

## 림프구의 미소핵을 지표로 영광 원자력발전소 주변 사육 돼지의 방사선 생물학적 평가

김세라 · 강창모\* · 김성호<sup>1</sup>

전남대학교 수의과대학

\*원자력의학원

### Radiobiological Evaluation in Pig Bred in the Vicinity of Yeonggwang Nuclear Power Station Using Micronuclei in Cytokinesis-blocked Lymphocyte

Se-ra Kim, Chang-mo Kang\* and Sung-ho Kim<sup>1</sup>

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University

\*Korea Institute of Radiological & Medical Science

**Abstract :** Cytogenetic and hematological analysis was performed in peripheral blood of pig in the vicinity of Yeonggwang nuclear power station and control area. The frequency of micronuclei (MN) in peripheral blood lymphocytes from pig 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 swine lymphocytes exposed *in vitro* to radiation over the range from 0 Gy to 4 Gy. MN rates in lymphocytes of pig from Yeonggwang nuclear power station and control area were 10.60/1,000 and 11.10/1,000, respectively. There were no significant differences in MN frequencies and hematological values in pig between Yeonggwang and control area. The study indicates that the MN assay in lymphocyte of pig is a rapid, sensitive and accurate method that can be used to monitor a large population exposed to radiation.

**Key words :** micronuclei, pig, lymphocyte, radiation, nuclear power station.

## 서 론

방사선의 생물학적 선량측정은 동물체에서 방사선에 의해 유도되는 변화를 측정하여 방사선의 피폭량을 파악하는 것이다. 방사선 피폭의 선량측정은 직업적, 질병치료시 또는 불의의 사고에 의한 방사선 피폭의 경우 가장 기본적으로 요구되는 사항이다. 대부분의 경우 방사선의 선량측정은 film, quartz fibril electrometer, glass rod dosimeter 등의 개인용 계측기를 사용한 물리적 측정이 주로 이루어진다. 그러나 이와 같은 측정방법은 계측기 자체에 대한 방사선 조사량의 측정일 뿐 작업종사자 또는 피폭자가 받은 방사선량의 표시는 아니며 특히, 선량측정에 많은 한계가 있다. 따라서 이와 같은 단점을 극복할 수 있는 방법은 피폭된 개체 자체에 대한 생물학적 선량측정이며, 피폭시 물리적 계측기가 없는 경우, 또는 부분피폭의 상태에서는 생물학적 선량측정의 중요성은 한층 더 강조된다<sup>5,26</sup>.

방사선 오염 유무판단에 가장 많이 적용되는 생물학적 선량측정은 혈액내 림프구의 수적 변동이며<sup>7</sup> 이외 dicentric 과 centric ring 의 계측을 중심으로 한 염색체 분석법이 몇몇

방사선 사고시 적용 측정되었다<sup>4,6,11,12,22</sup>. 그러나 혈액세포의 수적 변화는 원줄기세포(stem cell) 및 세포성숙제로부터의 이용 가능 정도, 시간경과 후의 세포사멸에 의한 수적 소실의 비율, 비장과 같은 혈액보유장기 상태 등의 변화에 따른 혈구수치의 차이로 인한 해석상의 문제점이 있고<sup>7</sup> 염색체분석법은 재료의 제작 및 분석에 많은 시간과 노력이 있어야 하고, 또한 상당한 수준의 숙련된 기술이 있어야 할 수 있다는 단점이 있다<sup>11,19</sup>. 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 검정 시험에 많이 적용되고 있다<sup>1,8,10,14,19,21,32</sup>.

동물은 주위 환경에 존재하는 여러 가지 유해물질에 영향을 받는다. 방사선을 비롯한 물리적 유전장해 유발물질 및 농약 등의 화학적 유전장해 유발물질에 의해 돌연변이, 대사장해, 생식이상, 면역저하 등의 증상을 일으킬 수 있다. 특히 애완동물을 비롯한 가축은 인간의 생활환경을 공유한다는 관점에서 대상 자체의 장해뿐만 아니라 인간에 대한 유해인자의 작용을 대변할 수 있어 주위 환경의 유해성 평가 분야에서 매우 중요하다<sup>2,28</sup>.

