

УДК 612.014.482-08 : 614.876 (048)  
DOI 10.25016/2541-7487-2017-0-2-66-75

С. Анбумани<sup>1</sup>, А.А. Ливанова<sup>2</sup>, Р.Ф. Федорцева<sup>3</sup>

## ЯДЕРНЫЕ АНОМАЛИИ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК КАК УНИВЕРСАЛЬНЫЕ ИНДИКАТОРЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

S. Anbumani<sup>1</sup>, A.A. Livanova<sup>2</sup>, R.F. Fedortseva<sup>3</sup>

### VARIOUS TYPES OF NUCLEI PATHOLOGY IN SOMATIC CELLS AS A UNIVERSAL INDICATOR OF IONIZING RADIATION

<sup>1</sup> Индийский институт токсикологических исследований Совета научных  
и промышленных исследований (CSIR-IITR)

(30, Vishvigyan Bhavan, M.G. Marg, Lucknow, Uttarpradesh, 226001, India);

<sup>2</sup> Военно-медицинская академия им. С.М.Кирова (Россия, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 6);

<sup>3</sup> Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины

им. А.М. Никифорова МЧС России (Россия, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 4/2)

<sup>1</sup> Indian Institute of Toxicology Research (30, Vishvigyan Bhavan, M.G. Marg,  
Lucknow, Uttarpradesh, 226001, India);

<sup>2</sup> Kirov Military Medical Academy (Academica Lebedeva Str., 6, St. Petersburg, 194044, Russia);

<sup>3</sup> Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia  
(Academika Lebedeva Str., 4/2, St. Petersburg, 194044, Russia)

Для оценки влияния ионизирующего излучения на здоровье человека, а также на состояние природных экосистем в зонах повышенного радиационного загрязнения необходимы универсальные методы биоиндикации и биодозиметрии. Цель обзора – подробное освещение известных ядерных аномалий соматических клеток различных организмов как универсальных радиоспецифических биомаркеров. Рассмотрены современные и исторические, иностранные и отечественные литературные данные, посвященные изучению ядерных аномалий, возникающих в связи с воздействием генотоксических агентов. Специфическим эффектом ионизирующего излучения, проявляющимся в соматических клетках различных организмов, являются двунитевые разрывы ДНК с последующим формированием хромосомных аберраций нестабильного типа. Эти аберрации лежат в основе появления нескольких типов ядерных аномалий в интерфазе клетки. Среди таких аномалий выделяют микроядра, «хвостатые» ядра, хроматиновые мосты, а также гантелевидные ядра. Обнаружение ядерных аномалий в соматических клетках не только человека, но и растений, и животных позволяет сделать вывод о том, что данные изменения структуры ядра являются универсальными маркерами воздействия ионизирующего излучения. Использование совокупности данных видов карิโอпатологии в качестве радиоспецифических биомаркеров представляется перспективным для создания универсального протокола биодозиметрического теста для комплексной оценки состояния природных экосистем и здоровья человека в условиях радиационного загрязнения.

Ключевые слова: радиобиология, радиация, ионизирующее излучение, ядерные аномалии, соматические клетки, интерфазные ядра.

*Relevance.* To estimate the influence of ionizing radiation on human health, as well as on the state of natural ecosystems in areas of increased radiation contamination, universal methods of bioindication and biodosimetry are needed.

*Intention.* The goal of this article is to provide detailed review of known nuclear anomalies of various organisms somatic cells as universal radio-specific biomarkers.

*Methods.* Recent and historical, foreign and Russian literature data on the study of nuclear anomalies appearing after the genotoxic agents influence were reviewed.

---

✉ Анбумани Садашивам – PhD в области биологии, Индийский ин-т токсикол. исслед. Совета науч. и пром. ис-след. (30, Vishvigyan Bhavan, M.G. Marg, Lucknow, Uttarpradesh, 226001, India); e-mail: anbumani@iitr.res.in;

Ливанова Александра Андреевна – препод. каф. биологии, Воен.-мед. акад. им. С.М. Кирова (Россия, 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 6), e-mail: alexandrivanova@mail.ru;

Федорцева Регина Федоровна – канд. биол. наук, Всерос. центр экстрен. и радиац. медицины им. А.М. Никифорова МЧС России (Россия, 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 4/2), e-mail: fedortseva@arterm.spb.ru.

✉ Sadasivam Anbumani – PhD, Indian Institute of Toxicology Research (30, Vishvigyan Bhavan, M.G. Marg, Lucknow, Uttarpradesh, 226001, India), e-mail: anbumani@iitr.res.in;

Aleksandra Andreevna Livanova – Biology Department, Kirov Military Medical Academy (Academica Lebedeva Str., 6, St. Petersburg, 194044, Russia), e-mail: alexandrivanova@mail.ru;

Regina Fedorovna Fedortseva – PhD Biol. Sci., Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia (Academika Lebedeva Str., 4/2, St. Petersburg, 194044, Russia), e-mail: fedortseva@arterm.spb.ru.

*Results and Discussion.* The specific effect of ionizing radiation, observed in somatic cells of different organisms, is double-strand DNA breaks with the subsequent formation of chromosomal aberrations of unstable type. These aberrations are followed by the appearance of several types of nuclear anomalies in the interphase of the cell cycle. Among such anomalies, micronuclei, «tailed» nuclei, nucleoplasmic bridges, and also dumbbell-formed nuclei are distinguished. In the review, these types of karyopathology and the underlying molecular mechanisms are described in detail, and literature data describing these anomalies in different organisms are given. The detection of nuclear anomalies in somatic cells not only of humans, but also of plants and animals, allows us to conclude that these changes in the structure of the nucleus are universal markers of ionizing radiation effect.

*Conclusion.* The use of a set of these types of karyopathology as radio-specific biomarkers seems promising for the creation of a universal protocol of a biodosimetric test for a comprehensive assessment of the state of natural ecosystems and human health in conditions of radiation contamination.

Keywords: Radiobiology, radiation, ionizing radiation, nuclear anomalies, somatic cells, interphase nuclei.

