

## 세포질 분열 차단 림프구를 이용한 월성원자력발전소 주변 소의 미소핵 발생 평가

김세라, 김태환<sup>1</sup>, 김성호\*

전남대학교 수의과대학, <sup>1</sup>원자력의학원

(게재승인: 2003년 7월 23일)

### Evaluation of Micronucleus Frequency in Cytokinesis-blocked Bovine Lymphocytes from Regions around Wolsong Nuclear Power Plant

Se-ra Kim, Tae-hwan Kim<sup>1</sup> and Sung-ho Kim\*

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

<sup>1</sup>Korea Institute of Radiological & Medical Science

(Accepted: July 23, 2003)

**Abstract:** Cytogenetic and hematological analysis was performed in bovine peripheral blood from the regions around Wolsong nuclear power plant and control area. The frequency of micronuclei (MN) in peripheral blood lymphocytes from cattle was used as a biomarker of radiobiological effects resulting from exposure to environmental radiation. An estimated dose of radiation was calculated by a best fitting linear-quadratic model based on the radiation-induced MN formation from the bovine lymphocytes exposed in vitro to radiation over the range from 0 Gy to 4 Gy. MN rates in lymphocytes of cattle from Wolsong nuclear power plant and control area were 9.87/1,000 and 9.60/1,000, respectively. There were no significant differences in MN frequencies and hematological values in cattle between Wolsong and control area. The study indicates that the MN assay is a rapid, sensitive and accurate method that can be used to monitor a large population exposed to radiation.

**Key words:** radiation, micronuclei, cattle, lymphocytes, nuclear power plant

### 서 론

동물은 주위 환경에 존재하는 여러 가지 유해물질에 영향을 받는다. 방사선을 비롯한 물리적 유전장해 유발 물질 및 농약 등의 화학적 유전장해 유발물질에 의해 돌연변이, 대사장애, 생식이상, 면역저하 등의 증상을 일으킬 수 있다. 특히 애완동물을 비롯한 가축은 인간의 생활환경을 공유한다는 관점에서 대상 자체의 장해

뿐만 아니라 인간에 대한 유해인자의 작용을 대변할 수 있어 주위 환경의 유해성 평가 분야에서 매우 중요하다 [2, 6].

방사선 피폭의 생물학적 선량측정은 각종 단백질 및 핵산의 변화를 중심으로 한 효소변화측정 즉, 생화학적 방법 [13]과 미성숙염색체응축(premature chromosome condensation) 검사법을 비롯한 세포유전학적 방법 [18], 조혈세포 [7], 정자산생 [24], 체모의 변화 [20]를 이용한

본 연구는 과학기술부 원자력연구개발사업의 지원으로 수행되었음.

\* Corresponding author: Sung-ho Kim

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Yongbong-dong, Buk-gu, Gwangju, 500-757, Korea.  
Tel: +82-62-530-2837, Fax: +82-62-530-2841, E-mail: shokim@chonnam.ac.kr

세포조직학적 방법, 기타 면역학적 변화 등을 관찰하는 방법들이 제시되고 있다. 생물학적 선량측정의 조건으로, 피폭량에 따른 반응의 일치(dose-dependence)와 전리방사선에 대해 특징적인 반응을 보여 선량측정이 용이해야 하며 피폭 후 빠른 결과의 산출, 부분피폭의 검출과 피폭 후 피폭선량의 지속성, 만성피폭과 분할피폭의 적용성 및 다양한 선질에 대하여 모두 측정 가능하여야 한다. 그러나 현재 위의 조건을 모두 만족시킬 수 있는 지표는 없으나 개인용 계측기를 이용한 물리적 측정방법의 문제점을 보완하기 위하여 생물학적 선량 측정법이 중요시되고 있다 [17].

