanika journal of tropical agricultural science. 2014; 37(1): 1-18. URL: <https://www.researchgate.net/publication>

- tion/264786591_Chromosomal_Anomalies_and_Infertility_in_Farm_Animals_A_review.
- 2.Durnev, A. D. Current aspects of genetic toxicology of drugs / A. D. Durnev, A. K. Zhanatayev // Bulletin of the Scientific Center for Expertise of Medical Products. Regulatory studies and expertise of drugs. 2022: 12(1): 90-109. DOI 10.30895/1991-2919-2022-12-1-90-109. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48261901> (In Russ.).
- 3.Iannuzzi, A., Chromosome Abnormalities and Fertility in Domestic Bovids: A Review. / A. Iannuzzi, P. Parma, L. Iannuzzi // Animals (Basel). 2021: 11(3): 802. DOI 10.3390/ani11030802. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33809390/>.
- 4.Russell, O. M., Mitochondrial Diseases: Hope for the Future. / O. M. Russell, G. S. Gorman, R. N. Lightowers, D. M. Turnbull// Cell. 2020: 181(1): 168-188. DOI 10.1016/j.cell.2020.02.051. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32220313/>.
- 5.Pogozhykh, O., Placenta and Placental Derivatives in Regenerative Therapies: Experimental Studies, History, and Prospects. / O. Pogozhykh, V. Prokopyuk, C. Figueiredo, D. Pogozhykh// Stem Cells Int. 2018: 4837930. DOI 10.1155/2018/4837930. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29535770/>.
- 6.Han, K. H., Porcine Splenic Hydrolysate has Antioxidant Activity in vivo and in vitro. / K. H. Han, K. Shimada, T. Hayakawa, T. J. Yoon, M. Fukushima// Korean J Food Sci Anim Resour. 2014: 34(3): 325-332. DOI 10.5851/kosfa.2014.34.3.325. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26761173/>.
- 7.Najafi-Ghalehloou, N., Plumping up a Cushion of Human Biowaste in Regenerative Medicine: Novel Insights into a State-of-the-Art Reserve Arsenal. / N. Najafi-Ghalehloou, A. Feizkhah, M. Mobayen, Z. Pourmohammadi-Bejarpasi, S. Shekarchi, A. M. Roushandeh, M. H. Roudkenar, // Stem Cell Rev Rep. 2022: 18(8): 2709-2739. DOI 10.1007/s12015-022-10383-3. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35505177/>.
- 8.Shabunin, S. V. Anticlastogenic activity of aminoseleton under the influence of cyclophosphamide on the bone marrow of mice / S. V. Shabunin, G. A. Vostroilova, P. A. Parshin, D. I. Shabanov, N. A. Khokhlova // Agricultural biology. 2021: 56(4): 763-771. DOI 10.15389/agrobiology.2021.4.763rus. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46589190> (In Russ.).
- 9.Sinitsky, M. Y., Mitomycin C induced genotoxic stress in endothelial cells is associated with differential expression of proinflammatory cytokines / M. Y. Sinitsky, A. G. Kutikhin, A. V. Tsepokina, D. K. Shishkova, M. A. Asanov, A. E. Yuzhalin, V. I. Minina, A. V. Ponasenko // Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen. 2020: 503252: 858-860. DOI 10.1016/j.mrgentox.2020.503252. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33198933/>.
- 10.Jain, A. K. In Vivo Micronucleus Assay in Mouse Bone Marrow. / A. K., Jain, A. K.Pandey // Methods in Molecular Biology. 2019: 2031: 135-146. DOI 10.1007/978-1-4939-9646-9_7. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31473958/>.
- 11.Mironov, A. N. Guidelines for conducting preclinical studies of medicinal products. Part one / Ed. A. N. Mironov. – Moscow, Publisher: "Grif i K", 2012:944. URL:https://rsmu.ru/fileadmin/templates/DOC/Zakon_RF/Mironov_Rukovodstvo_po_provedeniju_do_klinicheskikh_issledovanii_lekarstvennykh_sredstv.pdf (In Russ.).
