

УДК 539.173.8:614.876

Н. М. Рябченко✉, А. І. Липська, О. О. Бурдо, О. А. Сова, І. П. Дрозд

*Інститут ядерних досліджень Національної академії наук України, проспект Науки, 47, м. Київ, 03680, Україна*

## ГЕНО- ТА ЦИТОТОКСИЧНІ ЕФЕКТИ В КЛІТИНАХ КІСТКОВОГО МОЗКУ ТА ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ, ІНДУКОВАНІ ТРИВАЛИМ НАДХОДЖЕННЯМ РАДІОІЗОТОПУ <sup>131</sup>I ДО ОРГАНІЗМУ ЛАБОРАТОРНИХ ЩУРІВ

**Мета:** оцінити стан кровотворної системи експериментальних щурів за змінами показників гено- та цитотоксичних ефектів в кістковому мозку та морфологічного складу периферичної крові при тривалому надходженні <sup>131</sup>I.

**Матеріали і методи:** Протягом 15 днів щурам лінії Вістар щоденно перорально вводили розчин натрію йодиду активністю 29,3 кБк. На 1, 2, 3, 7-му та 15-ту доби визначали питому активність ізотопу в органах, рівень мікроядер у поліхроматофільних еритроцитах кісткового мозку, індекс цитотоксичності, кількість еритроцитів, лейкоцитів периферичної крові та підраховували лейкограму.

**Результати:** Встановлено, що максимальний генотоксичний ефект за тривалої дії <sup>131</sup>I формувався у ранні терміни спостереження з подальшим зниженням рівня цитогенетичних ушкоджень клітин кісткового мозку, тоді як цитотоксична дія ізотопу <sup>131</sup>I проявлялась у віддалені терміни введення. Зміни у морфологічному складі периферичної крові були зумовлені зсувом лейкоцитарної формули за рахунок незрілих форм нейтрофілів. У лейкограмі протягом усього експерименту виявляли підвищену кількість патологічних і атипичних форм лімфоцитів.

**Висновки:** Тривале введення <sup>131</sup>I не призводить до дозозалежних змін цито- та генотоксичних показників у клітинах кісткового мозку і периферичної крові.

**Ключові слова:** <sup>131</sup>I, генотоксична дія, цитотоксичний ефект, кістковий мозок, гематологічні показники.

*Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2015. Вип. 20. С. 543–551.*

N. M. Ryabchenko✉, A. I. Lypska, O. O. Burdo, O. A. Sova, I. P. Drozd

*Institute of Nuclear Physics of NAS of Ukraine, Nauka prospect, 47, Kyiv 03680, Ukraine*

## Geno- and cytotoxic effects in bone marrow cells and peripheral blood induced by the prolonged administration of <sup>131</sup>I to the laboratory rats

**Objective:** to evaluate the state of to assess the state of hematopoietic system of experimental rats according to the geno- and cytotoxic effects in bone marrow and changes in morphology composition of peripheral blood caused by prolonged <sup>131</sup>I intake.

**Materials and methods.** Within 15 days sodium iodide with activity of 29.3 kBq/animal was daily orally administered to Wistar rats. At 1, 2, 3, 7 and 15 days specific radioisotope activity, level of micronuclei in bone marrow cells, cytotoxicity index, number of erythrocytes and leucocytes in peripheral blood were determined.

**Results.** It is established that the maximum genotoxic effect induced by <sup>131</sup>I prolonged intake was formed at the early terms of observations followed by the reduction of cytogenetic damage in bone marrow cells of rats, while the cytotoxic effect of <sup>131</sup>I was formed at the remote terms of administration. Changes in peripheral blood morphology were caused by left shift leukocytosis due to immature forms of neutrophils. In leucograms throughout the experiment increased levels of lymphocyte atypical forms were observed.

**Conclusion.** Prolonged administration of <sup>131</sup>I to the laboratory rats does not cause dose-dependent changes of cyto- and genotoxic markers in the bone marrow and peripheral blood cells.

**Key words:** <sup>131</sup>I, genotoxic effect, cytotoxic effect, bone marrow, hematologic parameters.

*Problems of radiation medicine and radiobiology. 2015;20:543-551.*

✉ Рябченко Наталія Миколаївна, e-mail: nryabchenko@ukr.net

## ВСТУП

Підвищена увага науковців до досліджень біологічних ефектів інкорпорованих радіонуклідів, зокрема радіоізоотопів йоду, зумовлена розповсюдженням ядерних технологій, позаштатними ситуаціями при експлуатації підприємств ядерно-енергетичного комплексу, ядерними аваріями. За різними оцінками, внаслідок аварій на ЧАЕС та АЕС “Фукусіма-1” в атмосферу потрапило більше 7–10 МКі та 0,3 МКі  $^{131}\text{I}$  – радіоізоотопу, що має важливе токсикологічне значення для людини та довкілля [1–3].

Іншим джерелом опромінення людини  $^{131}\text{I}$  є його застосування у клінічних діагностичних і терапевтичних процедурах при таких захворюваннях щитоподібної залози (ЩЗ) як гіпертироїдизм та злоякісні новоутворення. Тиреотропність йоду визначає особливості нерівномірного опромінення при розподілі  $^{131}\text{I}$  у різних органах і тканинах організму. Біологічні ефекти  $^{131}\text{I}$  та закономірності його дозоутворення у ЩЗ ссавців вивчалися впродовж багатьох років, проте вплив  $^{131}\text{I}$  на функціонування інших систем організму за різних доз та режимів надходження (одноразове, тривале) потребує комплексного дослідження з чітким дозиметричним супроводом. Це необхідно для прогностичної оцінки негативних наслідків опромінення організму та його окремих органів, ризику формування вторинних пухлинних патологій при лікуванні злоякісних новоутворень ЩЗ, розробці сучасних діагностичних, профілактичних та лікувальних заходів при ядерних аварійних ситуаціях, що супроводжуються викидами радіоізоотопів йоду.

