

КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ (БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ)

Естественные науки. 2024. № 4 (17). С. 4–14.
Yestestvennyye nauki = Natural Sciences. 2024; 4 (17): 4–14 (In Russ.)

Научная статья
УДК 57.575.175
doi 10.54398/2500-2805.2024.17.4.001

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА ГЕНОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ТИОЦИАНАТА КАЛИЯ

Кузина Татьяна Вячеславовна

Астраханский государственный университет имени В. Н. Татищева,
г. Астрахань, Россия

Аннотация. Тиоцианат калия (роданид калия) является токсичным химическим веществом, которое имеет широкое распространение. Часто встречается в составе сточных вод химической промышленности. Особое внимание следует уделять оценке генотоксического воздействия отдельных веществ при экологическом мониторинге и выявлении реальной экологической безопасности сточных вод. Цель работы — определение потенциального канцерогенного воздействия тиоцианата калия на рыб с использованием цитогенетических методов исследования (микроядерный тест и метод ДНК-комет). Высокое содержание тиоцианата калия в воде не оказало видимого патоморфологического влияния на рыб, но вызывало генотоксический эффект в виде накопления повреждений в структуре молекулы ДНК. После 96-часовой выдержки в воде рыб с высоким содержанием роданида (120 мг/л) деструктивных изменений генома (ДНК-комет, микроядра, патологические формы ядра эритроцитов) отмечено в разы больше в сравнении с контролем. Обнаружена корреляционная зависимость между уровнем образования ДНК-комет и микроядер в эритроцитах крови рыб и содержанием роданида в воде. Полученные данные свидетельствуют о генотоксической активности тиоцианата калия. Обсуждается необходимость системы оценки генотоксичности сточных вод, в составе которых есть тиоцианаты.

Ключевые слова: микроядерный тест, ДНК-кометы, тиоцианат калия, эритроциты

Для цитирования: Кузина Т. В. Комплексная оценка генотоксичной активности тиоцианата калия // Естественные науки. 2024. № 4 (17). С. 4–14. <https://doi.org/10.54398/2500-2805.2024.17.4.001>.

COMPREHENSIVE ASSESSMENT OF THE GENOTOXIC ACTIVITY OF POTASSIUM THIOCYANATE

Kuzina Tatyana V.

Astrakhan Tatishchev State University, Astrakhan, Russia

Abstract. Potassium thiocyanate (potassium rhodanide) is a toxic chemical that is widely used. Often found in chemical industry wastewater. Particular attention should be paid to assessing the genotoxic effects of individual substances during environmental monitoring and identifying the real environmental safety of wastewater. The purpose of the work is to determine the potential carcinogenic effect of potassium thiocyanate on fish using cytogenetic research methods (micronuclear test and DNA comet method). The high content of potassium thiocyanate in water had no visible pathomorphological effect on fish, but caused a genotoxic effect in the form of accumulation of damage in the structure of the DNA molecule. After 96-hour exposure in water of fish with a high content of thiocyanate (120 mg/l), destructive changes in the genome (DNA comets, micronuclei, pathological forms of erythrocyte nuclei) were noted many times more in comparison with the control. A correlation was discovered between the level of formation of DNA comets and micronuclei in fish blood erythrocytes and the content of thiocyanate in water. The data obtained indicate the genotoxic activity of potassium thiocyanate. The need for a system for assessing the genotoxicity of wastewater containing thiocyanates is discussed.

Key words: micronucleus test, DNA comet, potassium thiocyanate, erythrocytes

For citation: Kuzina T. V. Comprehensive assessment of the genotoxic activity of potassium thiocyanate. *Yestestvennye nauki = Natural Sciences*. 2024; 4 (17): 4–14. <https://doi.org/10.54398/2500-2805.2024.17.4.001>.

Введение. Тиоцианат-ионы проникают в окружающую среду в результате биоразложения соединений серы и биомассы и через антропогенные источники. Применение тиоцианата охватывает разнообразные области, включая производство тиомочевины, акрилового волокна, антикоррозийных красок, текстильной окраски и набивки, используется в фотографии и сельском хозяйстве для борьбы с сорняками. Также он служит индикатором в исследованиях нефтяных месторождений и стратиграфической структуры. Основными местами, где необходимо определение тиоцианат-ионов, являются промышленные сточные воды. Эти ионы могут попадать в поверхностные воды из сточных вод коксохимических заводов, горнообогатительных комбинатов и металлургических предприятий, а их образование также возможно в процессе производства удобрений.