## Введение

Живые организмы на протяжении своей жизни неизбежно подвергаются воздействию ионизирующего излучения. Средняя индивидуальная годовая доза облучения человека в настоящее время составляет около 2,2 мЗв. При этом около 10 % этой суммы приходится на солнечную радиацию и воздействие космических лучей, около 14 % – на природные источники урана; излучение, полученное в ходе рентгенодиагностики, составляет 12%; выбросы атомных электростанций и ядерных испытаний в атмосферу – около 0,5 %. Все большее значение приобретает излучение захороненных радиоактивных отходов, в то время как доля излучения, вырабатываемого в ходе испытания ядерного оружия, год от года снижается. Кроме того, в ряде развивающихся стран, в которых не в полной мере разработаны безопасные технологии, существует необходимость использования ядерной энергии в качестве источника для производства электроэнергии.

Основные программы по защите человека от ионизирующего излучения были разработаны Международной комиссией по радиологической защите (МКРЗ) [29, 40]. Они, прежде всего, регламентировали безопасные дозы радиационного облучения, получаемого человеком на рабочем месте и в ходе рентгенодиагностики. Впоследствии в программы были включены меры для защиты населения от излучения радиоактивных отходов, появившихся в связи с разработкой атомного оружия и развитием ядерной энергетики [33]. Таким образом, меры радиационной защиты долгое время разрабатывались только для человека, в то время как проблема влияния ионизирующего излучения на объекты дикой природы оставалась недооцененной. В течение последних 20 лет этому вопросу было уделено значительно больше внимания. Так, МКРЗ запустила масштабный проект для оценки воздействия ионизирующего излучения на различные биологические виды [44]. В 2002 г. при содействии Международного агентства по атомной энергии (МАГАТЭ, англ. – International Atomic Energy Agency, IAEA) был организован международный симпозиум по защите окружающей среды от воздействия ионизирующих излучений [46].

## Introduction

Living organisms experience ionizing radiation from natural sources in a continuing and inescapable manner. At the present time, the average total radiation dose that most people are exposed to is around 2.2 millisievert per year. Of this about 10 % comes from cosmic radiation from space and around 14 % from ground uranium; medical X-rays account approximately 12%; nuclear plant emissions and atmospheric bomb testing now only account to about 0.5 %. The release of nuclear radiation through radioactive waste disposal is another product of modern civilization. Large-scale releases of radioactivity resulting from the testing of nuclear bombs are no longer considered to be a significant problem. However, there is a growing dependence in a number of developing countries on nuclear fission as a source of power for the generation of electricity.

A framework for protecting humans from ionizing radiation has been developed by the International Commission on Radiological Protection (ICRP) [29, 40]. This system arose initially from the need to control radiation exposure in the workplace and in medical practice, subsequently expanding to protect the general public from radioactive waste associated with atomic weapons production and nuclear power generation [33]. An unintended consequence of this human focus has been an inattention to a parallel framework for evaluating the effects of ionizing radiation to non-human biota. Only recently efforts have been directed to address this deficiency. In particular, an ICRP Task Group publishes a framework for assessing the impact of ionizing radiation on nonhuman species [44]. In addition, international symposia on this subject have been organized recently [46]. Finally, ICRP has established a new committee (Committee 5 for the Protection of the Environment) to conduct future work in this area [10, 43, 45].

Environmental exposures are likely to occur at low dose rate associated with mining,

В рамках МКРЗ был образован Комитет по охране окружающей среды для проведения дальнейшей работы в этой области [10, 43, 45].

Важнейшей задачей для оценки состояния здоровья человека и других биологических видов, обитающих в зоне повышенной радиационной опасности, является разработка методик определения дозы полученного ионизирующего облучения. Подход, основанный на исследовании универсальных радиоспецифических биомаркеров для всех эукариотических клеток, позволил бы не только судить о воздействии различных типов облучения и ксенобиотиков на состояние здоровья населения, но и выявлять степень радиоактивного загрязнения природных экосистем для применения соответствующих мер защиты.

Таковыми биомаркерами являются различные изменения в строении и жизнедеятельности интерфазной клетки, возникающие при воздействии ионизирующего излучения. Эти изменения касаются, прежде всего, клеточного ядра в связи с тем, что радиация индуцирует различные хромосомные aberrации, изменяя топологию хромосомных территорий в интерфазном ядре. Среди ядерных аномалий, возникающих в связи с воздействием ионизирующего излучения и других генотоксических агентов, выделяют микроядра, хроматиновые межъядерные мосты, ядерные почки, «хвостатые» ядра и др. Однако некоторые аномалии касаются также цитоплазмы, которая испытывает эффект облучения раньше клеточного ядра. Механизмы формирования многих клеточных аномалий не до конца изучены, однако для большинства из них продемонстрирована корреляция между увеличением частоты обнаружения этих клеточных патоморфозов и дозой воздействующего ионизирующего излучения, что позволяет рассматривать их как клеточные маркеры воздействия радиации.

### **Клеточные аномалии, индуцированные ионизирующим излучением**

Наиболее изученной формой кариопатологии, возникающей в связи с воздействием ионизирующего излучения, являются микроядра. Они представляют собой фрагменты клеточного ядра, несущие неполную часть генома. Микроядра могут содержать либо ацентрический участок хромосомы, либо целую хромосому, которая не была распределена к одному из оппозитных полюсов в ходе анафазы митоза. Фрагменты или целые хромосомы в итоге покрываются ядерной оболочкой и морфологически оказываются сходны с клеточными ядрами, не превышая  $\frac{1}{3}$  его диаметра [16].

Ацентрические фрагменты ДНК могут образовываться в результате невозможности двунитевых разрывов системами репарации

nuclear weapons production and medical use of radionuclides, whereas accidental releases emanates radiation at high dose rate like Chernobyl and Fukushima disasters. Moreover, urbanization makes nuclear fission a source of indispensable power generation, which carries a great deal of disposal at low dose-rate with a severe effect on ecosystem maintenance and human health. Thus, it is imperative to ascertain the health status of humans and other organisms inhabiting the contaminated area. Biomarkers based approach after xenobiotic exposure not only indicates the health profile, but also pave way for a sustainable growth of pristine ecosystem and simultaneous benefit of humankind.

