

УДК 575:574.24

## АНАЛІЗ ВПЛИВУ ХРОНІЧНОГО НИЗЬКОДОЗОВОГО ІОНІЗУЮЧОГО ОПРОМІНЕННЯ НА *MUS MUSCULUS* ЛІНІЇ AF І ЇХ НАЩАДКІВ

О. В. Федорова, С. О. Костенко  
fedorchenok@yandex.ua

Національний університет біоресурсів та природокористування України  
м. Київ, вул. Героїв Оборони, 12-Б, корп.7-А, 03041, Україна

*Аварія на Чорнобильській атомній електростанції (ЧАЕС), одна з найбільших техногенних катастроф в історії людства. У результаті аварії впливу іонізуючого випромінювання зазнали території України, Росії та Білорусі. Дослідження наслідків на живі організми аварії на ЧАЕС, набули великої актуальності в останні десятиліття, оскільки навіть самі невеликі дози опромінення підвищують вірогідність виникнення мутацій*

*З метою оцінки впливу хронічного низькодозового іонізуючого опромінення проведено цитогенетичний аналіз *Mus musculus* лабораторної лінії Af, та їх нащадків ( $F_1$ ). Проведена діагностика викликаних радіацією генетичних порушень у організму, який безпосередньо зазнав впливу дії хронічного низькодозового іонізуючого опромінення, проаналізована ймовірність їх передачі генетичної нестабільності наступним поколінням.*

*Тварин утримували 1 місяць в умовах дії хронічного низькодозового іонізуючого опромінення ( $3,3 \pm 0,1$  мкГр/г), після чого їх протягом 10 днів спарювали. Проводили цитогенетичний аналіз *Mus musculus* з зони*

*відчуження ЧАЕС. Цитогенетичні препарати виготовляли з кісткового мозку, який ми добували з стегнової кістки тварин. У кожній особини проаналізовано не менше 3000 клітин.*

*Виявлено, що внаслідок хронічної дії іонізуючого опромінення, у тварин спостерігається збільшення частоти клітин кісткового мозку з мікроядрами ( $5,9 \pm 0,96$  %) в порівнянні з контролем ( $4,20 \pm 0,16$  %). У нащадків опромінених батьків виявили збільшення мітотичного індексу ( $4,5 \pm 0,33$  %) в порівнянні з контролем ( $3,1 \pm 0,21$  %). Дані різних авторів щодо трансгенераційної передачі нестабільності геному суперечливі, тому важливо проводити довготривалий моніторинг за життєдіяльністю організмів і їх нащадків на забрудненій території.*

**Ключові слова:** МІКРОЯДРО, ХРОНІЧНЕ НИЗЬКОДОЗОВЕ ІОНІЗУЮЧЕ ОПРОМІНЕННЯ, МІТОТИЧНИЙ ІНДЕКС, ЧАЕС, ГЕНОМ, ТРАНСГЕНЕРАЦІЙНА ПЕРЕДАЧА, ЦИТОГЕНЕТИЧНИЙ МОНІТОРИНГ

## ANALYSIS OF THE IMPACT OF CHRONIC LOW-DOSE IONIZING RADIATION ON THE *MUS MUSCULUS* LINE AF AND THEIR NEXT GENERATION

O. V. Fedorova, S. O. Kostenko  
fedorchenok@yandex.ua

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine  
Kyiv, str. Heroyv Oborony, 12-B, korp.7-A, 03041, Ukraine

*The accident that occurred at Chernobyl is one of the largest technological disasters in the history of mankind. As a result of the accident, were subjected to the influence of ionizing radiation in Ukraine, Russia and Belarus. Studies on the effects on living organisms of the*

*Chernobyl accident have become particularly relevant in recent decades, as even small doses increase the likelihood of mutations.*

*In order to assess the impact of chronic low-dose ionizing radiation performed cytogenetic analysis of *Mus musculus* laboratory strain Af,*

and their children (F1). Conducted diagnostic radiation-induced genetic damage in the body, directly experienced the effects of the operation of chronic low-dose ionizing radiation, analyze the possibility of their transfer to the next generation of genetic instability.