Задача экологического мониторинга — оценить возможности снижения негативного воздействия загрязняющих веществ, в том числе в составе сточных вод предприятий, на окружающую среду. Вместе с цианидами в сточных водах химической промышленности часто встречаются роданиды (включая тиоцианат калия). Разработка технологий очистки и утилизации промышленных отходов требует использования быстрых и качественных экспресс-

анализов для характеристики отходов и сточных вод. Качество сточных вод сегодня контролируется по различным химическим, бактериологическим и паразитологическим показателям, но оценка интегральных показателей может быть более перспективной для определения реальной экологической безопасности сточных вод. Изучение суммарной мутагенной активности также является важным инструментом для выявления мутагенного потенциала сточных вод и воздействия антропогенных факторов на природные комплексы.

Быстрым и чувствительным тестом для оценки степени повреждений ядерной ДНК, определения целостности генома является метод ДНК-комет. Уровень повреждений ДНК служит показателем мутагенности того или иного вещества, а также свидетельствует о снижении репарационной активности [14]. Ещё одной тест-системой оценки генотоксичности веществ является микроядерный тест, позволяющий идентифицировать геномные нарушения в виде мелких фрагментов ДНК – микроядер. Микроядра являются маркерами мутагенного воздействия различных веществ, а также индикаторами хромосомной нестабильности [3].

В связи с этим целью работы явилось определение потенциального канцерогенного воздействия тиоцианата калия на рыб с использованием цитогенетических методов исследования (микроядерный тест и метод ДНК-комет).

Материал и методы исследования. Тиоцианат калия (калий роданистый, KSCN) — химический реактив, не предназначенный для употребления внутрь или наружного применения. Не предназначен для проведения любых медицинских исследований или процедур.

Таблица 1 — Технические характеристики используемого вещества

Наименование показателя	Значение
Содержание основного вещества, %	Не менее 99,0
Железо, %	Не более 0,0001
Нерастворимые в воде вещества, %	Не более 0,005
Вода, %	Не более 1,0
Хлориды, %	Не более 0,01
Сульфаты, %	Не более 0,1
Тяжелые металлы, %	Не более 0,0008
рН	5,3–8,5

Генотоксическую активность тиоцианата калия изучали на клетках крови карповых рыб (сем. *Cyprinidae*). Концентрацию вещества определяли в соответствии с нормами рыбохозяйственной предельно допустимой концентрацией [5]. Так, рыбохозяйственная ПДК цианидов составляет 0,05 мг/л, роданида калия — 0,15 мг/л. Комплексные цианистые соединения меди, цинка, никеля и железа сравнительно малотоксичны. По литературным данным известна концентрация отдельных цианистых соединений меди, которые

губительны для рыбы [7]. Таким образом, была определена минимальная концентрация тиоцианата калия — 15 мг/л, максимальная — 120 мг/л.

Постановка эксперимента. Для осуществления эксперимента в 40-литровых аквариумах с разной концентрацией тиоцианата калия содержали гидробионтов с соблюдением всех условий аэрации и фильтрации. Рыб во время проведения эксперимента не кормили. В каждом аквариуме рыб содержали не более 96 ч, время определили в соответствии со скоростью прохождения митоза в клетках крови рыб (примерно 2–3 дня), поскольку микроядра образуются при неправильном расхождении хромосом во время митоза.

По истечении времени выдержки рыбу взвешивали, измеряли длину, а после удаления хвоста из хвостовой вены отбирали кровь в пробирки с антикоагулянтом. Для оценки клеток с микроядрами изготавливали мазки крови, на каждую особь по два мазка. При подсчёте на 1 000 клеток определяли количество клеток с микроядрами, двуядерных клеток, а также отмечали патологические нарушения ядра, такие как кариорексис, кариопикноз, кариолизис, деление ядра. Частоту встречаемости выражали в процентах.

Для определения степени повреждения ДНК был использован щелочной вариант ДНК-кометы [14]. Визуализацию и регистрацию ДНК-комет осуществляли с помощью флуоресцентного микроскопа (Zeiss Scope A1), оснащённого цифровой фотокамерой (Axioscam 208) по 50 комет на стекло. Наблюдаемый во флуоресцентном микроскопе геном индивидуальной клетки представлен в виде электрофоретического следа, или так называемой кометы. Критериями оценки степени фрагментации ДНК в клетке являются доля ДНК в хвосте кометы в процентах, момент хвоста (произведение длины хвоста на долю ДНК в хвосте кометы) и длина хвоста кометы (мкм) [4]. Все эти параметры оценивали с помощью компьютерной программы TriTek CometScore 2.0.0.38 (TriTek Corp. <http://tritekcorp.com>).

