РАДІОБІОЛОГІЯ ТА РАДІОЕКОЛОГІЯ

УДК 539.173.8: 614.876

О. А. Сова

Інститут ядерних досліджень НАН України, Київ

ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ЕФЕКТИ В КІСТКОВОМУ МОЗКУ ЩУРІВ ПРИ ТРИВАЛОМУ НАДХОДЖЕННІ ^{131}I

Досліджували цитогенетичні ефекти в кістковому мозку щурів за різних умов опромінення ^{131}I: щоденне надходження до організму впродовж 15 діб по 29,3 кБк/тварину йоду (стале надходження) і щоденне надходження впродовж 14 діб ізотопу, первинна активність якого становила 32,3 кБк/тварину, і у кожний наступний день зменшувалась на величину добового радіоактивного розпаду (змінне тривале надходження). Установлено достовірне збільшення аберацій хромосом за рахунок дицентриків із супроводжуючими парними фрагментами та вільних парних фрагментів. Аберації хроматидного типу в опромінених тварин були на тому ж рівні, що й у контрольних.

Ключові слова: ізотоп ^{131}I, клітини кісткового мозку, хромосомні аберації, дозоутворення.

Вступ

Серед короткоживучих продуктів поділу ядер урану та трансуранових елементів найбільш біологічно значимими є радіоактивні ізотопи йоду, особливо ^{131}I [1, 2]. Це зумовлено їхнім високим виходом у реакціях поділу [3], здатністю майже без дискримінації мігрувати по ланках біологічних ланцюгів і концентруватися в щитоподібній залозі (ЩЗ), що є критичним органом для ізотопів йоду [4, 5]. При радіоактивному забрудненні довкілля продуктами поділу важких ядер радіоактивні ізотопи йоду можуть ставати істотним чинником радіаційної небезпеки [6, 7].

Як тиреотропний елемент йод має певні особливості дозоутворення, порівняно з іншими ізотопами [4]. Так, у лабораторних щурів дози, поглинені в органах, на 4-5 порядків менші, ніж у ЩЗ. Очевидно, саме тому вивченню дозоутворення в інших органах, окрім ЩЗ, приділяють мало уваги. Однак відомо, що радіаційне ураження ЩЗ за принципом зворотного зв'язку призводить до суттєвих системних метаболічних змін в організмі, незважаючи на незначне опромінення органів та тканин, в яких спостерігаються ці зміни. У першу чергу це стосується системи кровотворення. Так, за однократного введення щурам-самцям лінії Вістар ^{131}I у кількості 74 кБк/тварину в кістковому мозку (КМ) формується поглинена доза лише декілька мГр. А. С. Монахов, проводячи цитогенетичні дослідження при введенні безпородним щурам ^{131}I, установив, що за однократного надходження до організму ізотопу, питомою активністю 37 Бк/г маси тіла, через добу в лімфоцитах периферичної крові середня кількість аберантних клітин суттєво зростає порівняно з контролем і становить 1,07 на 1 клітину [8]. Через 8 і 120 діб спостерігали значне зменшення кількості аберантних лімфоцитів, проте на 140-ву добу виявили повторне посилення цитогенетичного ефекту. Подібне спостерігали за однократного надходження до організму значно більшої кількості ізотопу – 3,7 кБк/г, однак кореляції з поглиненою дозою виявлено не було. Автор вважає, що зміни рівня цитогенетичних порушень у лімфоцитах крові під впливом інкорпорованого йоду в окремі терміни відбувались незалежно від його безпосереднього впливу, а ефект, що спостерігали, вочевидь, зумовлений порушеннями в ендокринних органах, які виникли внаслідок опромінення. Подібні дослідження за тривалого надходження до організму ссавців радіоактивного йоду нам невідомі.

Ураховуючи, що у випадку розгерметизації ядерного реактора радіоактивні ізотопи йоду представляють серед інших ізотопів найбільшу небезпеку, ми вважали за доцільне дослідити цитогенетичні ефекти в КМ щурів за тривалого надходження ^{131}I.

Матеріали та методи

Експерименти проведено на двох групах тварин. Вивчали цитогенетичні ефекти у КМ щурів-самців лінії Вістар за тривалого надходження ізотопу: 1-ша група – щоденне надходження до організму впродовж 15 діб по 29,3 кБк/тварину (стале надходження); 2-га група - щоденне надходження впродовж 14 діб ізотопу, первинна активність якого становила 32,3 кБк/тварину, у кожний наступний день активність, що надходила до організму, зменшувалась на величину добового радіоактивного розпаду (змінне тривале надходження). В експериментах використано 59 тварин з усталеним гомеостазом.

