

ПРИСНОВОДНА РАДІОЕКОЛОГІЯ

УДК 612.11+616.15+599.32

Н.А. ПОМОРЦЕВА, к. б. н., наук. співроб.,
Інститут гідробіології НАН України,
просп. Володимира Івасюка, 12, Київ, 04210, Україна
e-mail: natarpomorceva@gmail.com

Н.К. РОДИОНОВА, к. м. н., ст. наук. співроб.,
Інститут ядерних досліджень НАН України,
просп. Науки, 47, Київ, 03680, Україна
e-mail: rodionova@nas.gov.ua

Д.І. ГУДКОВ, д. б. н., проф., чл.-кор. НАН України, завідувач відділу,
Інститут гідробіології НАН України,
просп. Володимира Івасюка, 12, Київ, 04210, Україна
e-mail: digudkov@gmail.com
ORCID 0000-0002-5304-7414

О.Є. КАГЛЯН, к. б. н., ст. наук. співроб., ст. наук. співроб.,
Інститут гідробіології НАН України
просп. Володимира Івасюка, 12, Київ, 04210, Україна
e-mail: alex_kt983@ukr.net

КІЛЬКІСНИЙ ТА ЯКІСНИЙ КЛІТИННИЙ СКЛАД ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ РИБ У ГРАДІЄНТІ ТРИВАЛОГО РАДІАЦІЙНОГО ОПРОМІНЕННЯ¹

Наведено результати аналізу гематологічних показників краснопірки звичайної та карася сріблястого з найбільш забруднених радіонуклідами водойм Чорнобильської зони відчуження. Отримано дані щодо абсолютного і відносного лейкоцитарного складу та морфологічних порушень еритроцитів периферичної крові. У лейкоцитарній ланці виявлена односпрямованість реакцій на підвищення потужності поглиненої дози для обох видів риб. В діапазоні доз опромінення 5,1—54,1 мкГр/год спостерігали реакційні зміни компенсаторного характеру зі збільшенням вмісту лейкоцитів за рахунок лімфоцитарної і гранулоцитарної фракцій. За дії більш високих доз (до 84,5 мкГр/год) зареєстровано пошкодження кровотворення з різким зниженням вмісту лейкоцитів і значними змінами в лейкограмах, що також підтверджується величиною показників гематологічних індексів. Встановлено, що зі збільшенням потужності поглиненої дози зростає кількість патологічних порушень еритроцитів.

¹Роботу виконано за підтримки Національного фонду досліджень України (проект № 2020.02/0264) і Національної академії наук України, а також у співробітництві з Державним спеціалізованим підприємством «Екоцентр» Державного агентства України з управління зоною відчуження.

Ц и т у в а н н я: Поморцева Н.А., Родионова Н.К., Гудков Д.І., Каглян О.Є. Кількісний та якісний клітинний склад периферичної крові риб у градієнті тривалого радіаційного опромінення. *Гідробіол. журн.* 2023. Т. 59. № 5. С. 93—111.

Ключові слова: Чорнобильська зона відчуження, радіонуклідне забруднення, потужність поглиненої дози, *Scardinius erythrophthalmus*, *Carassius gibelio*, лейкоцитарна формула, порушення еритроцитів.

Забруднення водойм штучними радіонуклідами спричиняє різної складності ушкодження гідробіонтів, серед яких одними з найбільш уразливих є представники іхтіофауни [15, 16, 28, 36]. Протягом життя риби піддаються зовнішньому та внутрішньому опроміненню за рахунок природного радіаційного фону, а також у зв'язку з радіоактивним забрудненням гідросфери штучними радіонуклідами [6, 7, 15, 37]. Проживання у певних екологічних зонах водойми та характер живлення є основними складовими у формуванні зовнішньої та внутрішньої дози опромінення риб [24, 25]. Упродовж перших місяців після аварії на Чорнобильській АЕС (ЧАЕС) риби у найбільш забруднених водоймах зони її впливу зазнали опромінення, потужність якого була порівнянна з LD_{50} , внаслідок чого найбільш чутливі до дії іонізуючого випромінювання особини могли загинути [19, 20, 35]. У подальшому в результаті розпаду короткоживучих радіонуклідів дозове навантаження на риб поступово зменшувалось, але набуло хронічного характеру завдяки радіонуклідам з великим періодом напіврозпаду (^{137}Cs , ^{90}Sr , трансуранові елементи), які в даний час є головними забруднювачами водних екосистем, у першу чергу в межах Чорнобильської зони відчуження (ЧЗВ) [32—34, 41—43].

Високу чутливість до дії радіаційного чинника виявляють різні ланки кровотворної системи риб, зокрема лейкоцити периферичної крові, зміни кількісних і якісних показників яких дозволяють оцінити роботу механізмів імунної системи та рівень імунологічної реактивності, що забезпечує збереження гомеостазу [15, 16, 38], а також еритроцити з морфологічними порушеннями, поява яких свідчить про ослаблення адаптивних можливостей і виникнення патологічних станів в організмі [11, 13, 17]. Завдяки наявності ядер, еритроцити риб в умовах радіаційного впливу є зручною моделлю для виявлення порушень проліферації клітин та їхніх генетичних ушкоджень. При цьому зміни у складі крові риб виникають за дії порівняно невисоких доз іонізуючої радіації [13, 16, 18, 39].

Проблема оцінки стану кровотворної системи гідробіонтів, і зокрема риб, в умовах тривалого радіонуклідного забруднення залишається недостатньо вивченою. Тому дослідження дозозалежних гематологічних ефектів у риб, що мешкають у водоймах ЧЗВ, і з'ясування реакції кровотворної системи на хронічне опромінення є вкрай необхідним для розуміння механізмів регуляції захисних функцій організму риб, а також є важливою складовою комплексного підходу при розробці прогнозів подальших негативних наслідків тривалого впливу іонізуючого випромінювання на водну біоту.

Матеріал і методика досліджень

Збір іхтіологічного матеріалу виконували впродовж літніх періодів 2016—2021 рр. у водоймах ЧЗВ, які характеризуються високими рівнями

радіонуклідного забруднення всіх компонентів: озера Глибоке, Азбучин, Далеке, Янівський затон, північно-східна (ПСЧ) та північно-західна частини (ПЗЧ) колишньої акваторії водойми-охолоджувача (ВО) Чорнобильської АЕС (ЧАЕС). Біологічними об'єктами досліджень слугували пелагічна краснопірка звичайна (*Scardinius erythrophthalmus* L.) і карась сріблястий (*Carassius gibelio* Bloch), який веде придонний спосіб життя. Обидва види є одними з найбільш поширених у заплавах водоймах українського Полісся.

Робота виконана на 162 екз. риб з водойм ЧЗВ (77 краснопірок і 85 карасів). Референтною водоймою було обрано оз. Підбірна (масив Осокорки, м. Київ) з низьким фоновим рівнем радіонуклідного забруднення. Кількість риб контрольної групи становила 27 екз. (12 краснопірок і 15 карасів). Використані в роботі величини потужності поглиненої дози (ППД) іонізуючого випромінювання для досліджених видів риб розраховані на основі дозиметричних оцінок і наведені у мікрогреях за годину (мкГр/год) згідно публікацій [29—31].

При відборі та обробці матеріалу застосовували загальноприйняті у гідробіологічних, радіоекологічних та гематологічних дослідженнях методи [12]. Вибірки всіх видів риб були представлені статевозрілими особинами віком 4—9 років. Фарбування мазків крові проводили за Паппенгеймом [2]. Підрахунок абсолютної кількості лейкоцитів та еритроцитів виконували з використанням гематологічного аналізатора MicroCC-20 Vet, (НТІ, США). Лейкоцитарну формулу розраховували на основі аналізу 200 клітин білої крові для кожного препарату. Клітини крові ідентифікували за класифікацією Н.Т. Іванової [5]. Кількість еритроцитів з порушеннями визначали при аналізі 3000 клітин на кожному мазку за Л.Д. Житеньовою [4]. Загалом було проаналізовано понад 320 препаратів периферичної крові риб.

Для оцінки змін у системі кровотворення розраховували гематологічні індекси периферичної крові: індекс напруженості адаптації Гаркаві (ІГ); індекс імунореактивності (ІПР); індекс зсуву лейкоцитів крові (ІЗЛК), які свідчать про порушення імунологічної реактивності та активність запального процесу [10, 14].