Various anomalies in cell structure and functioning are formed under ionizing radiation. These are, first of all, nuclei anomalies, since radiation induces different chromosomal aberrations with altering the chromosomal territories topology in interphase nuclei. Among these genetic biomarkers micronuclei, nucleoplasmic bridges, "tailed" nuclei are frequently used as indicators of genotoxicity induced by numerous xenobiotics and ionizing radiation. Some anomalies are concerned to cytoplasm which first suffers from radiation influence. Molecular mechanisms of some of these anomalies are still not clear, but, however, there were obtained correlations between the frequency of these types of pathomorphosis and the radiation dose. Thus, the concept of predictive biomarkers in radiation toxicology provides a mechanistic picture of organisms under xenobiotic influence and their biological response at different levels of organization.

### **Cytological anomalies after ionizing radiation exposure**

Micronuclei are the most described type of caryopathology, forming after the ionizing radiation exposure. Micronuclei contain fragments of cell nuclei with a small genome part. Mechanism of ionizing radiation-induced micronuclei is a well-known phenomenon. They can contain an acentric chromosome fragment or the whole chromosome which was not oriented to one of the opposite poles during anaphase. Fragmented or whole chromosomes are covered by nuclear envelope and look similar to cell nuclei with a size up to  $\frac{1}{3}$  of the latter [16].

Acentric DNA fragments can be formed as a result of non-repaired double-strand breaks

либо в результате нарушения работы этой системы. Так, в случае повреждения белков системы репарации ATM, BRCA1, BRCA2, RAD54 может происходить слияние двух участков хромосом, несущих центромеры, с обособлением двух ацентрических фрагментов. Другой механизм появления ацентрических фрагментов связан с нарушением системы эксцизионной репарации ДНК, удаляющей поврежденные азотистые основания и исправляющей ошибочные пары нуклеотидов. В этом случае также могут появляться двунитевые разрывы ДНК [36, 37].

Причиной появления целой хромосомы в составе микроядра является нарушение ее прикрепления к веретену деления в ходе кариокинеза. Это может происходить из-за гипометилирования центромерных и перичентромерных областей хромосомы, нарушения сборки комплекса кинетохорных белков, гипометилирования гистонов и деконденсации центромерного участка хромосомы, нарушения сборки и динамики микротрубочек веретена деления, дефекта смены фаз митоза, нарушения амплификации центромерных участков. Чаще всего в этих случаях в составе микроядер оказывается X-хромосома.

Соотношение частоты двух механизмов появления микроядер в лимфоцитах человека под воздействием генотоксических агентов оценивается от 70: 30 до 30: 70 в зависимости от возраста и пола [16]. Для выяснения природы микроядер, содержащих ацентрический участок либо целую хромосому, используется панцентромерная проба ДНК [17].

Микроядра, известные также как тельца Хоуэлла–Джолли, первоначально были обнаружены в эритроцитах, где их появление было индуцировано дефицитом витамина В<sub>12</sub>. Увеличение количества микроядер при воздействии ионизирующего излучения было впервые показано в клетках верхушки корня боба садового [22]. В дальнейшем было продемонстрировано увеличение частоты появления микроядер в клетках кроветворной ткани, связанное с кластогенным и анеугенным воздействием излучения на клетки органов кроветворения во время дифференцировки. Было замечено, что частота выявления микроядер коррелирует с частотой появления двунитевых разрывов ДНК и рекомбинации ДНК [26].

Определение частоты встречаемости клеток с микроядрами, как индикатора генотоксичности химических соединений, легло в основу широко распространенного микроядерного теста [2]. В дальнейшем протокол теста был расширен и, наряду с определением микроядер в лимфоцитах человека, учитывали межъядерные мосты и ядерные протрузии (почки) [24]. Сегодня нет указаний

after DNA repair system damage. Thus, after the damage of ATM, BRCA1, BRCA2, RAD54 repair system, two chromosome fragments are fused with an isolation of two acentric fragments. Another way for acentric fragments to form is a damage of excision repair system which corrects the mismatched nucleotide pairs. In this case DNA double-strand breaks can also be formed [36, 37].

A reason of the whole chromosome isolation inside the micronucleus might be its misconnection with spindle microtubules during the karyokinesis. Among possible mechanisms are hypomethylation of centromeric and pericentromeric sites, kinetochore proteins damage, histones hypomethylation with the following decondensation of centromeric region, spindle microtubules defect, defect of mitosis phases checkpoint proteins and the failure of the amplification in centromeric regions. Among other chromosomes, X-chromosome is included in micronuclei more often.

Micronuclei, also known as Howell-Jolly bodies, were first observed in erythrocytes, under the folic acid starvation. Increased frequency of micronuclei appearance after the radiation exposure was shown in *Vicia faba* root tip cells [22]. After that, micronuclei appearance as an aneugenic and/or clastogenic effect of gamma radiation in the erythropoietic organ during cell differentiation was demonstrated. It has been observed that the frequency of micronuclei is correlated with DNA double-strand breaks and DNA recombination events in hematopoietic tissues [26].