Тваринам масою 240 ± 30 г за певним графіком перорально через зонд вводили розчин натрію йодиду (^{131}I) у дистильованій воді відповідної активності. Тварин умертвляли згідно з робочим графікам з дотриманням вимог ст. 26 Закону України «Про захист тварин від жорстокого повод-

© О. А. Сова, 2015

ження». На γ-спектрометрі з напівпровідниковим Ge-Li детектором визначали вміст ізотопу в ЩЗ та КМ у динаміці проведення експериментів.

Поглинену дозу в КМ розраховували за виразами

$$D(t) = 1{,}6 \cdot 10^{-13} \cdot N_t \cdot E_{ef}/m; \quad (1)$$

$$N_t = \int {}_0^t Q(\mathrm{t})\,\mathrm{dt}, \quad (2)$$

де N_t – кількість радіоактивних розпадів у КМ за весь час знаходження ізотопу в тканині; E_{ef} – ефективна енергія для КМ при поглинанні ^{131}I, МеВ/розп.; m – маса КМ, кг; $Q(\mathrm{t})$ – функція зміни активності в органі; $1{,}6 \cdot 10^{-13}$ – узгоджувальний коефіцієнт, Дж/МеВ.

При розрахунку дози, поглиненої в КМ, ураховували додаткове γ-опромінення від йоду, що утримується в ЩЗ та в підшкірній клітковині за власною методикою, опублікованою в [9].

Цитогенетичний аналіз проводили в клітинах КМ на стадії метафази. КМ вимивали із стегнової кістки 4 мл ембріональної телячої сироватки. Для накопичення достатньої кількості метафазних клітин в кожну пробу додавали 0,5 мл колхіцину (10^{-5} мг/мл), тривалість інкубації клітин з колхіцином 50 хв при температурі 37 °С. Гіпотонію проводили 40 хв при температурі 37 °С, після чого фіксували 3 мл фіксатора (метиловий спирт та льодяна оцтова кислота у співвідношенні 3:1). Клітини 3 рази відмивали фіксатором. Препарати фарбували азур-еозином 20 хв.

Аналіз препаратів здійснювали методом візуального каріотипування під світловим мікроскопом зі збільшенням х1000. Враховували аберації хроматидного та хромосомного типів: обміни, одиночні та парні фрагменти, ацентричні кільця, дицентричні, кільцеві, атипові хромосоми та геномні аберації. Проаналізовано 28500 метафазних пластинок. Статистичну обробку дозиметричних даних здійснювали за t-критерієм Стьюдента, цитогенетичних – за точним критерієм Фішера. Статистично значущими вважали відмінності при рівні значимості $p \le 0{,}05$.

Результати та обговорення

Результати цитогенетичного аналізу наведено в табл. 1. В обох експериментах спостерігали достовірне зростання частоти аберантних метафаз за рахунок перебудов хромосомного типу, а саме дицентричних і кільцевих хромосом із супроводжуючими парними фрагментами, вільних парних фрагментів та атипових хромосом, поява яких вважається специфічною відповіддю на дію іонізуючого випромінення [10]. Слід зазначити, що центричні кільця зустрічалися надзвичайно рідко.

Таблиця 1. **Середньогрупова частота аберацій хромосом у клітинах КМ щурів при щоденному надходженні до організму ^{131}I**

Тривалість опромінення, доби	Кількість проаналізованих метафаз	Аберантні клітини, %	Частота на 100 клітин (M±m)									
			Геномні аберації		Структурні аберації хромосом							
							Хромосомний тип					
								Дицентрики + центричні кільця				
			Із 43 хромосомами	Поліплоїди	Усього	Хроматидний тип	Вільні ацентричні фрагменти	з фрагментами	без фрагментів	усього	Атипові хромосоми	Усього
		Щоденне надходження ізотопу з активністю 29300 Бк/тварину										
К	2000	1,40	0,15	0,00	1,25	0,90	0,30	0,05	0,00	0,05	0,00	0,35
1	2000	5,65	0,05	0,00	5,60	1,65	1,90*	1,75*	0,05	1,80	0,25	3,95
2	2500	5,60	0,00	0,04	5,50	1,48	2,00*	1,63*	0,12	1,76	0,32	4,02
3	2500	6,28	0,00	0,08	6,20	1,60	2,40*	1,64*	0,28	1,92	0,28	4,60
7	2500	5,36	0,16	0,52*	4,68	1,44	1,52*	1,08*	0,24	1,32	0,40*	3,24
15	2500	5,92	0,20	0,72*	5,00	1,80	1,32*	1,20*	0,16	1,36	0,52*	3,20
		Щоденне надходження ізотопу з початковою активністю 32300 Бк/тварину										
К	2000	1,50	0,15	0,00	1,35	1,05	0,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,30
1	2500	4,00	0,08	0,00	3,92	1,08	1,72*	1,00*	0,00	1,04	0,08	2,84
2	2500	4,60	0,12	0,00	4,52	1,12	2,12*	1,12*	0,00	1,16	0,12	3,40
3	2500	4,24	0,04	0,08	4,12	0,96	1,96*	1,00*	0,04	1,08	0,12	3,16
8	2500	4,28	0,20	0,04	4,04	1,08	1,72*	0,88*	0,08	0,96	0,28	2,96
14	2500	4,28	0,16	0,12	4,00	1,12	1,76*	0,72*	0,08	0,80	0,32	2,88