Статистическую оценку проводили в стандартном пакете программ Statistica 10.2. Для сравнения результатов с контролем и для парных сравнений использовали непараметрический критерий Манна – Уитни. Значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. В таблице 2 указаны параметры ДНК-комет, отражающие степень повреждения ДНК клеток крови карповых рыб.

Таблица 2 — Основные показатели ДНК-комет клеток крови карповых рыб (сем. *Cyprinidae*) в условиях эксперимента

Концентрация вещества, мг/л	Длина хвоста кометы, мкм	ДНК в хвосте кометы, %	Момент хвоста
Контроль	271,8 ± 54,6	11,20 ± 4,6	1,29 ± 0,7
15,0	424,0 ± 86,2	31,30 ± 8,3	5,13 ± 0,6
30,0	763,4 ± 54,7	48,80 ± 11,5	10,3 ± 1,1
60,0	913,7 ± 82,3	52,50 ± 13,5*	10,6 ± 1,1
120,0	1603,2 ± 105,3*	74,50 ± 17,4**	14,2 ± 1,5*
Примечание: * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ — достоверность данных по сравнению с контролем.			

Как видно из таблицы 2, у рыб, которых содержали при максимальной концентрации тиоцианата калия, возростала частота встречаемости ДНК-комет, процент ДНК в кометах вырос в 6,7 раз по сравнению с контролем. Анализ уровня повреждения ДНК в эритроцитах карпов выявил, что по параметру длины хвоста кометы достоверные отличия есть у рыб, содержащихся при максимальной концентрации вещества в сравнении с контролем. Длина хвоста кометы увеличивалась при повышении концентрации вещества в аквариумах с $424,0 \pm 86,2$ мкм при 15 мг/л до $1603,2 \pm 105,3$ мкм при концентрации 120 мг/л. Следует отметить, что рост среднего показателя доли ДНК в кометах у рыб, которых содержали в аквариумах с веществом 30 и 60 мг/л, был незначительным по сравнению с контролем. Достоверный рост значения момента хвоста кометы отмечен у рыб из аквариума с концентрацией тиоцианата калия 120 мг/л ($14,2 \pm 1,5$) относительно рыб из аквариума с концентрацией 15 мг/л ($5,13 \pm 0,6$). В клетках крови рыб из аквариумов с концентрацией 30 и 60 мг/л значение момента хвоста было на одном уровне — $10,3 \pm 1,1$ и $10,6 \pm 1,1$ соответственно.

Кроме того, в крови рыб возростала доля клеток с патологическими нарушениями в ядре, такими как кариорексис, кариолизис, кариопикноз при максимальной концентрации тиоцианата калия (табл. 3).

Таблица 3 — Частота встречаемости патологических нарушений ядер в эритроцитах крови карповых рыб (сем. *Cyprinidae*)

Концентрация вещества, мг/л	Цитогенетические показатели, %				
	Микроядра	Кариорексис	Кариолизис	Кариопикноз	Деление ядра
Контроль	0,09	1,00	1,00	2,50	2,00
15	0,33	2,00	2,00	4,50	2,75
30	0,52	6,00	3,00	3,00	1,75
60	0,48	7,25	13,75*	3,60	2,70
120	1,15	42,75*	2,67	2,00	1,33

Примечание: *различия с контролем значимы при $p \leq 0,5$.