본 연구에서는 돼지를 대상으로 혈액수치 및 세포질 분열 차단 림프구에서 발생된 미소핵을 측정하여 영광원자력발전

<sup>1</sup>Corresponding author.  
E-mail : shokim@chonnam.ac.kr

소와 대조지역의 차이를 관찰하였으며 미소핵 발생 정도를 시험적으로 산출된 방사선 피폭 선량-반응 곡선식에 적용하여 추정선량을 파악하였다.

**재료 및 방법**

**혈액 수치 관찰**

실험대상 돼지의 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 돼지 말초혈액을 사용하였고, 영광원자력발전소 인근 5 km 이내 사육 농가의 돼지(Landrace, 3개월령) 및 전남 대조 지역 사육 돼지(3개월령) 각 10두의 혈액을 채취하여 원전 지역 사육 돼지 실험군과 대조지역 사육 돼지 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 5×10<sup>5</sup>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**

분리된 림프구는 멸균된 polystyrene tube (Falcon, Becton Dickinson)에 분주하여 PHA첨가 직전에 0, 1, 2, 4 Gy의 <sup>60</sup>Co 감마선을 1000 cGy/min의 선량율로 1회 조사 (Gammacell 3000 Elan, Nordion International Co., Canada) 하였다.

**Cytokinesis-blocked method**

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

**미소핵의 검경**

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

**결 과**

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

예비실험에서 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 동일하였다. 위의 조건에서 배양된 림프구에서 이핵 림프구는 약 22%였다.

시험적 방사선 조사에 따른 미소핵의 발생 양상은 Table 2 및 Table 3과 같으며 방사선조사에 따라 linear-quadratic model을 적용하여 얻은 곡선식은  $y = 0.0183D + 0.0124D^2 + 0.0133$  ( $y = CB$  세포당 MN의 수,  $D =$  방사선 조사량 Gy)였다.

영광원전 주변과 대조지역 사육 돼지의 미소핵 발생은 1,000개의 세포질분열차단림프구 당 각각 평균 10.60개 및 11.10개였으며, 대상 돼지의 모든 개체에서 세포 당 2개 이상의 미소핵을 가진 경우는 없었다 (Table 4). 조사 대상 돼지의 미소핵 발생빈도를 시험적 방사선 조사 후 얻은 방사

**Table 1.** Hematological values in pig of Yeonggwang nuclear power station and control region

Test	Unit	Control region	Yeonggwang region
Erythrocytes	M/ul	7.44±0.18	7.29±1.34
Hemoglobin	g/dL	11.40±0.27	11.02±0.69
Hematocrit	%	38.47±1.65	39.97±6.63
Thrombocytes	K/ul	246.00±70.89	243.80±76.04
Leukocytes	K/ul	14.77±1.30	15.29±3.56
Neutrophils	K/ul	6.25±0.96	5.46±1.08
Lymphocytes	K/ul	8.18±0.45	10.02±2.50
Monocytes	K/ul	0.18±0.13	0.25±0.18
Eosinophils	K/ul	0.12±0.04	0.23±0.12
Basophils	K/ul	0.05±0.04	0.13±0.06

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

Experimental group	No. of cells without MN	Number of MN per cell				Total number of MN
		1	2	3	4	
donor 1						
0 cGy	495	5				5
100 cGy	474	22	4			30
200 cGy	462	32	6			44
400 cGy	393	80	22	4	1	140
donor 2						
0 cGy	493	7				7
100 cGy	479	19	2			23
200 cGy	459	34	6	1		49
400 cGy	392	79	23	6		143
donor 3						
0 cGy	495	5				5
100 cGy	476	21	3			27
200 cGy	461	32	7			46
400 cGy	390	79	25	6		147

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

Dose (cGy)	micronuclei per CB cell (M±SD)
0	0.013±0.002
100	0.053±0.007
200	0.093±0.005
400	0.287±0.007

**Table 4.** Micronucleus frequency in binucleated cells of swine lymphocytes from Yeonggwang nuclear power station and control region

Subject	Number of MN per 1,000 CB cells	
	Control region	Yeonggwang region
1	16	8
2	7	16
3	14	15
4	12	4
5	8	7
6	15	13
7	11	14
8	7	4
9	8	9
10	13	16
Mean±S.D.	11.10±3.41	10.60±4.77