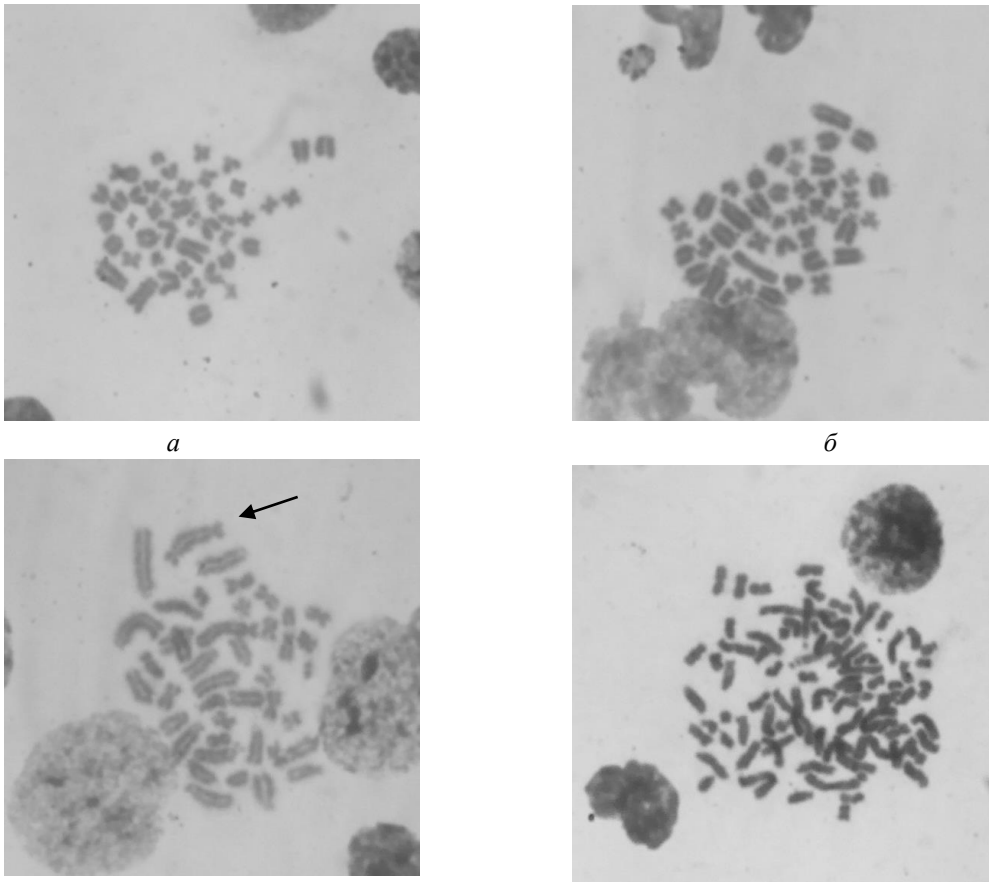
* Статистично значимі відмінності від контролю, $p \le 0{,}05$. Обробка за точним критерієм Фішера.

Значимих відмінностей у частоті хроматидних аберацій, які є цитогенетичим маркерами дії хімічних та деяких біологічних агентів, між опроміненою та контрольною групами в обох експериментах не виявлено [10].

Рівень нестабільних хромосомних обмінів із супроводжуючими парними фрагментами через добу після початку введення ізотопу становив 1,75 % у першому досліді та 1 % у – другому, при 0,05 і 0,00 % у відповідних контрольних групах. На 7 добу у першому досліді, коли доза на кістковий мозок досягла 1,78 мГр (табл. 2), спостерігали зниження їхньої частоти; у другому експерименті, де на 8 добу доза досягла 1,62 мГр, такий ефект був менш виражений. Аналогічний ефект в обох експериментах спостерігали щодо середньої кількості вільних ацентричних фрагментів. Починаючи з першої доби після початку опромінення, їхня кількість збільшилась і лишалась на близькому рівні до третьої доби включно, після чого на 7 (8) і 15 (14) доби поступово зменшувалась. Відомо, що такі аберантні клітини елімінуються в процесі подальших поділів, а проліферуючий пул клітин КМ щурів повністю оновлюється кожні 7 діб [11], що не дає можливості подібним ушкодженням накопичуватись та може пояснити зменшення їхньої частоти на 7 (8) і 15 (14) доби.