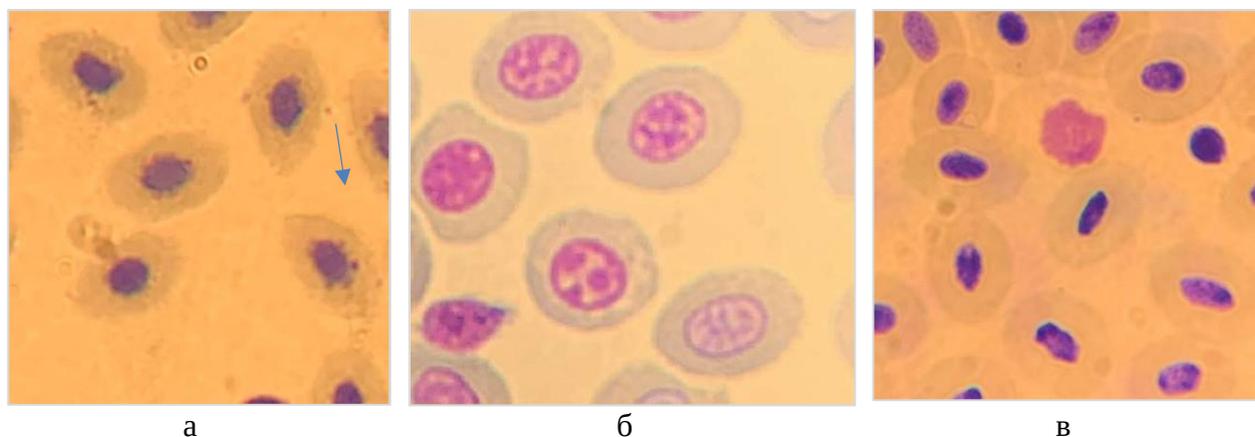


Рисунок 1 — Типы патологий ядра в эритроцитах крови карповых рыб: а — микроядро в эритроците; б — кариорексис; в — кариолизис (ув. $\times 1\ 000$)

При действии тиоцианата калия в концентрациях 30,0 и 60,0 мг/л наблюдали повышение частоты эритроцитов с кариорексисом в крови карпов. Зафиксирован значительный рост клеток с патологиями ядра у рыб, которых содержали в аквариуме с тиоциантом калия 120 мг/л.

На рисунке 2 показан суммарный генотоксический эффект тиоцианата калия на клетки крови рыб. При росте концентрации вещества в аквариуме отмечен линейный рост частоты встречаемости ДНК-комет. Сумма нарушений в ядре возрастает экспоненциально при увеличении концентрации тиоцианата калия. У рыб из аквариума номер 4 (60 мг/л тиоцианата калия) резко, почти в семь раз, возрастает частота встречаемости лизиса ядер эритроцитов.

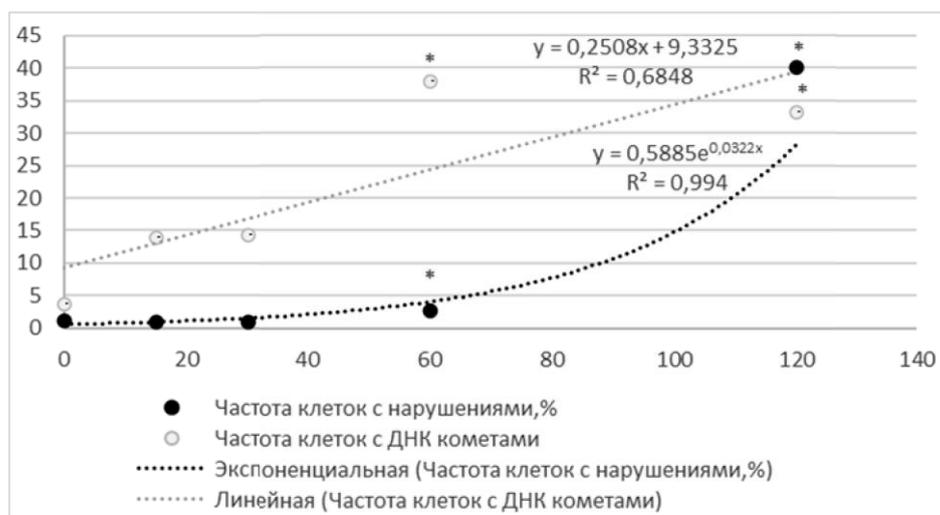


Рисунок 2 — Суммарный цитогенетический эффект тиоцианата калия:
* $p < 0,5$ — достоверность различий по сравнению с контролем

Различные концентрации тиоцианата калия на четвёртый день в клетках крови карпа во время их пребывания в одних и тех же экспериментальных условиях показали существенные различия в скорости накопления тиоцианата калия и образования молекулярных повреждений ДНК. Необходимо отметить, что на четвёртый день кормления рыб в аквариуме с максимальной концентрацией тиоцианата в эритроцитах рыб наличие повреждений ДНК увеличилось почти в пять раз по сравнению с контрольной группой.