Відомо, що  $^{131}\text{I}$  швидко всмоктується в кров і лімфу незалежно від шляху надходження до організму, і вже через одну добу до 40 % активності поглинутого ізотопу реєструється у ЩЗ [4]. Транспортування радіонукліду до органів та дифузія у тканини здійснюється головним чином завдяки циркуляції периферичної крові, ураження якої зумовлює розвиток не тільки гематологічних патологій, а й інших системних захворювань організму. Дослідження гематологічних та цитогенетичних ефектів внутрішнього опромінення  $^{131}\text{I}$  проводились здебільшого після одноразового введення ізотопу в терапевтичних дозах (більше 200 МКі) хворим на злоякісні новоутворення ЩЗ [5–7].

В оцінці гематологічних ефектів мутагенних факторів довкілля, зокрема іонізуючого випромінювання, морфологічний склад кісткового мозку (КМ) та крові є адекватним чутливим показником негативної дії стрес-агентів на організм [8]. В останні роки особлива увага приділяється якісним структурним змінам у клітинах кровотворної системи, що дають змогу

## INTRODUCTION

Increased attention to biological effects of incorporated radionuclides, including iodine radioisotopes, is caused by the spread of nuclear technologies, emergency situations in the exploitation of nuclear power enterprises, nuclear accidents. By different estimates more than 7–10 mCi and 0,3 mCi of  $^{131}\text{I}$  radioisotope was found in the atmosphere as a result of accidents at the Chernobyl and “Fukushima-1” NPPs respectively, that has essential toxicological importance for humans and the environment [1–3].

Application of  $^{131}\text{I}$  in clinical diagnostic and therapeutic procedures in such diseases of thyroid gland (TG) as hyperthyroidism and malignant neoplasms is another source of human internal exposure. Radioactive iodine concentrates in the thyroid gland, determining features of uneven  $^{131}\text{I}$  irradiation in various organs and tissues. Biological effects of  $^{131}\text{I}$  and patterns of its dose formation in mammal thyroid gland have been studied for many years, however impact of radioactive iodine on the functioning of other body systems at different doses and modes of admission (single, prolonged) still requires comprehensive studies with distinct dosimetry support. It is necessary for prognostic evaluation of the adverse effects of exposure of the whole organism and certain organs, the risk of secondary cancer formation after treatment of thyroid malignancies, the development of modern diagnostic, preventive and therapeutic measures in nuclear emergencies involving iodine radioisotope emissions.

It is known that  $^{131}\text{I}$  is rapidly absorbed into the blood and lymph regardless of the way of its intake to organism and after 1 day up to 40% of the activity of absorbed isotope is registered in the thyroid gland [4]. Radionuclide transportation to the organs due to blood circulation and diffusion to the tissues may cause development not only hematological abnormalities but other systemic diseases. Study of hematological and cytogenetic effects of internal exposure with  $^{131}\text{I}$  was carried out mainly after a single injection of the isotope in therapeutic doses (more than 200 mCi) to patients with thyroid cancer [5–7].

Morphology composition of bone marrow (BM) and peripheral blood is adequate sensitive indicator in assessing hematological effects of mutagenic environmental factors, including ionizing radiation [8]. In recent years special attention is paid to qualitative structural changes in the cells of hematopoietic system that enable to pre-

прогнозувати ризик формування нестабільності геному та патологій стохастичної природи. Мікроядра (МЯ) в поліхроматофільних еритроцитах (ПХЕ) кісткового мозку визнані одними з найчутливіших біологічних маркерів, що рекомендовані міжнародними спільнотами для оцінки *in vivo* генотоксичних ефектів за дії факторів різної природи [9, 10].

## МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ

Метою роботи було оцінити стан кровотворної системи експериментальних щурів за змінами показників гено- та цитотоксичних ефектів у КМ та морфологічного складу периферичної крові при тривалому надходженні <sup>131</sup>I.

## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

В досліді використовували щурів-самців лінії Вістар масою ( $240 \pm 30$ ) г ( $n = 5$  тварин на експериментальну точку). Протягом 15 діб тваринам щоденно перорально вводили розчин натрію йодиду активністю 29,3 кБк. Евтаназію здійснювали на 1, 2, 3, 7-му та 15-ту доби після початку введення ізотопу відповідно до вимог ст. 26 Закону України “Про захист тварин від жорстокого поводження”. Методом  $\gamma$ -спектрометрії визначали питому активність ізотопу в периферичній крові та КМ у динаміці проведення експериментів і розраховували поглинені дози.

Рівень генотоксичних ушкоджень, індукованих <sup>131</sup>I в КМ експериментальних щурів, визначали за цитогенетичними маркерами, а саме: частотою ПХЕ з МЯ. Цитотоксичні ефекти та порушення еритропоезу оцінювали за співвідношенням незрілих ПХЕ до зрілих форм нормохроматофільних еритроцитів (НХЕ) в КМ (індекс цитотоксичності). Клітини вимивали із стегнової кістки тварин 5 мл ембріональної телячої сироватки, після чого здійснювали їх фіксацію та фарбування акридиновим оранжевим для подальшого аналізу на проточному цитофлуориметрі (“Beckman Coulter EPICS XL”, ЦККП НАН України) [11, 12]. Кількість проаналізованих клітин – не менше 50 000 на одну експериментальну точку. Одержані цитограми КМ обробляли за допомогою програми WinMDI 2,8. Визначали загальну кількість ПХЕ, НХЕ, частоту ПХЕ з МЯ у перерахунку на 1000 ПХЕ, співвідношення ПХЕ/НХЕ.

Кров для досліджень набирали з хвостової вени щурів. Кількість еритроцитів та лейкоцитів периферичної крові, а також клітинність кісткового мозку, визначали в камері Горяєва. Лейкоцитарну формулу підраховували в мазках крові, пофарбованих за Паппенгеймом.

dict the risk of genomic instability and abnormalities of stochastic nature. Micronuclei (MN) in polychromatophilic erythrocytes (PCE) of BM are recognized among the sensitive biological markers and recommended by the international community to assess the *in vivo* genotoxic effects [9, 10].

## OBJECTIVE

The objective of the presented study was to assess the state of hematopoietic system of experimental rats according to the geno- and cytotoxic effects in BM and changes in morphology composition of peripheral blood caused by prolonged <sup>131</sup>I intake.