가장 많이 적용되는 생물학적 선량측정은 혈액내 림프구의 수적 변동이며 [7] 이외 dicentric 과 centric ring의 계측을 중심으로 한 염색체 분석법이 몇몇 방사선 사고시 적용 측정되었다 [3, 10, 11, 22]. 그러나 혈액세포의 수적 변화는 원줄기세포(stem cell) 및 세포성숙계로부터 어느 정도 이용가능한지의 정도, 시간경과 후의 세포사멸에 의한 수적 소실의 비율, 비장과 같은 혈액보유장기 상태 등의 변화에 따른 혈구수치의 차이로 인한 해석상의 문제점이 있고 [7] 염색체분석법은 재료의 제작 및 분석에 많은 시간과 노력 있어야 하고, 또한 상당한 수준의 숙련된 기술이 있어야 할 수 있다는 단점이 있다 [10, 17]. 골수세포를 이용하는 전통적인 미소핵 검사에 비하여 세포질분열 차단 림프구를 이용한 미소핵 검사는 일회 분열의 확인 및 미분열세포의 배제가 가능하기 때문에 현재 방사선생물학분야에서 선량측정 및 반응조절물질의 효과 검증 시험에 많이 적용되고 있다 [1, 9, 14, 17, 21, 32].

본 연구에서는 소를 대상으로 혈액수치 및 세포질분열차단 림프구에서 발생한 미소핵을 측정하여 원자력발전소와 대조지역의 차이를 관찰하였으며 미소핵 발생 정도를 시험적으로 산출된 방사선 피폭 선량-반응 곡선식에 적용하여 추정선량을 파악하였다.

## 재료 및 방법

### 혈액 수치 관찰

실험대상 소의 말초혈액을 헤파린이 첨가된 vacutainer에 채취하여 동물전용 혈구분석기(Hemavet 850+, CDC Technologies Inc., USA)를 사용, 백혈구, 적혈구 및 혈소판의 상태를 검사항목 별로 분석하였다. 백혈구는 총백혈구, 호중구, 호산구, 호염구, 단핵구, 림프구를 감별 측정하고 총수 및 백분율을 산출하였으며, 적혈구는 총적혈구, hemoglobin, hematocrit 등을 산출하였다.

### 실험세포 및 배양

시험적 방사선 조사 후 선량-반응식을 도출하기 위하여 광주인근 지역의 건강한 3두의 한우 말초혈액을 사용하여 월성원자력발전소 인근 2 km 이내 사육 농가의 한우 (1.5 - 2세) 및 전남 화순 지역 사육 한우 (1.5 - 2세) 각 15두의 혈액을 채취하여 원전 지역 사육 소 실험군과 대조지역 사육 소 실험군으로 적용하였다. Histopaque-1077 kit (Sigma Chemical Co.)를 이용하여 림프구를 분리하여 HBSS (Sigma Chemical Co.)에 수세한 후 15% heat inactivated fetal bovine serum (Hyclone Co.), L-glutamine (Sigma Chemical Co.), 2-mercaptoethanol (Sigma Chemical Co.)과 항생제가 첨가된 RPMI1640 (Gibco BRL) 배지에 부유시켰다. 림프구는 multi-well tissue culture plate (Falcon, Becton Dickinson)를 사용하여 배지 ml당  $5 \times 10^5$ 개의 농도로 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양하였다. 배지 ml당 1% 및 2%의 phytohaemagglutinin (PHA, Sigma Chemical Co.)을 첨가하고 2, 4, 6 또는 12 µg의 cytochalasin B (Cyt-B, Aldrich Chemical Co.)를 첨가한 후 이핵세포를 얻기 위한 최적농도를 파악하였다.

### 방사선조사

시험적 방사선 조사 후 선량-반응식을 도출하기 위하여, 분리된 림프구는 멸균된 polystyrene tube(Falcon, Becton Dickinson)에 분주하여 PHA첨가 직전에 1, 2, 4 Gy의 <sup>60</sup>Co 감마선을 1,000 cGy/min의 선량율로 1회 조사 (Gammacell 3000 Elan, Nordion International Co., Canada, Japan)하였다.

