

Micronúcleos: Actualización del papel en la inestabilidad genética, inflamación, envejecimiento y cáncer. Revisión panorámica.

Olivia Torres-Bugarín,^{1,2*} Luis Felipe Arias-Ruiz^{1,2,3}

¹Universidad Autónoma de Guadalajara, Unidad Académica de Ciencias de la Salud, Facultad de Medicina, Departamento de Medicina Interna II, Laboratorio de Evaluación de Genotóxicos. Zapopan, Jalisco, México. ²Universidad Autónoma de Guadalajara, Asociación Científica de Genética y Toxicología, (ACTG). Zapopan, Jalisco, México. ³Hospital y Fundación Médica Sur. Departamento de Anatomía Patológica. Tlalpan, Ciudad de México, México.

ABSTRACT

Micronuclei: Update on the role in genetic instability, inflammation, aging and cancer.

Genome integrity is essential for the health and continuity of species. Micronuclei are biomarkers of genotoxicity and protagonists of instability and genetic chaos. A micronucleus, or Howell-Jolly body, contains DNA independent of the nucleus, which originates from anaphase delay, whose membrane is unstable and prone to rupture without repair. The DNA contained in these structures can condense, replicate, divide, however, in an asynchronous manner to the nuclear genetic material, and can even undergo chromothripsis and reincorporate into the nucleus, which causes genetic chaos and thus cancer. On the other hand, if DNA from the micronucleus is released into the cytosol, it triggers a chronic inflammatory response, senescence and apoptosis. Thus, it is vital to timely detect individuals susceptible to genomic damage, which would allow prioritizing prophylactic care. Therefore, the objective was to make a descriptive review of the most used and innovative models in the micronucleus test and the cellular and molecular advances in the knowledge of these structures, as well as their health effects, to outline a perspective and propose them as a preventive alternative of easy execution in the detection of individuals vulnerable to genotoxic agents. We searched for articles in MEDLINE published in the years 2000-2023, which included the terms “micronuclei use and causes” and “micronuclei cause and consequences”. The final inclusion was determined after a review of the abstracts and subsequent analysis of the full text; articles were not included once the contributions were repetitive.

Historial del artículo

Recibido: 02 nov 2022

Aceptado: 15 mar 2023

Disponible en línea: 1 mayo 2023

Palabras clave

Micronúcleos, genotoxicidad, inestabilidad genómica, caos genético, enfermedad crónico-degenerativa, respuesta inmune innata, senescencia.

Keywords

Micronuclei, genotoxicity, genomic instability, genetic chaos, chronic degenerative disease, innate immune response, senescence.

Copyright © 2023 por autores y Revista Biomédica.

Este trabajo está licenciado bajo las atribuciones de la *Creative Commons* (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

*Autor para correspondencia:

Dra. en C. Olivia Torres Bugarín, Profesor Investigador Titular. Laboratorio de Evaluación de Genotóxicos, Departamento de Medicina Interna II, Unidad Académica de Ciencias de la Salud, Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Guadalajara. Av. Patria 1201, Lomas del Valle, Zapopan, Jalisco, México. C.P. 45129
E-mail: olivia.torres@edu.uag.mx
<https://revistabiomedica.mx>.

RESUMEN

La integridad del genoma es esencial para la salud y la continuidad de las especies. Los micronúcleos son biomarcadores de genotoxicidad, y protagonistas de inestabilidad y caos genético. Un micronúcleo o cuerpo de Howell-Jolly, contiene DNA independiente del núcleo, éste se origina por retraso anafásico, cuya membrana es inestable y proclive a romperse sin reparación. El DNA contenido en estas estructuras puede condensarse, replicarse, dividirse; no obstante, de manera asincrónica al material genético nuclear, incluso puede sufrir de cromotripsis y reincorporarse al núcleo, lo cual provoca caos genético y con ello cáncer. Por otro lado, si el DNA del micronúcleo es liberado al citosol, desencadena la respuesta inflamatoria crónica, senescencia y apoptosis. Entonces, es vital detectar oportunamente a individuos susceptibles al daño genómico, lo cual permitiría priorizar la atención profiláctica. Por tanto, el objetivo fue hacer una revisión descriptiva sobre algunos de los modelos más empleados e innovadores en la prueba de micronúcleos y los avances celulares y moleculares, en el conocimiento de estas estructuras, así como sus efectos a la salud, para delinear una perspectiva y proponerlos como alternativa preventiva de fácil ejecución en la detección de individuos vulnerables a genotóxicos. Se buscaron artículos en MEDLINE publicados en los años 2000-2023, que incluían los términos “*micronuclei uses and causes*” y “*micronuclei causes and consequences*”. La inclusión final se determinó después de la revisión de los resúmenes y el posterior análisis del texto completo; se dejaron de incluir artículos una vez que fueron repetitivas las aportaciones.

INTRODUCCIÓN

La integridad del genoma y su herencia fiel de la célula progenitora a las células hijas es esencial para el correcto funcionamiento y desarrollo celular, para mantener la salud e incluso la continuidad de las especies; para salvaguardarla la célula cuenta con diversos y complejos sistemas para detectar, reparar o eliminar los errores. Sin embargo, estos mecanismos no son infalibles, sumado a la continua exposición

a genotóxicos medioambientales o intracelulares. Estos daños a menudo, silenciosamente, alteran la estabilidad del material genético y para cuando es evidente el daño es irreversible (1-3). En ocasiones, la genotoxicidad no es letal y permiten la supervivencia celular y en subsecuentes divisiones podría conducir a cáncer o a otras patologías. Entonces, el dilema es identificar oportunamente a individuos susceptibles al daño genotóxico y por ello propensos a problemas oncológicos, al inicio o aceleramiento de enfermedades crónico-degenerativas o envejecimiento prematuro. Por ello es apremiante contar con biomarcadores de fácil ejecución y relativamente económicos que permitan identificar oportunamente a las personas vulnerables. Por su parte, los micronúcleos son ampliamente utilizados como biomarcadores de efecto, exposición y susceptibilidad a insultos genéticos (Figura 1) y son una oportunidad, ya que permiten identificar a personas altamente susceptibles a daño citogenético. Los micronúcleos son estructuras citoplasmáticas con membrana que contienen fragmentos o cromosomas completos que espontáneamente o por causa principalmente de agentes clastógenos o aneuploidógenos, quedaron fuera del núcleo durante la mitosis. Éstos son raros en las células sanas, pero frecuentes en patologías benignas, malignas y envejecimiento (1-3). Por ello, la prueba de micronúcleos se utiliza de forma rutinaria *in vitro* e *in vivo*, -en campo o laboratorio- para detectar inestabilidad genómica y la exposición a genotóxicos, mutagénicos, cancerígenos y teratogénicos (Tabla 1) (2-30). Los micronúcleos, conocidos en hematología como cuerpos de Howell-Jolly, se forman por acción de alteraciones al metabolismo, enfermedades crónico-degenerativas, envejecimiento, fármacos, déficit o exceso de nutrientes, estilos de vida o medio ambiente, entre otros (31). Para su estudio se cuenta con múltiples aplicaciones en amplia gama de tejidos, organismos y modelos (2-30), y la Organización para la Cooperación y el Desarrollo (OECD) para su ejecución adecuada estableció los lineamientos (31).

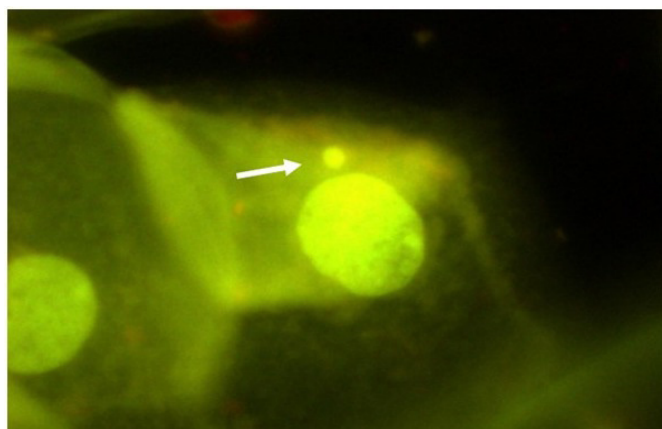


Figura 1. Microfotografías de mucosa oral con micronúcleo (Flecha blanca). Teñida con acridina naranja, amplificación óptica de 100x con Microscopio Carl Zeiss IVFLAxiostar Plus, filtros de fluorescencia de 450-490 nm.