Результати дослідження та їх обговорення

ППД для риб у водоймах ЧЗВ формується за рахунок зовнішніх джерел — радіонуклідів, що депоновані у донних відкладах та містяться у воді, а також внутрішнього опромінення — радіонуклідів, що накопичені у тканинах [21, 24—26, 28]. Внесок різних джерел у сумарне дозове навантаження риб залежить переважно від типу живлення та розподілу радіонуклідів у різних екологічних зонах водойми. Середні величини ППД для краснопірки упродовж періоду досліджень становили 5,1—54,1 мкГр/год, а для карася — 19,3—84,5 мкГр/год (табл. 1). Для краснопірки і карася референтної водойми ППД не перевищувала відповідно 0,05 і 0,07 мкГр/год [29—31].

Таблиця 1
Середні значення ППД для риб ЧЗВ упродовж 2016-2021 рр., мкГр/год [29—31]

Види	Водойми та кількість риб, <i>n</i>	Зовнішня ППД		Внутрішня ППД		Загальна ППД	Зовнішня ППД, %	Внутрішня ППД, %
		⁹⁰ Sr	¹³⁷ Cs	⁹⁰ Sr	¹³⁷ Cs			
Краснопірка звичайна	Оз. Глибоке, <i>n</i> = 25	0,53	42,53	10,10	0,90	54,06	79,65	20,35
	Оз. Далеке, <i>n</i> = 18	0,91	5,87	4,54	0,44	11,76	57,65	42,35
	ПЗЧ ВО, <i>n</i> = 14	0,50	9,58	0,11	0,16	10,35	97,39	2,61
Карась сріблястий	Янівський загон, <i>n</i> = 15	0,11	3,78	1,07	0,12	5,08	76,57	23,43
	Оз. Глибоке, (<i>n</i> = 25)	0,53	72,97	10,40	0,60	84,50	86,98	13,02
	Оз. Азбучин, <i>n</i> = 23	1,18	48,61	2,63	0,68	53,10	93,77	6,23
	ПСЧ ВО, <i>n</i> = 22	0,62	26,03	0,11	0,44	27,20	97,98	2,02
	ПЗЧ ВО, <i>n</i> = 15	0,87	17,76	0,49	0,18	19,30	92,02	3,47

Найбільший внесок у ППД для обох досліджуваних видів риб належить зовнішньому опроміненню, переважно за рахунок ¹³⁷Cs, що депонований у донних відкладах водойм. При цьому для карася сріблястого, який веде придонний спосіб життя, зовнішня доза від ¹³⁷Cs майже у 2 рази перевищувала таку для краснопірки. Так, наприклад, в оз. Глибокому ППД зовнішнього опромінення краснопірки і карася складає відповідно 43,06 і 73,50 мкГр/год, а у ПЗЧ ВО — 10,08 і 18,63 мкГр/год. Внесок ¹³⁷Cs, інкорпорованого у тканинах риб, до потужності внутрішньої дози опромінення з наведених водойм практично не відрізнявся.

Зовнішня доза опромінення, обумовлена ⁹⁰Sr, у краснопірки з різних водойм була в межах 0,11—0,91 мкГр/год, з найбільшими значеннями для риб оз. Далекого, а у карася сріблястого — 0,53—1,18 мкГр/год, з найбільшими значеннями для риб оз. Азбучин. Величини ППД від інкорпорованого ⁹⁰Sr для риб однієї водойми різнилися несуттєво. Максимальні значення реєстрували в оз. Глибокому — 10,1 і 10,4 мкГр/год відповідно для краснопірки і карася.

Інтегральним показником стану як кровотворної системи, так і організму в

цілому є кількість зрілих функціонуючих клітин у периферичній крові, які виконують життєво важливі функції забезпечення тканин і органів киснем, а також захисту від негативних чинників зовнішнього середовища [2, 3, 9]. У таблиці 2 наведено дані щодо кількості лейкоцитів та еритроцитів у краснопірки та карася з водойм ЧЗВ порівняно з контрольною групою.

Встановлено, що у діапазоні ППД 5,1—54,1 мкг/год для краснопірки та 19,3—53,1 мкг/год — для карася кількість лейкоцитів у крові риб з усіх досліджених водойм ЧЗВ була збільшеною — для краснопірки на 14,7—48,6 %, а для карася сріблястого — на 8,2—35,8 % порівняно з контролем. Проте достовірні відмінності від контрольної вибірки встановлені лише для краснопірки з найбільш забрудненої водойми — оз. Глибокого. Достовірних змін загальної кількості еритроцитів у периферичній крові риб з водойм ЧЗВ у дослідженому дозовому діапазоні не виявлено, а зареєстровані відмінності можна оцінювати лише на рівні певних тенденцій. Загальна кількість еритроцитів у досліджуваних видів риб, які мешкають у градієнті наведених ППД, була на рівні контрольних показників.

Відмінності у кількісних показниках як лейкоцитарної, так і еритроцитарної складової периферичної крові риб виявлені лише для карася з оз. Глибокого за ППД 84,5 мкг/год (найвищої серед зареєстрованих). Кількість лейкоцитів була нижчою на 10,6 % порівняно з контролем і на 17,4—34,2 % — порівняно з іншими водоймами ЧЗВ. Звертає на себе увагу також достовірне зниження у крові карася вмісту еритроцитів порівняно

Таблиця 2

Загальна кількість лейкоцитів та еритроцитів у периферичній крові краснопірки звичайної і карася сріблястого у водоймах ЧЗВ, $M \pm m$

Види	Водойми	ППД, мкг/год	Кількість лейкоцитів, $10^9/\text{л}$	Кількість еритроцитів, $10^{12}/\text{л}$
Краснопірка звичайна	Контроль	0,07	74,7±5,2	1,3±0,05
	Янівський затон	5,08	90,3±8,1	1,3±0,03
	ПЗЧ ВО	10,35	103,2±19,7	1,3±0,06
	Оз. Далеке	11,76	95,5±13,1	1,4±0,03
	Оз. Глибоке	54,06	111,0±12,5 ¹	1,4±0,05
Карась сріблястий	Контроль	0,05	66,8±8,2	1,3±0,03
	ПЗЧ ВО	19,30	84,8±9,8	1,4±0,06
	ПСЧ ВО	27,20	72,3±8,5	1,4±0,06
	Оз. Азбучин	53,10	90,7±10,2	1,2±0,03
	Оз. Глибоке	84,50	59,7±9,5	1,1±0,03 ^{1,2,3}

Примітка. ¹ — зміни достовірні відносно даних контролю; ² — відносно ПЗЧ ВО; ³ — відносно ПСЧ ВО, $p < 0,05$.

як з контролем, так і з рибами ПЗЧ та ПСЧ ВО. Таким чином, доза опромінення 84,5 мкГр/год призвела до формування ушкоджуючого ефекту кровотворної системи карася сріблястого. Кількісні зміни вмісту лейкоцитів та еритроцитів у периферичній крові риб водойм з меншим рівнем ППД, скоріш за все, мають реакційний характер, що підтверджує подальший аналіз лейкограм досліджуваних видів.

Відомо, що в крові риб присутні клітини всіх генерацій за рівнем диференціювання і стадії дозрівання [4]. Аналіз препаратів периферичної крові досліджених особин краснопірки і карася сріблястого з водойм ЧЗВ виявив, що переважаючими клітинами у складі білої крові є лімфоцити, які складали у окремих особин до 93 % від усіх лейкоцитів, що є типовим для даних видів риб [4, 5]. Доля гранулоцитів (нейтрофілів, псевдоеозинофілів і псевдобазофілів) була значно меншою.

Наведені на рисунку 1 дані свідчать, що у обох видів риб спостерігається тенденція до перерозподілу лейкоцитарної формули в бік зменшення частки агранулоцитів та відповідного збільшення кількості клітин гранулоцитарної фракції. Проте за кількісними параметрами (абсолютні показники наведено у вигляді графічних кривих), навпаки, відбувається підвищення вмісту як агранулоцитів (у карася до дози опромінення 53,1 мкГр/год), серед яких більшість складають лімфоцити, так і гранулоцитів, що вказує на активацію процесів імунного захисту організму.