Таблиця 2. **Формування поглинених доз у КМ щурів при щоденному надходженні ^{131}I**

Термін від початку надходження ^{131}I, доби	Стале надходження	Тривале надходження з урахуванням добового розпаду ^{131}I
	Поглинена дозах 10^{-4}, Гр	
1	2,10 ± 0,37	1,70 ± 0,54
2	4,40 ± 0,64	3,60 ± 0,43
3	6,80 ± 0,92	5,60 ± 0,61
7	17,80 ± 2,19	-
8	-	16,20 ± 2,7
14	-	27,70 ± 3,7
15	43,30 ± 4,46	-



а *б* *в* *г*

Хромосомні аберації, що спостерігали в клітинах КМ:
а – ацентричні кільця; *б* – дицентрик; *в* – атипова хромосома; *г* – поліплоїд.

Незначну кількість атипових хромосом у клітинах КМ спостерігали вже з першої доби опромінення, зростання їхнього рівня (вірогідне лише за умов сталого надходження радіойоду) фіксували починаючи із сьомої доби експерименту. Максимальні значення спостерігали на 15 добу, що свідчить про життєздатність хромосом із стабільними перебудовами та можливість брати участь у гістогенезі гемопоетичної тканини опромінених тварин.

В обох експериментах зі збільшенням дози на КМ також реєстрували зростання кількості поліплоїдних клітин, але в другому поява таких пошкоджень не була вірогідною.

На рисунку відображено аберації хромосом, які виявляли в клітинах КМ найчастіше.

Висновки

Установлено, що за тривалого надходження до організму ^{131}I як сталої активності, так і з урахуванням його добового розпаду цитогенетичні ефекти мають аналогічний характер. В обох експериментах зміни відбувались в основному за рахунок специфічних маркерів радіаційної дії: дицентричних хромосом із супроводжуючими парними фрагментами та вільних парних фрагментів. Збільшення цих аберацій спостерігалось в обох експериментах уже з першої доби і тримались приблизно на одному рівні до третьої доби включно. У більш віддалені терміни (на 7 (8) і 15 (14) доби) спостерігали зменшення їхньої частоти. В обох експериментах відбувалось поступове накопичення атипових хромосом, але вірогідне воно було лише в експерименті зі сталим опроміненням.

Суттєвих відмінностей за частотою аберацій хроматидного типу не виявлено.

В експерименті зі сталим надходженням ізотопу зі збільшенням дози опромінення реєстрували і статистично значуще зростання кількості поліплоїдних клітин.

За сталого опромінення дозове навантаження було більше, ніж за змінного тривалого, з урахуванням добового розпаду ^{131}I, і відповідно цитогенетичні ефекти були більш вираженими.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Василенко И.Я., Василенко О.И.* Радиоактивный йод // Энергия: экономика, техника, экология. - 2003. - № 5. - С. 57 - 72.
2. *Василенко И.Я.* Радиационная безопасность изотопов йода // Атомная энергия. - 1987. - Т. 63, вып. 4. - С. 244 - 248.
3. *Василенко О.И.* Радиационная экология. - М.: Медицина, 2004. - 216 с.
4. *Ильин Л.А.* Радиоактивный йод в проблеме радиационной безопасности. - М.: Атомиздат, 1972. - С. 27 - 30.
5. *Колобашкин В.М., Рубцов П.М., Ружанский П.А., Сидоренко В.Д.* Радиационные характеристики облученного ядерного топлива: справочник. - М.: Энергоатомиздат, 1983. - 374 с.
6. *Щитовидная* железа. Фундаментальные аспекты / Под ред. проф. А. И. Кубарко и проф. С. Ямашита. - Минск-Нагасаки, 1998. - 368 с.
7. *Королев Г.К.* Обмен ^{131}I в организме в зависимости от пути поступления и токсическое действие при попадании в органы дыхания // Распределение, кинетика обмена и биологическое действие радиоактивных изотопов йода: сб. работ / Под ред. Л. А. Ильина, Ю. И. Москалева. - М.: Медицина, 1970. - С. 36 - 44.
8. *Монахов А.С.* Цитогенетическое исследование действия инкорпорированных радионуклидов на лимфоциты крови животных: автореф. дис. … канд. биол. наук: 03.00.01 / Минсельхоз СССР, Всесоюзный НИИ сельхозрадиологии. - Л., 1984. - 18 с.
9. *Сова О.А., Дрозд І.П.* Дозоутворення та гематологічні ефекти за тривалого внутрішнього опромінення щурів ізотопом ^{131}I // Ядерна фізика та енергетика, - 2014. - Т. 15, № 4. - С. 359 - 369.
10. *Демина Э.А., Бариляк И.Р., Пилинская М.А.* Словарь по радиационной цитогенетике. - К.: Вісник, 1994. - 125 с.
11. *Hulse E.V.* Lymphocytic Recovery after Irradiation and its Relation to Other Aspects of Haemopoiesise // British Journal of Haematology. - 1963. - No. 9. - P. 376 - 384.