선량-반응식에 대입하여 추정선량을 파악하기 위하여,  $y = aD + bD^2 + C$ 를  $D = [-a \pm \sqrt{a^2 - 4b(C - y)}] \div 2b$ 로 전환하고 위의 식을 근거로 세포 당 미소핵의 수를 대입한 바 추정선량은 선량-반응식 도출을 위한 돼지에서 방사선 비조사군의 발생을 보다 낮았으며, 강제적 추정선량은 영광원전 지역 사육돼지에서 -16.63 cGy, 대조지역 사육돼지에서 -13.21 cGy였다.

## 고 찰

원자력발전소를 대상으로 방사선 생물학적 선량 측정은 주로 시설 종사자를 대상으로 시행되었고<sup>6,18,27,31,33</sup>, 염색체분석법을 대신하여 최근 세포질분열 차단 림프구의 미소핵 발생을 지표로 하고 있다<sup>31,33</sup>. 동물 유래 세포를 이용한 방사선 피폭의 생물학적 측정은 과거 염색체의 이상유무 및 동물종간의 감수성 차이가 조사되었으며<sup>13</sup>, 최근 간편한 미소핵 발생에 관한 연구가 진행되면서 두 가지 세포유전학적 분석간의 차이 점 등이 알려지고 있다<sup>5,14,21</sup>. 원전 주변 동물을 대상으로 한 연구는 체르노빌 원전 사고 후 방사성 물질의 내부 오염에 대한 장기 별 방사능 물질의 추적 및 유증내 방사성 물질의 유무를 파악하는 조사 연구가 주를 이루고 있다<sup>24,25,30</sup>.

방사선 피폭에 대한 생물학적 선량측정 방법으로 세포유전학적 분석법인 미소핵검사시 림프구를 주로 사용하는데, 이는 비교적 수명이 길고, 정상상태에서는 분열하지 않으며 표본의 채취가 용이하기 때문이다<sup>4,11,12,22</sup>. 또한 기존의 염색체 분석법에 비하여 미소핵검사는 염색체 검사에 관한 특별

한 숙련이나 기술 없이도 분석이 비교적 쉬우며 단기간에 수행될 수 있다. 특히 세포질분열 차단 림프구의 사용에 따라 방사선생물학 분야의 연구가 더욱 용이하게 되었다<sup>1,10,21,23,32</sup>. 미소핵은 전리방사선의 직접효과 또는 free radicals에 의한 염색체의 무중심절분절(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<sup>1,10,21,34</sup>.

돼지는 중부동원체(metacentric)형의 염색체를 가진 동물로서 핵 및 DNA의 양이 인체와 유사한 것으로 알려져 있다<sup>13</sup>. 돼지 유래 세포에서 미소핵의 측정은 모두 미성숙적혈구에서 형성된 미소핵을 관찰하는 방법을 적용한 연구<sup>17,35,36</sup>로서 세포질 분열차단 림프구에서의 관찰은 전무하다. 본 연구는 영광원전 주변 사육 돼지의 림프구 미소핵 발생을 지표로 한 방사선 피폭 가능성 판별을 위한 세포유전학적 보고로서, 원전 주변 사육 돼지와 대조 지역 사육 돼지에서 비슷한 혈액 수치 및 미소핵 발생 수치를 나타냄으로써 원전에 의한 주변 사육 돼지의 방사선 생물학적 유해성은 없는 것으로 평가되었다. 가축 유래 세포를 사용한 연구에서는 대상 가축의 연령이 중요하며<sup>20</sup> 특히 환경적 유해요인의 평가에서 유해인자의 저농도 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.