Animals were housed one month under the action of chronic low-dose ionizing radiation ( $3,3 \pm 0,1$  mcg / g), after which the animals within 10 days mated. Cytogenetic analysis was performed with the *Mus musculus* Chernobyl exclusion zone. Cytogenetic preparations were made from bone marrow, which we extracted from the femur of animals. In each animal analyzed at least 3000 cells.

It has been found that as a result of chronic exposure to ionizing radiation, animals an increase in the frequency of bone marrow cells

with micronuclei ( $5,9 \pm 0,96$  %) compared to control ( $4,20 \pm 0,16$  %). The children of irradiated parents found an increase in the mitotic index ( $4,5 \pm 0,33$  %) compared with controls ( $3,1 \pm 0,21$  %). The results of various authors about the transgenerational transmission of genomic instability are contradictory, so it is important to conduct long-term monitoring of the vital activity of organisms and their descendants in the contaminated area.

**Keywords:** MICRONUCLEUS, CHRONIC LOW-DOSE IONIZING RADIATION, MITOTIC INDEX, CHERNOBYL, GENE, TRANSGENERATIONAL TRANSFER, CYTOGENETIC MONITORING

## АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО НИЗКОДОЗОВОГО ИОНИЗИРУЮЩЕГО ОБЛУЧЕНИЯ НА *MUS MUSCULUS* ЛИНИИ Af И ИХ ПОТОМКОВ

Е. В. Фёдорова, С. А. Костенко  
fedorchenok@yandex.ua

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины  
г. Киев, ул. ГероевОбороны, 12-Б, корп.7-А, 03041, Украина

Авария на Чернобыльской атомной электростанции (ЧАЭС), одна из крупнейших техногенных катастроф в истории человечества. В результате аварии, влиянию ионизирующего излучения подверглись территории Украины, России и Беларуси. Исследования последствий на живые организмы аварии на ЧАЭС, стали особенно актуальными в последние десятилетия, поскольку даже самые небольшие дозы облучения повышают вероятность возникновения мутаций.

С целью оценки влияния хронического низкодозового ионизирующего облучения проведены цитогенетический анализ *Mus musculus* лабораторной линии Af, и их потомков (F1). Проведенная диагностика вызванных радиацией генетических нарушений у организма, который непосредственно испытал влияние действия хронического низкодозового ионизирующего облучения, проанализирована возможность передачи генетической нестабильности следующим поколениям.

Животных содержали 1 месяц в условиях действия хронического низкодозового

ионизирующего облучения ( $3,3 \pm 0,1$  мкГр/г), после чего они в течение 10 дней спаривались. Проводили цитогенетический анализ *Mus musculus* с зоны отчуждения ЧАЭС. Цитогенетические препараты изготавливали из костного мозга, который мы добывали из бедренной кости животных. У каждого животного проанализированы не менее 3000 клеток.

Обнаружено, что в результате хронического воздействия ионизирующего облучения, у животных наблюдается увеличение частоты клеток костного мозга с микроядрами ( $5,9 \pm 0,96$  %) по сравнению с контролем ( $4,20 \pm 0,16$  %). У потомков облученных родителей, обнаружили увеличение митотического индекса ( $4,5 \pm 0,33$  %) в сравнении с контролем ( $3,1 \pm 0,21$  %). Результаты различных авторов об трансгенерационной передаче нестабильности генома противоречивы, поэтому важно проводить долговременный мониторинг жизнедеятельности организмов и их потомков на загрязненной территории.

**Ключевые слова:** МИКРОЯДРО, ХРОНИЧЕСКОЕ НИЗКОДОЗОВОЕ ИОНИЗИРУЮЩЕЕ ОБЛУЧЕНИЕ, МИТОТИЧЕСКИЙ ИНДЕКС, ЧАЭС, ГЕНОМ, ТРАНСГЕНЕРАЦИОННАЯ ПЕРЕДАЧА, ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МОНИТОРИНГ

Дослідження наслідків для живих організмів аварій на підприємствах атомної енергетики набули великої актуальності в останні десятиліття, оскільки навіть самі невеликі дози опромінення підвищують вірогідність виникнення мутацій [1–3]. Аварія на ЧАЕС — найбільша в історії атомної енергетики, вона не має аналогів за кількістю радіонуклідів, що потрапили в навколишнє середовище, площі радіаційного забруднення і тяжкості біологічних наслідків [4]. Важливим аспектом є не лише діагностика викликаних радіацією генетичних порушень у організму, який безпосередньо зазнав впливу дії хронічного низькодозового іонізуючого опромінення, але і ймовірність їх передачі наступним поколінням.