Признание потенциальных рисков, связанных с присутствием тиоцианатов в водной среде, вызвало большой интерес к использованию рыбы для биомониторинга канцерогенов, тератогенов и мутагенов в водной среде. Данное исследование было запланировано для оценки генотоксического воздействия тиоцианатов, содержащихся в сточных водах, на эритроциты периферической крови рыб. Генотоксичность оценивали с помощью цитогенетических анализов, включая кометный анализ и анализ микроядер эритроцитов. Результаты анализа, проведённого в данном исследовании, подтвердили генотоксическое действие высокой концентрации тиоцианата калия на эритроциты периферической крови карпа.

Метод ДНК-комет позволяет выявить различные нарушения в структуре ДНК. Повышенный уровень повреждений в генетическом материале может свидетельствовать о разнообразных процессах, включая высокую мутагенную активность или нарушения в репарационной системе [10]. Наиболее часто используемыми параметрами для определения повреждения ДНК при анализе комет являются процентное содержание ДНК в хвосте и момент нахождения в хвосте [4; 1]. В данной работе впервые установили, что воздействие на рыб тиоцианата калия вызывает значительно большее повреждение молекулы ДНК при концентрации 120 мг/л. Имеются литературные данные о физиологическом влиянии тиоцианатов на рыб при особом способе ловле аквариумных рыб, когда дайверы распыляют водные растворы цианидов на коралловые рифы, чтобы временно оглушить рифовых рыб, что облегчает их отлов [8; 9]. Nancy E. Vreen et al. в своей работе продемонстрировали результаты по экспериментальной оценке токсикокинетических превращений тиоцианатов. Когда морская рыба подвергается воздействию водной смеси цианидов, она попадает в кровоток либо перорально, либо через жабры путём диффузии. Пути метаболизма тиоцианатов в морской рыбе мало изучены. При высоких дозах воздействия водных растворов тиоцианатов у рыбы отмечали изменения в поведении (в том числе хаотичное движение). Выявленные в нашем исследовании изменения в виде повышения фонового уровня повреждения молекул ДНК можно рассматривать с точки зрения осуществления любой биологической реакции.

Процентная доля ДНК в хвосте комет у рыб из аквариумов с концентрацией 60 и 120 мг/л возрастала по сравнению с контролем ($p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$ соответственно). Также выявлена высокая положительная корреляция ($r = 0,9$) между уровнем ДНК-кометы и концентрацией вещества в аквариуме. Кроме того, частота расщепления ДНК в эритроцитах рыб при содержании исследуемого вещества в воде в концентрации 15 мг/л и концентрации в эксперименте четырёх рыб 120 мг/л ($p \leq 0,05$). Увеличение частоты ДНК-комет в эритроцитах периферической крови рыб после воздействия различных концентраций исследуемого вещества указывает на развитие крастогенного эффекта тиоцианата калия.

Таким образом, с помощью данного метода исследования был обнаружен генотоксический эффект тиоцианата калия в дозах 60 и 120 мг/л, что выразилось в значительном увеличении повреждения ДНК в исследуемых клетках крови. При анализе генотоксического эффекта среды обитания на организм в качестве показателя, дополняющего результаты цитогенетических исследований, рекомендуется включать определение частоты встречаемости эритроцитов периферической крови с морфологическими аномалиями [6; 12]. Эти аномалии связаны с дефектами в ядре и цитоплазме клетки.

В нашей работе, согласно рекомендациям Л. Д. Житеневой и др., было применено определение частоты таких морфологических аномалий ядер клеток, как: кариолизис, кариопикноз, кариорексис и суммарная частота всех обозначенных морфологических аномалий [2]. Сравнение данных у карповых

рыб из аквариумов с концентрацией тиоцианата калия 30 и 60 мг/л показало отсутствие существенных и достоверных различий в частоте встречаемости кариорексиса и кариолиза эритроцитов. Однако у рыб наблюдалось значительное достоверное увеличение кариорексиса в эритроцитах после выдержки в аквариуме с концентрацией 120 мг/л в течение 96 ч. Частота встречаемости кариолизиса значительно увеличена у рыб из аквариума с 60 мг/л тиоцианата калия по сравнению с контролем. У рыб из разных аквариумов встречаемость эритроцитов с кариопикнозом достоверно не изменилась. Что касается суммарной частоты аномалий ядра эритроцитов периферической крови карповых рыб, то достоверное увеличение этого показателя было отмечено у рыб из аквариума с максимальной концентрацией вещества, напрямую зависело от концентрации вещества и описывалось логарифмической функцией.