Frequency of micronuclei appearance is used as an indicator of genotoxicity in a widely used micronucleus test [2]. The test protocol was expanded, and along with the micronuclei in human lymphocytes, nucleoplasmic bridges and nuclear protrusions (buds) were detected [24]. Today, there is no indication that genotoxicity tests of this kind should determine any other forms of nuclear anomalies, along with micronuclei, bridges and protrusions. However, other types of karyopathology found in cells with micronuclei also arise due to chromosomal aberrations as a manifestation of their pleiotropic effect. Such cells should be included in the micronuclear test and, moreover, be considered as multiberrant. This results in rechristening the existing erythrocyte micronucleus assay (EMNA) to erythrocyte micronucleus cytome assay (EMNCA) in the field of aquatic toxicology, an



на то, что в подобного рода тестах на генотоксичность следует определять какие-либо иные формы аномалий ядер наряду с микроядрами, мостами и протрузиями. Однако другие виды кариопатологии, встречающиеся в клетках с микроядрами, также возникают по причине хромосомных aberrаций как проявление их плейотропного эффекта. Такие клетки следует учитывать в микроядерном тесте и, более того, рассматривать как мультиабберрантные. Таким образом, современные протоколы эритроцитарного микроядерного теста (EMNA), анализа микроядер в эритроцитах методом точной цитометрии (EMNCA), а также анализа микроядер в культуре лимфоцитов человека с применением цитохалазинового блока (CBMN) требуют существенного пересмотра в связи с учетом других ядерных аномалий, являющихся индикаторами генотоксичности.

Помимо микроядер, в клетках, подвергшихся радиационному облучению, обнаруживаются межъядерные хроматиновые мосты. Такие мосты возникают, когда центромеры дицентрических хромосом расходятся к противоположным полюсам клетки во время анафазы [23]. В ходе формирования двух новых ядер дочерних клеток в телофазе образовавшийся хроматиновый мост также покрывается ядерной оболочкой. Обычно он претерпевает разрыв в ходе цитокинеза, в результате чего образуются так называемые «хвостатые» ядра. В этой связи наблюдать межъядерные мосты можно при исследовании клеток в цитохалазиновом блоке, где дальнейшего деления цитоплазмы не происходит. Одной из причин появления межъядерного моста могут быть нарушение репарации двунитевых разрывов ДНК и соединение двух образовавшихся участков хромосом, каждый из которых содержит центромеру. В этом случае в клетке часто обнаруживаются и микроядра, которые формируются из ацентрических фрагментов хромосом, остающихся после «сшивания». Другим механизмом появления хроматиновых мостов является слияние двух хромосом в области теломер [17]. Такое слияние может произойти в случае нарушения образования комплекса теломерных белков, защищающих концевые участки хромосом. В этом случае ферменты репарации распознают теломерные участки как двунитевые разрывы и «сшивают» их.

У разных видов рыб [7, 34] и человека [25] наблюдались «хвостатые» ядра в клетках после воздействия радиации. Прослеживается строгая корреляция между частотой встречаемости межъядерных хроматиновых мостов и «хвостатых» ядер [5], что говорит о том, что последние формируются путем разрыва мостов в ходе цитокинеза. Клетка, подверженная ионизирующему облучению, в ходе

analogue to cytokinesis block micronucleus cytome assay (CBMN) in humans [17]. Modern test protocols require significant modification in connection with the account of other nuclear anomalies, which are indicators of genotoxicity.

In addition to micronuclei, nucleoplasmic bridges are found in cells, exposed to radiation. Nucleoplasmic bridges will occur when centromeres of dicentric chromosomes are pulled to opposite poles of the cell during the anaphase [23]. During the formation of two new nuclei of daughter cells in the telophase, the formed nucleoplasmic bridge also becomes covered with a nuclear envelope. It usually undergoes a rupture during cytokinesis, resulting in the formation of so-called «tailed» nuclei. In this connection, it is only possible to observe nucleoplasmic bridges when studying cells in the cytochalasin block, where further division of the cytoplasm does not occur. One of the reasons for the appearance of the nucleoplasmic bridge might be a disruption in the repair of double-stranded DNA breaks and the fusion of two formed chromosome regions, each containing a centromere. In this case, micronuclei that are formed from the acentric fragments of chromosomes that remain after the fusion are often found in the cell. Another mechanism for the appearance of nucleoplasmic bridges is the fusion of two chromosomes in the telomere region [17]. Such a fusion can occur in the case of damage of a complex of telomeric proteins protecting the terminal regions of chromosomes. In this case, reparation system enzymes recognize telomeric regions as double-strand breaks and «sew» them.

So-called «tailed» nuclei were observed in cells of different fish species [7, 34] and human [25] after exposure to radiation. There is a strong correlation between the frequency of occurrence of nucleoplasmic bridges and «tailed» nuclei [5], which indicates that the latter are formed by rupture of bridges during cytokinesis. A cell exposed to ionizing irradiation undergoes «breakage-fusion-bridge» cycles during repeating mitotic divisions. The resulting nucleoplasmic bridges break during cytokinesis with the formation of «tailed» nuclei. The end sections of such broken chromosomes are recognized by the reparation system as double-strand breaks and cross-linked to form dicentric chromosomes. As a result, after anaphase, nucleoplasmic bridges are newly formed [8].

повторных митотических делений претерпевает циклы «разрыв–слияние–мост». Образующиеся хроматиновые мосты разрываются в ходе цитокинеза с образованием «хвостатых» ядер. Концевые участки таких разорванных хромосом распознаются системой репарации как двунитевые разрывы и сшиваются с образованием дицентрических хромосом. В результате после анафазы вновь образуются межъядерные хроматиновые мосты [8].

«Хвостатые» ядра и межъядерные мосты являются наиболее специфическими индикаторами радиации, позволяя отличить ее воздействие от эффектов других генотоксичных агентов. Так, при одновременном воздействии гамма-излучения и агрохимикатов у рыб формировались следующие аномалии: микроядра, «хвостатые» ядра, деформированные ядра и ядра с вакуолями. Однако комбинация «хвостатых» ядер и межъядерных мостов появлялась только после воздействия ионизирующего излучения [7, 8, 16, 25, 41]. Подтверждением этому были также исследования, в которых появление «хвостатых» ядер и межъядерных хроматиновых мостов наблюдалось в тироцитах млекопитающих, различных клеточных линиях и лимфоцитах в периферической крови ликвидаторов аварии на Чернобыльской АЭС [15, 30, 41]. Одновременное появление в клетках межъядерных мостов и «хвостатых» ядер при воздействии радиации также является следствием плейотропизма хромосомных aberrаций, возникающих в результате двунитевых разрывов ДНК.