## MATERIALS AND METHODS

Male Wistar rats weighting ( $240 \pm 30$ ) g ( $n = 5$  animals for experimental point) were used in the study. Within 15 days the animals were daily orally administered with sodium iodide with 29.3 kBq of activity. Euthanasia was performed at 1, 2, 3, 7th and 15<sup>th</sup> days after isotope administration according to the requirement of the art. 26 of the Law of Ukraine “On protection of animals from cruelty”.  $\gamma$ -spectrometry method was used to determine the specific activity of the isotope in peripheral blood and BM in dynamics of experiments and the absorbed dose was calculated.

The level of genotoxic damage induced by <sup>131</sup>I in BM of experimental rats was determined by cytogenetic markers, namely according to the frequency of PCE with MN. Cytotoxic effects and violations of erythropoiesis were evaluated according to the ratio of PCE to normochromatophilic erythrocytes (NCE) in BM (cytotoxicity index). The cells were washed from femoral by 5 mL of embryonic calf serum. Cell suspension fixation and staining with acridine orange were performed for further analysis by flow cytometry (Beckman Coulter EPICS XL) [11, 12]. At least 50 000 cells per experimental point were detected. Obtained BM cytograms were analyzed using WinMDI 2,8. Total number of PCE, NCE, frequency of PCE with MN, ha PCE/NCE values were determined.

Blood samples were obtained from rat tail vein. Number of erythrocytes and leukocytes in peripheral blood as well as cellularity of BM was counted with the help of Goriayev camera. Leucograms were counted using light microscopy in peripheral blood smears stained by Pappenheim method.

Статистичну обробку результатів виконували, використовуючи програмний пакет Microsoft Excel 2010.

**РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ**

При пероральному надходженні ізотопу <sup>131</sup>I відбувається його швидке всмоктування з шлунково-кишкового тракту в кров з подальшим перерозподілом між органами. В ході роботи було здійснено дозиметричний супровід експериментів і розраховані поглинені дози в різних органах щурів, зокрема в КМ та периферичній крові, результати розрахунків представлено в роботі [13]. Очевидно, що питомий вміст ізотопу був максимальний у ЩЗ і перевищував такий в інших органах на 4–5 порядків. Протягом експерименту питома активність <sup>131</sup>I в КМ істотно не змінювалась і становила (64 ± 6) кБк/кг. Величина поглиненої дози ізотопу в КМ змінювалась від 0,21 мГр на 1-шу добу експерименту до 4,33 мГр – на 15-ту добу.

В усі терміни досліду рівень цитогенетичних ушкоджень в клітинах КМ щурів, які отримували препарат йоду був достовірно вищий за контрольні значення. Максимальний генотоксичний ефект, що визначався за частотою ПХЕ та НХЕ з МЯ, спостерігали у ранні терміни введення <sup>131</sup>I (1, 2-а доба, рис. 1).

На 3-ю добу, незважаючи на зростання поглиненої дози у 3 рази, кількість клітин з МЯ зменшувалась

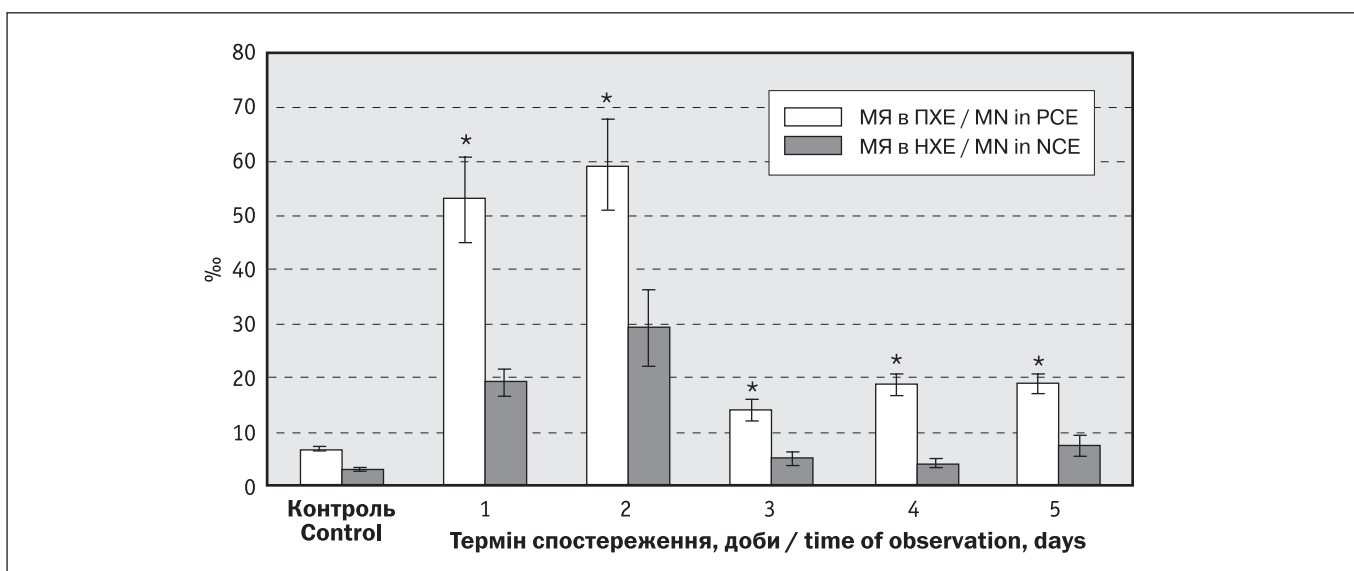
Statistical analysis was performed using Student’s t-test. Statistically significant differences between studied parameters were assumed at p < 0.05.

**RESULTS AND DISCUSSION**

Rapid absorption of <sup>131</sup>I from the gastrointestinal tract into the bloodstream followed by radionuclide redistribution between organs is observed after its oral intake. In the course of the study the dosimetry support was carried out providing calculation of the absorbed doses in different organs, particularly in BM and peripheral blood, presented in [13]. Obviously, the specific isotope content was highest in thyroid gland, exceeding that of the other organs by 4–5 orders. During the experiment specific activity of <sup>131</sup>I in BM has not changed essentially and totaled (64 ± 6) kBq/kg. The value of the isotope absorbed dose in BM had been changing from 0.21 mGy on the first day of the experiment to 4.33 mGy in the end of the administration (15<sup>th</sup> day).