Представники сімейства *Muridae* — унікальний об'єкт моніторингових досліджень, тому що в порівнянні з *Homo sapiens* швидше досягають статевої зрілості, що дозволяє аналізувати вплив іонізуючого опромінення на більшу кількість поколінь. Щоб отримати уявлення про радіочутливість вищих організмів, необхідні не тільки відомості про шляхи реалізації променевого пошкодження на клітинному рівні, але і розуміння ролі надклітинного рівня інтеграції [5, 6]. Генетичні наслідки дії радіонуклідів можуть зводитись не лише до пошкодження власне молекули ДНК, а й реалізується на над хромосомному рівні шляхом, впливу на системи клітинного поділу і пошкодження механізмів передачі генетичної інформації дочірнім клітинам [7]. Низькі дози радіації впливають на всі системи організму, особливо великої значущості набуває його вплив на імунну

систему. Основною функцією імунної системи є захист організму від впливу чужорідних антигенів та контроль за підтриманням генетичного сталості внутрішнього середовища організму.

### Матеріали і методи

Оцінку впливу хронічного низькодозового іонізуючого опромінення ми проводили за допомогою цитогенетичного моніторингу, на доцільності якого вказують ряд авторів [5, 6]. Дослідження проводили на мишах лінії Af та їх нащадків (мишам цієї лінії характерний високий спонтанний рівень виходу карциноми легень), які зазнали впливу хронічного низькодозованого опромінення ми дослідили 20 тварин. Самці і самки у віці 11–12 тижнів були ввезені в зону відчуження ЧАЕС (околиці с. Масани — 12-кілометрова зона). Заповідник в с. Масани Хойнікського району об'єднав у собі території трьох, найбільш забруднених радіонуклідами, районів Гомельської області Білорусі. Заповідник являє собою унікальний науковий полігон для вивчення проблем радіоекології, радіобіології, трансформації екосистем в умовах припинення господарської діяльності [7] Потужність експозиційної дози в місцях розміщення тварин на поверхні ґрунту становила  $3,3 \pm 0,1$  мкГр/г. Через 1 міс. експозиції тварин відсадили на 10 днів для спарювання, після чого вагітні самки були транспортовані з зони відчуження ЧАЕС. В якості контролю використовували лінійних мишей аналогічного віку.

Цитогенетичний аналіз клітин кісткового мозку проводили за використання стандартних методик [8]. У процесі досліджень враховували наступні показники: частоту клітин, що діляться (мітотичний індекс, МІ), двоядерних клітин (ДЯ, рис. 3), клітин з мікроядрами (МЯ, рис. 2) та з апоптозом (А, рис. 1) на 1000. Для кожної тварини було розглянуто не менше 3000 клітин (%). Статистичну обробку даних провели за використання t-

критерію Стьюдента. Роботи з експериментальними тваринами виконували з використанням тіопенталового або ефірного наркозу.

### Результати й обговорення

Аналіз отриманих даних показав, що кількість клітин кісткового мозку з мікроядрами у дорослих мишей з зони відчуження ЧАЕС -  $5,9 \pm 0,96 \%$ , достовірно більша за аналогічний показник контрольної групи. Даний показник дещо перевищує характерний для спонтанного рівня мишоподібних гризунів (2,7-5,6 %) [9]. За кількістю клітин з МЯ (рис. 2) у нащадків мишей з зони відчуження ЧАЕС, достовірної різниці в порівнянні з контролем, виявлено нами не було. Але мітотичний індекс у нащадків мишей, що утримувались в умовах хронічного впливу

низькодозового іонізуючого опромінення достовірно більший за контрольну групу ( $4,68 \pm 0,98$  і  $3,18 \pm 0,65$ ).