### Cytokinesis-blocked method

Cyt-B는 dimethylsulphoxide (Sigma Chemical Co.)에 ml당 2mg의 양으로 원액을 만들어 -70 °C에 보관하였으며 실험을 통하여 얻어진 최적용량을 적용하여 배양 44 시간에 첨가하였다. 배양개시 후 72시간에 세포를 수확하였으며 cytocentrifuge를 이용하여 김경용 표본을 만들고 건조 후 Diff Quik kit (International Reagents Corp.)를 이용하여 염색하였다.

### 미소핵의 검정

미소핵은 유침하에서 1,000배 배율의 현미경으로 관찰하였으며 주핵에서 분리된 구형으로 지름이 주핵의 50% 이하이며 이핵세포의 세포질내에 존재하여야 하고 빛의 반사와 같은 형상이 없고 염색성이 주핵에 비하여 진하지 않은 것을 미소핵으로 판정하였다 [1]. 모든 성적의 분석은 Graph PAD In Plot program을 사용하였다.

**결 과**

원전지역 및 대조지역 사육 소의 혈액학적수치에서 각 군사이의 유의성 있는 차이는 없었으며 방사선 피폭 유무의 지표가 될 수 있는 림프구의 수치도 유의성 있는 차이는 없었다(Table 1).

**Table 1.** Hematological values in cattle of Wolsong nuclear power plant and control region

Test	Unit	Control region	Wolsong region
Erythrocytes	M/ul	7.16±0.50	7.48±1.30
Hemoglobin	g/dL	9.83±0.52	10.15±1.21
Hematocrit	%	29.90±1.96	33.13±3.51
Thrombocytes	K/ul	240.14±59.01	226.2±59.99
Leukocytes	K/ul	8.18±1.89	8.38±2.14
Neutrophils	K/ul	3.37±1.13	3.66±1.58
Lymphocytes	K/ul	4.49±1.47	3.99±1.12
Monocytes	K/ul	0.25±0.10	0.37±0.12
Eosinophils	K/ul	0.13±0.10	0.28±0.15
Basophils	K/ul	0.04±0.03	0.10±0.05

세포질분열 차단 림프구, 즉 2개의 핵을 가진 림프구의 유도는 PHA 2% 투여군에서 높게 유도되었고, Cyt-B의 첨가량이 증가할수록 전체림프구에 대한 이핵 림프구의 유도율은 증가하였으나 4핵 세포의 유도율과 Cyt-B 자체의 세포독성을 고려하여 최적농도는 4 µg/ml로 통일하였다. 위의 조건에서 배양된 림프구에서 이핵 림프구는 약 16%였다.

시험적 방사선 조사에 따른 미소핵의 발생 양상은 table 2 및 table 3과 같으며 방사선조사에 따라 linear-quadratic model을 적용하여 얻은 곡선식은  $y = 0.1016D + 0.0118D^2 + 0.0147$  ( $y =$  CB 세포당 MN의 수,  $D =$  방사선 조사량 Gy)였다.

월성원전 주변과 대조지역 사육 소의 미소핵 발생은 1,000개의 세포질분열차단림프구 당 각각 평균 9.87개 및 9.60개였으며, 대상 소의 모든 개체에서 세포 당 2개 이상의 미소핵을 가진 경우는 없었다(Table 4). 조사 대상 소의 미소핵 발생빈도를 시험적 방사선 조사 후 얻은 방사선량-반응식에 대입하여 추정선량을 파악하기 위하여,  $y = aD + bD^2 + C$ 를  $D = [\pm a\sqrt{(a^2 - 4b(C - y))}] \div 2b$ 로 전환하고 위의 식을 근거로 세포 당 미소핵의 수를 대입한 바 추정선량은 선량-반응식 도출을 위한 소에서 방사선 비조사군의 발생을 보다 낮았으며, 강제적 추정선량은 월성원전 지역 사육소에서 -4.78 cGy, 대조지역 사육소에서 -5.05 cGy였다.