- 12.Lehle, S. LORD-Q: a long-run real-time PCR-based DNA-damage quantification method for nuclear and mitochondrial genome analysis. / S. Lehle, D. G. Hildebrand, B. Merz, P. N. Malak, M. S. Becker, P. Schmezer, F. Essmann, K. Schulze-Osthoff, O. Rothfuss, // Nucleic Acids Research. 2014: 42(6): e41. DOI 10.1093/nar/gkt1349. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24371283/>.
- 13.Gureev, A. P., Simplified qPCR method for detecting excessive mtDNA damage induced by exogenous factors. / A. P. Gureev, E. A. Shaforostova, A. A. Starkov, V. N Popov, // Toxicology. 2017: 382: 67-74. DOI 10.1016/j.tox.2017.03.010. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28286206/>.
- 14.Khorolskaya, V. G., Effect of fenofibrate

-
- on genotoxicity in the brain and liver and on the expression of genes regulating fatty acid metabolism in mice. / V. G. Khorolskaya, A. P. Gureev, E. A. Shaforostova, V. N. Popov, // Biomedical Chemistry. 2019: 65(5): 388-397. DOI 10.18097/PBMC20196505388. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=41255550> (In Russ.).
15. Vostroilova, G. A. Study of the influence of the complex drug interamin on the cytogenetic stability of bone marrow cells in mice / G. A. Vostroilova, D. I. Shabanov, A. A. Korchagina, Yu. S. Parkhomenko, // International Bulletin of Veterinary Medicine. 2022: 4: 108-115. DOI 10.52419/issn2072-2419.2022.4.108. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=50230146> (In Russ.).
16. Dychko, K.A., Ryzhova G.L., Kravtsova S.S., Kiryanova N.L., Kuvshinov N.N., Gridneva V.I. Method for obtaining a product with adaptogenic and antiradiation action. Patent RU 2142284 C1 (RF) IPC6 A 61 K 35/28. Tomsk State University (RF). No. 95110155/14. Claimed 14.06.1995. Published 10.12.1999. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=38138011> (In Russ.).
17. Shabanov, D. I. Study of the effect of mitomycin on the level of mitochondrial DNA damage in mice in vivo / D. I. Shabanov, G. A. Vostroilova, E. V. Mikhailov, M. Yu. Syromyatnikov, A. A. Korchagina, M. A. Selutina // Bulletin of Veterinary Pharmacology. 2023: 2(23): 12-23. DOI 10.17238/issn2541-8203.2023.2.12. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=54030767> (In Russ.).
18. Oh, E. DNA damage and protective effects of placental extracts in blood lymphocytes and lymphoid organs of mice exposed to gamma irradiation. / E. Oh, W. Jung, D. Sul // Journal of Radiation Research and Applied Sciences. 2023: 16(2): 100557. DOI 10.1016/j.jrras.2023.100557. URL: https://www.researchgate.net/publication/371210075_DNA_damage_and_protective_effects_of_placental_extracts_in_blood_lymphocytes_and_lymphoid_organs_of_mice_exposed_to_gamma_irradiation.
19. Kawakatsu M., Placental extract protects bone marrow-derived stem/progenitor cells against radiation injury through anti-inflammatory activity. / M. Kawakatsu, Y. Urata, S. Goto, Y. Ono, T. S. Li, // Journal of Radiation Research. 2013: 54(2): 268-276. DOI 10.1093/jrr/rrs105. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23154884/>.
20. Jee, J. P., Isolation and identification of steroidogenic peptides from calf spleen. / J. P. Jee, S. E. Jin, E. Ban, H. J. Lee, Y. Park, Y. Park, H. J. Maeng, H. T. Kim, C. K. Kim // Arch Pharm Res. 2012: 35(4): 653-658. DOI 10.1007/s12272-012-0409-z.