Наші дані про підвищення кількості клітин з МЯ, співпадають з іншими дослідженнями [10], автори якого вказують, що середня спонтанна частота МЯ кісткового мозку лінійних мишей, які перебували в зоні відчуження ЧАЕС, у 2,6 рази перевищувала аналогічний показник групи інтактного контролю. Кількість клітин з мікроядрами у тварин, які зазнали дії хронічного низькодозового опромінення перевищила аналогічний показник у контрольної групи, що свідчить про підвищений рівень радіонуклідного забруднення [5, 9]. Цитогенетичні показники клітин кісткового мозку мишей, експонованих в зоні відчуження ЧАЕС та їх нащадків представлені у таблиці 1.

Таблиця 1

Цитогенетичні показники клітин кісткового мозку мишей

№	Група	n	На 1000 клітин, %			
			МЯ	ДЯ	А	МІ
1	Контроль. Дорослі миші)	10	$4,20 \pm 0,15^*$	$2,42 \pm 0,15$	$2,53 \pm 0,51$	$2,8 \pm 1,02$
2	Дорослі миші з зони відчуження ЧАЕС	10	$5,9 \pm 0,96^*$	$2,36 \pm 0,37$	$2,93 \pm 0,4$	$4,2 \pm 1,44$
3	Нащадки мишей контрольної групи	10	$3,4 \pm 0,58$	$1,8 \pm 0,66$	$1,33 \pm 0,2$	$3,18 \pm 0,65^{**}$
4	Нащадки мишей з зони відчуження ЧАЕС	10	$3,7 \pm 0,51$	$2,04 \pm 0,54$	$1,7 \pm 0,44$	$4,68 \pm 0,98^{**}$

Примітка: \* —  $p \geq 0,99$ , \*\* — при  $p \geq 0,95$



Рис. 1. Клітина з апоптозом (А)

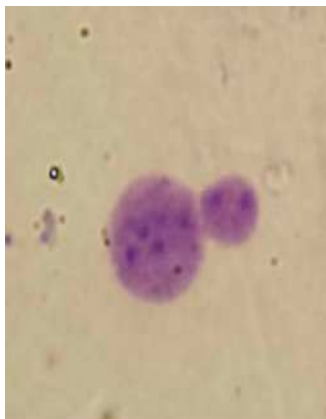


Рис. 2. Клітина з мікроядром (МЯ)



Рис. 3. Двоядерний лімфоцит (ДЯ)

Отримані нами дані свідчать про підвищення кількості клітин з мікроядрами у *Mus musculus* лінії Af. Збільшення кількості МЯ відбувається і у інших ссавців, які утримувались в умовах дії хронічного низькодозового іонізуючого опромінення. За результатами цитогенетичного моніторингу української чорної-рябої молочної породи *Bos taurus*, які також утримувались в умовах низькодозового іонізуючого опромінення, кількість клітин з МЯ становив 4,76%, що достовірно більше від МЯ контрольної групи - 1,87% [11, 12].

Але у нащадків *Mus musculus* яких ми досліджували, цитогенетичні показники (ДЯ, МЯ, А) достовірно не відрізнялись від контрольної групи. Можливість індукції нестабільності геному у нащадків, батьки яких піддавалися впливу іонізуючого випромінювання, залишається суперечливим питанням, особливо щодо постчорнобильського періоду [13]. Фогель, у своїх дослідях, аналізуючи наслідки бомбардування Хіросіми і Нагасакі на нащадків зазначив, що діти, народжені від опромінених батьків, не відрізнялися від дітей контрольної групи за рівнем метрвонародження і генетичними калітствами [14]. Аналогічні дані, про відсутність різниці між нащадками, народженими від опромінених в Хіросіми і Нагасакі і контрольною групою підтвердили і інші дослідження [15].

Протилежні результати отримали інші автори, які наголошують, що у нащадків опромінених осіб, фіксуються збільшення частки хронічних патологій органів травлення та дихання, нейроендокринного ожиріння, гіпоталамічного синдрому, гінекомастії, формуються ранні ознаки серцевої недостатності, знижується толерантність до фізичного навантаження [16].

У роботах вчених України, Росії, Великобританії, Білорусії відзначено, що у дітей, які проживають на забрудненій після аварії на Чорнобильській АЕС території Могильовської області, частота мікросателітних мутацій в 2 рази вище, ніж у нащадків неопромінених батьків.