En esta revisión se describen los avances en el conocimiento celular citogenético y molecular e implicaciones a la salud de los micronúcleos, para ello se realizó la búsqueda de publicaciones en MEDLINE las que incluían los términos “*micronuclei uses and causes*” (26 artículos) and “*micronuclei causes and consequences*” (291 publicaciones). La búsqueda se limitó a los años 2000 al 2023. Se evaluó la idoneidad del resumen y la inclusión final se determinó mediante la revisión del texto completo, se dejaron de incluir artículos una vez que fueron repetitivas las aportaciones básicas. También se muestran algunos de los modelos tradicionales e innovadores más utilizados en el ensayo de micronúcleos.

Tabla 1. Modelos clásicos o innovadores como biomonitores de genotoxicidad mediante la prueba de micronúcleos en diferentes organismos y tejidos.

		Modelo	
	Organismos o Tejidos	Aplicaciones o características	Referencias
<i>Eritrocitos de sangre periférica</i>			
Humanos	Adultos y niños	Esplenectomizados Más sensibles con y sin quimioterapia	(2, 3)
	Rata <i>Wistar</i>	Lactantes de madres expuestas a Rayos X	(4)
Animales de laboratorio		Compuestos tópicos	(5)
		Nanopartículas de Plata: Antiproliferativo, anticancerígeno y modulador	(6, 7)
	Ratón <i>Mus musculus</i>	<i>Nigella sativa</i> (superalimento) Efecto antigenotóxico	(8)
		Envejecimiento	(3)
Mamíferos: Domésticos o silvestres	Gato doméstico (<i>Felis domesticus</i>)	Biomonitor urbano Polidactilia y albinismo	(3) (9)
	Cerdo (<i>Sus scrofa</i>)	Cerdos jóvenes Detección de concentraciones bajas de genotóxicos	(3)
	Becerras (<i>Bos taurus</i>)	Vacunas recombinantes para la tuberculosis bovina	(10)
	Ardilla gris (<i>Sciurus aureogaster</i>)	Biomonitor urbano y silvestre Evaluación del envejecimiento	(3)
	Murciélago	Monitoreo de pesticidas en cultivos	(2, 3)

<i>Aves</i>	Perico atolero (<i>Aratinga canicularis</i>)	Silvestres	(2, 3)
	Alcón en cautiverio	Cautiverio	(11)
	Aves silvestres	Laboratorio	(12)
	Gorriones	Uso de otros bioindicadores: MN y prolongaciones nucleares	(13)
	Embriones de aves	Edad de los embriones Evaluación de metales pesados	(14)
Peces	Diversas especies	Monitoreo de agua dulce Factores ambientales Metales pesados Pesticidas	(3, 4, 15)
Reptiles	Cocodrilo (<i>Crocodylus moreletii</i>) Lagartija (<i>Tupinambis merianae</i>) Tortuga campanita (<i>Trachemys callirostris</i>)	Monitoreo de ambientes acuáticos y silvestres	(3, 4, 16)
Otro tejido			
	Rata	En células vaginales de ratas en proestro: Evaluación de fármacos	(17)
	<i>Ambystoma sp</i>	En la muda Colchicina y ciclofosfamida	(18)
Linfocitos humanos			
<i>Sangre</i>	<i>Periférica</i>	Sensibilidad a nanopartículas de plata. Estilos de vida Envejecimiento Índice de masa corporal Edad Sexo	(19, 20)
	<i>Cordon umbilical</i>	Contaminación ambiental	(21)
Mucosa bucal población humana en riesgo			
Factores de riesgo	Laboral	Dentistas y técnico dentales	(30)
	Estilos de vida	Anorexia y Bulimia	(29)
		Deportista: Uso de anabólicos	(23)
Procesos patológicos	Humanos: Niños	Obesidad	(24)
		Cáncer de pulmón	(22)
	Humanos: Adultos	Patología Oral: Periodontitis	(22)
		Diabetes	(25, 31)
		Obesidad	(25, 31)
		Enfermedad cardiovascular Deficiencia de micronutrientes	(25, 31)
Cáncer	Factores de riesgo Ca. cervicouterino	(26)	
	Mama	(27)	
	Quimioterapia Cisplatino + 5-FU Carboplatino + 5-FU	(28, 31)	
	Ifosfamida + epirubicina	(28, 31)	

Modelos más utilizados en la prueba de micronúcleos

La prueba es altamente versátil y sencilla, una vez tomada la muestra se dejan secar, se tiñen y analizan al microscopio (100x), entre los modelos validados se encuentran:

Cultivo de linfocitos y bloqueo de la citocinesis: Se requiere de sangre periférica, aislar linfocitos y cultivarlos, agregar citocalasina B para inhibir la citocinesis, para generar células binucleadas. El conteo de micronúcleos es sobre 1,000 linfocitos binucleados (19-20).

Eritrocitos de médula ósea: Aplicable en cualquier vertebrado, pero puede implicar el sacrificio del organismo, por ello se limita a especies de laboratorio. En el humano se aplica en muestras recuperadas de pacientes a quienes por indicaciones médicas se les tomó médula ósea. El ensayo en roedores está incluido en la batería de estudios toxicológicos exigidos por la OECD. Es fácilmente reproducible, para ello se lava el fémur con suero fetal bovino, la médula se centrifuga a 800-1,000rpm/10 min; se elimina el sobrenadante y con el botón se realiza el frotis (32-34).

Eritrocitos de sangre periférica: Es aplicable en cualquier vertebrado. Se pueden utilizar en eritrocitos policromáticos (EPC), para evaluar genotoxicidad y citotoxicidad (mielosupresión) a 24 a 48 horas y en eritrocitos normocromáticos (ENC), para exposición crónica o cuando la especie no presenta EPC en sangre periférica. Dependiendo de la especie se debe considerar la histología del bazo, ya que el sinusoidal elimina los eritrocitos micronucleados (EMN) de sangre periférica casi al 100%, como sucede en el humano; en contraste, el bazo no sinusoidal no es tan eficiente en retirar los EMN, por ello en sangre periférica se pueden observar altas frecuencias de EMN espontáneos, como en el ratón. La prueba de EMN en sangre periférica requiere de solo unas gotas de sangre, hacer dos frotis (el de trabajo y el de respaldo) el conteo es sobre 10, 000 eritrocitos totales (2-16).

Células epiteliales exfoliadas (oral —mejillas, labios, encías, lengua—, bronquios, cérvix y vejiga): Es aplicable en humano, rata, aves y murciélagos,

entre otros, la obtención de la muestra es de fácil acceso, es mínimamente invasiva y de costo bajo (1, 35-38).

Epitelio oral: Este epitelio es estratificado no queratinizado, lo que facilita la penetración del colorante. Para la colecta de la muestra se hace un suave raspado oral ya sea con un portaobjetos o con un cepillado bronquial (del que se recuperan las células en un buffer y centrifuga), posteriormente se realiza el extendido (1, 35, 36).

Epitelio nasal: La colecta de células es mediante un cepillo bronquial y se procesa igual que mucosa oral (35, 36).

Epitelio de cérvix: Aplicable en humano, rata y otros. En humanos la muestra se toma mediante cepillado y en ratas en proestro mediante un lavado vaginal. Lugo se hace el extendido (17, 37).

Epitelio de vejiga: Se debe colectar la primera orina del día, se centrifuga y con el botón se hace el frotis (38).

Propiedades citogenéticas y moleculares de los micronúcleos

El uso de micronúcleos es amplio y frecuente, no obstante, los mecanismos de la formación y disolución no están bien esclarecidos (39-43). Los micronúcleos son pequeños cuerpos de cromatina extranucleares rodeados por membranas sin conexión con el núcleo primario, por ello se denominan micronúcleos (1, 39-41). Tradicionalmente se consideran biomarcadores de daño al DNA, no obstante, se pensaba que eran estructuras pasivas resultado de este daño, debido a que el impacto inicial de la formación de micronúcleos es un desequilibrio o pérdida de material genético en las células hijas resultantes, ahora se conocen otras consecuencias derivadas de este proceso (40), recientemente se descubrió que los micronúcleos participan activamente en el inicio y desarrollo del cáncer e incluso son desencadenantes de otras patologías crónico-degenerativas, principalmente autoinmunes (39-41).

El núcleo y los micronúcleos son estructuras independientes, por ello el micronúcleo sufre de alteraciones de la membrana, desincronización del ciclo celular y falla en la reparación del DNA. En

general, las características de los micronúcleos son muy heterogéneas (Tabla 2) (41-48), ya que varían en tamaño, condensación cromática, tipo y extensión del daño genómico; además de presencia, ausencia o funcionalidad del cinetocoro y lámina. Esta última determina la expresión del DNA micronuclear y, su integridad, la liberación del DNA al citoplasma y algunas de las consecuencias biológicas (44, 49). Por otro lado, cuando la célula entra a mitosis, los micronúcleos que no son eliminados podrían sufrir cromosomogénesis y posteriormente reintegrarse al núcleo e inducir caos genético, o provocar apoptosis, autofagia o senescencia (48, 49).