사람 및 기타 동물 유래 림프구에서 방사선에 대한 감수성의 비교는 염색체이상 관찰 연구가 보고되어있으며 동물 종간의 감수성 차이는 림프구 동태(lymphocyte kinetics), 핵의 용량, DNA의 양, 염색체 수 또는 염색체팔 수(arm number) 등이 관계된다는 가설<sup>3,9,15,29</sup>이 제시되었으나 확실한 결론적 근거는 밝혀지지 않았다. 염색체 이상 또는 미소핵 형성 시험에 있어서 장애의 판별은 DNA 손상의 지표와 함께 세포의 생존율을 동시에 관찰하는 것이 필요하다는 주장이 제시되었으며, 방사선에 의한 세포의 사멸에 따른 동물별 세포생존율의 차이 등의 요인이 관계된다는 보고가 있어 미소핵 측정은 염색체 이상의 결과에서 산출된 동물 별 방사선 감수성을 그대로 적용할 수는 없고 각 동물에 대한 직접적인 림프구 미소핵의 조사 연구가 필요하다고 하였다<sup>5</sup>. 애완동물이나 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

영광원자력발전소 주변과 대조지역에서 사육된 돼지의 말초혈액을 이용하여 혈액학적 분석 및 세포유전학적 분석을 실시하였다. 환경방사선 노출에 대한 지표로서 각 지역 돼지의 림프구를 대상으로 세포질분열 차단세포를 유도하고 이들 세포에서 미소핵 측정을 실시하였다. 시험관내에서 실험

적으로 방사선을 조사한 림프구를 대상으로 도출된 최적 선량-반응식에 각 지역 돼지에서 측정된 미소핵 빈도를 적용하여 추정 선량을 파악하였다. 원전 주변 사육 돼지와 대조지역 사육 돼지의 미소핵 발생은 각각 1,000개의 세포질분열 차단 림프구 당 10.60개 및 11.10개 였다. 원전 주변 사육 돼지와 대조지역 사육 돼지의 혈액수치 및 미소핵의 발생에서 유의성 있는 차이가 없어, 본 연구에서의 결과는 원자력 발전소와 대조지역의 방사선 관련 유해성은 차이가 없는 것으로 생각된다. 돼지의 세포질분열 차단 림프구의 미소핵 측정법은 동물을 대상으로 방사선 피폭 유무를 파악하는, 빠르고 간편한 방법으로 적용 가능하다고 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 과학기술부 원자력연구개발사업의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

1. Almasy Z, Krepinsky AB, Bianci A, Koteles GJ. The present state and perspectives of micronucleus assay in radiation protection. A review. *Appl Radiat Isot* 1987; 38: 241-249.
2. Backer LC, Grindem CB, Corbett WT, Cullins L, Hunter JL. Pet dogs as sentinels for environmental contamination. *Sci Total Environ* 2001; 274: 161-169.
3. Brewen JG, Preston RJ, Jones KP, Gosslee DG. Genetic hazards of ionizing radiations: cytogenetic extrapolations from mouse to man. *Mutat Res* 1973; 17: 245-254.
4. Brewen JG, Preston RJ, Littlefield LG. 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.
5. Catena C, Asprea L, Carta S, Tortora G, Conti D, Parasacchi P, Righi E. Dose-response of X-irradiated human and equine lymphocytes. *Mutat Res* 1997; 373: 9-16.
6. Chung HW, Kim SY, Sohn EH, Ha SW. Analysis of chromosome aberrations in nuclear-power-plant workers considering the lifetime of lymphocytes. *Int J Radiat Biol* 2000; 76: 923-927.
7. Fieldner TM, Nothdurft W, Steinbach KH. Blood cell changes after radiation exposure as an indicator for hemopoietic stem cell function. *Bone Marrow Trans* 1988; 3: 77-84.
8. Flores MJ, Pinero J, Ortiz T, Pastor N, Mateos JC, 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. Griffin CS, Scott D, Papworth DG. The influence of DNA content and nuclear volume on the frequency of radiation-induced chromosome aberrations in *Bufo* species. *Chromosoma* 1970; 30: 228-230.
10. He JL, Jin HY, Jin LF, Gao SY. Monitoring of human exposure to radiation with the binucleated lymphocyte micronucleus assay. *Biomed Environ Sci* 2000; 13: 32-36.
11. IAEA. Biological dosimetry : chromosomal aberration analysis for dose assessment, Technical report 260. Vienna: IAEA publications. 1986.