Таким чином, суперечливі дані з оцінки генетичних наслідків радіаційного впливу на людину роблять необхідним проведення довготривалого моніторингу за життєдіяльністю організмів і їх нащадків на забрудненій території. В результаті проведених нами цитогенетичних досліджень на *Mus Musculus*, підтвердився негативний вплив іонізуючого опромінення на тварин, у цієї дослідної групи була достовірна більша кількість клітин з МЯ, в порівнянні з контролем.

## Висновки

Цитогенетичний аналіз *Mus Musculus* лінії Af дозволив виявити збільшення рівня цитогенетичної нестабільності геному у тварин, яких утримували в умовах хронічного впливу низькодозового іонізуючого опромінення, а саме кількості клітин з МЯ. Цитогенетичні показники нащадків опромінених мишей, достовірно не відрізнялись від показників контрольної групи. На підставі наших досліджень ми зробили висновок, що трансгенераційної передачі нестабільності геному у досліджених нами *Mus musculus* виявлено не було.

**Перспективи подальших досліджень.** Продовження довготривалого моніторингу за життєдіяльністю організмів і їх нащадків на забрудненій території.

1. Aleksakhin R. M. Radioekologiya: Stoletnyaya istoriya ob etoy oblasti yestetvoznaniya — uroki evolyutsii i sovremennyye zadachi [Radioecology: Centennial history of this area estetvoznaniya - lessons of the evolution and current challenges]. *Biologicheskkiye efekty malikh doz ioniziruyushchey radiatsii i radioaktivnoye agryazneniye sredy. Materialy mezhdunarodnoy konferentsii. Syktyvkar Respublika Komi, 28 sentyabrya – 1 oktyabrya 2009. — Biological effects, both low-dose ionizing radiation and radioactive agryaznenie environment: Proceedings of the International Conference. Syktyvkar, Komi Republic, September 28 – October 1, 2009. Syktyvkar, 2009. pp. 7–9. (In Russian)*

2. Geraskin S. A., Fesenko S. V., Aleksakhin R. M. Vozdeystviye avariynogo vybrosa Chernobylskoy AES na biotu [The influence of an accidental release at Chernobyl

nuclear power plant habitats] *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya — Radiation Biology. Radioecology*. 2006, T. 46, № 2, pp. 178–188. (In Russian)

3. Kuzmenko Ye. V. Sovremennyye podkhody k opredeleniyu gruppovoy i individualnoy radiochuvstvitelnosti organizma [Current approaches to the definition of group and individual radiation sensitivity of the organism]. *Uchenyye zapiski Tavricheskogo natsionalnogo universiteta im. V. I. Vernadskogo Seriya «Biologiya, khimiya» — Scientific Notes Tauride National University. Vernadsky Series Biology, Chemistry*. 2011, vol. 24 (63). no. 1. pp. 109–122. (In Russian)

4. Stolyna M.R., Solomko O.P. Genetychni naslidky dii' ionizujuchogo oprominennja v nyz'kyh dozah na reproduktyvnu funkciu organizmu myshi [Genetic effects of ionizing radiation in low doses on the reproductive function of mouse body]. *Byopolymery. Kletka — Biopolymers. Cell*. 1995, vol. 11, no.1, pp. 5–19. (in Ukrainian)

5. Pilinskaya M.A. Geneticheskaya indikatsiya i dozimetriya radiatsionnogo vozdeystviya: itogi, problemy, perspektivy [Genetic display and dosimetry of radiation exposure: results, problems and prospects]. *Vliyaniye nizkikh doz ioniziruyushchey radiatsii i drugikh faktorov okruzhayushchey sredy na organizm* [The effect of low doses of ionizing radiation and other environmental factors on the body], Pod red. Rudneva M. I. K.: Naukova dumka, 1994. pp. 111–112. (In Russian)

6. Grafodatskij A.A., Radzhabli S.I. Hromosomy sel'skohozjajstvennyh i laboratornyh mlekopitajushchih [Chromosomes agricultural and laboratory mammals]: *Atlas. Novosibirsk — Atlas Novosibirsk*: Nauka. Sib., 1988. 128 p. (In Russian)

7. Ob utverzhdenii Polozheniya o Poleskom gosudarstvennom radiatsionno-ekologicheskom zapovednike [On approval of the State Poleskoe Radiation Ecological Reserve.]. *Prikaz Ministerstva po chrezvychnym situatsiyam i zashchite naseleniya ot posledstviy katastrofy na Chernobyl'skoy AES Respubliki Belarus ot 5 avgusta 1995 g. № 39* [Order of the Ministry of Emergency Situations and Protection of Population from the Consequences of the Chernobyl nuclear power plant of the Republic of Belarus on August 5, 1995, 39. (In Russian).