Е. А. Сова

Институт ядерных исследований НАН Украины, Киев

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ В КОСТНОМ МОЗГЕ КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ПОСТУПЛЕНИИ ^{131}I

Исследовали цитогенетические эффекты в костном мозге крыс при разных условиях облучения ^{131}I: ежедневное поступление в организм в течение 15 сут по 29,3 кБк/животное ^{131}I (стабильное поступление) и ежедневное поступление в течение 14 сут ^{131}I с первоначальной активностью 32,3 кБк/животное. В каждый следующий день активность уменьшалась на величину суточного радиоактивного распада (переменное длительное поступление). Установлено достоверное увеличение аберраций хромосом за счет дицентрических хромосом с

парными фрагментами, свободных парных фрагментов, атипичных хромосом и полиплоидов. Аберрации хроматидного типа у облученных животных были на том же уровне, что и у контрольных.

Ключевые слова: изотоп ^{131}I, клетки костного мозга, хромосомные аберрации, дозообразование.

O. A. Sova

Institute for Nuclear Research, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

CYTOGENETIC EFFECTS IN THE BONE MARROW OF RATS WITH LONG-TERM INGESTION OF ^{131}I

Cytogenetic effects in the rats bone marrow after long-term ingestion of ^{131}I were studied. Significant increase of chromosomal aberrations by dicentric aberrations with and without fragments, acentric fragments, atypical chromosomes and polyploidies was found. Chromatid-type aberrations in exposed animals were present at the same level as in the control.

Keywords: isotope ^{131}I, dose formation, bone marrow cells, chromosomal aberrations, polyploidy.

REFERENCES

1. *Vasilenko I.Ya., Vasilenko O.I.* // Energy: economics, technology, ecology. - 2003. - No. 5. - P. 57 - 72. (Rus)
2. *Vasilenko I.Ya.* // Atomic energy. - 1987. - Vol. 63, No. 4. - P. 244 - 248. (Rus)
3. *Vasilenko O.I.* Radiation ecology. - Moskva: Medicine, 2004. - 216 p. (Rus)
4. *Ilyin L.A.* Radioactive iodine in the problem of radiation safety. - Moskva: Atomizdat, 1972. - P. 27 - 30. (Rus)
5. *Kolobashkin V.M., Rubtsov P.M., Ruzhanskij P.A., Sidorenko V.D.* Radiation characteristics of irradiated nuclear fuel: handbook. - Moskva: Energoatomizdat, 1983. - 374 p. (Rus)
6. *Thyroid.* Fundamental aspects / Ed. A. I. Kubarko and S. Yamashita. - Minsk-Nagasaki, 1998. - 368 p. (Rus)
7. *Korolev G.K.* // Distribution, metabolism and kinetics of the biological effects of radioactive iodine isotopes: collection of papers / Ed. L. A. Ilyin, Yu. I. Moskalev. - Moskva: Medicine, 1970. - P. 36 - 44. (Rus)
8. *Monahov A.S.* Cytogenetic investigation of the effects of incorporated radionuclides in the blood lymphocytes of animals: Extended abstract of PhD dissertation (Biology). - Leningrad, 1984. - 18 p. (Rus).
9. *Sova O.A., Drozd I.P.* // Nucl. Phys. At. Energy, - 2014. - Vol. 15, No 4. - P. 359 - 369. (Ukr)
10. De*mina E.A., Bariljak I.R., Pilinskaja M.A.* Dictionary of radiation cytogenetics. - Kyiv: Visnyk, 1994. - 125 p. (Rus)
11. *Hulse E.V.* / British Journal of Haematology. - 1963. - No. 9. - P 376 - 384.

Надійшла 30.06.2015
Received 30.06.2015