In all terms of the experiment level of cytogenetic damage in BM cells of exposed rats was significantly higher than in control group of intact animals. Maximum genotoxic effects determined by the frequency of PCE and NCE with MN were observed in the early terms of <sup>131</sup>I intake (1st and 2<sup>nd</sup> day from the beginning of the intake, Fig. 1).

On the 3<sup>rd</sup> day, despite a 3-fold increase in absorbed dose, the number of cells with MN decreased

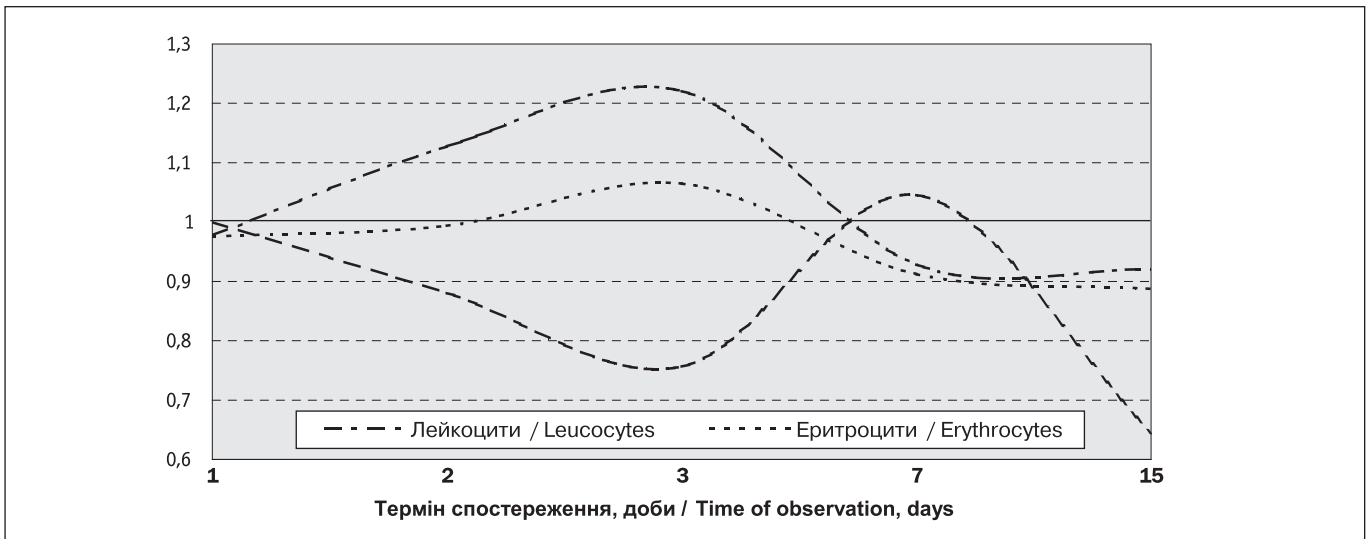


**Рисунок 1.** Рівень поліхроматофільних еритроцитів та нормохроматофільних еритроцитів кісткового мозку з мікроядрами за тривалого введення <sup>131</sup>I зі щоденною активністю Q = 29,3 кБк/тварину

Примітка. \* – вірогідно щодо контролю, p < 0,05.

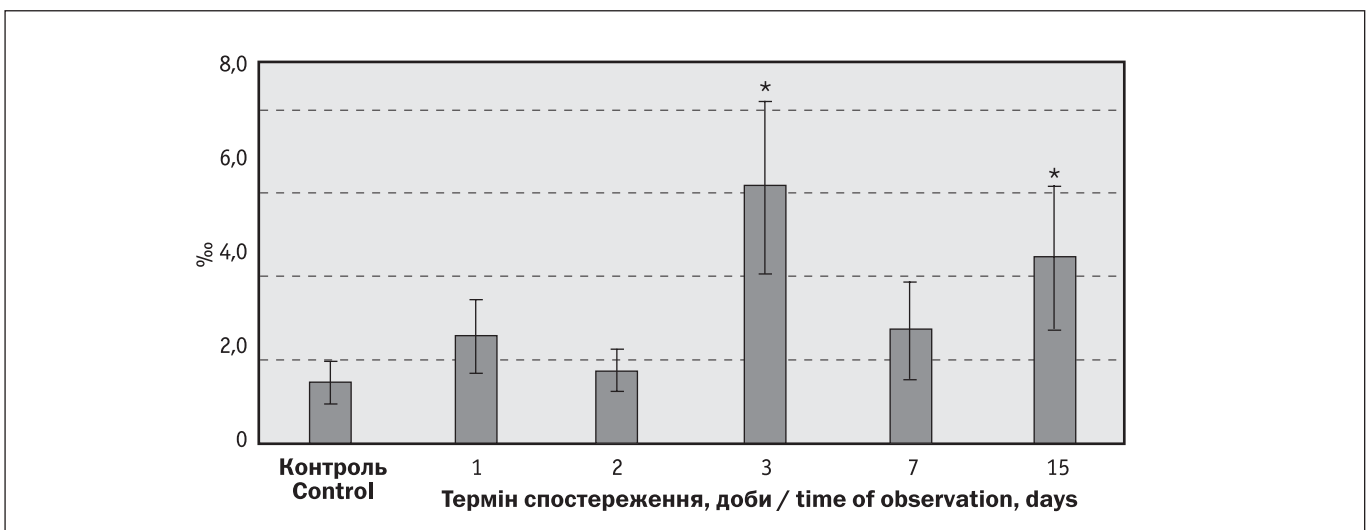
**Figure 1.** Levels of PCE and NCE with micronuclei in rat bone marrow under prolonged intake of <sup>131</sup>I with daily activity of Q = 29.3 kBq/animal

Note. \* – significant difference to control, p < 0.05.