Tabla 2. Características de los micronúcleos

Características	Referencias
<p>Membrana</p> <ul style="list-style-type: none"> - Alteraciones estructurales y conformacionales: Muy frecuentes - Proteínas principales y auxiliares: Alteradas - Laminas B1 (cruciales para la integridad): El 30-50% ausentes, cuando están presentes en concentraciones y estructura modificadas, y permite transcripción y replicación. - Laminas-A/C (confiere rigidez mecánica): Gran heterogeneidad y mal funcionamiento - Proteínas receptor de la envoltura nuclear: Mayor concentración - Emerina: Disminuida y alterada - Poro nuclear: Disminución de proteínas, su estructura mal conformada y transporte sin control 	(40, 45, 46)

Cromatina	<ul style="list-style-type: none"> - Deriva principalmente de daño al uso mitótico o de roturas de dobles hebra no reparada o mal reparada - Compactación: Mayor grado, en comparación con la nuclear. - Condensación: Asincrónica, se anticipa a los cromosomas nucleares (40, 45, 47) - Histonas: Pérdida de acetilación - El puente de cromatina tiende a generar micronúcleos sin lámina y con cromatina condensada
Citosol	- Alta concentración de CGAS (39)
Proteosoma	<ul style="list-style-type: none"> - Activos o ausentes - Subunidades de procesamiento: Deficientes (40) - Factores del sistema de ubiquitina: Defectuosos
Replicación, reparación, transcripción y expresión génica	<ul style="list-style-type: none"> - Replicación: Retardada - Reparación: Reducida, defectuosa, asincrónica o ausente. - Cromosomas: Mal replicados, se distribuyen de forma desigual entre las células hijas, dan lugar a asimetría en el número de copias. - Translocaciones y reordenamientos cromosómicos: Múltiples - Reclutamiento de componentes de la helicasa de DNA replicativa: Reducción significativa (47, 48) - Factor de iniciación de la replicación CDT1: Reducción significativa - Transcripción; Solo si contiene cromosomas enteros o derivados de dobles minutos - Lámina B <ul style="list-style-type: none"> Positivos: Son replicantes y se expresan Negativos: No replicantes y pueden perderse

Importancia de la fragilidad de la membrana micronuclear

Aunque las membranas nucleares y micronucleares residen en la misma célula, son notablemente diferentes. En las células sanas y jóvenes las rupturas espontáneas de la membrana nuclear son bajas y rápidamente reparadas, pero son más frecuentes en las células viejas (40 %) y tumorales (60 %) (41-44). Empero, la membrana micronuclear, desde su conformación es propensa a rupturas espontáneas y sin posibilidad de reparación, esto define el destino del micronúcleo y el de la célula que lo contiene (40-43). La membrana del núcleo mantiene aislado al DNA, regula el acceso entre el núcleo y el citosol (40, 42-44). En contraste, las características distintivas de la membrana micronuclear es que es una estructura espacialmente aislada -hecho que contribuye a su inestabilidad-, su organización es muy heterogénea, sus componentes proteicos principales y asociados están cuantitativa, estructural, conformacional, bioquímica y funcionalmente alterados (40-46). La membrana nuclear se conforma por las membranas nuclear externa (MNE) e interna (MNI); la MNE se continua con el retículo endoplásmico y la MNI origina la lámina. Por su parte, la lámina es una red de filamentos intermedios A, B (B1 y B2) y C a los que se ensamblan los poros y confiere fuerza, flexibilidad y rigidez al núcleo, además interacciona con la cromatina a la cual ordena y determina su posición, replicación y división celular, así como la expresión génica (40, 43-46). En cambio, las membranas micronucleares son propensas a la ruptura por falta de la integridad de las láminas; la lámina-B1 -crucial para la integridad de la membrana- está ausente en el 30-50% y de los casos, en los casos en los que está presente, permite la transcripción y replicación del DNA: las láminas A/C, presentan gran heterogeneidad -fundamental en la rigidez mecánica de la membrana-. Incluso hay defectos en la proteína transmembrana, denominada *emerina*, situada en la MNI, cuyo papel es fundamental en el ensamblaje y estabilidad del núcleo y regulación de la expresión génica. Además, en el micronúcleo, las proteínas de los poros están disminuidas, ausentes o estructuralmente alteradas, lo cual repercute

en el transporte sin control de sustancias hacia dentro o fuera de este (45-47). Por lo tanto, por la fragilidad membranal, la ruptura de esta y la subsecuente liberación del DNA al citoplasma es inexorable, hecho trascendental en las respuestas inmunes aberrantes, muerte celular, senescencia, tumorigénesis y cromosomas aneuploides la que incluye tres fenómenos cromotripsis (múltiples reordenamientos genéticos), cromosomas aneuploides (duplicación del material genético) y cromoplexia (múltiples traslocaciones en varios cromosomas simultáneamente) (46, 47). Consecuentemente, identificar y establecer el origen de los micronúcleos es crítico en la prevención de amplia gama de patologías (46, 47).

Destino de los micronúcleos

Aunque los micronúcleos son estructuras pequeñas, el impacto es de gran magnitud, y ello depende del desenlace de estas estructuras y de las células donde residen; al día de hoy se conocen diversos posibles destinos (Figuras 2). Una vez formado el micronúcleo, en las mitosis subsecuentes, estos pueden persistir en el citoplasma, ser extruidos, ser incorporados en exosomas por la vía autofágica o reincorporarse al genoma del núcleo principal (40). El destino del micronúcleo depende del tipo de célula (sana o tumoral), la fase del ciclo celular en que se formó, ya sea en interfase o fase M, el mecanismo de acción del agente inductor (clastogénico, aneugénico, rezagos anafásicos, puentes de cromatina o dobles minutos, en este último, los micronúcleos no cuentan con lámina), tipo y grado de daño del genoma, modificación de histonas, estado del cinetocoro y telómeros, así como la integridad de la envoltura micronuclear. En el caso de que la célula micronucleada no sobreviva no supone riesgo, pero si sobrevive, puede seguir diferentes caminos (39-47):

- Persistir y frenar la mitosis, o morir prematuramente.
- Extrusión, al igual que los núcleos eritrocitarios de mamíferos.
- Degradación;
 - a) Fragmentación apoptótica restringida al genoma micronuclear.

b) Autofagia mediante enzimas lisosomales o dependiente de CGAS.

- Liberación del DNA al citoplasma. Esto desencadena vías de señalización que originan inflamación, envejecimiento y muerte celular.

- Durante la mitosis reincorporación del DNA micronuclear al núcleo principal, lo cual podría conducir a las siguientes posibilidades:

a) Que el material sea inactivo, sin consecuencia y la célula seguirá su curso.

b) Que el DNA recién incorporado regule apoptosis prematura, autofagia o senescencia.

c) Que el DNA del micronúcleo sufra de cromosomas y provoque inestabilidad genómica y caos genético, que infaliblemente conllevará a la malignización celular.