Зміни в лейкоцитарній формулі краснопірки спостерігаються вже за ППД на рівні 10,4 і 11,8 мкГр/год і сягають максимуму за 54,1 мкГр/год. Можливо, у даному випадку суттєвого впливу набуває значна частка внутрішнього опромінення у загальній ППД. У карася сріблястого за ППД у діапазоні 19,3—27,2 мкГр/год відмінностей від контролю не виявлено, а за дози 53,1 мкГр/год (оз. Азбучин), яка є близькою за величиною до дози, що отримує краснопірка у оз. Глибокому, реакція гранулоцитарної фракції перевищує таку для краснопірки — кількість гранулоцитів у карася збільшена у 4,4 раза, а у краснопірки — у 2 рази. Тобто, у карася за наведеного рівня опромінення реєструються ефекти подразнення кровотворення, але вони компенсовані і на загальній кількості клітин периферичній крові не відображаються. Подальше збільшення дози опромінення до 84,5 мкГр/год у карася призводить до зниження вмісту лімфоцитів як за відносними, так і за абсолютними значеннями майже у два рази, наслідком чого, за даними [3, 9], може бути зниження імунітету організму риб та скорочення чисельності популяції у водоймі. Вміст гранулоцитів при цьому прогресивно збільшувався як за рахунок нейтрофілів, так і фракції псевдоеозинофілів. З однієї сторони, це може бути пов'язано з підвищеним ризиком інфікування завдяки зниженню імунного захисту, а з іншої — бути відповіддю на локальні осередки пошкоджень у місцях розпаду інкорпорованих радіонуклідів. Збільшення кількості нейтрофілів, основною функцією яких є фагоцитоз (поглинання бактерій, грибків і продуктів розпаду тканин), а також участь в неспецифічному захисті організму, свідчить про глибину порушень у мієлопоезі та в кровотворних органах риб в цілому та визначається дозою опромінення і функціональ-

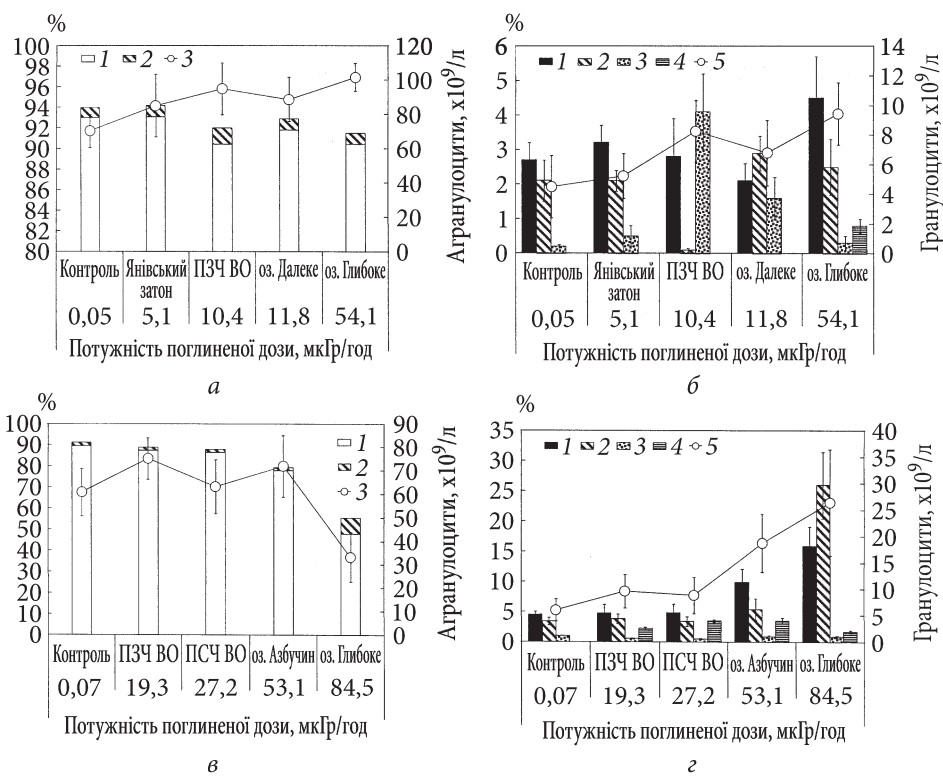


Рис. 1. Зміни лейкоцитарного профілю в периферичній крові карася звичайної (а, б) і карася сріблястого (в, г) у різних водоймах в залежності від ППД. Агранулоцити (а, в): 1 — лімфоцити, %; 2 — моноцити, %; 3 — абсолютна кількість, $\times 10^9/\text{л}$. Гранулоцити (б, г): 1 — нейтрофіли, %; 2 — псевдоеозинофіли, %; 3 — псевдобазофіли, %; 4 — пінисті клітини, %; 5 — абсолютна кількість, $\times 10^9/\text{л}$

ним станом кровотворної системи [3, 9]. Відносно висока частка моноцитів (клітин, що фагоцитують продукти розпаду клітин і тканин, а також поглинають бактерії) у карася з оз. Глибокого свідчить про збільшення кількості пошкоджених клітинних елементів. Зазвичай наростання кількості моноцитів у крові співпадає з посиленням розпаду не лише клітин червоної крові, але й із загибеллю самих лейкоцитів [3, 8].

Інтегральні показники лейкоцитарної формули надають можливість отримати більше інформації про стан імунологічної реактивності організму [10, 14]. Набір показників гемограми охоплює кілька сегментів гомеостазу організму, що дозволяє судити про комплексні зміни, часом непомітні на рівні візуального аналізу лейкоцитарної формули [1, 14]. У різних видів риб допустимі значення гематологічних індексів можуть істотно відрізнятися. Для карася звичайного і карася сріблястого значення допустимих рівнів індексів ІЗЛК, ІГ і ІПР невідомі, тому величини умовної норми обчислені нами для риб з контрольної вибірки, які дорівнювали у карася звичайного — відповідно 0,09, 34,4 і 95,1, а у карася сріблястого — 0,53, 19,9 і 57,8 (рис. 2).

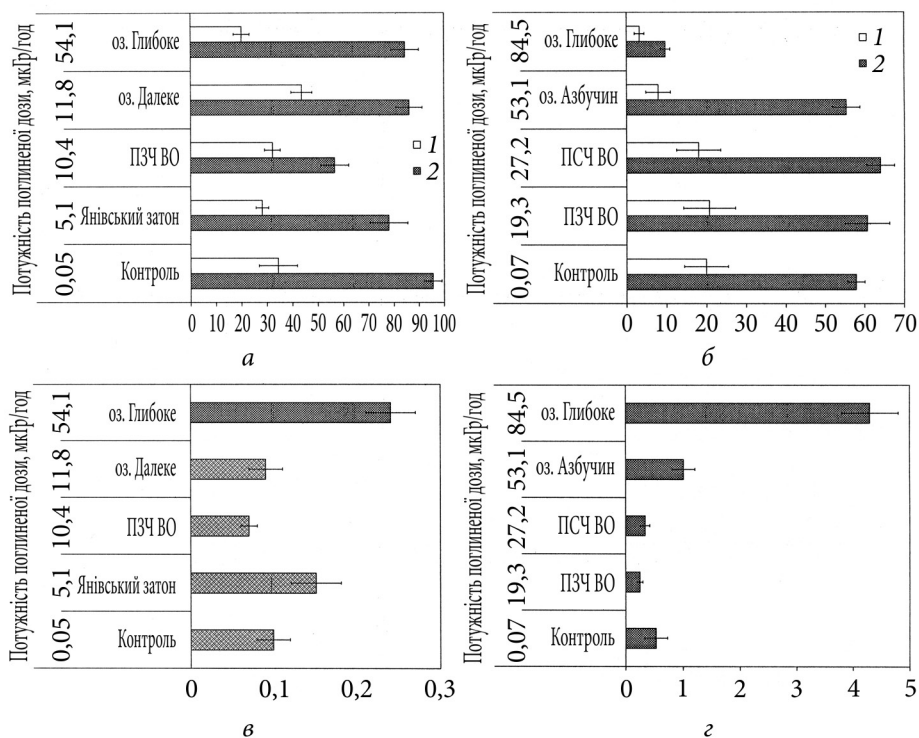


Рис. 2. Залежність індексу Гаркаві (1), індексу імунореактивності (2) та індексу зсуву лейкоцитів (в, г) у периферичній крові краснопірки звичайної (а, в) і карася сріблястого (б, г) від ППД

За отриманими даними, найбільш значущі відхилення досліджених показників від контролю були виявлені у карася і краснопірки оз. Глибокого: низькі значення ІГ (відповідно у 6,2 і 1,7 разів) і ІПР (відповідно у 6 і 1,2 разів) і, навпаки, високі значення ІЗЛК (відповідно у 8,1 і 2,7 разів), що може свідчити про дисбаланс процесів кровотворення і можливу неспроможність адаптаційних реакцій внаслідок впливу підвищених доз опромінення.