8. Shelov A.V., Dzitsyuk V. V. *Metodika prigotovannya metafaznih hromosom limfotsitiv periferiynoyi krovi tvarin* [Methods of preparation of metaphase chromosomes lymphocytes peripheral blood of animals]. K.: Agrarna nauka, 2005, P. 240. (In Ukrainian)

9. Konoplya Ye. F., Sushko S. N., Malenchenko A. F., Savin A. O. Vliyaniye ekologicheskikh faktorov zony otchuzhdeniya

ChAES na somaticheskiye kletki mishey i ikh potomstva [The influence of environmental factors, the exclusion zone Chernobyl nuclear power plant on the somatic cells of mice and their offspring] *Vestsi Natsyyanalnay Akademii Navuk Belarusi — Conduct national Academia Sciences of Belarus*. 2009, no. 3, pp. 21–26. (In Russian)

10. Zaynullin V.G., Rakin A.O., Taskayev A.I. Dinamika chastoty tsitogeneticheskikh narusheniy v mikropopulyatsiyakh myshevidnykh gryzunov, obitayushchikh v rayone avarii na Chernobyl'skoy AES [Dynamics of frequency of cytogenetic damage in rodents micropopulations myshevidnykh, obitayushchikh in accidents at Chernobyl nuclear power plant]. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya — Radiation Biology. Radioecology*. 1994. vol. 34, 6, pp. 852–857. (In Russian)

11. Fedorova O.V., Kostenko S.O. Sezonna minlyvist' cytogenetychnyh pokaznykiv koriv kraih's'koi' chorno-rjaboi' molochnoi' porody v movah nyz'kodozogo ionizujuchogo oprominennja [Seasonal variability of cytogenetic indicators cows Ukrainian black and white dairy breed in low-dose ionizing radiation], *Biologija tvaryn — The Animal Biology*. 2012, vol. 14, no. 1–2, pp. 207–211. (In Ukrainian)

Kostenko S. O., Starodub L. F., Dzhus P. P., Fedorova O. V., Kurylenko Ju. F. Cytogenetychnyj monitoring ukraïnskoi chorno-rjaboi molochnoi porody v riznyh radioekologichnyh umovah utrymannja [Cytogenetic monitoring of Ukrainian black and white dairy breed in different radioecological conditions of detention], *Veterynarna medycyna — Veterinary medicine*. 2012, no. 1(32), vol. 3, P. 2, p. 300–307. (In Ukrainian) Halberd F., Cornelissen, M. Hasting Chronomics: circadian and circaseptan timing of radiotherapy, calories, perhaps nutraceuticals and beyond, *Jornal of Experimental Therapeutics and Oncology*. 2003, no. 3, pp. 223–260. Fogel F., Motulskiy A. Genetika cheloveka. M., 1990. S. 245–249. Neel J. V. et al., *Am. J. Human Genetic* 1990. vol. 46, pp. 1053–1072. (In Russian) Grigoryev A. Yu. Individualnaya radiochuvstvitelnost [Individual radiosensitivity]. M.: *Meditsina — Medicine*. 1991, 80 p. (In Russian) Korenev M. M. Monitoring stanu zdorovya ditev iz simev likvidatoriv naslidkiv avarii na ChAYeS [Monitoring the health of children from families of liquidators of the Chernobyl accident], *Gigienichni ta sotsialno-psikhologichni aspekti monitoringu zdorovya shkolyariv: Materiali nauk. prakt. konf. — Hygienic and social-applied aspects of monitoring the health of schoolchildren*: Materials Science. Pract. conf. Kh., 2006, pp. 83–84. (In Ukrainian)