**Рисунок 2.** Динаміка вмісту лейкоцитів і еритроцитів у периферичній крові та клітин кісткового мозку відносно контролю за умови тривалого введення  $^{131}\text{I}$  зі щоденною активністю  $Q = 29,3$  кБк/тварину

**Figure 2.** Change of leukocyte and erythrocyte count in peripheral blood and bone marrow cells relative to control provided prolonged intake of  $^{131}\text{I}$  with daily activity of  $Q = 29.3$  kBq/animal



**Рисунок 3.** Рівень апоптичних клітин у кістковому мозку щурів за тривалого надходження  $^{131}\text{I}$  до організму щурів зі щоденною активністю  $Q = 29,3$  кБк/тварину

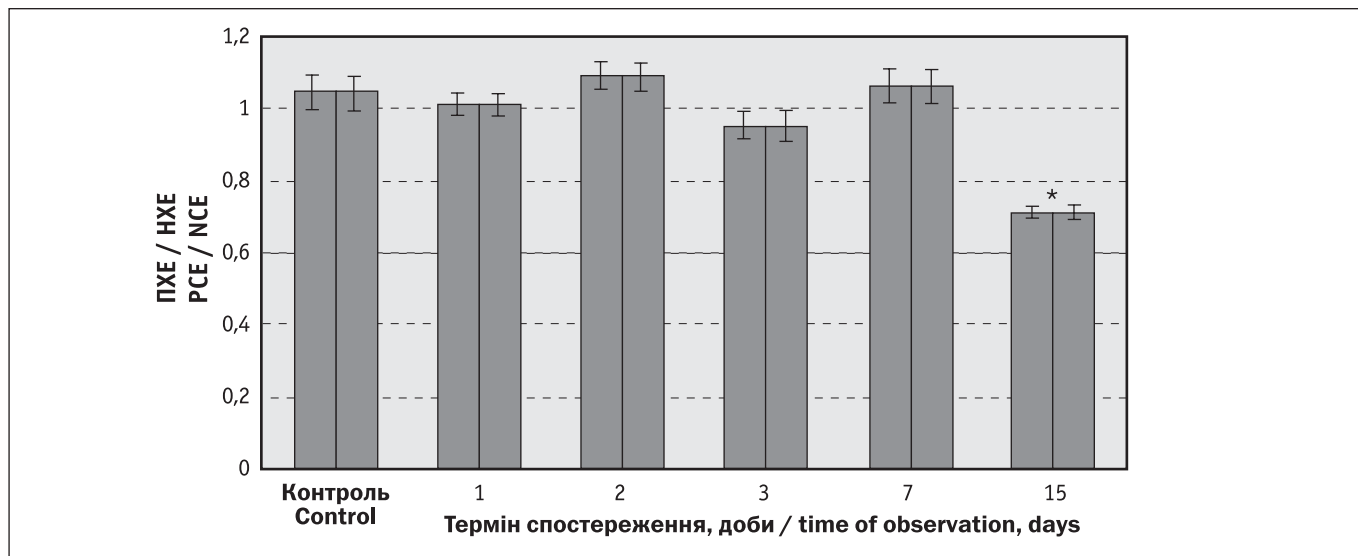
Примітка. \* – вірогідно щодо контролю,  $p < 0,05$ .

**Figure 3.** The level of apoptotic cells in rat bone marrow under prolonged intake of  $^{131}\text{I}$  with daily activity of  $Q = 29.3$  kBq/animal

Note. \* – significant difference to control,  $p < 0.05$ .

більше, ніж у 4 рази, що може бути зумовлено кількома причинами: змінами в еритроїдному пулі КМ як внаслідок інтенсивної міграції клітин у периферичну кров, так і елімінації ушкоджених попередників ПХЕ за механізмом апоптичної загибелі. Про це свідчать антибатні зміни в клітинності КМ та гематологічних показниках. У цей термін спостереження зниження клітинності КМ на 20 % супроводжувалось зростанням кількості еритроцитів та лейкоцитів у периферичній крові (рис. 2).

more than 4-fold that can be caused by several reasons: changes in erythroid pool of BM as a result of intensive cell migration to peripheral blood and elimination of damaged PCE precursors by the activation of apoptotic death mechanisms. This is evidenced by changes in antybate manner between BM and hematological parameters. At this term of observation reduce of BM cellularity was accompanied by a 20 % increase in the number of erythrocytes and leukocytes in peripheral blood (Fig. 2).



**Рисунок 4. Індекс цитотоксичної дії  $^{131}\text{I}$  на кістковий мозок щурів**

Примітка. \* – вірогідно щодо контролю,  $p < 0,05$ .

**Figure 4. Index of  $^{131}\text{I}$  cytotoxic effect in the rat bone marrow**

Note. \* – significant difference to control,  $p < 0.05$ .

При цьому у 3,44 раза зросла кількість апоптичних клітин КМ у порівнянні з контролем (рис. 3). На 7–15-ту добу рівень МЯ в ПХЕ був неістотно, але вірогідно вищим від контрольних значень.

Протягом експерименту спостерігали коливання клітинності КМ, яка на 15-ту добу була на 30 % менше від контрольних значень. За даних умов експерименту дозозалежних змін клітинності КМ та ПХЕ з МЯ не спостерігали. Аналогічний результат одержано і при дослідженні рівня аберацій хромосом у клітинах КМ. Так, протягом трьох діб введення ізотопу спостерігали достовірне збільшення аберацій хромосом у каріоцитах КМ за рахунок специфічних маркерів опромінення – дицентричних хромосом, центричних кілець, вільних парних фрагментів, рівень яких дещо зменшувався у віддалені терміни введення (7, 15-а доба), незважаючи на зростання кумулятивної поглиненої дози опромінення КМ.

В токсикологічних дослідженнях співвідношення ПХЕ/НХЕ в КМ є маркером проліферативної активності клітин еритроїдного ряду, що відображає цитотоксичні ефекти у КМ за дії стрес-агентів різної природи. На рис. 4 представлено зміни індексу цитотоксичності у різні терміни експерименту. На 15-ту добу введення  $^{131}\text{I}$  спостерігали порушення проліферативної активності клітин еритроїдного ряду та ознаки формування цитотоксичного ефекту.