Согласно литературным данным, микроядерный тест успешно используется в качестве индикатора генотоксического стресса у рыб, вызванного тяжёлыми металлами, радиоактивными веществами и др. [12; 15]. Микроядра образуются в результате аномального деления клеток, которое сопровождается потерей части или даже целой хромосомы. На поздних стадиях деления образующиеся структуры хроматина отделяются от дочерних ядер, а после окружаются ядерной мембраной, образуя так называемые микроядра. Такое разделение хромосом или их фрагментов является признаком генотоксического действия тестируемых веществ. E. Drag-Kozak et al. в своей работе показали значительное увеличение частоты микроядер в клетках периферической крови рыб, подвергшихся воздействию сублетальных концентраций Zn, Cd и комбинированной смеси Cd и Zn. Но через неделю воздействия металлов на рыб частота микроядер стабилизировалась на уровне, близком к контрольному [10]. Исследования Hussain et al. и Naik et al. также продемонстрировали, что загрязнение тяжёлыми металлами вызывает увеличение частоты микроядер в эритроцитах [12]. Naik et al. наблюдали увеличение частоты микроядер у мозамбикской тиляпии (*Oreochromis mossambicus*), которую подвергали воздействию кадмия в концентрациях 7,4, 3,7 и 1,85 мг/л [15]. При этом индукция микроядер уменьшалась со временем воздействия металлов, что может свидетельствовать о попытке организма восстановить физиологическое равновесие, несмотря на сохраняющееся негативное воздействие факторов окружающей среды. Возможно, уменьшение частоты возникновения клеточных аномалий разных типов со временем воздействия обусловлено активацией механизмов репарации ДНК в клетках [15].

В заключение можно сказать, что совокупность собственных и литературных данных указывает на способность тиоцианата калия проявлять генотоксические свойства в зависимости от концентрации. Полученные данные определяют необходимость оценки сточных вод не только по химическим показателям с целью определения ПДК веществ, но и использовать экспресс-методы по оценке суммарного генотоксического действия загрязняющих веществ.

Список литературы

1. Жанатаев, А. К. Методические аспекты оценки ДНК повреждений методом ДНК-комет / А. К. Жанатаев, В. А. Никитина, Е. С. Воронина, А. Д. Дурнев // Прикладная токсикология. — 2011. — Т. 11, № 2 (4). — С. 28–37.
2. Житенева, Л. Д. Атлас нормальных и патологически измененных клеток крови рыб / Л. Д. Житенева, Т. Г. Полтавцева, О. А. Рудницкая. — Ростов-на-Дону : Книжн. изд-во, 1989. — 112 с.
3. Ильинских, Н. Н. Микроядерный анализ в оценке цитогенетической нестабильности / Н. Н. Ильинских, А. С. Ксенц, Е. Н. Ильинских, С. А. Васильев, В. Н. Манских. — Томск : Томский гос. пед. ун-т 2011. — 234 с.
4. МР 4.2.0014-10. Оценка генотоксических свойств методом ДНК-комет in vitro. — URL: <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293808/4293808552.pdf>.
5. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 30.04.2003 N 78 (ред. от 13.07.2017) «О введении в действие ГН 2.1.5.1315-03» (вместе с «ГН 2.1.5.1315-03. Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования. Гигиенические нормативы» : утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 27.04.2003 ; Зарегистрировано в Минюсте России 19.05.22003 N 4550. — URL: <https://www.chemanalytica.ru/f/gn2151315-03.pdf>.
6. Сычева, Л. П. Оценка мутагенных эффектов факторов окружающей среды полиорганным микроядерным тестом / Л. П. Сычева // Вестник Российской академии медицинских наук. — 2006. — № 7. — С. 27–32.
7. Breen, N. E. On the half-life of thiocyanate in the plasma of the marine fish *Amphiprion ocellaris*: implications for cyanide detection / N. E. Breen, J. A. Bonanno, S. Hunt, J. Grossman, J. Brown, H. Nolte, A. L. Rhyne. — URL: https://www.researchgate.net/publication/332289398_On_the_half-life_of_thiocyanate_in_the_plasma_of_the_marine_fish_Amphiprion_ocellaris_implications_for_cyanide_detection.
8. Bhandari, R. K. Cyanide toxicokinetics: the behavior of cyanide, thiocyanate and 2-amino-2-thiazoline-4-carboxylic acid in multiple animal models / R. K. Bhandari, R. P. Oda, I. Petrikovics, D. E. Thompson, M. Brenner, S. B. Mahon, V. S. Bebartha, G. A. Rockwood, B. A. Logue // *Journal of Analytical Toxicology*. — 2014. — Vol. 38 (4). P. 218–225. — doi 10.1093/jat/bku020.
9. Drąg-Kozak, E. Genotoxic Effect of Cadmium and Zinc in the Peripheral Erythrocytes of Prussian Carp (*Carassius Gibelio* B.) / E. Drąg-Kozak, M. Kuchta-Gładysz, A. Grzesiakowska, E. Łuszczek-Trojnar, M. Socha // *Journal of Veterinary Research*. — 2022. — Vol. 66 (4). P. 619–628. doi 10.2478/jvetres-2022-0057.
10. Hallare, A. Tayo. Genotoxic stress induced by intensive aquaculture activities in Taal Lake (Philippines) on circulating fish erythrocytes using comet assay and micronucleus test / Hallare A. Tayo, P. Ocampo, K. Balolong // *Advances in Environmental Biology*. — 2016. — Vol. 10 (1). — P. 273–283.
11. Hussain, B. Fish eco-genotoxicology: Comet and micronucleus assay in fish erythrocytes as in situ biomarker of freshwater pollution / B. Hussain, T. Sultana, S. Sultanaa, M. S. Masoudc, Z. Ahmedb, S. Mahboob // *Saudi Journal of Biological Sciences*. — 2018. — Vol. 25. P. 393–398. doi 10.1016/j.sjbs.2017.11.048.
12. Iturburu, F. G. Imidacloprid Causes DNA Damage in Fish: Clastogenesis as a Mechanism of Genotoxicity / F. G. Iturburu, M. F. Simoniello, S. Medici, A. M. Panzeri, M. L. Menone // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. — 2018. — Vol. 100 (6). — P. 760–764. — doi 10.1007/s00128-018-2338-0.
13. Olive, P. L. The comet assay: a method to measure DNA damage in individual cells / P. L. Olive, J. P. Banath // *Nature Protocols*. — 2006. — Vol. 1, № 1. — P. 23–29. — doi 10.1038/nprot.2006.5.