**Table 2.** Micronuclei (MN) per 500 cytokinesis-blocked lymphocytes following irradiation of cattle

Experimental group	No. of cells without MN	Number of micronuclei per cell				Total number of MN
		1	2	3	4	
<b>Donor 1</b>						
0 cGy	493	7				7
100 cGy	451	43	6			55
200 cGy	392	80	24	4		140
400 cGy	279	173	36	11	1	282
<b>Donor 2</b>						
0 cGy	492	8				8
100 cGy	452	44	4			52
200 cGy	401	75	19	5		128
400 cGy	282	167	47	12	2	305
<b>Donor 3</b>						
0 cGy	493	7				7
100 cGy	441	53	6			65
200 cGy	384	89	25	2		145
400 cGy	252	189	41	17	1	326

**Table 3.** Frequency of micronuclei in cytokinesis-blocked (CB) cells following treatment with gamma-rays

Dose (cGy)	Micronuclei per CB cell
0	0.015±0.001
100	0.115±0.014
200	0.275±0.017
400	0.609±0.044

**Table 4.** Micronucleus frequency in binucleated cells of bovine lymphocytes from Wolsong nuclear power plant region and control region

Subject	Number of MN per 1,000 CB cells	
	Control region	Wolsong region
1	10	13
2	4	9
3	7	8
4	7	6
5	21	11
6	10	7
7	10	12
8	13	7
9	7	10
10	7	6
11	9	13
12	8	10
13	11	10
14	8	12
15	12	14
<b>Mean ± S.D.</b>	<b>9.60 ± 3.91</b>	<b>9.87 ± 2.64</b>

## 고 찰

방사선 피폭에 대한 생물학적 선량측정 방법으로 세포유전학적 분석법인 미소핵검사시 림프구를 주로 사용하는데, 이는 비교적 수명이 길고, 정상상태에서는 분열하지 않으며 표면의 채취가 용이하기 때문이다 [3, 10, 11, 22]. 또한 기존의 염색체 분석법에 비하여 미소핵검사는 염색체 검사에 관한 특별한 숙련이나 기술 없이도 분석이 비교적 쉬우며 단기간에 수행될 수 있다. 특히 세포질분열 차단 림프구의 사용에 따라 방사선생물학 분야의 연구가 더욱 용이하게 되었다 [1, 9, 21, 32]. 미소핵은 전리방사선의 직접효과 또는 free radicals에 의한 염색체의 무중심절분열(acentric fragment), 두개 이상의 centromere 존재, kinetochore의 결손 또는 방추사의 손상 등에 의해 세포분열 시 주핵(main nucleus)에 포함되지 못해 형성되는 것으로 알려져 있다 [1, 9, 21, 33].

원자력발전소를 대상으로 방사선 생물학적 선량 측정은 주로 시설 종사자를 대상으로 시행되었고 [5, 16, 27, 30, 31], 염색체분석법을 대신하여 최근 세포질분열 차단 림프구의 미소핵 발생을 지표로 하고 있다 [30, 31]. 동물 유래 세포를 이용한 방사선 피폭의 생물학적 측정에는 과거 염색체의 이상유무 및 동물종 간의 감수성 차이가 조사되었으며 [12], 최근 간편한 미소핵 발생에 관한 연구가 진행되면서 두 가지 세포유전학적 분석간의 차이 점 등이 알려지고 있다 [4, 15, 21]. 원전 주변 동물을 대상으로 한 연구는 체르노빌 원전 사고 후 방사성 물질의 내부오염에 대한 장기 별 방사능 물질의 축적 및 유즙내 방사성 물질의 유무를 파악하는 조사연구가 주를 이루고 있다 [25, 26, 29]. 소에서 림프구 미소핵 측정법은 1993년 Scarfi 등 [23]에 의해 최초 보고된 이래 방사선 및 과산화수소에 의한 독성 시험에 사용되었고 [8] 최근 슬로바키아에서 지역별 환경 오염의 차이를 파악하는 방법으로 실제 적용되었다 [28].