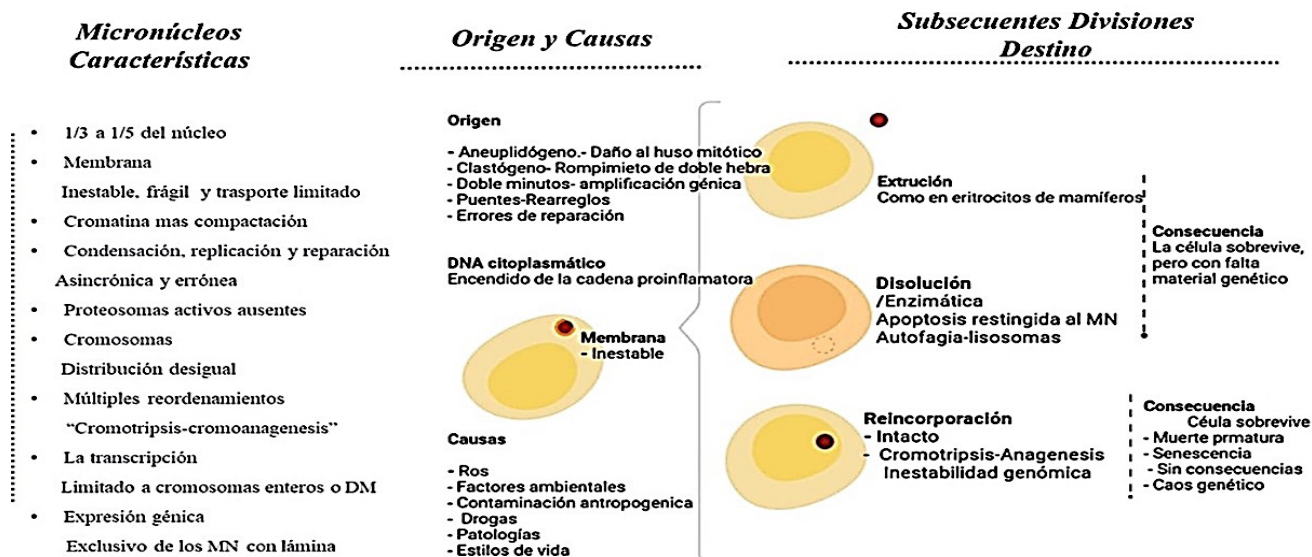


Figura 2. Micronúcleos: Origen, causas, destino y consecuencias

Respuesta inmune ante los micronúcleos

La generación de micronúcleos bajo estrés genotóxico es una característica de la inestabilidad genómica, y muy recientemente, también se ha descubierto que los micronúcleos desencadenan respuestas inmunitarias innatas; es importante destacar que existe relación directa entre la ruptura de la envoltura micronuclear y la activación del sistema inmunitario innato (39-41). El DNA se debe mantener resguardado en el núcleo o mitocondria; sin embargo, es posible la presencia de ácidos nucleicos extraños en el citosol tras la infección por virus, bacterias, retrotransposones o por la pérdida de la envoltura nuclear, mitocondrial o micronuclear (50). Para neutralizar al invasor y evitar la detonación de la respuesta inmune, las exonucleasas citoplasmáticas TREX1 (regulador crítico de la detección del DNA citosólico y preventivo de la autoinmunidad), eliminan al DNA mal ubicado y mantienen los niveles por debajo del umbral de activación de la

cascada cGAS-STING (cGAS, monofosfato de diguanilato cíclico; STING proteína estimulador de genes de interferón). Este complejo es uno de los principales participantes en la inmunidad innata y sensor del DNA de doble cadena citosólico y del DNA micronuclear, incluso detecta retrasos anafásicos. cGAS es un receptor autofágico para la eliminación de micronúcleos y amortiguar las respuestas inmunitarias innatas mediadas por micronúcleos (39). Entonces este complejo actúa en el caso de que los niveles de DNA citoplasmático superen el umbral de activación, lo cual puede resultar por el estado proinflamatorio originado por el aumento de micronúcleos derivados del estrés oxidativo, lo cual forma el ciclo vicioso de inflamación-micronúcleos-cromoanagenesis y la perpetuación de la respuesta inmune aberrante (Figura 3). De tal suerte que la incapacidad del sistema inmunitario para distinguir el DNA propio y las proteínas nucleares asociadas a los antígenos extraños, el estado inflamatorio

severo, la senescencia celular (la que recluta células inflamatorias), la inestabilidad y el caos genético, dan lugar a enfermedades autoinmunes y autoinflamatorias, envejecimiento acelerado y neoplasias malignas, procesos que aumentan con la edad y que son dependientes del género (39-41, 51).

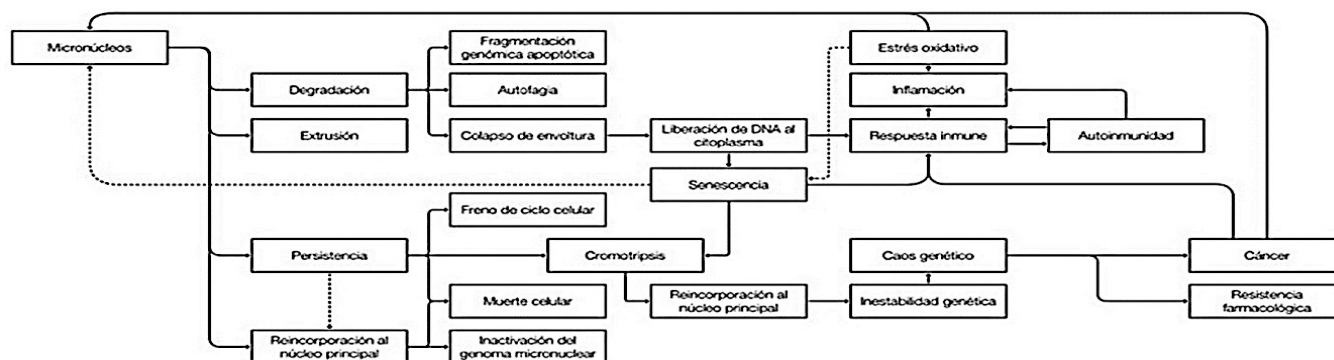


Figura 3. Ciclo vicioso inflamación-micronúcleo-caos genético

Tras la unión de cGAS al DNA, cGAS se activa para generar cGAMP a partir de guanosina trifosfato (GTP) y adenosina trifosfato (ATP); es entonces que cGAMP actúa como segundo mensajero y se une y activa a STING (39, 40). Por su parte STING se transloca del retículo endoplásmico al compartimento intermedio retículo endoplásmico-Golgi para activar los efectores TBK1 (TANK binding kinase 1) e interferón 3 (INF) para producir interferón de tipo I. El IFN I actúa como regulador crítico de la inmunidad innata al inducir la expresión de una serie de genes estimulados por interferón (ISG). cGAS-STING actúa a través la expresión de citocinas proinflamatorias como interferones (INF) tipo 1 e interleucinas (IL)-6 y 8 (40).

Entonces, la presencia de DNA citoplasmático desencadena la respuesta inmune innata por tres principales receptores, tipo Toll 9 (TLR9), proteína AIM2 inducible por interferón y cGAS. Estos receptores para la detección de DNA se expresan principalmente en las células sanguíneas e inmunitarias, con excepción de cGAS la que se expresa en todas las líneas celulares ya sea por DNA extraño, propio o a secuencias específicas (52). Estos sensores de DNA actúan diferentes en cada línea celular, pero cGAS actúa como nucleotidiltransferasa, y se une al DNA de doble cadena e inicia la expresión de genes inflamatorios,

induce lisis de patógenos invasores o DNA propio. Independientemente de las secuencias de DNA o los tipos de células, cGAS se acopla a la detección de patógenos mediante la inducción de citocinas e inicia la cascada de respuesta mediada por STING contra DNA desnudo, propio o ajeno, lo cual vincula la inestabilidad del genoma con la respuesta inmunitaria innata.

cGAS es un receptor para la eliminación autofágica selectiva de micronúcleos, y amortigua la vigilancia y la respuesta inmunitaria innata (39, 40). Al unirse cGAS a la cromatina libre induce la expresión de mediadores inmunitarios proinflamatorios, entre ellos los interferones de tipo I y otros genes proinflamatorios, cataliza la síntesis de guanosín monofosfato cíclico-adenosín monofosfato (cGAMP, 2'-5'-cGAMP de 2-5'-cGAMP) a partir de guanosina trifosfato (GTP) y adenosina trifosfato (ATP); luego, cGAMP funciona como un segundo mensajero que se une y activa las citocinas helicoidales de membrana del retículo endoplásmico de STING (39, 40). Estas a su vez activan las respuestas génicas inflamatorias mediante la activación de la cinasa 1 de unión a TANK (TBK1), lo que induce la transcripción y la secreción de INF- α y otras citocinas inflamatorias. Incluso, la detección del DNA a través de la vía cGAS-STING da lugar a la activación de NF- κ B a

través de IKK, que conduce a la transcripción de IL-6 y el factor de necrosis tumoral (TNF) (43, 44). Así, la vía cGAS-STING juegan un papel crucial en las patologías relacionadas con procesos inflamatorios, enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas, enfermedad inflamatoria intestinal, síndrome metabólico como diabetes mellitus tipo 1, lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide y psoriasis, entre otras (43, 44, 50).

Micronúcleos en enfermedades autoinmunes (EAI)

El aumento de la frecuencia de micronúcleos se asocia a muchas enfermedades, pero el mecanismo subyacente a la regulación de la homeostasis de los micronúcleos sigue siendo en gran parte desconocido (39). Particularmente, las EAI, se caracterizan por la respuesta inmunitaria a componentes antigénicos del propio anfitrión, asociado a estrógenos y la presencia de dos cromosomas X (por ello más frecuente en mujeres), y a la interacción del sistema inmune anómala con factores genéticos, epigenéticos, ambientales, infecciosos y estilo de vida. En este contexto los micronúcleos surgen como otro protagonista en la inducción de estas patologías, debido al ciclo inflamación-micronúcleo-cromotripsis-caos genético (Figura 3).