14. Naik, A. P. Evaluation of genotoxicity, enzymatic alterations and cadmium accumulation in Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* exposed to sub lethal concentrations of cadmium chloride / A. P. Naik, S. K. Shyama, A. H. D'Costa // *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*. — 2020. — Vol. 2. — P. 126–131. — doi 10.1016/j.eneco.2020.07.006.

15. Ekere, N. R. Levels and risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in water and fish of Rivers Niger and Benue confluence Lokoja, Nigeria / N. R. Ekere, N. M. Yakubu, T. Oparanozie, J. N. Ihedioha // *Journal of Environmental Health Science and Engineering*. — 2019. — Vol. 17 (1). P. 383–392. — doi 10.1007/s40201-019-00356-z.

References

1. Zhanataev, A. K., Nikitina, V. A., Voronina, E. S., Durnev, A. D. Methodological aspects of DNA damage assessment by the DNA comet method. *Prikladnaya toksikologiya = Applied toxicology*. 2011; 11, 2 (4): 28–37.

2. Zhiteneva L. D., Poltavtseva T. G., Rudnitskaya O. A. *Atlas normalnykh i patologicheskii izmenennykh kletok krovi ryb = Atlas of normal and pathologically altered blood cells of fish*. Rostov-on-Don: Knizhnoe izdatelstvo; 1989: 112 p.

3. Ilyinskikh, N. N., Kents, A. S., Ilyinskikh, E. N., Vasiliev, S. A., Manskikh, V. N. *Mikroyadernyy analiz v otsenke tsitogeneticheskoy nestabilnosti = Micronuclear analysis in the assessment of cytogenetic instability*. Tomsk: Tomsk State Pedagogical University; 2011: 234 p.

4. MR 4.2.0014-10. *Otsenka genotoksicheskikh svoystv metodom DNK-komet in vitro = MP 4.2.0014-10. Evaluation of genotoxic properties by the DNA comet assay in vitro*. Available at: <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293808/4293808552.pdf>.