정상대조군의 미소핵 수치가 1,000개 세포질분열 차단 림프구 당, Flores 등의 보고 [8]에서 16-19개, Scarfi 등의 보고 [23]에서 평균 24.6개, Sutiakova 등의 보고 [28]에서 10-31개로 나타났다. 본 연구에서 소유래 림프구 미소핵 발생 결과를 전 보고자들의 성적과 비교하면, 본 연구에서 선량-반응식을 도출하기 위해 적용된 소의 림프구 수치인 평균 15개와 유사하였으나 대조지역 사육 소의 평균수치는 약간 낮게 나타났다. 이는 선량-반응식 도출을 위해 적용된 소와 대조지역 소의 사육환경의 차이가 관계되는 것으로 생각되며, 상기 연구자의 보고에서 적용된 소의 연령, 품종 및 사육환경 등의 요인이 연관되리라 생각된다.

본 연구는 원전 주변 사육 소의 림프구 미소핵 발생을 지표로 한 방사선 피폭 가능성 관별을 위한 최초의 세포유전학적 보고로서, 원전 주변 사육 소와 대조 지역 사육 소에서 비슷한 혈액 수치 및 미소핵 발생 수치를 나타냄으로써 원전에 의한 주변 사육 소의 방사선 생물학적 유해성은 없는 것으로 평가되었다. 가축 유래 세포를 사용한 연구에서는 대상 가축의 연령이 중요하며 [19] 특히 환경적 유해요인의 평가에서 유해인자의 지능도 장기 노출이 보다 정확한 결과를 나타내리라 사료되며, 따라서 방사성 물질의 내부 오염이나 전리방사선의 외부 피폭 유무 판단을 위하여 원자력시설 주변의 가축에 대해서도 고령 가축을 대상으로 한 연구가 필요하다고 사료된다.

에완동물이나 가축은 인간의 환경을 공유하므로 직접 인체를 대상으로 하는 조사연구를 대체할 수 있는 동물을 대상으로 한 연구조사가 계속되어야 할 것으로 생각되며 이와 같은 관점에서 원자력 시설 지역의 생물감시체계의 확립이 필요하다.

## 결 론

월성원자력발전소 주변과 대조지역(전남 화순)에서 사육된 소의 말초혈액을 이용하여 혈액학적 분석 및 세포유전학적 분석을 실시하였다. 환경방사선 노출에 대한 지표로서 각 지역 소의 림프구를 대상으로 세포질분열 차단세포를 유도하고 이들 세포에서 미소핵 측정을 실시하였다. 시험관내에서 실험적으로 방사선을 조사한 림프구를 대상으로 도출된 최적 선량-반응식에 각 지역 소에서 측정된 미소핵 빈도를 적용하여 추정 선량을 파악하였다. 원전 주변 사육 소와 대조지역 사육 소의 미소핵 발생은 각각 1,000개의 세포질분열 차단 림프구 당 9.87개 및 9.60개였다. 원전 주변 사육 소와 대조지역 사육 소의 혈액수치 및 미소핵의 발생에서 유의성 있는 차이가 없어, 본 연구에서의 결과는 원자력발전소와 대조지역의 방사선 관련 유해성은 차이가 없는 것으로 생각된다. 세포질분열 차단 림프구의 미소핵 측정법은 동물을 대상으로 방사선 피폭 유무를 파악하는, 빠르고 간편한 방법으로 적용 가능하다고 사료된다.

## 참고문헌

1. Almassy, Z., Krepinsky, A. B., Bianci, A. and Koteles, G. J. The present state and perspectives of micronucleus assay in radiation protection. A review. *Appl. Radiat. Isot.* 1987, **38**, 241-249.