Se debe destacar que los pacientes con EAI al compararlos con sujetos sanos son más vulnerables a alteraciones genómicas, ya que muestran mayor daño al DNA, intercambio de cromátides hermanas (ICH) y alta frecuencia de células micronucleadas e inestabilidad genómica en linfocitos y células epiteliales (22, 38); como ocurre en pacientes con diabetes mellitus tipo 1 y 2 (22, 53), tiroiditis de Hashimoto y Graves (50, 53), esclerosis múltiple (54) o Behçet, en cuyos pacientes el daño es mayor durante el periodo activo, donde presentan altas concentraciones de especies reactivas de oxígeno y malondialdehído, disminución de glutatión peroxidasa (GSH-Px) y superóxido dismutasa en plasma (42).

Patologías asociadas a la inestabilidad genómica

Las consecuencias de insultos al DNA no se limitan al cáncer o enfermedad autoinmune,

también implica Síndromes de origen genético de inestabilidad genómica, enfermedades neurodegenerativas y reproductivas, entre otros trastornos. Entonces, la inestabilidad genómica y la liberación del DNA propio al citoplasma conlleva importantes consecuencias con diversos resultados clínicos;

Cáncer: Los micronúcleos son frecuentes en células tumorales y la micronucleogénesis está directamente involucrada en los procesos de tumorigénesis, como causa y consecuencia (50). Se sabe que se requieren de múltiples cambios genéticos para que se perpetúe un cáncer: desde el origen, progresión y la resistencia a fármacos. En este sentido, como consecuencia de la continua formación de micronúcleos, estos promueven la acumulación de más alteraciones a nivel genómico que aceleran el proceso tumoral, de tal manera que las alteraciones genómicas no sólo incrementan la diversidad genética tumoral, sino que también los eventos pueden aumentar el grado de desdiferenciación y originar células malignas incluso más agresivas que las líneas primarias (41, 55, 56). Así, el estrés, la inestabilidad y caos genético caracterizan a los eventos cancerosos, como por ejemplo al adenocarcinoma de páncreas, mieloma múltiple o mama. También, en los tumores sólidos los que presentan múltiples alteraciones cromosómicas no específicas y especialmente la alta incidencia de micronúcleos (38), en el cáncer de mama, donde además otros biomarcadores de inestabilidad y citotoxicidad (células binucleadas, núcleos lobulados, cariorexis, y cariólisis) también se incrementan (27), al igual que en las displasias epiteliales y carcinoma oral de células escamosas (57) y cáncer de cabeza y cuello (58), entre muchos otros.

Los ensayos de micronúcleos pueden ayudar a la detección temprana de lesiones premalignas y malignas, mejorando así la supervivencia y reduciendo la morbilidad asociada al tratamiento. Por tanto, el índice de micronúcleos es un método factible y económico para el cribado de poblaciones en alto riesgo.

Síndromes genéticos de inestabilidad genómica: Cuyo distintivo es alta predisposición al cáncer,

inmunodeficiencia, alteraciones al ciclo celular, ICH, puentes, roturas de DNA, alta frecuencia de micronúcleos e inestabilidad genómica.

- Anemia de Fanconi: Insuficiencia progresiva de médula ósea y carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (59, 60).

- Síndrome de Bloom (mutaciones en el gen de la enzima helicasa o ausencia del gen RMI2): trastorno con deficiencia de crecimiento (61).

- ICF (Síndrome de inmunodeficiencia, inestabilidad de la región centromérica y anomalías faciales) presenta anomalías faciales, retraso mental, defectos neurológicos y reducción variable de inmunoglobulina sérica (62).

- Ataxia telagencia: desorden neurodegenerativo, progresivo, ataxia cerebral temprana, apraxia oculomotora, telangiectasias oculares, disartria, inmunodeficiencia y alto riesgo de cáncer (leucemia y linfoma), además alta sensibilidad a la radiación ionizante e inestabilidad genómica, la cual es tres veces más alta (63).

- Síndrome de Gorlin, o síndrome de carcinoma basocelular *naevo*: alta inestabilidad genómica (64).

- Síndrome de Li-Fraumeni (mutación en gen supresor tumoral p53): Tumores en múltiples órganos a edad temprana (65).

- Síndrome de Werner o progeria: Predisposición a cáncer y deterioro progresivo de tejidos mesenquimales similar al envejecimiento prematuro (66).

Trastornos neurológicos: Estos también presentan alta frecuencia de inestabilidad genómica, como ocurre en ataxia telagencia (67), enfermedad de Parkinson y Alzheimer (68). Aunque algunos estudios muestran que, para ver el daño genotóxico, es determinante el tejido estudiado (69). Es importante señalar que todos estos grupos de pacientes consistentemente presentan mayor daño genotóxico que los individuos de referencia; todo ello apoya la hipótesis de que estos eventos de inestabilidad genómica, roturas de la cadena de DNA y el DNA citoplasmático originan mayor tasa de envejecimiento y neurodegeneración (70, 71).

Problemas reproductivos: La presencia de células micronucleadas es mayor en mujeres con síndrome

de ovario poliquístico (72), en complicaciones del embarazo -abortos espontáneos, restricción del crecimiento intrauterino y preeclampsia (73, 74). En varones, la presencia de micronúcleos, tanto en linfocitos como en espermatozoides, existe riesgo de infertilidad, y deterioro de la capacidad reproductiva (75).

Patologías crónico degenerativas: También en este grupo de patologías la frecuencia de micronúcleos es considerablemente alta, entre ella las renales (con y sin terapia de sustitución renal) (75, 76) y las cardiovasculares y metabólicas (obesidad y dislipidemia). Más aún, a largo plazo, los micronúcleos son biomarcador predictivo de mortalidad cardiovascular en sujetos supuestamente sanos, así como de eventos cardiovasculares en enfermedad coronaria conocida (39,76-78).

Otras Patologías: En el síndrome de Down (58, 77) y acromegalia (78), la frecuencia de micronúcleos es proporcional a la edad (31), pero también se encuentra alta frecuencia en enfermedad inflamatoria intestinal pediátrica (79), en el síndrome de microcefalia y baja estatura (80).

CONCLUSIONES

Los micronúcleos con pequeños cuerpos citoplasmáticos descubiertos hace casi 50 años, que tradicionalmente han sido utilizados como biomarcadores de genotoxicidad e inestabilidad genómica; sin embargo, aún siguen despertando gran interés y generando muchas preguntas, entre ellas si son una causa o consecuencia, o ambas. Recientemente se ha descubierto que los micronúcleos en situaciones de estrés a través de la cromotripsis y el caos genómico son mecanismo común para la evolución del cáncer, ya que estos participan activamente en la rápida y masiva reorganización del genoma, al inducir la acumulación de las múltiples mutaciones requeridas en la tumorigénesis. Si estas estructuras se rompen liberan el DNA al citoplasma y es entonces que desempeña un papel activo en la senescencia y despertar de respuestas inmunes aberrantes, lo que los hace participes claves en la génesis y el desarrollo de neoplasias malignas y enfermedades

degenerativas, inflamatorias y autoinmunes. Por tanto, los micronúcleos en mucosa oral y linfocitos, son eficientes biomarcadores con gran utilidad clínica como predictores del riesgo y pronóstico de enfermedades. La frecuencia de micronúcleos es sensible a los cambios endógenos -curso de la enfermedad, inflamación, estrés oxidativo, tumorigénesis, envejecimiento, etc.- y exógenos -estilo de vida, terapias farmacológicas, radiación, etc. Esta propiedad, aunado con su gran eficacia y eficiencia, hacen a la prueba de micronúcleos, una herramienta emergente con valor predictivo en el diagnóstico preventivo -en personas sanas, pero vulnerables-, inicial y pronóstico -en personas con patologías en evolución. La prueba de micronúcleos ofrece la oportunidad de implementar medidas preventivas poblacionales al detectar riesgos e identificar agentes protectores y nocivos, para gestionar políticas de salud pública.

Declaración de conflicto de intereses: No declarado

Financiación: Propio de los investigadores

Aportaciones de los autores: OTB: Concepción, redacción y corrección del manuscrito.

LFAR: Redacción y corrección del manuscrito

REFERENCIAS.