12. IAEA. Biological dosimetry with particular reference to chromosome aberration analysis. A review of methods. Vienna:IAEA-SM-199/4, Vienna: IAEA publications. 1969.
13. Ishihara T, Sasaki M. Radiation-induced chromosome damage in man. New York: Alan R. Liss. 1983: 561-583.
14. Kim SH, Han DU, Lim JT, Jo SK, Kim TH. 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.
15. Leonard A, Gerber GB, Papworth DG, Decat G, Leonard ED, Deknudt G. The radiosensitivities of lymphocytes from pig, sheep, goat and cow. *Mutat Res* 1976; 36: 319-332.
16. Lloyd DC. An overview of radiation dosimetry by conventional cytogenetic method. Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo: Sprinr-Verlag. 1984: 3-13.
17. Ludewig E, Koch F, Kamprad F, Melzer R. The micronucleus test in pigs: induction of micronuclei in polychromatic erythrocytes by various doses of X-rays. *Mutat Res* 1991; 249: 1-6.
18. Muirhead CR, Boice JD Jr, Raddatz CT, Yoder RC. 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.
19. Muller W-U, Streffer C. Biological indicators for radiation damage. *Int J Radiat Biol* 1991; 59: 863-873.
20. Peace BE, Succop P. Spontaneous micronucleus frequency and age: what are normal values? *Mutat Res* 1999; 425: 225-230.
21. Ramalho A, Sunjevaric I, Natarajan AT. 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 AJ, Nascimento ACH, Natarajan AT. Dose assessments by cytogenetic analysis in the Goiania(Brasil) radiation accident. *Radiat Protect Dosimetry* 1988; 25: 97-100.
23. Scarfi MR, Lioi MB, Di Berardino D, Zeni O, Coviello AM, Matassino D. Measurement of micronuclei by cytokinesis-block method in bovine lymphocytes. *Mutat Res* 1993; 289: 291-295.
24. Shliakhtenok AS. Dynamics of  $^{134}\text{Cs}$  +  $^{137}\text{Cs}$  accumulation in insects inhabiting the 30-kilometer zone of Chernobyl Nuclear Power Station. *Radiats Biol Radioecol* 2003; 43: 93-96.
25. Spirin EV. 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.
26. Stenphan G, Hadnagy W, Hammermaier C, Imhof U. Biologically and physiologically recorded doses after an accidental exposure to  $^{60}\text{Co}$  gamma-rays. *Health Phys* 1983; 44: 409-411.
27. Straube E, Straube W, 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, 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. Tamura H, Sakurai M, Sugahara T. Chromosome aberrations of the peripheral lymphocytes in rabbits exposed to single and fractionated whole-body X-irradiations. *J Radiat Res* 1978; 19: 108-114.
30. Tempel K. Chernobyl and its consequences-some veterinary medical points of view. *Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere* 1997; 25: 401-405.
31. Thierens H, Vral A, Barbe M, Aousalah B, De Ridder L. A cytogenetic study of nuclear power plant workers using the micronucleus-centromere assay. *Mutat Res* 1999; 445: 105-111.
32. Thierens H, Vral A, Morthier R, Aousalah B, De Ridder L. Cytogenetic monitoring of hospital workers occupationally exposed to ionizing radiation using the micronucleus centromere assay. *Mutagenesis* 2000; 15: 245-249.
33. Thierens H, Vral A, Barbe M, Meijlaers M, Baeyens A, Ridder LD. 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.
34. Thomson EJ, Perry PE. The identification of micronucleated chromosomes: a possible assay for aneuploid. *Mutagenesis* 1988; 3: 415-418.
35. Zuniga G, Torres-Bugarin O, Ramirez-Munoz MP, Ramos A, Fanti-Rodriguez E, Portilla E, Garcia-Martinez D, Cantu JM, Gallegos-Arreola MP, Sanchez-Corona J. Spontaneous micronuclei in peripheral blood erythrocytes from 35 mammalian species. *Mutat Res* 1996; 369: 123-127.
36. Zuniga-Gonzalez G, Torres-Bugarin O, Zamora-Perez A, Gomez-Meda BC, Ramos-Ibarra ML, Martinez-Gonzalez S, Gonzalez-Rodriguez A, Luna-Aguirre J, Ramos-Mora A, Ontiveros-Lira D, Gallegos-Arreola MP. Differences in the number of micronucleated erythrocytes among young and adult animals including humans. Spontaneous micronuclei in 43 species. *Mutat Res* 2001; 494: 161-167.