Якісний аналіз еритроцитів контрольних вибірок краснопірки і карася виявив наявність у периферичній крові клітин зі структурними порушеннями. Здебільшого це були деформації ядер і пікноз, а також клітини з порушеннями, що пов'язані з патологією мітозу — двоядерні клітини (рис. 3, а, в). Вміст двоядерних еритроцитів у двох видів риб контрольної групи суттєво не відрізнявся і складав близько 10 % загальної кількості порушень. За кількістю клітин зі структурними порушеннями відмічена суттєва різниця: так, у карася майже 80 % патології представлено еритроцитами з деформацією ядра, тоді як у краснопірки превалювали пікнотизовані еритроцити — 52 %, а деформація ядер зустрічалась у 38 % клітин. Загальна кількість еритроцитів з морфологічними порушеннями у крас-

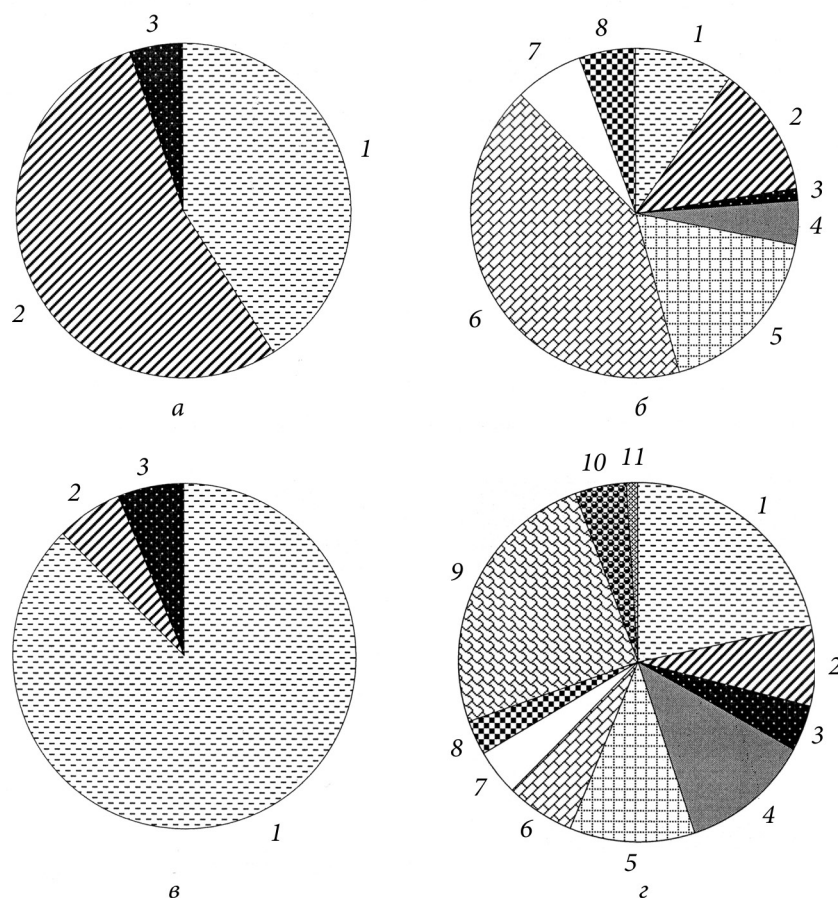


Рис. 3. Співвідношення усереднених показників морфологічних порушень еритроцитів краснопірки звичайної (*а* — контроль, *б* — водойми ЧЗВ) і карася сріблястого (*в* — контроль, *г* — водойми ЧЗВ): 1 — деформації ядер; 2 — пікноз; 3 — двоядерні; 4 — мікроядра; 5 — цитоліз; 6 — вакуолізована цитоплазма; 7 — пристінкові ядра; 8 — мікроцити; 9 — хроматиноліз; 10 — амітоз; 11 — перегородка в ядрі, %

нопірки була вищою порівняно з карасем і складала в середньому відповідно 2,1 і 1,6 %.

Натомість у периферичному руслі крові риб у водоймах ЧЗВ спектр порушень клітини еритроцитарної ланки був набагато ширшим (див. рис. 3). Зокрема, у карася реєстрували 11 типів морфологічних порушень еритроцитів — деформація ядра, пристінкове ядро, вакуолізована цитоплазма, пікноз, хроматиноліз, цитоліз, мікроцит, мікроядра, двоядерні, амітоз, перегородка в ядрі. У краснопірки було зареєстровано 8 типів порушень клітин — деформація ядра, вакуолізована цитоплазма, пристінкове ядро, пікноз, цитоліз, мікроцит, мікроядра, двоядерні. Середня загальна кількість порушень для краснопірки ЧЗВ складала 16,0 %, а для карася — 19,2 % що, відповідно, у 7,6 та 12 разів вище за контрольні показники.

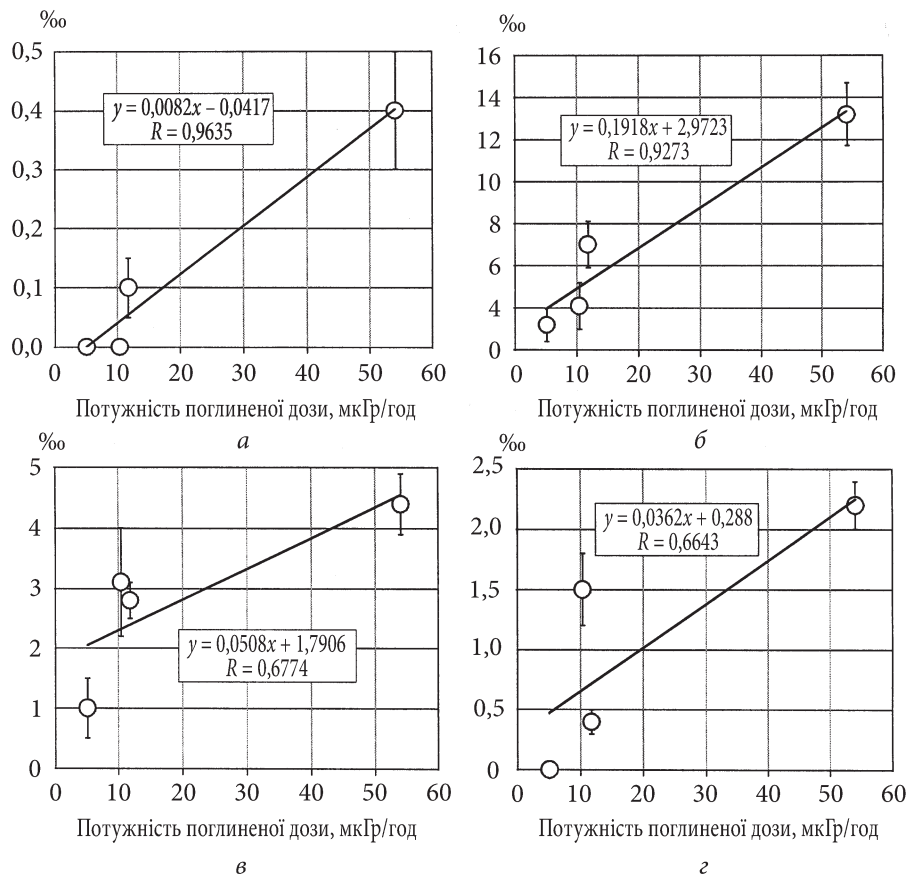


Рис. 4. Залежність частоти морфологічних порушень в еритроцитах периферичної крові карасі звичайної від ППД: а — двоядерні; б — вакуолізована цитоплазма; в — цитоліз; г — пристінкові ядра

В діапазоні дозового навантаження 5,1—54,1 мкГр/год у карасі звичайної з усіх досліджених водойм — Янівського затону, ПЗЧ ВО, озер Далекого та Глибокого — переважали еритроцити з вакуолізованою цитоплазмою, які утворюються внаслідок набрякання мітохондрій і деструкції мембран органел, — відповідно $3,2 \pm 0,8$, $4,1 \pm 1,1$, $7,0 \pm 1,1$ і $13,2 \pm 1,5$ ‰ (див. рис. 3). У риби контрольної вибірки цей тип порушень був відсутній. За збільшенням поглиненої дози від 5,1 мкГр/год відбувалося зростання кількості і типів морфологічних порушень (див. рис. 3, б). У крові карасі звичайної Янівського затону за ППД в середньому 5,1 мкГр/год частіше зустрічались еритроцити з мікроядрами — $1,4 \pm 0,1$ ‰. За максимальної для карасі звичайної ППД — 54,1 мкГр/год — зареєстровано зростання частоти клітин з порушенням мітозу, а саме двоядерних і з мікроядрами, загальна кількість яких становила $1,3 \pm 0,1$ ‰.