2. **Backer, L. C., Grindem, C. B., Corbett, W. T., Cullins, L. and Hunter, J. L.** Pet dogs as sentinels for environmental contamination. *Sci. Total Environ.* 2001, **274**, 161-169.
3. **Brewen, J. G., Preston, R. J. and Littlefield, L. G.** Radiation-induced human chromosome aberration yields following an accidental whole-body exposure to <sup>60</sup>Co gamma-rays. *Radiat. Res.* 1972, **49**, 647-656.
4. **Catena, C., Asprea, L., Carta, S., Tortora, G., Conti, D., Parasacchi, P. and Righi, E.** Dose-response of X-irradiated human and equine lymphocytes. *Mutat. Res.* 1997, **373**, 9-16.
5. **Chung, H. W., Kim, S. Y., Sohn, E. H. and Ha, S. W.** Analysis of chromosome aberrations in nuclear-power-plant workers considering the lifetime of lymphocytes. *Int. J. Radiat. Biol.* 2000, **76**, 923-927.
6. **Di Bernardino, D., Ramunno, L., Jovino, V., Pacelli, C., Lioi, M. B., Scarfi, M. R. and Burguete, I.** Spontaneous rate of sister chromatid exchanges (SCEs) in mitotic chromosomes of sheep (*Ovis aries* L.) and comparison with cattle (*Bos taurus* L.), goat (*Capra hircus* L.) and river buffalo (*Bubalus bubalis* L.). *Hereditas.* 1997, **127**, 231-238.
7. **Fieldner, T. M., Nothdurft, W. and Steinbach, K. H.** Blood cell changes after radiation exposure as an indicator for hemopoietic stem cell function. *Bone Marrow Trans.* 1988, **3**, 77-84
8. **Flores, M. J., Pinero, J., Ortiz, T., Pastor, N., Mateos, J. C. and Cortes, F.** Both bovine and rabbit lymphocytes conditioned with hydrogen peroxide show an adaptive response to radiation damage. *Mutat. Res.* 1996, **372**, 9-15.
9. **He, J. L., Jin, H. Y., Jin, L. F. and Gao, S. Y.** Monitoring of human exposure to radiation with the binucleated lymphocyte micronucleus assay. *Biomed. Environ. Sci.* 2000, **13**, 32-36.
10. **IAEA.** Biological Dosimetry: Chromosomal Aberration Analysis for Dose Assessment, Technical Report 260. IAEA publications, Vienna, 1986.
11. **IAEA.** Biological Dosimetry with Particular Reference to Chromosome Aberration Analysis. A Review of Methods. IAEA publications, Vienna, 1969.
12. **Ishihara, T. and Sasaki, M.** Radiation-induced chromosome damage in man. Alan R. Liss, Inc, New York, 1983, 561-583.
13. **Kim, S. H.** Relationships between radiation-induced prostaglandin E2 and natural killer cell activity in mice. *Kor. J. Vet. Res.* 1987, **27**, 185-189.
14. **Kim, S. H., Cho, C. K., Kim, T. H., Yoo, S. Y., Koh, K. H. and Yun, H. G.** Frequency of micronuclei in lymphocytes following gamma and fast-neutron irradiations. *Anticancer Res.* 1993, **13**, 1587-1592.
15. **Kim, S. H., Han, D. U., Lim, J. T., Jo, S. K. and Kim, T. H.** Induction of micronuclei in human, goat, rabbit peripheral blood lymphocytes and mouse splenic lymphocytes irradiated in vitro with gamma radiation. *Mutat. Res.* 1997, **393**, 207-214.
16. **Muirhead, C. R., Boice, J. D. Jr., Raddatz, C. T. and Yoder, R. C.** Comparison of dose histories for U. S. nuclear power plant workers, based on records held by a major dosimetry service company and on the NRC REIRS database. *Health Phys.* 1996, **70**, 645-650.
17. **Müller, W.-U. and Streffer, C.** Biological indicators for radiation damage. *Int. J. Radiat. Biol.* 1991, **59**, 863-873.
18. **Pantelias, G. E. and Maillie, H. D.** The use of peripheral blood mononuclear cell prematurely condensed chromosomes for biological dosimetry. *Radiat. Res.* 1984, **99**, 140-150.
19. **Peace, B. E. and Succop, P.** Spontaneous micronucleus frequency and age: what are normal values? *Mutat. Res.* 1999, **425**, 225-230.
20. **Potten, C. S., Geng, L. and Taylor, P.** Hair medullary cell counts: a simple and sensitive indicator of radiation exposure. *Int. J. Radiat. Biol.* 1990, **57**, 13-21.
21. **Ramalho, A., Sunjevaric, I. and Natarajan, A. T.** Use of frequencies of micronuclei as quantitative indicators of X-ray-induced chromosome aberrations in human peripheral blood lymphocytes: comparison of two methods. *Mutat. Res.* 1988, **207**, 141-146.
22. **Ramalho, A. J., Nascimento, A. C. H. and Natarajan, A. T.** Dose assessments by cytogenetic analysis in the Goiania(Brasil) radiation accident. *Radiat. Protect. Dosimetry.* 1988, **25**, 97-100.
23. **Scarfi, M. R., Lioi, M. B., Di Bernardino, D., Zeni, O., Coviello, A. M. and Matassino, D.** Measurement of micronuclei by cytokinesis-block method in bovine lymphocytes. *Mutat. Res.* 1993, **289**, 291-295.
24. **Sheiner, E. K., Sheiner, E., Hammel, R. D., Potashnik, G. and Carel, R.** Effect of occupational exposures on