Еще одним специфическим видоизменением структуры интерфазного ядра являются ядерные почки. Они представляют собой обособленные на периферии ядра участки амплифицированной ДНК [38]. Ядерные почки напоминают микроядра, однако в действительности они являются частью основного клеточного ядра [28]. Показано, что часто из таких ядерных почек при воздействии на клетку гамма-излучения формируются микроядра [38]. Но в то время как микроядра могут содержать ацентрические участки хромосом либо целые хромосомы, ядерные почки могут нести также внутренние участки хромосом, но никогда не содержат целые хромосомы. Предполагаемый механизм, по Lindbergh, заключается в способности ядерной оболочки «улавливать» ДНК, оказавшуюся в цитоплазме после кариокинеза, на периферии вновь образующегося ядра для недопущения анеуплоидии [27].

Другие ядерные аномалии, такие как деформированные ядра, вакуолизированные ядра и двужадерные клетки, наблюдавшиеся в эритроцитах, также можно считать индикаторами генотоксичности. Эти аномалии выявлены в ходе многих исследований [12, 21, 31], однако кон-

«Tailed» nuclei and nucleoplasmic bridges are the most specific indicators of ionizing radiation, allowing one to distinguish its effects from the effects of other genotoxic agents. Thus, with simultaneous exposure to gamma radiation and agrochemicals, the following anomalies were formed in somatic cells of fish: micronuclei, «tailed» nuclei, deformed nuclei and vacuolated nuclei. However, a combination of «tailed» nuclei and nucleoplasmic bridges appeared only after exposure to ionizing radiation [7, 8, 16, 25, 41]. This was also confirmed by studies in which the appearance of «tailed» nuclei and nucleoplasmic bridges was observed in the thyroid cells of mammals, in various cell lines and in peripheral blood lymphocytes of liquidators of the Chernobyl disaster [15, 30, 41]. Simultaneous occurrence of nucleoplasmic bridges and «tailed» nuclei under the influence of radiation is also a consequence of pleiotropism of chromosomal aberrations following double-stranded DNA breaks.

Another specific anomaly of the structure of the interphase nucleus is the nuclear buds. They appear to be isolated regions of the amplified DNA at the periphery of the nucleus [38]. Nuclear buds resemble micronuclei, but occasionally they are part of the main cell nucleus [28]. It is shown that micronuclei are often formed from such nuclear buds after exposure to gamma radiation [38]. But while micronuclei can contain acentric chromosome regions or whole chromosomes, nuclear buds can also carry internal chromosome regions, but they never contain whole chromosomes.

The proposed mechanism, according to Lindbergh, is the ability of the nuclear envelope to «catch» DNA that appeared in the cytoplasm after karyokinesis, on the periphery of the newly formed nucleus to prevent aneuploidy [27].

Erythrocyte nuclear abnormalities such as deformed nuclei, vacuolated nuclei, and binucleated cells are considered to be indicators of genotoxicity. This is in accordance with several other studies [12, 21, 31]; however, the specific mechanisms of these effects remain unclear. It is proposed that anomalies such as notched or deformed and vacuolated nuclei are associated with aneuploidy leading to micronuclei [20, 42]. It has also been proposed that mutations in the nuclear lamina, an essential structural element of nuclear envelope, might result in nuclear abnormalities of fish peripheral erythrocytes [39].

кретные механизмы их возникновения остаются невыясненными. Предполагается, что деформированные и вакуолизированные ядра возникают в анеуплоидных клетках, и их появление рано или поздно приводит к образованию микроядер [20, 42]. Кроме того, было высказано предположение, что деформация ядерной ламины, принимающей участие в компактизации хроматина, также может приводить к ядерным аномалиям эритроцитов в периферической крови рыб [39].

Наименее изученными маркерами радиационного воздействия являются гигантские и гантелевидные ядра. Однако эти формы патологии клеточного ядра неоднократно обнаруживались в лимфоцитах в периферической крови у ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС [4]. Также гантелевидные ядра возникали среди прочих ядерных аномалий в клетках метаксилемы корней пшеницы под воздействием никеля [1]. Такую же форму ядер можно наблюдать в гранулоцитах в периферической крови пациентов с гетерозиготной формой аномалии Пельгера-Хьюэта [3]. Два ядра оказывались слиты вместе, напоминая по форме гантель или восьмерку. Морфологически эта форма ядер отличается от ядер, объединенных хроматиновым мостом. Возникновение гантелевидных ядер связывают с образованием дицентриков и кольцевых хромосом [6]. Кроме того, появление гантелевидных перетяжек ядра также относили к морфологическим признакам амитоза – прямому способу деления клеток, при котором компоненты ядра распределяются между дочерними ядрами неравномерно [19, 35]. Однако позднее было продемонстрировано, что гантелевидные ядра могут формироваться в интенсивно делящихся клетках при низкой температуре окружающей среды и в условиях недостатка питательных веществ [13]. Таким образом, механизм возникновения такой формы ядра находится под вопросом. Однако гантелевидные ядра можно считать маркером геномной нестабильности в связи с тем, что отмечается корреляция частоты их возникновения с воздействием радиации и других генотоксичных агентов.

Помимо ядерных аномалий, под действием гамма-облучения в эритроцитах также наблюдаются изменения в структуре цитоплазмы. Более того, при воздействии ионизирующего излучения его эффекты в первую очередь затрагивают именно цитоплазму; предложенный механизм связан с изменениями в эритроцитах мембранного потенциала. Среди описанных изменений структуры цитоплазмы: вакуолизированная цитоплазма, анизохромия, отсутствие ядра [11, 18].