У крові карася, на відміну від карасі звичайної, серед морфологічних порушень переважали еритроцити з хроматінолізом (див. рис. 3, в, г). У

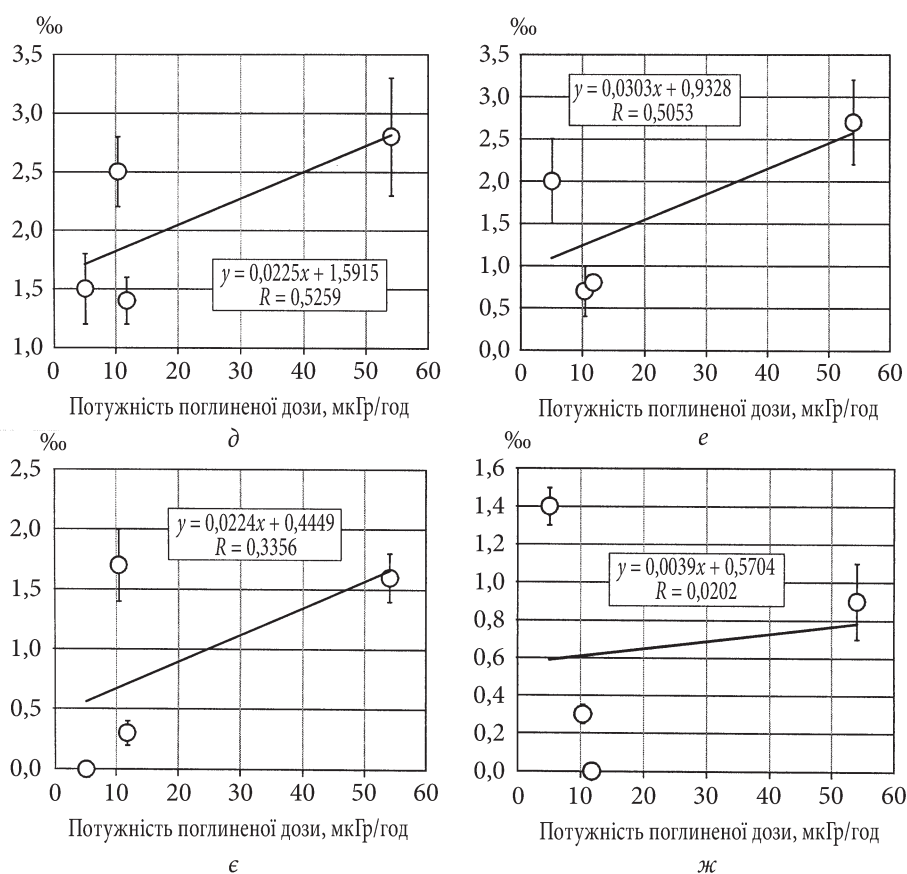


Рис. 4 (продовження). Залежність частоти морфологічних порушень в еритроцитах периферичної крові краснопірки звичайної від ППД: δ — пікноз; e — деформації ядер; ε — мікроцити; ж — мікроядра

діапазоні 19,3—53,1 мкГр/год загальна кількість порушень в еритроцитах була майже на одному рівні — $16,2 \pm 1,1$ — $17,0 \pm 1,5$ ‰. При підвищенні ППД до 84,5 мкГр/год кількість структурних порушень збільшилася до $27,6 \pm 1,7$ ‰ — в середньому в 1,7 раза. При цьому спостерігали збільшення еритроцитів з хроматінолізом до $8,1 \pm 1,1$ ‰ і з деформацією ядра — до $5,8 \pm 0,5$ ‰. Оцінка частоти клітин з порушеннями в результаті патології мітозу в периферичній крові карася у водоймах ЧЗВ виявила більшу різноманітність цих порушень порівняно з краснопіркою. Були зареєстровані клітини з амітозом, двоядерні, з мікроядрами, а також перегородкою в ядрі, загальна кількість яких становила 6,3 ‰.

Кореляційний аналіз окремих морфологічних порушень еритроцитарної ланки периферичної крові двох видів виявив певні відмінності щодо тривалого впливу іонізуючого випромінювання на риб різних екологічних груп у водоймах ЧЗВ. Так, у периферичній крові краснопірки встановлено достовірний кореляційний зв'язок між ППД та частотою ви-

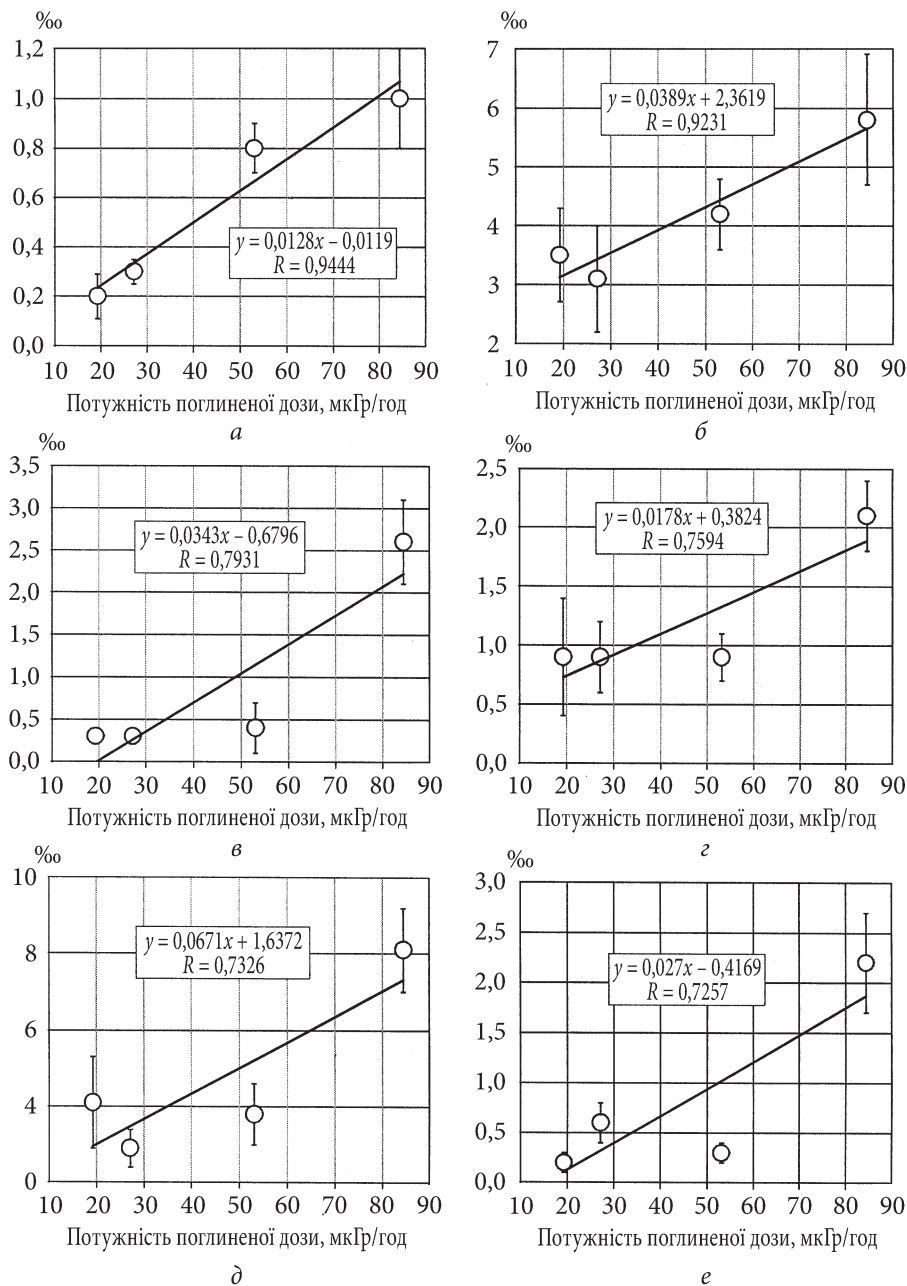


Рис. 5. Залежність частоти морфологічних порушень в еритроцитах периферичної крові карася сріблястого від ППД: *а* — мікроцити; *б* — деформації ядер; *в* — амітоз; *г* — вакуолізована цитоплазма; *д* — хроматиноліз; *е* — двоядерні

никнення клітин з двома ядрами еритроцитів ($R = 0,96$), вакуолізованою цитоплазмою ($R = 0,92$), цитолізом ($R = 0,67$), пристінковими ядрами ($R = 0,66$), пікнозом ($R = 0,52$), а також деформацією ядра ($R = 0,50$). Слабшу