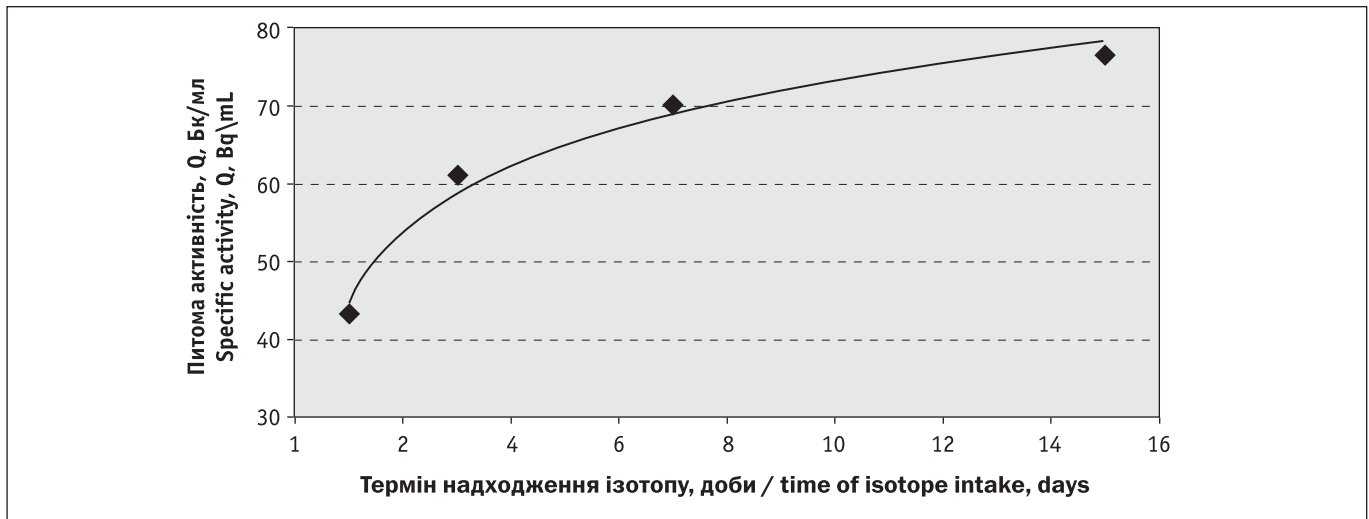
Для виявлення дозозалежних змін гематологічних показників визначали зміни концентрації  $^{131}\text{I}$  у периферичній крові (рис. 5). Поглинена доза в еритроци-

At that a 3.44-fold increase in the level of apoptotic cells of BM vs. controls was observed (Figure 3). After the 7<sup>th</sup> day the level PCE with MN was slightly, but significantly above control values.

During the experiment fluctuation of BM cellularity was observed, on the 15<sup>th</sup> day it was 30 % less from control values. Under these experimental conditions dose-dependent changes in BM cellularity and levels of PCE with MN were not observed. Similar result was obtained in the study of the frequency of chromosome aberrations in BM cells. During 3 days of isotope administration significant increase of chromosomal aberrations in BM karyocytes due to dicentrics, centric rings and free pair fragments – specific markers of radiation exposure – was observed. Despite the increase in cumulative absorbed dose of BM irradiation at the later terms of intake (7<sup>th</sup>, 15<sup>th</sup> days) their level was decreased.

In toxicological studies the PCE/NCE ratio is considered as a marker of erythroid precursor proliferative activity reflecting the cytotoxic effects in BM cells induced by stress agents of different nature. Figure 4 shows the cytotoxicity index change at different experiment points. Contravention of erythroblast proliferative activity and formation of cytotoxic effect were observed on the 15<sup>th</sup> day of  $^{131}\text{I}$  intake.

To identify dose-related changes in hematological parameters the  $^{131}\text{I}$  concentrations in peripheral blood were determined (Figure 5). The absorbed



**Рисунок 5.** Концентрація  $^{131}\text{I}$  у крові за тривалого надходження ізотопу зі щоденною активністю  $Q = 29,3$  кБк/тварину

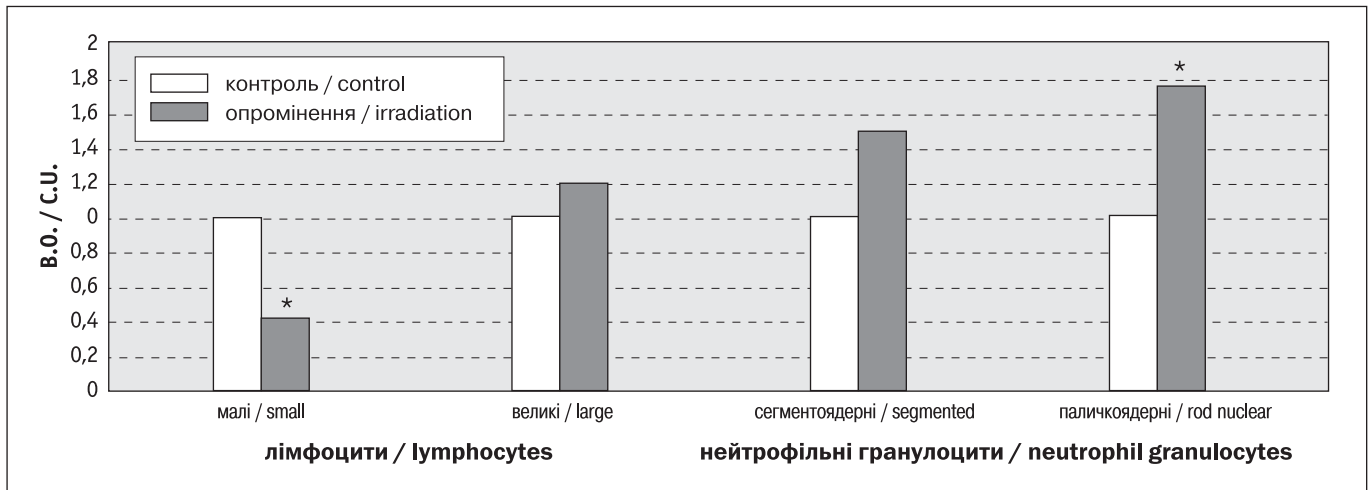
**Figure 5.** Concentration of  $^{131}\text{I}$  in peripheral blood under a prolonged isotope intake with daily activity of  $Q = 29.3$  kBq/animal

тах та лімфоцитах зростала від 0,16 мГр на 1-шу добу до 6,44 мГр на 15-ту.