1. Torres-Bugarín O, Zavala CM, Nava A, Flores GA, Ramos IM. Potential uses, limitations and basic procedures of Micronuclei and nuclear abnormalities in buccal cells. *Dis Markers*.2014; (2014) 956835. <https://doi.org/10.1155/2014/956835>.
2. Arellano-García ME, Torres-Bugarín O, García-García MR, García-Flores D, Toledano-Magaña Y, Sanabria-Mora CS, *et al*. Genomic Instability and Cyto-Genotoxic Damage in Animal Species. In: *Updates on Veterinary Anatomy and Physiology*. Edited by Catrin Sian Rutland and Samir A.A. El-Gendy. Ed. Intech Open. 2021 Sep; 1-19. DOI: 10.5772/intechopen.99685. <https://www.intechopen.com/chapters/78242>
3. Torres-Bugarín O, Carillo Gómez CS, Armijo Gómez JA. Evaluación de genotóxicos ambientales mediante la prueba de micronúcleos en sangre periférica. En: *Ecología y Salud de la fauna silvestre Avances de investigación. Colección Investigadores. UJED. Ed. 2. 2019.* https://issuu.com/editorialujed/docs/ecologia_y_salud_digital
4. Solórzano-Meléndez A, Rodrigo-Alarcón R, Gómez-Meda BC, Zamora-Pérez AL, Ortiz-García RG, Bayardo-López LH, *et al*. Micronucleated erythrocytes in peripheral blood from neonate rats fed by nursing mothers exposed to X-rays. *Environ Mol Mutagen*. 2021; Mar; 62(3):177-184. <https://doi.org/10.1002/em.22426>.
5. Naranjo-Vázquez E, Sánchez-Parada MG, Gómez-Meda BC, Zamora-Perez AL, Gallegos-Arreola MP, González-Santiago AE, *et al*. Effect of High-Dose Topical Minoxidil on Erythrocyte Quality in SKH1 Hairless Mice. *Animals (Basel)*. 2020 Apr; 23;10(4):731. <https://doi.org/10.3390/ani10040731>.
6. Valenzuela-Salas LM, Girón-Vázquez NG, García-Ramos JC, Torres-Bugarín O, Gómez C, Pestryakov A, *et al*. Antiproliferative and Antitumour Effect of Nongenotoxic Silver Nanoparticles on Melanoma Models. *Oxid Med Cell Longev*. 2019 Jul 25;2019:4528241. <https://doi.org/10.1155/2019/4528241>.
7. Castañeda-Yslas IY, Torres-Bugarín O, García-Ramos JC, Toledano-Magaña Y, Radilla-Chávez P, Bogdanchikova N, *et al*. AgNPs Argovit™ Modulates Cyclophosphamide-Induced Genotoxicity on Peripheral Blood Erythrocytes *In Vivo*. *Nanomaterials (Basel)*. 2021 Aug 18;11(8):2096. <https://doi.org/10.3390/nano11082096>.
8. Franco-Ramos RS, López-Romero CA, Torres-Ortega H, Oseguera-Herrera D, Lamoreaux-Aguayo JP, Molina-Noyola D, *et al*. Evaluation of Anti-Cytotoxic and Anti-Genotoxic Effects of *Nigella sativa* through a Micronucleus Test in BALB/c Mice. *Nutrients*. 2020 May 6;12(5):1317. <https://doi.org/10.3390/nu12051317>.
9. Arellano-García ME, Izaguirre-Pérez ME, Molina-Noyola LD, Castañeda-Yslas IY, Luna-Vázquez-Gómez R, Torres-Bugarín O. Genetic Instability of a Polydactyl Hypopigmented Cat With Squamous Cell Carcinoma-A Case Report. *Front Vet Sci*. 2020 May ;12(7):258. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00258>.
10. Ramos-Ibarra ML, Villa-Castellanos J, Barba-León J, Flores-Valdez M, Zavala-Aguirre JL, Torres Bugarín O. Estudio exploratorio de la genotoxicidad de vacunas recombinantes para tuberculosis bovina. *Abanico Vet*. 2020;10 (1):1-14. <https://doi.org/10.21929/abavet2020.8>.
11. Stocker J, Morel AP, Wolfarth M, Dias JF, Niekraszewicz LAB, Cademartori CV, *et al*. Basal levels of inorganic elements, genetic damages, and hematological values in captive Falco peregrinus. *Genet Mol Biol*. 2022 May;27;45(2):e20220067. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2022-0067>
12. Silveira EDR, Benvindo-Souza M, Assis RA, Dos Santos CGA, de Lima Amorim NP, *et al*. Micronucleus and different nuclear abnormalities in wild birds in the Cerrado, Brazil. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2022 Feb

- ;29(10):14279-14287. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-16845-4>.
13. Pereda-Solís M, Guillén-González ICS, Ramírez-Carreño K, Martínez-Guerrero JH, Sierra-Franco D, Salazar-Borunda B, Torres-Bugarín O. Leukocyte profile, micronuclei, and erythrocytic nuclear protrusions in sparrows (*Centronyx bairdii* and *Ammodramus savannarum*) of the chihuahuan desert during the winter. *Agrociencia* 2022 Ene- Feb; 56:46-60. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i1.2710>.
 14. Ceyca-Contreras JP, Castillo-Guerrero JA, Torres-Bugarín O, García-Hernández J, Betancourt-Lozano M. Micronuclei in embryos of eight seabird species in northwestern Mexico: a potential biomarker of exposure to coastal pollution *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2023.503615. EN PRENSA <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2023.503615>.
 15. Flores-Galván MA, Daesslé LW, Arellano-García E, Torres-Bugarín O, Macías-Zamora JV, Ruiz-Campos G. Genotoxicity in fishes environmentally exposed to As, Se, Hg, Pb, Cr and toxaphene in the lower Colorado River basin, at Mexicali valley, Baja California, México. *Ecotoxicology*. 2020 May; 29(4):493-502. <https://doi.org/10.1007/s10646-020-02200-9>.
 16. Zamora-Perez AL, Luna-Aguirre J, Zúñiga-González GM, Torres-Bugarín O, Torres-Mendoza BM, Gallegos-Arreola MP, et al. Micronuclei and Nuclear Buds Induced by Cyclophosphamide in *Crocodylus moreletii* as Useful Biomarkers in Aquatic Environments. *Animals (Basel)*. 2021 Nov 7; 11(11):3178. <https://doi.org/10.3390/ani11113178>.
 17. Zúñiga-González G, Gómez-Meda BC, Zamora-Perez A, Ramos-Ibarra ML, Batista-González CM, Espinoza-Jiménez S, et al. Induction of micronuclei in proestrus vaginal cells from colchicine- and cyclophosphamide-treated rats. *Environ Mol Mutagen*. 2003;42(4):306-10. <https://doi.org/10.1002/em.10202>.
 18. Zamora-Perez A, Zúñiga-González GM, Gómez-Meda BC, Ramos-Ibarra ML, Batista-González CM, Torres-Bugarín O. Induction of micronucleated cells in the shed skin of salamanders (*Ambystoma* sp.) treated with colchicine or cyclophosphamide. *Environ Mol Mutagen*. 2004; 44(5):436-40. <https://doi.org/10.1002/em.20074>.
 19. Ruiz-Ruiz B, Arellano-García ME, Radilla-Chávez P, Salas-Vargas DS, Toledano-Magaña Y, Casillas-Figueroa F, et al. Cytokinesis-Block Micronucleus Assay Using Human Lymphocytes as a Sensitive Tool for Cytotoxicity/Genotoxicity Evaluation of AgNPs. *ACS Omega*. 2020 May; 21;5(21):12005-12015. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c00149>
 20. Santovito A, Santovito A, Gendusa C. Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes of healthy subjects living in Turin (North-Italy): contribution of body mass index, age and sex. *Ann Hum Biol*. 2020 Feb; 47(1):48-54. <https://doi.org/10.1080/03014460.2020.1714728>
 21. Sordo M, Maciel RJ, Salazar AM, Robles MR, Veloz MM, Pacheco LJ, et al. Particulate matter-associated micronuclei frequencies in maternal and cord blood lymphocytes. *Environ Mol Mutagen*. 2019 Jun ;60(5):421-427. <https://doi.org/10.1002/em.22275>
 22. Tadin A, Gavic L, Roguljic M, Jerkovic D, Zeljezic D. Nuclear morphological changes in gingival epithelial cells of patients with periodontitis. *Clin Oral Investig*. 2019;23(10):3749-3757. doi: 10.1007/s00784-019-02803-5.
 23. Torres-Bugarín O, Covarrubias BR, Zamora PA, Torres MB, García UM, Martínez SF. Anabolic androgenic steroids induce micronuclei in buccal mucosa cells of body builders. *BJSM*. 2007 Sep; 41: 592-596. <http://dx.doi.org/10.1136/bjsem.2006.032474>
 24. Idolo A, Grassi T, Bagordo F, Panico A, De Giorgi M, Serio F, et al. Micronuclei in Exfoliated Buccal Cells of Children Living in a Cluster Area of Salento (Southern Italy) with a High Incidence of Lung Cancer: The IMP. AIR Study. *Int J Environ Res Public Health*. 2018 Ags; 5;15(8):1659. <https://doi.org/10.3390/ijerph15081659>.
 25. Franzke B, Schwingshackl L, Wagner KH. Chromosomal damage measured by the cytokinesis block micronucleus cytome assay in diabetes and obesity - A systematic review and meta-analysis. *Mutat Res Rev Mutat Res*. 2020 Oct-Dic;786:108343. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2020.108343>.
 26. Flores-García A, Ruiz-Bernés S, Aguiar-García P, Benítez-Guerrero V, Valle-Solis M, Molina-Noyola L, et al. Micronúcleos y anomalías nucleares en células de mucosa bucal de mujeres mexicanas con factores de riesgo para cáncer cérvico-uterino: Estudio piloto. *Revista El Residente* 2018 Myo-Ags; 13(2): 56-61. <http://www.medigraphic.com/pdfs/residente/rr-2018/rr182c.pdf>.
 27. Flores-García A, Torres-Bugarín O, Salvador Velarde-Félix J, Rangel-Villalobos H, Zepeda-Carrillo EA, Rodríguez-Trejo A, et al. Micronuclei and other nuclear anomalies in exfoliated buccal mucosa cells of Mexican women with breast cancer. *J BUON*. 2014 Oct-Dec;19(4):895-9. <https://www.jbuon.com/archive/19-4-895.pdf>
 28. Torres-Bugarín O, Ventura-Aguilar A, Zamora-Perez A, Gómez-Meda BC, Ramos-Ibarra ML, Morga-Villela G, et al. Evaluation of cisplatin + 5-FU, carboplatin + 5-FU, and ifosfamide + epirubicine regimens using the micronuclei test and nuclear abnormalities in the buccal mucosa. *Mutat Res*. 2004 Aug; 31;565(1):91-101. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(03\)00163-3](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(03)00163-3)
 29. Torres-Bugarín O, Pacheco-Gutiérrez AG, Vázquez-Valls E, Ramos-Ibarra ML, Torres-Mendoza BM.