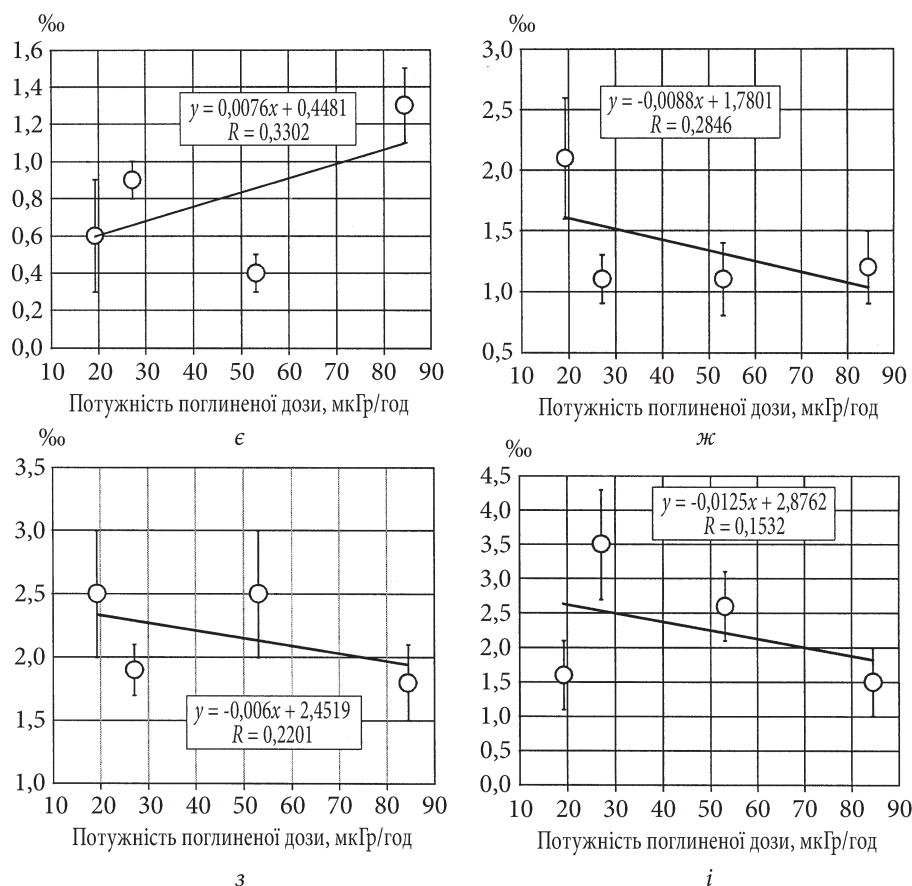


Рис. 5 (продовження). Залежність частоти морфологічних порушень в еритроцитах периферичної крові карася сріблястого від ППД: ϵ — пристінкові ядра; $ж$ — пікноз; $з$ — цитоліз; $і$ — мікроядра

кореляцію або її відсутність відмічено для частоти виникнення мікроцитів ($R = 0,33$) і клітин з мікроядрами ($R = 0,02$) (рис. 4).

У карася сріблястого встановлено вірогідний вплив опромінення на зустрічальність еритроцитів у вигляді мікроцитів ($R = 0,94$), з деформацією ядра ($R = 0,92$), амітозом ($R = 0,79$), вакуолізованою цитоплазмою ($R = 0,75$), хроматинолізом ($R = 0,73$) і двома ядрами ($R = 0,72$) (рис. 5). Слабшу кореляцію або її відсутність відмічено для частоти виникнення пристінкових ядер ($R = 0,33$), пікноза ($R = 0,28$), цитоліза ($R = 0,22$) і мікроядер ($R = 0,15$).

Оцінка залежності загальної кількості еритроцитів зі структурними порушеннями від ППД дозволила виявити вірогідне збільшення кількості аномальних клітин у периферичній крові краснопірки у наступному порядку: $2,1 \pm 0,8$ ‰ (0,05 мкГр/год, референтна водойма) $\rightarrow$ $7,7 \pm 1,8$ ‰ (5,08 мкГр/год, Янівський затон) $\rightarrow$ $12,7 \pm 2,5$ ‰ (11,76 мкГр/год, оз. Дале-

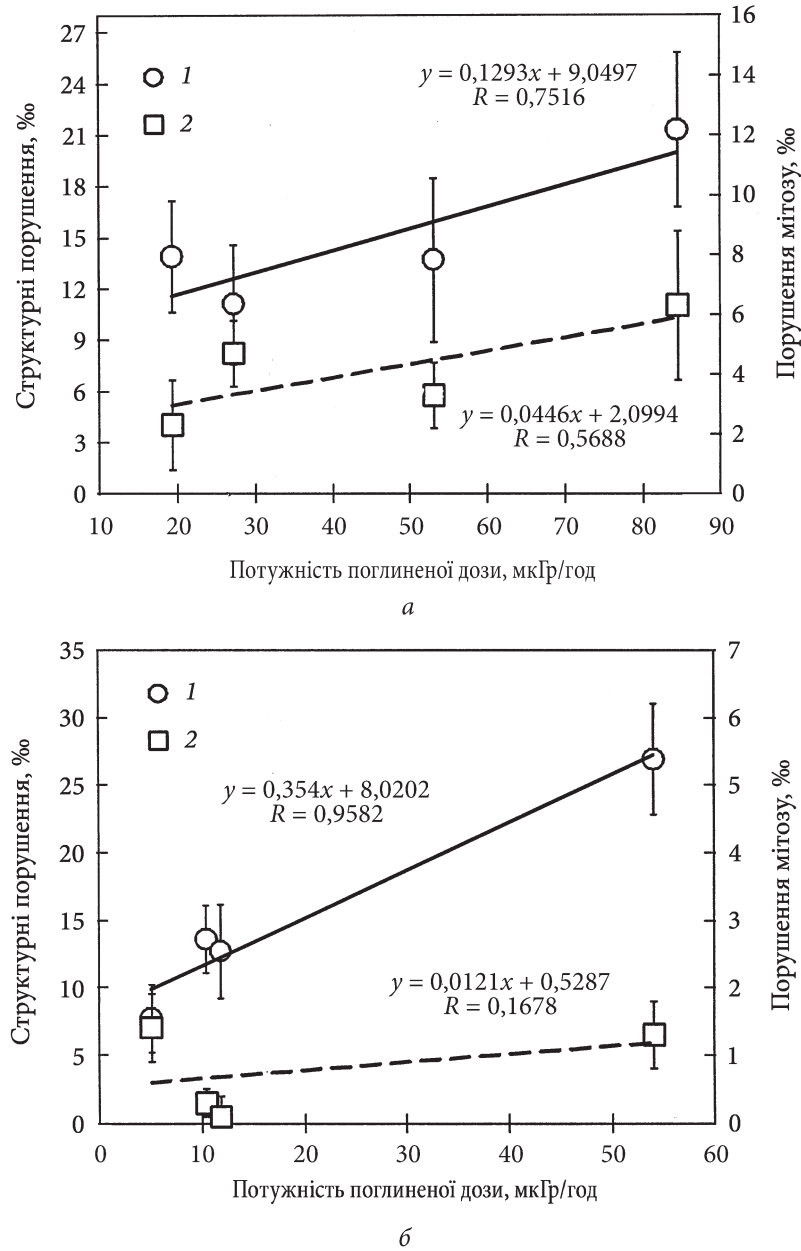


Рис. 6. Залежність частоти морфологічних порушень еритроцитів периферичної крові краснопірки звичайної (а) і карася сріблястого (б) від ППД: 1 — структурні порушення; 2 — порушення мітозу

ке) $\rightarrow 13,6 \pm 2,2$ ‰ (10,35 мкГр/год, ПЗЧ ВО) $\rightarrow 26,9 \pm 3,1$ ‰ (54,06 мкГр/год, оз. Глибоке); у карася сріблястого: $1,6 \pm 0,3$ ‰ (0,07 мкГр/год, референтна водойма) $\rightarrow 11,1 \pm 2,5$ ‰ (27,20 мкГр/год, ПСЧ ВО) $\rightarrow 13,7 \pm 1,1$ ‰

(53,10 мкГр/год, оз. Азбучин) $\rightarrow$ $13,9 \pm 2,1$ ‰ (19,30 мкГр/год, ПЗЧ ВО ЧАЕС) $\rightarrow$ $21,3 \pm 2,5$ ‰ (84,50 мкГр/год, оз. Глибоке) (рис. 6).