Дослідження основних формених елементів периферичної крові виявили незначні, проте характерні для внутрішнього опромінення, кількісні коливання показників. На 3-ю добу введення радіонукліду спостерігали ефект компенсаторної стимуляції окремих ланок кровотворення (рис. 1). Слід зазначити, що відповідного збільшення вмісту гемоглобіну в еритроцитах периферичної крові не відмічалось, що може свідчити про поповнення кров'яного русла молодими формами еритроцитів КМ. У подальші терміни спостережень вміст лейкоцитів та еритроцитів у периферичній крові знаходився в межах довірчих інтервалів контрольних значень. При аналізі лейкограм спостерігали динамічні кількісні зміни, серед яких привертає увагу нейтрофіліоз, підвищення числа великих гранульованих лімфоцитів та істотного зниження кількості малих лімфоцитів на 60 % порівняно з контролем на 15-ту добу досліду (рис. 6). Ймовірно, загибель малих лімфоцитів обумовлена їх додатковим опроміненням у тимусі, де поглинена доза (0,34 Гр на 15-ту добу) майже на два порядки величини перевищувала таку у кров'яному руслі і КМ [13]. Помірний нейтрофіліоз за рахунок вмісту незрілих форм (паличкоядерних нейтрофілів) може свідчити про стимуляцію та розвиток регенеративних процесів у КМ, активацію системи неспецифічної імунорезистентності за дії  $^{131}\text{I}$  в заданому режимі надходження. За тривалого надходження  $^{131}\text{I}$  до організму щурів зі щоденною активністю  $Q = 29,3$  кБк/тварину в усі терміни експе-

dose in erythrocytes and lymphocytes increased from 0.16 mGy on 1<sup>st</sup> day to 6.44 mGy on 15<sup>th</sup> day.

Study of hemacyte parameters revealed insignificant but typical for internal exposure quantitative fluctuations. On the 3<sup>rd</sup> day of  $^{131}\text{I}$  intake effect of compensatory stimulation of certain blood elements was observed (Figure 1). It should be noted that a corresponding increase in hemoglobin levels in peripheral blood erythrocytes was not found, which may indicate replenishment of bloodstream with erythrocytes' young forms from BM. At the subsequent terms of observations levels of leukocytes and erythrocytes in peripheral blood was within the control confidence intervals. Analysis of leucograms showed dynamic quantitative changes, among which neutrophilia, increased number of large granular lymphocytes and a significant reduction in the number of small lymphocytes - by 60 % if compared with control on the 15<sup>th</sup> day of iodine administration (Figure 6). It is suggested that destruction of small lymphocytes is caused by their additional irradiation in thymus where the absorbed dose (0.34 Gy on the 15<sup>th</sup> day) exceeded that in peripheral blood and BM almost by two orders of magnitude [13]. Moderate neutrophilia formed by immature stab neutrophils may indicate stimulation and development of regenerative processes in BM, activation of nonspecific immunoresistance in a given mode of internal irradiation by  $^{131}\text{I}$ . During prolonged administration of  $^{131}\text{I}$  with daily activity of  $Q = 29.3$  kBq/animal, at all terms of the experiment qualitative and struc-



**Рисунок 6.** Кількість лімфоцитів та нейтрофілів у периферичній крові щурів за тривалого щоденного надходження  $^{131}\text{I}$  відносно контролю на 15-ту добу експерименту

Примітка. \* – вірогідно щодо контролю,  $p < 0,05$ .

**Figure 6.** Number of lymphocytes and neutrophils in peripheral blood of rats under prolonged daily intake of  $^{131}\text{I}$  relatively to control on the 15th day of the experiment

Note. \* – significant difference to control,  $p < 0.05$ .

рименту спостерігали якісно-структурні зміни клітин периферичної крові, такі як поліморфні ядра та вакуолізація цитоплазми лімфоцитів, істотне збільшення рівня клітин Рідера, двоядерних клітин порівняно з контролем.

## ВИСНОВКИ

Таким чином, за тривалого надходження  $^{131}\text{I}$  до організму щурів рівень цитогенетичних ушкоджень у клітинах КМ був достовірно вищий за контрольні значення в усі терміни експерименту. Максимальний генотоксичний ефект дії  $^{131}\text{I}$  спостерігали у ранні терміни спостереження з подальшим зниженням рівня ушкоджень генетичного апарату клітин КМ, тоді як цитотоксичну дію ізотопу реєстрували лише на 15-ту добу. Зміни у морфологічному складі периферичної крові піддослідних щурів були зумовлені зсувом лейкоцитарної формули вліво (за рахунок паличкоядерних нейтрофілів). У лейкограмі протягом усього експерименту виявляли підвищену кількість патологічних та атипичних форм лімфоцитів. Дозозалежних змін цитогенотоксичних показників у клітинах кісткового мозку та периферичної крові щурів, індукованих  $^{131}\text{I}$  в даному діапазоні поглинутих доз, не спостерігали.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Оценка масштабов катастрофы / В. Г. Барьяхтар // Чернобыльская катастрофа: монография/ под ред. В. Г. Барьяхтара. – К. : Наук. думка, 1995. – С. 24.
2. Steinhauser G. Comparison of the Chernobyl and Fukushima nuclear accidents: A review of the environmental impacts / G. Steinhauser, A.

tural changes in peripheral blood cells, such as lymphocytes with polymorphic nucleus and cytoplasm vacuolization, significant increase in the levels of Rieder and binucleated cells were observed if compared with control group.

## CONCLUSIONS

Thus, under the prolonged intake of  $^{131}\text{I}$  by experimental rats levels of cytogenetic damage in BM cells were significantly higher than in the control group for all terms of the experiment. The highest genotoxic effect of  $^{131}\text{I}$  was observed in the early stages of observation followed by the reduction of genetic damage cells of BM, while the cytotoxic effect of the isotope was registered only on the 15<sup>th</sup> day. Changes in peripheral blood morphology were caused by left shift leukocytosis (due to stab neutrophils). Increased amounts of abnormal lymphocytes and atypical forms were observed in leucogram throughout the experiment. There were no dose-dependent changes of cytogenetic parameters of rat BM and peripheral blood induced by  $^{131}\text{I}$  in the range of the absorbed doses.