Наиболее часто в качестве индикаторов повреждения ДНК выявляют микроядра, однако

The less studied markers of radiation exposure are giant and dumbbell-shaped nuclei. However, these forms of pathology of the cell nucleus were repeatedly detected in peripheral blood lymphocytes in the liquidators of the consequences of the Chernobyl disaster [4]. Also, dumbbell nuclei arose among other nuclear anomalies in the cells of the metaxylem of the roots of wheat under the influence of nickel [1]. The same form of nuclei can be observed in granulocytes of peripheral blood of patients with a heterozygous form of the Pelger-Huet anomaly [3]. The two nuclei are fused together, resembling a dumbbell or an “eight” figure. Morphologically this form of nuclei differs from the nuclei united by a nucleoplasmic bridge. The appearance of dumbbell nuclei is associated with the formation of dicentrics and ring chromosomes [6]. In addition, the appearance of dumbbell-like nuclei was also attributed to the morphological features of amitosis, the direct method of cell division, in which the components of the nucleus are distributed unevenly between the daughter nuclei [19, 35]. However, later it was demonstrated that dumbbell nuclei can be formed in intensively dividing cells at low temperature and in conditions of nutrients starvation [13]. Thus, the mechanism for the appearance of such a form of the nucleus is not clear. However, dumbbell nuclei can be considered as a marker of genomic instability due to the fact that the frequency of their occurrence correlates with the effects of radiation and other genotoxic agents.

Cytoplasm abnormalities like vacuolated cytoplasm, anisochromasia, microcyte, and nucleus deficiency were also noted upon gamma radiation exposure. Once the cells are exposed to radiation, cytoplasm is the first to suffer, and the suggested mechanism is related to the changes in erythrocyte membrane potential [11, 18].

Micronuclei are most often used as indicators of DNA damage, but there is also a positive correlation with the effect of ionizing radiation in other cellular anomalies [5, 32]. In recent years, huge attention has been focused on cases of simultaneous detection of morphological nuclear anomalies and micronuclei [9, 14, 32]. Thus, with the formation of the nucleoplasmic bridge due to the non-divergence of the dicentric chromosome to the opposite poles during the anaphase, micronuclei containing the acentric fragments of the corresponding chromosomes are also

положительная корреляция с воздействием ионизирующего излучения существует также и у других клеточных аномалий [5, 32]. В последние годы значительное внимание акцентировалось на случаях одновременного выявления морфологических ядерных аномалий и микроядер [9, 14, 32]. Так, при формировании межъядерного моста по причине нерасхождения дицентрической хромосомы к оппозиционным полюсам в ходе анафазы чаще всего формируются также и микроядра, содержащие ацентрические фрагменты соответствующих хромосом [17]. Это говорит о том, что разные типы кариопатологии могут формироваться одновременно в одной и той же клетке как плеiotропные эффекты хромосомных aberrаций, возникших под влиянием радиации. Таким образом, большинство поврежденных под воздействием ионизирующего излучения клеток следует рассматривать как мультиабберантные. Перспективной представляется возможность модернизировать существующие методы оценки дозы полученного облучения, рассматривая как индикатор радиационного воздействия частоту появления не только микроядер и межъядерных мостов, но и других, менее изученных видов кариопатологии, таких как гантелевидные и гигантские ядра.

### Заключение

Ионизирующее излучение вносит двунитевые разрывы в ДНК эукариотической клетки, что влечет за собой появление различных хромосомных перестроек. Клетки с такими изменениями структуры хромосом отличаются формированием различных видов кариопатологии: микроядер, «хвостатых» ядер, межъядерных мостов и др. Эти ядерные аномалии являются универсальными радиоспецифическими маркерами, поскольку их возникновение при воздействии радиации продемонстрировано, наряду с клетками человека, также у растений и животных.

most often formed [17]. This suggests the fact that different types of karyopathology can be formed simultaneously in the same cell as pleiotropic effects of chromosomal aberrations that have arisen under the influence of radiation. Thus, the majority of cells damaged by ionizing radiation should be considered as multiaberrant cells. It is promising to modernize existing methods of bioindication, considering as an indicator of radiation effects the frequency of the appearance not only of micronuclei and internuclear bridges, but also of other less studied types of karyopathology, such as dumbbell and giant nuclei.

### Conclusion

Literature clearly demonstrates that ionizing radiation exposure triggers subtle perturbations and induces specific cytological anomalies in the somatic cells of humans and non-human species. 'Cytogenetic signatures' like micronuclei, nucleoplasmic bridges and "tailed" nuclei are considered to be specific for environmental risk analysis in organisms including humans exposed to ionizing radiation intentionally or unintentionally.

These nuclear anomalies can be considered as universal radio-specific markers, since their appearance under the influence of radiation is demonstrated along with human cells also in plants and animals.

### Литература (References)

1. Демченко Н.П., Калимова И.Б. Динамика роста, пролиферация и дифференциация клеток корней пшеницы под воздействием никеля в высокой концентрации // Физиология растений. 2008. Т. 55, № 6. С. 874–885.  
Demchenko N.P., Kalimova I.B. Dinamika rosta, proliferacija i differenciacija kletok kornej pshenicy pod vozdejstviem nikelja v vysokoj koncentracii [Dynamics of growth, proliferation and differentiation of wheat root cells exposed to a high nickel concentration]. *Fiziologija rastenij* [Soviet Plant Physiology]. 2008. Vol. 55, N 6. Pp. 874–885. (In Russ.)
2. Ильинских Н.Н., Васильев С.А., Кравцов В.Ю. Микроядерный тест в скрининге и мониторинге мутагенов. Saarbrücken : Lambert Academic Publishing, 2011. 524 с.  
I'inskih N.N., Vasil'ev S.A., Kravcov V.Ju. Mikrojadernyj test v skringinge i monitoringe mutagenov [Micronuclei test in mutagens monitoring and screening]. Saarbrücken : Lambert Academic Publishing. 2011. 524 p. (In Russ.)
3. Кострова О.Ю. Аномалия Пельгера–Хьюэта // Медицинский альманах. 2016. № 2 (42). С. 43–44.  
Kostrova O.Ju. Anomaliya Pel'gera-H'ujeta [Pelger-Huet anomaly]. *Medicinskij al'manah* [Medical almanac]. 2016. N 2. Pp. 43–44. (In Russ.)
4. Кравцов В.Ю., Федорцева Р.Ф. Морфологические аномалии ядер типа «хвостов» в лимфоцитах и их связь с дицентрическими хромосомами у облученных пациентов // Генетика. 1997. Т. 33, № 12. С. 167–168.  
Kravcov V.Ju., Fedorceva R.F. Morfologicheskie anomalii jader tipa «hvtov» v limfocitah i ih svjaz' s dicentricheskimi hromosomami u obluchennyh pacientov [Morphologically abnormal "tailed" lymphocyte nuclei and their association with



dicentric chromosomes in patients exposed to ionizing radiation]. *Genetika* [Russian Journal of Genetics]. 1997. Vol. 33, N 12. Pp. 167–168. (In Russ.)