- Micronuclei and nuclear abnormalities in buccal mucosa cells in patients with anorexia and bulimia nervosa. *Mutagenesis*. 2014 Nov;29(6):427-31. <https://doi.org/10.1093/mutage/geu044>.
30. Molina-Noyola L, Coronado-Romo M, Vázquez-Alcaraz S, Izaguirre-Perez M, Arellano-García E, Flores-García A, et al. Evaluation of genotoxicity and cytotoxicity amongst in dental surgeons and technicians by micronucleus assay. *Dent Oral Craniofac Res*. 2019; 5:1-5. <https://www.oatext.com/pdf/DOCR-5-296.pdf>.
 31. Wagner KH, Schwingshackl L, Draxler A, Franzke B. Impact of dietary and lifestyle interventions in elderly or people diagnosed with diabetes, metabolic disorders, cardiovascular disease, cancer and micronutrient deficiency on micronuclei frequency - A systematic review and meta-analysis. *Mutat Res Rev Mutat Res*. 2021 Jan-Jun; 787:108367. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2021.108367>.
 32. Changizi V, Haeri SA, Abbasi S, Rajabi Z, Mirdoraghi M. Radioprotective effects of vitamin A against gamma radiation in mouse bone marrow cells. *MethodsX*. 2019; 3;6:714-717. doi: 10.1016/j.mex.2019.03.020.
 33. Khairwa A, Kotru M, Dewan P, Narang S. Morphological markers of chromosomal instability in bone marrow aspiration and trephine biopsy of acute leukemia and myelodysplastic syndrome. *Environ Mol Mutagen*. 2022 Dic;63(8-9):418-422. <https://doi.org/10.1002/em.22513>
 34. OECD (2016), Test No.474: Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, 2016; <https://doi.org/10.1787/9789264264762-en>.
 35. Hopf NB, Danuser B, Bolognesi C, Wild P. Age related micronuclei frequency ranges in buccal and nasal cells in a healthy population. *Environ Res*. 2020 Jan;180:108824. doi: 10.1016/j.envres.2019.108824. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108824>
 36. Wultsch G, Nersesyan A, Kundi M, Al-Serori H, Knasmüller S. Induction of chromosomal damage in exfoliated buccal and nasal cells of road markers. *J Toxicol Environ Health A*. 2019;82(17):969-976. <https://doi.org/10.1080/15287394.2019.1673578>
 37. Nersesyan A, Muradyan R, Kundi M, Fenech M, Bolognesi C, Knasmueller S. Smoking causes induction of micronuclei and other nuclear anomalies in cervical cells. *Int J Hyg Environ Health*. 2020 May; 226:113492. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2020.113492>.
 38. Espinoza F, Cecchini L, Morote J, Marcos R, Pastor S. Micronuclei frequency in urothelial cells of bladder cancer patients, as a biomarker of prognosis. *Environ Mol Mutagen*. 2019 Mar;60 (2):168-173. <https://doi.org/10.1002/em.22252>.
 39. Zhao M, Wang F, Wu J, Cheng Y, Cao Y, Wu X, et al. cGAS is a micronucleophagy receptor for the clearance of micronuclei. *Autophagy*. 2021 Dec;17(12):3976-3991. <https://doi.org/10.1080/15548627.2021.1899440>
 40. Guscott M, Saha A, Maharaj J, McClelland SE. The multifaceted role of micronuclei in tumour progression: A whole organism perspective. *Int J Biochem Cell Biol*. 2022 Sep 20;152:106300. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2022.106300>.
 41. Guo X, Dai X, Wu X, Cao N, Wang X. Small but strong: Mutational and functional landscapes of micronuclei in cancer genomes. *Int J Cancer*. 2021 Feb; 15; 148(4): 812-824. <https://doi.org/10.1002/ijc.33300>.
 42. Kirsch-Volders M, Bolognesi C, Ceppi M, Bruzzone M, Fenech M. Micronuclei, inflammation and auto-immune disease. *Mutat Res*. 2020 Oct-Dic;786:108335. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2020.108335>.
 43. Gauthier BR, Comaills V. Nuclear Envelope Integrity in Health and Disease: Consequences on Genome Instability and Inflammation. *Int J Mol Sci*. 2021Jul; 6: 22(14):7281. <https://doi.org/10.3390/ijms22147281>.
 44. Maciejowski J, Hatch EM. Nuclear Membrane Rupture and Its Consequences. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2020 Oct; 6: 36:85-114. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-020520-120627>.
 45. Maass KK, Rosing F, Ronchi P, Willmund KV, Devens F, Hergt M, et al. Altered nuclear envelope structure and proteasome function of micronuclei. *Exp Cell Res*. 2018 Oct; 15:371(2):353-363. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2018.08.029>.
 46. Guo X, Ni J, Liang Z, Xue J, Fenech MF, Wang X. The molecular origins and pathophysiological consequences of micronuclei: new insights into an age-old problem. *Rev Mutat Res*. 2019 Jan-Mar; 779:1-35. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2018.11.001>.
 47. Guo X, Dai X, Wu X, Zhou T, Ni J, Xue J, et al. Understanding the birth of rupture-prone and irreparable micronuclei. *Chromosoma*. 2020 Dec;129(3-4):181-200. <https://doi.org/10.1007/s00412-020-00741-w>.
 48. Sommer S, Buraczewska I, Kruszewski M. Micronucleus Assay: The State of Art, and Future Directions. *Int J Mol Sci*. 2020 Feb; 24;21(4):1534. <https://doi.org/10.3390/ijms21041534>.
 49. Mohr L, Toufektchan E, von Morgen P, Chu K, Kapoor A, Maciejowski J. ER-directed TREX1 limits cGAS activation at micronuclei. *Mol Cell*. 2021 Feb;18;81(4):724-738.e9. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.12.037>.
 50. Heil M, Vega-Muñoz I. Nucleic Acid Sensing in Mammals and Plants: Facts and Caveats. *Int Rev Cell Mol Biol*. 2019 Nov; 345:225-285. <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2018.10.003>.
 51. Zhou R, Xie X, Li X, Qin Z, Wei C, Liu J, et al. The triggers of the cGAS-STING pathway and the connection with inflammatory and autoimmune diseases. *Infect Genet*