5. *Postanovlenie Glavnogo gosudarstvennogo sanitarnogo vracha RF ot 30.04.2003 N 78 (red. ot 13.07.2017) "O vvedenii v deystvie GN 2.1.5.1315-03" (vmeste s "GN 2.1.5.1315-03. Predelno dopustimye kontsentratsii (PDK) khimicheskikh veshchestv v vode vodnykh obektov khozyaystvenno-pitevogo i kulturno-bytovogo vodopolzovaniya. Gigienicheskie normativy": utv. Glavnym gosudarstvennym sanitarnym vrachom RF 27.04.2003; Zaregistrirvano v Minyuste Rossii 19.05.22003 N 4550 = Resolution of the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation dated 30.04.2003 No. 78 (as amended on 07.13.2017) "On the introduction of GN 2.1.5.1315-03" (together with "GN 2.1.5.1315-03. Maximum permissible concentrations (MPC) of chemicals in the water of water bodies for economic, drinking and cultural water use. Hygienic standards", approved by Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation on 04.27.2003) (Registered with the Ministry of Justice of the Russian Federation 19.05.2003 N 4550)*. Available at: <https://www.chemanalytica.ru/f/gn2151315-03.pdf>.

6. Sycheva, L. P. Assessment of mutagenic effects of environmental factors by a multi-organ micronucleus test. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk = Bulletin of the Russian Academy of Sciences*. 2006; 7: 27–32.

7. Breen, N. E., Bonanno, J. A., Hunt, S., Grossman, J., Brown, J., Nolte, H., Rhyne, A. L. *On the half-life of thiocyanate in the plasma of the marine fish *Amphiprion ocellaris*: implications for cyanide detection*. Available at: https://www.researchgate.net/publication/332289398_On_the_half-life_of_thiocyanate_in_the_plasma_of_the_marine_fish_Amphiprion_ocellaris_implications_for_cyanide_detection.

8. Bhandari, R. K., Oda, R. P., Petrikovics, I., Thompson, D. E., Brenner, M., Mahon, S. B., Beberta, V. S., Rockwood, G. A., Logue B. A. Cyanide toxicokinetics: the behavior of cyanide, thiocyanate and 2-amino-2-thiazoline-4-carboxylic acid in multiple animal models. *Journal of Analytical Toxicology*. 2014; 38 (4): 218–225. doi 10.1093/jat/bku020.

9. Drąg-Kozak, E., Kuchta-Gładysz, M., Grzesiakowska, A., Łuszczek-Trojnar, E., Socha, M. Genotoxic Effect of Cadmium and Zinc in the Peripheral Erythrocytes of Prussian Carp (*Carassius Gibelio B.*). *Journal of Veterinary Research*. 2022; 66 (4): 619–628. doi 10.2478/jvetres-2022-0057.

10. Hallare, A. T., Ocampo, P., Balolong, K. Genotoxic stress induced by intensive aquaculture activities in Taal Lake (Philippines) on circulating fish erythrocytes using comet assay and micronucleus test. *Advances in Environmental Biology*. 2016; 10 (1): 273–283.

11. Hussain, B., Sultana, T., Sultana, S., Masoud, M. S., Ahmed, Z., Mahboob, S. Fish eco-genotoxicology: Comet and micronucleus assay in fish erythrocytes as in situ biomarker of freshwater pollution. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2018; 25: 393–398. doi 10.1016/j.sjbs.2017.11.048.

12. Iturburu, F. G., Simoniello, M. F., Medici, S., Panzeri, A. M., Menone, M. L. Imidacloprid Causes DNA Damage in Fish: Clastogenesis as a Mechanism of Genotoxicity. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 2018; 100 (6): 760–764. doi 10.1007/s00128-018-2338-0.

13. Olive, P. L., Banath, J. P. The comet assay: a method to measure DNA damage in individual cells. *Nature Protocols*. 2006; 1 (1): 23–29. doi 10.1038/nprot.2006.5.

14. Naik, A. P., Shyama, S. K., D'Costa, A. H. Evaluation of genotoxicity, enzymatic alterations and cadmium accumulation in Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* exposed to sub lethal concentrations of cadmium chloride. *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*. 2020; 2: 126–131. doi 10.1016/j.enceco.2020.07.006.

15. Ekere, N. R., Yakubu, N. M., Oparanozie, T., Ihedioha, J. N. Levels and risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in water and fish of Rivers Niger and Benue confluence Lokoja, Nigeria. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*. 2019; 17 (1): 383–392. doi 10.1007/s40201-019-00356-z.

Информация об авторе

Кузина Т. В. — кандидат биологических наук, доцент.

Information about the author

Kuzina T. V. — Candidate of Biological Sciences, Associate Professor.

Статья поступила в редакцию 21.11.2024; одобрена после рецензирования 26.11.2024; принята к публикации 30.11.2024.

The article was submitted 21.11.2024; approved after reviewing 26.11.2024; accepted for publication 30.11.2024.