5. Кравцов В.Ю., Федорцева Р.Ф., Старкова Е.В. [и др.]. Способ экспресс-выявления облученных пациентов с повышенными частотами хромосомных aberrаций : пат. Рос. Федерация 2141658, МПК G01N 33/48. № 97120394/14, заявл. 20.11.1997 ; опубл. 20.11.1999, Бюл. 32.

Kravcov V.Ju., Fedorceva R.F., Starkova E.V. [et al.]. Sposob jekspress-vyjavlenija obluchennyh pacientov s povyshennymi chastotami hromosomnyh aberracij [Method of rapid detection of irradiated patients with increased frequencies of chromosomal aberrations] : Patent for invention RUS 2141658. Declared 20.11.1997. Published 20.11.1999 (In Russ.)

6. Никифоров А.М., Федорцева Р.Ф., Моносова Е.К. [и др.]. Ядра с протрузиями – «хвостатые» ядра и радиационные цитогенетические маркеры в культуре лимфоцитов после рентгеновского облучения // Радиационная биология и радиоэкология. 2000. Т. 40, № 3. С. 299–304.

Nikiforov A.M., Fedorceva R.F., Monosova E.K. [et al.]. Jadra s protruzijami – «hvostatye» jadra i radiacionnye citogenicheskie markery v kul'ture limfocitov posle rentgenovskogo obluchenija [Nuclei with protrusions – “tailed” nuclei and radio-specific cytological markers in lymphocyte culture after X-ray irradiation]. *Radiacionnaja biologija i radiojekologija* [Radiation Biology. Radioecology]. 2000. Vol. 40, N 3. Pp. 299–304. (In Russ.)

7. Anbumani S., Mohankumar M.N. Gamma radiation induced micronuclei and erythrocyte cellular abnormalities in the fish *Catla catla*. *Aquatic toxicology*. 2012. Vol. 122. Pp. 125–132.

8. Anbumani S., Mohankumar M.N. Nucleoplasmic bridges and tailed nuclei are signatures of radiation exposure in *Oreochromis mossambicus* using erythrocyte micronucleus cytome assay (EMNCA). *Environmental Science and Pollution Research*. 2015. Vol. 22, N 23. Pp. 18 425–18 436.

9. Ayllon F., Garcia-Vazquez E. Induction of micronuclei and other nuclear abnormalities in European minnow *Phoxinus phoxinus* and mollie *Poecilia latipinna*: an assessment of the fish micronucleus test. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2000. Vol. 467, N 2. Pp. 177–186.

10. Balonov M. [et al.]. The IAEA standards for the radioactive discharge control: Present status and future development. *Radioprotection*. 2005. Vol. 40, N S1. Pp. S721–S726.

11. Barni S. [et al.]. Evaluation of *Rana snk esculenta* blood cell response to chemical stressors in the environment during the larval and adult phases. *Aquatic Toxicology*. 2007. Vol. 81, N 1. Pp. 45–54.

12. Bolognesi C. [et al.]. Assessment of micronuclei induction in peripheral erythrocytes of fish exposed to xenobiotics under controlled conditions. *Aquatic toxicology*. 2006. Vol. 78. Pp. S93–S98.

13. Bucher O. Die Amitose der tierischen und menschlichen Zelle. Springer-Verlag, 2013. 160 p.

14. Zavaş T., Ergene-Gözükara S. Induction of micronuclei and nuclear abnormalities in *Oreochromis niloticus* following exposure to petroleum refinery and chromium processing plant effluents. *Aquatic Toxicology*. 2005. Vol. 74, N 3. Pp. 264–271.

15. Cheong H.S.J. [et al.]. Relationships among micronuclei, nucleoplasmic bridges and nuclear buds within individual cells in the cytokinesis-block micronucleus assay. *Mutagenesis*. 2013. Vol. 28, N 4. Pp. 433–440.

16. Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nature protocols*. 2007. Vol. 2, N 5. Pp. 1084–1104.

17. Fenech M. [et al.]. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis*. 2011. Vol. 26, N 1. Pp. 125–132.

18. Fijan N. Morphogenesis of blood cell lineages in channel catfish. *Journal of fish biology*. 2002. Vol. 60, N 4. Pp. 999–1014.

19. Flemming W. Entwicklung und Stand der Kenntnisse uber Amitose. *Merkel und Bonnet's Ergebnisse*. 1892. N 2. Pp. 37–82.

20. Ghadially F.N. Ultrastructural pathology of the cell and matrix: a text and atlas of physiological and pathological alterations in the fine structure of cellular and extracellular components. Butterworth-Heinemann, 1988. 612 p.

21. Guilherme S. [et al.]. Erythrocytic nuclear abnormalities in wild and caged fish (*Liza aurata*) along an environmental mercury contamination gradient. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2008. Vol. 70, N 3. Pp. 411–421.

22. Gustavino B., Carboni G., Petrillo R. [et al.]. Exposure to 915 MHz radiation induces micronuclei in *Vicia faba* root tips. *Mutagenesis*. 2016. N 31. Pp. 187–192.

23. Hamza V.Z., Mohankumar M.N. Cytogenetic damage in human blood lymphocytes exposed in vitro to radon. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2009. Vol. 661, N 1. Pp. 1–9.

24. Kimura M., Umegaki K., Higuchi M. [et al.]. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism, folic acid and riboflavin are important determinants of genome stability in cultured human lymphocytes. *J. Nutr*. 2004. N 134. Pp. 48–56.