- Evol. 2020 Jan;77:104094. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.104094>
52. Motwani M, Pesiridis S, Fitzgerald KA. DNA sensing by the cGAS-STING pathway in health and disease. *Nat Rev Genet.* 2019 Nov; 20: 657–674. <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0151-1>
 53. Mihaljevic O, Zivancevic SS, Milosevic DO, Djurdjevic P, Jovanovic D, Todorovic Z, et al. Apoptosis and genome instability in children with autoimmune diseases. *Mutagenesis.* 2018 Dic; 31:33(5-6):351-357. <https://doi.org/10.1093/mutage/gey037>.
 54. Feliciano LM, Sávio ALV, de Castro Marcondes JP, da Silva GN, Salvadori DMF. Genetic Alterations in Patients with Two Clinical Phenotypes of Multiple Sclerosis. *J Mol Neurosci.* 2020 Jan; 70(1):120-130. doi: 10.1007/s12031-019-01408-7.
 55. Fenech M, Holland N, Kirsch-Volders M, Knudsen LE, Wagner KH, Stopper H, et al. Micronuclei and disease - Report of HUMN project workshop at Rennes 2019 EEMGS conference. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2020 Feb-Mar; 850-851: 503133. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2020.503133>
 56. Shoshani O, Brunner SF, Yaeger R, Ly P, Nechemia-Arbely Y, Kim DH, et al. Chromothripsis drives the evolution of gene amplification in cancer. *Nature.* 2021 Mar; 591(7848):137-141 <https://doi.org/10.1038/s41586-020-03064-z>.
 57. Kiran K, Agarwal P, Kumar S, Jain K. Micronuclei as a Predictor for Oral Carcinogenesis. *J Cytol.* 2018 Oct-Dec; 35(4):233-236. doi: 10.4103/JOC.JOC_141_17.
 58. Bolognesi C, Bruzzone M, Ceppi M, Marcon F. Micronuclei and upper body cancers (head, neck, breast cancers) a systematic review and meta-analysis. *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2021; 787:108358. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2020.108358>
 59. Ramírez MJ, Minguillón J, Loveless S, Lake K, Carrasco E, Stjepanovic N, et al. Chromosome fragility in the buccal epithelium in patients with Fanconi anemia. *Cancer Lett.* 2020 Mar;1;472:1-7. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2019.12.008>.
 60. Arnaoutoglou C, Keivanidou A, Dragoutsos G, Tentas I, Meditskou S, Zarogoulidis P, et al. Factors Affecting the Nuclei in Newborn and Children. *Int J Environ Res Public Health.* 2022 Apr 1;19(7):4226. <https://doi.org/10.3390/ijerph19074226>.
 61. Gratia M, Rodero MP, Conrad C, Bou Samra E, Maurin M, Rice GI, et al. Bloom syndrome protein restrains innate immune sensing of micronuclei by cGAS. *J Exp Med.* 2019 Myo; 6;216(5):1199-1213. <https://doi.org/10.1084/jem.20181329>
 62. Vicic A, Stipoljev F. Susceptibility to chromosome instability and occurrence of the regular form of Down syndrome in young couples. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2022 Sep;881:503511. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2022.503511>.
 63. Tomanin R, Sarto F, Mazzotti D, Giacomelli L, Raimondi F, Trevisan C. Louis-Bar syndrome: spontaneous and induced chromosomal aberrations in lymphocytes and micronuclei in lymphocytes, oral mucosa and hair root cells. *Hum Genet.* 1990;85(1):31-8. <https://doi.org/10.1007/BF00276322>.
 64. Shafei-Benaissa E, Savage JR, Papworth D, Babin P, Larrègue M, Tanzer J, et al. Evidence of chromosomal instability in the lymphocytes of Gorlin basal-cell carcinoma patients. *Mutat Res.* 1995 Nov; 332(1-2):27-32. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(95\)00082-0](https://doi.org/10.1016/0027-5107(95)00082-0).
 65. Sutyagina OI, Kisurina-Evgenieva OP. Morphofunctional Differences of Micronuclei in Cultures of Human p53-Positive and p53-Negative Tumor Cells. *Bull Exp Biol Med.* 2019 Oct;167(6):813-817. <https://doi.org/10.1007/s10517-019-04629-3>.
 66. Honma M, Tadokoro S, Sakamoto H, Tanabe H, Sugimoto M, Furuichi Y, et al. Chromosomal instability in B-lymphoblastoid cell lines from Werner and Bloom syndrome patients. *Mutat Res.* 2002 Sep; 26:520(1-2):15-24. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(02\)00144-4](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(02)00144-4).
 67. Nazaryan-Petersen L, Bjerregaard VA, Nielsen FC, Tommerup N, Tümer Z. Chromothripsis and DNA Repair Disorders. *J Clin Med.* 2020 Feb; 25;9(3):613. <https://doi.org/10.3390/jcm9030613>
 68. Biglari S, Kamali K, Banihashemi S, Faal Sezavari A, Aghajanzpour-Mir SM, Behjati F. Investigation of Aneusomy of Chromosome 21 in the Micronuclei of 13 Patients with Early Onset Alzheimer’s Disease Using Fluorescence in Situ Hybridization: A Pilot Study. *Rep Biochem Mol Biol.* 2020 Jan; 8(4):446-453. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7275832/>
 69. Reimann H, Stopper H, Polak T, Lauer M, Herrmann MJ, Deckert J, Hintzsche H. Micronucleus frequency in buccal mucosa cells of patients with neurodegenerative diseases. *Sci Rep.* 2020 Dic; 17:10(1):22196. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78832-y>.
 70. Fenech M, Knasmueller S, Knudsen LE, Kirsch-Volders M, Deo P, et al. “Micronuclei and Disease” special issue: Aims, scope, and synthesis of outcomes. *Mutat Res.* 2021 Jul-Dec; 788:108384 <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2021.108384>.
 71. Bonassi S, Fenech M. Roadmap for translating results from the micronucleus assay into clinical practice: From observational studies to randomized controlled trials. *Mutat Res.* 2021 Jul-Dec;788:108390. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2021.108390>
 72. Nersesyanyan A, Muradyan R, Kundi M, Fenech M, Bolognesi C, Knasmueller S. Smoking causes induction of micronuclei and other nuclear anomalies in cervical cells. *Int J Hyg Environ Health.* 2020 May; 226:113492. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2020.113492>.

73. Furness DL, Dekker GA, Hague WM, Khong TY, Fenech MF. Increased lymphocyte micronucleus frequency in early pregnancy is associated prospectively with pre-eclampsia and/or intrauterine growth restriction. *Mutagenesis*. 2010 Sep; 25(5):489-98. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq032>.
74. Knudsen LE, Kirsch-Volders M. Micronuclei, reproduction and child health. *Mutat Res Rev Mutat Res*. 2021 Jan-Jun; 787: 108345. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2020.108345>.
75. Laanani I, Boutelis S, Bennoune O, Belaaloui G. Buccal micronucleus cytome biomarkers in Algerian couples with idiopathic infertility. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2018 Nov; 835: 32-35. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2018.08.010>
76. Stopper H, Bankoglu EE, Marcos R, Pastor S. Micronucleus frequency in chronic kidney disease patients: a review. *Mutat. Res*. 2020 Oct-Dec; 786:108340, <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2020.108340>.
77. Rafferty K, Archer KJ, Turner K, Brown R, Jackson-Cook C. Trisomy 21-associated increases in chromosomal instability are unmasked by comparing isogenic trisomic/disomic leukocytes from people with mosaic Down syndrome. *PLoS One*. 2021 Jul; 20;16(7):e0254806. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254806>.
78. Donmez-Altuntas H, Bayram F, Coskun-Demirkalp AN, Baspınar O, Kocer D, Toth PP. Therapeutic effects of statins on chromosomal DNA damage of dyslipidemic patients. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2019 Oct; 244(13):1089-1095. <https://doi.org/10.1177/153537021987189>.
79. Baig A, Avlasevich SL, Torous DK, Bemis JC, Saubermann LJ, Lovell DP, et al. Assessment of systemic genetic damage in pediatric inflammatory bowel disease. *Environ Mol Mutagen*. 2020 Nov; 61(9):901-909. <https://doi.org/10.1002/em.22403>
80. Uehara DT, Mitsubuchi H, Inazawa J. A missense variant in NUF2, a component of the kinetochore NDC80 complex, causes impaired chromosome segregation and aneuploidy associated with microcephaly and short stature. *Hum Genet*. 2021 Jul;140(7):1047-1060. <https://doi.org/10.1007/s00439-021-02273-4>.