У карася сріблястого з водойм ЧЗВ виявлена також позитивна кореляція ($R = 0,56$) між ППД та кількістю еритроцитів з патологією мітозу. У краснопірки звичайної, за наявності значно меншої (більш ніж у 5 разів) кількості клітин з порушеннями мітотичного поділу, достовірної залежності цього показника від ППД не виявлено (див. рис. 6, а, б). Враховуючи відмінності в екологічних нішах, які займають досліджені види у водоймах, можна припустити, що більш значний внесок у виникнення еритроцитів з патологією мітозу формується за рахунок потужного γ -випромінювання ^{137}Cs , більш ніж 90 % якого у непроточних водоймах ЧЗВ депоновано у донних відкладах [22, 23, 27]. Саме для карася, який веде придонний спосіб життя і зазнає підвищеного дозового навантаження за рахунок зовнішнього γ -опромінення від донних відкладів, притаманний більш високий рівень порушень мітотичного поділу клітин червоної крові. Краснопірка звичайна мешкає переважно у порівняно радіаційно-сприятливій пелагічній зоні водойм, де внесок зовнішнього γ -опромінення до загальної ППД істотно менший, а рівень опромінення, обумовлений β -випромінюючими радіонуклідами, що інкорпоровані у тканинах, є подібним до такого у карася сріблястого. Але це припущення потребує підтвердження на підставі подальших більш ретельних досліджень із залученням інших представників рибного населення водойм ЧЗВ.

Висновки

Аналіз реакції кровотворної системи краснопірки звичайної та карася сріблястого на тривале радіаційне опромінення у водоймах ЧЗВ дозволив з'ясувати, що зміни в лейкоцитарній ланці периферичної крові обох видів риб у діапазоні ППД 5,1—54,1 мкГр/год мають односпрямований характер і виявляються у збільшенні кількості лімфоцитів і гранулоцитів, що свідчить про наявність певних компенсаторних змін, які відбуваються в організмі риб в результаті пристосування до несприятливих умов водного середовища.

В периферичній крові карася сріблястого за опромінення у дозі 84,5 мкГр/год зареєстровано істотне зниження загальної кількості лімфоцитів (на 43 %) та еритроцитів (на 19 %) порівняно з контролем, що може вказувати на певне виснаження функціональних можливостей організму та зрив компенсаторних процесів. Оцінка лейкоцитарних індексів дозволила встановити, що з підвищенням ППД до 84,5 мкГр/год спостерігається зменшення ІГ у 6,2 раза та ІПР — у 6,0 разів на фоні збільшення ІЗЛК у 8,1 раза, що також може вказувати на зниження адаптаційних можливостей організму.

Якісний аналіз еритроцитів крові риб у водоймах ЧЗВ виявив численні структурні порушення клітин, а також порушення, пов'язані з патологією мітотичного поділу. Так, у краснопірки загальна кількість морфологічних порушень за максимальних доз опромінення була в середньому у 12,1, а у карася сріблястого — у 14,2 раза вище за контрольні показники.

Серед порушень еритроцитів краснопірки превалювали клітини з вакуолізованою цитоплазмою, а у карася сріблястого — клітини з хроматінолізом. При цьому, у карася виявлена достовірна залежність від ППД для більшості морфологічних порушень еритроцитів, а саме: деформація ядер, клітини з вакуолізованою цитоплазмою, мікроцити, хроматиноліз, амітоз і двоядерні клітин. У краснопірки зростання кількості порушень зі збільшенням ППД було виявлено для клітин з деформацією ядер, вакуолізованою цитоплазмою, пікнозом, пристінковими ядрами, цитолізом та двоядерних еритроцитів.

Таким чином, дослідження реакції кровотворної системи краснопірки і карася сріблястого виявили, що імунна система обох видів риб реагує на тривале хронічне опромінення активацією компенсаторно-адаптаційних процесів, які виявляються у зміні кількості лейкоцитів, лейкоцитарних індексів, а також перерозподілом окремих видів клітин у лейкограмі. Водночас відмічене значне збільшення патологічних змін структури ядер та цитоплазми еритроцитів. Радіаційне навантаження, вплив якого перевищує допустимі можливості організму, спричиняє значне скорочення абсолютної кількості лейкоцитів і лімфоцитів, що призводить до погіршення стану імунітету організму і, як наслідок, підвищує ризик гельмінтезації риб, а також бактеріальних і вірусних захворювань. Тому не виключна ймовірність того, що за умов дії порівняно високих ППД зміни у лейкоцитарній та еритроцитарній ланках периферичної крові риб можуть призвести до поступового зниження пристосувальних реакцій організму, погіршенню його захисних функцій та до скорочення чисельності популяцій рибного населення у водоймах ЧЗВ.

Список використаної літератури

1. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А. Адаптационные реакции и резистентность организма. Ростов-н/Д : Ростов. книжн. изд-во, 1977. 224 с.
2. Давыдов О.Н., Темниханов Ю.Д., Куровская Л.Я. Патология крови рыб. Киев : ИНКОС, 2006. 206 с.
3. Жербин Е.А., Чухловин А.Б. Радиационная гематология. Москва : Медицина, 1989. 176 с.
4. Житенева Л.Д., Полтавцева Т.Г., Рудницкая О.А. Атлас нормальных и патологически измененных клеток крови рыб. Ростов-н/Д : Ростов. книжн. изд-во, 1989. 112 с.
5. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб. Москва : Лег. и пищ. пром-сть, 1983. 150 с.
6. Ильенко А.И. Некоторые особенности накопления цезия-137 в популяциях рыб пресноводного водоем. *Вопросы ихтиологии*. 1972. Т. 12. № 1. С. 174—178.
7. Ильенко А.И. Концентрирование животными радиоизотопов и их влияние на популяцию. Москва : Медицина, 1974. 167 с.
8. Илюхин А.В., Шашков В.С., Бурковская Т.Е. и др. Цитокинетика и морфология кроветворения при хроническом облучении. Москва : Медицина, 1982. 136 с.
9. Инграм М. Гематологические основы для оценки степени лучевого поражения. Малые дозы, хроническое облучение и отдаленные эффекты. Руководство по радиационной гематологии (Совместное издание Международного агентства по атомной энергии и Всемирной организации здравоохранения). Москва : Медицина, 1974. С. 221—230.

9. Кавцевич Н.Н., Минзюк Т.В. Лейкоцитарные индексы и активность организмов ядрышка лимфоцитов крови щенков серых тюленей. *Вестн. Южн. науч. центра РАН*. 2010. Т. 6. № 4. С. 83—85.
10. Куликов Н.В., Куликова В.Г. О накоплении Sr и Cs некоторыми представителями пресноводных рыб в природных условиях. *Экология*. 1977. № 5. С. 45—49.
11. Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод / За ред. В.Д. Романенка. НАН України. Ін-т гідробіології. Київ : ЛОГОС, 2006. 408 с.
12. Пряхин Е.А., Тряпицына Г.А., Стяжкина Е.В. и др. Оценка уровня патологии эритроцитов в периферической крови у плотвы (*Rutilus rutilus* L.) из водоемов с разным уровнем радиоактивного загрязнения. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2012. Т. 52. № 6. С. 616—624.
13. Романова Е.Б., Шаповалова К.В. Лейкоцитарные индексы и микроядра в эритроцитах как популяционные маркеры иммунного статуса *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) (Amphibia, Ranidae) обитающих в различных биотопических условиях. *Поволж. экол. журнал*. 2018. № 1. С. 75—80.
14. Шеханова И.А. Радиоэкология рыб. Москва : Высш. шк., 1983. 208 с.
15. Шлейфер Г.С., Шеханова И.А. Влияние ионизирующей радиации на некоторые факторы иммунитета рыб. *Радиоэкология животных*. Москва, 1977. С. 93—94.
16. Al-Sabti K., Metcalfe C.D. Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. *Mutation Research*. 1995. N 343. P. 121—135.
17. Anbumani S., Mohankumar M.N. Gamma radiation induced micronuclei and erythrocyte cellular abnormalities in the fish *Catla catla*. *Aquat. Toxicol.* 2012. N 122. P. 125—132.
18. Belyaev V.V., Volkova O.M., Gudkov D.I. et al. Reconstruction of the absorbed dose of ionizing radiation in fish of the Glyboke Lake over the early phase of the Chernobyl accident. *Hydrobiol. J.* 2021. Vol. 57. N 4. P. 96—106.
19. Belyaev V.V., Volkova O.M., Gudkov D.I. et al. Radiation dose reconstruction for higher aquatic plants and fish in Glyboke Lake during the early phase of the Chernobyl accident. *J. Environ. Radioactivity*. 2023. Vol. 263. P. 107—169.
20. Belyaev V.V., Volkova E.N., Parkhomenko A.A. et al. Dynamics of irradiation dose formation in freshwater fish after ⁹⁰Sr and ¹³⁷Cs single entry in a reservoir. *Hydrobiol. J.* 2014. Vol. 50. N 5. P. 119—129.
21. Gudkov D.I., Derevets V.V., Zub L.N. et al. The distribution of the radionuclides in the main components of lake ecosystems within the Chernobyl NPP exclusion zone *Radiatsionnaya Biologiya. Radioekologiya*. 2005. Vol. 45. N 3. P. 271—280.
22. Gudkov D.I., Derevets V.V., Zub L.N. et al. ⁹⁰Sr, ¹³⁷Cs, ²³⁸Pu, ²³⁹⁺²⁴⁰Pu, and ²⁴¹Am in the components of aquatic ecosystems of the Krasnenskaya floodplain of the Pripjat river. *Hydrobiol. J.* 2005. Vol. 41. N 3. P. 75—89.
23. Gudkov D.I., Kaglian A.E., Kireev, S.I. et al. The main radionuclides and dose formation in fish of the Chernobyl NPP exclusion zone. *Radiatsionnaya biologiya, radioekologiya*. 2008. Vol. 48. N 1. P. 48—58.
24. Gudkov D.I., Kaglyan A.Ye., Nazarov A.B. et al. Dynamics of the content and distribution of the main dose forming radionuclides in fishes of the exclusion zone of the Chernobyl NPS. *Hydrobiol. J.* 2008. Vol. 44. N 5. P. 87—104.
25. Gudkov D.I., Kireev S.I., Kuzmenko M.I. et al. Peculiarities of radionuclide distribution in the main components of aquatic ecosystems within the Chernobyl accident exclusion zone. *Aquatic Ecosystem Research Trends*. 2012. P. 383—403.
26. Gudkov D.I., Kuzmenko M.I., Kireev S.I. et al. Radionuclides in components of aquatic ecosystems of the Chernobyl accident restriction zone. *20 Years after the Chernobyl Accident: Past, Present and Future*. 2007. P. 265—285.
27. Gudkov D.I. Shevtsova N.L., Pomortseva N.A. et al., Radiation-induced cytogenetic and hematologic effects on aquatic biota within the Chernobyl exclusion zone. *J. Environ. Radioact.* 2016. Vol. 151. P. 438—448.