25. Kravtsov V.Y. [et al.]. Tailed nuclei and dicentric chromosomes in irradiated subjects. *Applied Radiation and Isotopes*. 2000. Vol. 52, N 5. Pp. 1121–1127.

26. Lau A., Belanger C.L., Winn L.M. In utero and acute exposure to benzene: investigation of DNA double-strand breaks and DNA recombination in mice. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2009. Vol. 676, N 1. Pp. 74–82.

27. Lindberg H.K. [et al.]. Origin of nuclear buds and micronuclei in normal and folate-deprived human lymphocytes. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2007. Vol. 617, N 1. Pp. 33–45.

28. Mansilla S., Bataller M., Portugal J. A nuclear budding mechanism in transiently arrested cells generates drug-sensitive and drug-resistant cells. *Biochemical pharmacology*. 2009. Vol. 78, N 2. Pp. 123–132.
29. Mountford P.J., Temperton D.H. Recommendations of the international commission on radiological protection (ICRP). *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 1992. Vol. 19, N 3. Pp. 77–79.
30. Nadyrov E. [et al.]. Karyopathological traits of thyrocytes and exposure to radioiodines in Belarusian children and adolescents following the accident at the Chernobyl nuclear power plant. *Radiation and environmental biophysics*. 2012. Vol. 51, N 2. Pp. 187–193.
31. Osman A.G.M. [et al.]. In situ evaluation of the genotoxic potential of the river Nile: I. Micronucleus and nuclear lesion tests of erythrocytes of *Oreochromis niloticus niloticus* (Linnaeus, 1758) and *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *Toxicological & Environmental Chemistry*. 2011. Vol. 93, N 5. Pp. 1002–1017.
32. Pacheco M., Santos M.A. Naphthalene and  $\beta$ -naphthoflavone effects on *Anguilla anguilla* L. hepatic metabolism and erythrocytic nuclear abnormalities. *Environment international*. 2002. Vol. 28, N 4. Pp. 285–293.
33. Pentreath R.J. Looking at the Future of Radioecology. *Science*. 2002. Vol. 298, N 5597. Pp. 1333–1334.
34. Prokofjeva-Belgovskaya A. A. Radiation damage in chromosomes on early stages of development of *Salmo salar*. *Tsitologia*. 1961. Vol. 3. Pp. 437–445.
35. Remak R. Ueber extracelluläre Entstehung tierischer Zellen und über Vermehrung derselben durch Theilung. *Archiv für Anatomie, Physiologie und wissenschaftliche Medizin*. 1852. Pp. 47–57.
36. Savage J.R.K. A comment on the quantitative relationship between micronuclei and chromosomal aberrations. *Mutation Research Letters*. 1988. Vol. 207, N 1. Pp. 33–36.
37. Savage J.R.K. Micronuclei: Pitfalls and problems. *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*. 2000. Vol. 4. Pp. 229–233.
38. Shimizu N. [et al.]. Selective entrapment of extrachromosomally amplified DNA by nuclear budding and micronucleation during S phase. *The Journal of cell biology*. 1998. Vol. 140, N 6. Pp. 1307–1320.
39. Strunjak-Perovic I. [et al.]. Seasonality of nuclear abnormalities in gilthead sea bream *Sparus aurata* (L.) erythrocytes. *Fish physiology and biochemistry*. 2009. Vol. 35, N 2. Pp. 287–291.
40. The 2007 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. *Annals of the ICRP*. 2007. N 37 (2-4). Pp. 1–332.
41. Thomas P., Umegaki K., Fenech M. Nucleoplasmic bridges are a sensitive measure of chromosome rearrangement in the cytokinesis-block micronucleus assay. *Mutagenesis*. 2003. Vol. 18, N 2. Pp. 187–194.
42. Tice R.R., Ivett J. L. Cytogenetic analysis of bone marrow damage. *Toxicology of the blood and bone marrow*. Ed. R.D. Irons. New York : Raven Press, 1985. Pp. 119–140.
43. United Nations. Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. *Report of the United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation: Fifty-sixth Session (10–18 July 2008)*. New York : United Nations Publications, 2008. 38 p
44. Valentin J. A framework for assessing the impact of ionising radiation on non-human species: ICRP Publication 91. *Annals of the ICRP*. 2003. Vol. 33, N 3. Pp. 201–270.
45. Vujkic H. Radiation protection of environment under the light of the new concept of radiation protection of non-human species. ICRP Second European Congress. Paris, 2006. 13 p.
46. Zinger-Gize I. Third International Symposium on the Protection of the Environment from Ionising Radiation (Darwin, Australia, 22–26 July 2002). Meeting report. *Journal of Radiological Protection*. 2002. Vol. 22, N 4. Pp. 445–446.

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией статьи.  
Поступила 18.02.2017

**Для цитирования.** Анбумани С., Ливанова А.А., Федорцева Р.Ф. Ядерные аномалии соматических клеток как универсальные индикаторы воздействия ионизирующего излучения // Мед.-биол. и соц.-психол. пробл. безопасности в чрезв. ситуациях. 2017. № 2. С. 66–75. DOI 10.25016/2541-7487-2017-0-2-66-75.

Received 18.02.2017

**For citing:** Anbumani S., Livanova A.A., Fedortseva R.F. Yadernye anomalii somaticheskikh kletok kak universal'nye indikatory vozdeistviya ioniziruyushchego izlucheniya. *Mediko-biologicheskie i sotsial'no-psikhologicheskie problemy bezopasnosti v chrezvychaynykh situatsiyakh*. 2017. N 2. Pp. 66–75. **(In Russ.)**

Anbumani S., Livanova A.A., Fedortseva R.F. Various types of nuclei pathology in somatic cells as a universal indicator of ionizing radiation. *Medico-Biological and Socio-Psychological Problems of Safety in Emergency Situations*. 2017. N 2. Pp. 66–75. DOI 10.25016/2541-7487-2017-0-2-66-75.