## REFERENCES

1. Bar'yachtar V. [Assessing the scope of the catastrophe]. In: Bar'yachtar V, editor. [Chernobyl catastrophe]. Kyiv: Naukova Dumka; 1995. p. 24. Russian.
2. Steinhauser G, Brandl A, Johnson T. Comparison of the Chernobyl and Fukushima nuclear accidents: A review of the



- Brandl, T. Johnson // *Sci. Total Environ.* – 2014. – Vol. 470–471. – P. 800–817.
3. Hirao S. Estimation of release rate of iodine-131 and cesium-137 from the Fukushima Daiichi nuclear power plant / S. Hirao, H. Yamazawa, T. Nagae // *J. Nuclear Sci. Technol.* – 2013. – Vol. 50 (2). – P. 139–147.
4. Лягинская А. М. Короткоживущие изотопы йода ( $^{131-135}\text{I}$ ) в условиях радиационной аварии: особенности формирования и распределения поглощенных доз в щитовидной железе, биологические эффекты / А. М. Лягинская, В. А. Осипов // *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. – 2005. – № 2. – С. 18–26.
5. Ballardin M. Formation of micronuclei and of clastogenic factor(s) in patients receiving therapeutic doses of iodine-131 / M. Ballardin, F. Gemignani, L. Bode [et al.] // *Mutat. Res.* – 2002. – Vol. 514 (1–2). – P. 77–85.
6. The radiotoxicity of  $^{131}\text{I}$  therapy of thyroid cancer: assessment by micronucleus assay of B lymphocytes / N. Watanabe, H. Kanegane, S. Kinuya [et al.] // *J. Nucl. Med.* – 2004. – Vol. 45(4). – P. 608–611.
7. Mutagenicity of diagnostic and therapeutical doses of radiopharmaceutical iodine-131 in Wistar rats / E. Dьsman, A. P. Berti, R. G. Mariucci [et al.] // *Radiat. Environ. Biophys.* – 2011. – Vol. 50(4). – P. 579–584.
8. Fliedner T. M. Hematopoietic cell renewal systems: mechanisms of coping and failing after chronic exposure to ionizing radiation / T. M. Fliedner, D. H. Graessle // *Radiat. Environ. Biophys.* – 2008. – Vol. 47(1). – P. 63–69.
9. OECD (1997), Test No. 474: Mammalian erythrocyte micronucleus test, OECD Guidelines for the testing of chemicals. – Section 4. – OECD Publishing.
10. International Conference on Harmonization Guidelines, Genotoxicity: A Standard Battery for Genotoxicity Testing of Pharmaceuticals, Step 4, 1999.
11. Use of acridine orange in: flow cytometric assessment of micronuclei induction. / K. A. Criswell, G. Krishna, D. Zielinski [et al.] // *Mutat. Res.* – 1998. – Vol. 414. – P. 63–75.
12. Validation of a flow cytometric acridine orange micronuclei methodology in rats/ K. A. Criswell, G. Krishna, D. Zielinski [et al.] // *Mutat. Res.* – 2003. – Vol. 528. – P. 1–18.
13. Дрозд І. П. Динаміка накопичення  $^{131}\text{I}$  та формування доз в органах і тканинах лабораторних щурів за тривалого перорального надходження / І. П. Дрозд, О. А. Сова, А. І. Липська // *Ядерна фізика та енергетика*. – 2015. – Т. 16, № 1. – С. 60–67.
- environmental impacts. *Sci Total Environ.* 2014;470-471: 800-17.
3. Hirao S, Yamazawa H, Nagae T. Estimation of release rate of iodine-131 and cesium-137 from the Fukushima Daiichi nuclear power plant. *J Nuclear Sci Technol.* 2013;50(2):139-47.
4. Liaginskaya A, Osipov V. [Short-lived isotopes of iodine ( $^{131-135}\text{I}$ ) in conditions of radiation accident: features of formation and distribution of absorbed doses in thyroid gland, biological effects]. *Med Radiol Radiats Besopasnost.* 2005;2:18-26. Russian.
5. Ballardin M, Gemignani F, Bodei L, Mariani G, Ferdeghini M, Rossi AM, et. al. Formation of micronuclei and of clastogenic factor(s) in patients receiving therapeutic doses of iodine-131. *Mutat Res.* 2002 Feb 15;514(1-2):77-85.
6. Watanabe N, Kanegane H, Kinuya S, Shuke N, Yokoyama K, Kato H, et.al. The radiotoxicity of  $^{131}\text{I}$  therapy of thyroid cancer: assessment by micronucleus assay of B lymphocytes. *J Nucl Med.* 2004 Apr;45(4):608-11.
7. Dьsman E, Berti A, Mariucci R, Lopes N, Vicentini V. Mutagenicity of diagnostic and therapeutical doses of radiopharmaceutical iodine-131 in Wistar rats. *Radiat Environ Biophys.* 2011;50(4):579-84.
8. Fliedner T, Graessle D. Hematopoietic cell renewal systems: mechanisms of coping and failing after chronic exposure to ionizing radiation. *Radiat Environ Biophys.* 2008;47(1):63-9.
9. OECD (1997), Test No. 474: Mammalian erythrocyte micronucleus test, OECD Guidelines for the testing of chemicals, Section 4, OECD Publishing.
10. International Conference on Harmonization Guidelines, Genotoxicity: A Standard Battery for Genotoxicity Testing of Pharmaceuticals, Step 4, 1999.
11. Criswell K, Krishna G, Zielinski D, Urda G, Theiss J, Juneau P, et.al. Use of acridine orange in: flow cytometric assessment of micronuclei induction. *Mutat Res.* 1998;414:63-75.
12. Criswell K, Krishna G, Zielinski D, Urda G, Theiss J, Juneau P, et.al. Validation of a flow cytometric acridine orange micronuclei methodology in rats. *Mutat Res.* 2003;528:1-18.
13. Drozd I, Sova O, Lypska A. [Dynamics of  $^{131}\text{I}$  accumulation and dose formation in organs and tissues of laboratory rats under prolonged oral intake]. *Yaderna Phisyka Energetyka* 2015;16(1):60-7. Ukrainian.

Стаття надійшла до редакції 19.10.2015

Received: 19.10.2015