28. Gudkov D., Shevtsova N., Pomortseva N. et al. Aquatic plants and animals in the Chernobyl exclusion zone: Effects of long-term radiation exposure on different levels of biological organization, Genetics, Evolution and Radiation: Crossing Borders, The Interdisciplinary Legacy of Nikolay W. Timofeeff-Ressovsky. 2017. P. 287—302.
29. Kaglyan O.Ye., Gudkov D.I., Belyaev V.V. et al. Changes in radiation exposure rate of fish of the cooling pond of the Chornobyl NPS and Lake Azbuchyn after water level lowering. *Hydrobiol. J.* 2023. Vol. 59. N 2. P. 96—109.
30. Kaglyan A.Ye., Gudkov D.I., Kireyev S.I. et al. Fish of the Chernobyl exclusion zone: Modern levels of radionuclide contamination and radiation doses. *Ibid.* 2019. Vol. 55. N 5. P. 86—104.
31. Kaglyan A.Ye., Gudkov D.I., Kireev S.I. et al. Dynamics of specific activity of ^{90}Sr and ^{137}Cs in representatives of ichthyofauna of Chornobyl exclusion zone. *Nuclear Physics and Atomic Energy*. 2021. Vol. 22. N 1. P. 62—73.
32. Kaglyan O.Ye., Gudkov D. I., Klenus V.G. et al. Strontium-90 in fish from the lakes of the Chernobyl Exclusion Zone. *Radioprotection*. 2009. Vol. 44. N 5. C. 945—949.
33. Kaglyan O.Y., Gudkov D.I., Klenus V.G. et al. Radionuclides in the indigenous fish species of the Chernobyl exclusion zone. *Nuclear Physics and Atomic Energy*. 2012. Vol. 13. N 3. P. 306—315.
34. Kryshev I.I. Radioactive Contamination of Aquatic Ecosystems Following the Chernobyl Accident. *Journal of Environmental Radioactivity*. 1995. Vol. 27. N 3. P. 207—219.
35. Lerebours A., Gudkov D., Nagorskaya L. et al. Impact of environmental radiation on the health and reproductive status of fish from Chernobyl. *Environ. Sci. Technol.* 2018. Vol. 52, N 16. P. 9442—9450.
36. Lerebours A., Robson S., Sharpe C. et al. Transcriptional Changes in the Ovaries of Perch from Chernobyl. *Environ. Sci. Technol.* 2020. Vol. 54. N 16. P. 10078—10087.
37. Mikryakov V.R., Gudkov D.I., Mikryakov D.V. et al. Comparative characteristics of leucocytes compositions in the crucian carp *Carassius carassius* (Cyprinidae) from the waterbodies of the Chernobyl exclusion zone and from the Rybinsk reservoir. *J. Ichthyol.* 2013. Vol. 53. N 9. P. 753—757.
38. Pomortseva N.A., Gudkov D.I. Effect of additional acute irradiation on cytomorphological abnormalities of erythrocytes of the Prussian carp (*Carassius gibelio* Bloch) from water body contaminated with radionuclides *Problemy Radiatsiinoi Medytsyny ta Radiobiologii*. 2019. Vol. 24. P. 270—283.
39. Volkova Ye.N., Belyaev V.V., Goncharenko N.I. Forming of radiation doses of fishes of the Kiev Reservoir. *Hydrobiol. J.* 2010. Vol. 47. N 2. P. 78—92.
40. Zarubin O.L., Laktionov V.A., Moshna B.O. et al. Technogenic radionuclides in freshwater fishes of Ukraine after the accident at the Chernobyl nuclear power plant. *Nuclear Physics and Atomic Energy*. 2011. Vol. 12, N 2. P. 192—197.
41. Zarubin O.L., Kostyuk V.A., Zalisskiy A.A. et al. Dynamics of ^{137}Cs distribution over the organs and tissues of fishes of various ecological groups in the cooling pond of the Chernobyl nuclear power station. *Hydrobiol. J.* 2012 Vol. 48, N 3. P. 99—105.
42. Zarubin O.L., Zarubina N.Ye., Zalisskiy A.A. et al. Dynamics of ^{137}Cs specific activity in fishes differing in the type of their nutrition in the cooling pond of the Chernobyl NPS (1986-2013). *Ibid.* 2014. Vol. 50, N 3. P. 95—106.

Надійшла 16.05.2023

N.A. Pomortseva, PhD (Biol.), Junior Researcher,
Institute of Hydrobiology of the NAS of Ukraine,
Volodymyr Ivasyk Avenue, 12, Kyiv, 04210, Ukraine
e-mail: natapomorceva@gmail.com

N.K. Rodionova, PhD (Medical), Senior Researcher,
Institute for Nuclear Research of the NAS of Ukraine,
Nauky Avenue, 47, Kyiv, 03680, Ukraine
e-mail: rodionova@nas.gov.ua

D.I. Gudkov, Dr. Sci. (Biol.), Prof., NAS Corresp. member, Head of Department,
Institute of Hydrobiology of the NAS of Ukraine,
Volodymyr Ivasyk Avenue, 12, Kyiv, 04210, Ukraine
e-mail: digudkov@gmail.com
ORCID 0000-0002-5304-7414

O.Ye. Kaglyan, PhD (Biol.), Senior Researcher,
Institute of Hydrobiology of the NAS of Ukraine,
Volodymyr Ivasyk Avenue, 12, 12, Kyiv, 04210, Ukraine
e-mail: alex_kt983@ukr.net

QUANTITATIVE AND QUALITATIVE COMPOSITION OF THE PERIPHERAL BLOOD OF FISH IN THE GRADIENT OF LONG-TERM RADIATION EXPOSURE

The results of analysis of the haematological parameters of the common rudd (*Scardinius erythrophthalmus* L.) and Prussian carp (*Carassius gibelio* Bloch) from the most radionuclide-contaminated water bodies of the Chernobyl Exclusion Zone are presented. Data on the absolute and relative leukocyte composition and morphological disorders of erythrocytes in peripheral blood were obtained. In the leukocyte chain, unidirectional reactions to the absorbed dose rate were found for the both fish species. In the range of radiation doses of 5.1—54.1 $\mu\text{Gy/h}$, reactive changes of a compensatory nature were observed with an increase in the content of leukocytes at the expense of lymphocyte and granulocyte fractions. Under the influence of higher doses (up to 84.5 $\mu\text{Gy/h}$), damage to haematopoiesis was registered with a sharp decrease in the content of leukocytes and significant changes in leukograms, which is also confirmed by the value of haematological indices. It was established that the number of morphological disorders and pathological changes of erythrocytes increases with the increase of the absorbed dose rate.

Keywords: Chernobyl exclusion zone, radionuclide contamination, absorbed dose rate, *Scardinius erythrophthalmus*, *Carassius gibelio*, leukocyte formula, red blood cells disorders.