- male fertility: literature review. *Ind. Health.* 2003, **41**, 55-62.
25. **Shliakhtenok, A. S.** Dynamics of <sup>134</sup> + <sup>137</sup>Cs accumulation in insects inhabiting the 30-kilometer zone of Chernobyl Nuclear Power Station. *Radiats. Biol. Radioecol.* 2003, **43**, 93-96.
  26. **Spirin, E. V.** Reconstruction of I-131 in milk and exposure doses to the thyroid gland of cattle after the Chernobyl AES. *Radiats. Biol. Radioecol.* 2002, **42**, 564-568.
  27. **Straube, E., Straube, W. and Romer, T.** Does occupational nuclear power plant radiation affect conception and pregnancy? *Early Pregnancy.* 1995, **1**, 130-133.
  28. **Sutiakova, I., Sulik, E., Rimkova, S., Sakalikova, A. and Sutiak, V.** Micronucleus frequency in cytokinesis-blocked bovine lymphocytes from regions with different pollution levels in Slovakia. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2001, **66**, 449-455.
  29. **Tempel, K.** Chernobyl and its consequences—some veterinary medical points of view. *Tierarztl. Prax. Ausg. G. Grosstiere. Nutztiere.* 1997, **25**, 401-405.
  30. **Thierens, H., Vral, A., Barbe, M., Aousalah, B. and De Ridder, L.** A cytogenetic study of nuclear power plant workers using the micronucleus-centromere assay. *Mutat. Res.* 1999, **445**, 105-111.
  31. **Thierens, H., Vral, A., Barbe, M., Meijlaers, M., Baeyens, A. and Ridder, L. D.** Chromosomal radiosensitivity study of temporary nuclear workers and the support of the adaptive response induced by occupational exposure. *Int. J. Radiat. Biol.* 2002, **78**, 1117-1126.
  32. **Thierens, H., Vral, A., Morthier, R., Aousalah, B. and De Ridder, L.** Cytogenetic monitoring of hospital workers occupationally exposed to ionizing radiation using the micronucleus centromere assay. *Mutagenesis.* 2000, **15**, 245-249.
  33. **Thomson, E. J. and Perry, P. E.** The identification of micronucleated chromosomes: a possible assay for aneuploid. *Mutagenesis.* 1988, **3**, 415-418.