

УДК 636.4.082:612.12:577.34

Джус П. П., аспірант, Костенко С. О., к.б.н., доц., Сидоренко О. В., аспірант,
(swetakostenko@mail.ru) ©

Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ

ЦИТОГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ СВИНЕЙ, ЯКИХ УТРИМУЮТЬ В РІЗНИХ РАДІОЕКОЛОГІЧНИХ УМОВАХ

Проведено цитогенетичний аналіз свиноматок, що відтворюються в різних радіоекологічних умовах. Встановлено підвищення частоти лімфоцитів з мікроядрами ($7,51 \pm 0,66$ ‰) у тварин при дії хронічного низькодозового опромінення порівняно із тваринами з радіоекологічно благополучних районів ($2,5 \pm 0,29$ ‰) утримання. За спектром хромосомних аберацій у свиноматок, які відтворюються на територіях з підвищеним радіаційним фоном відмічено значний відсоток анеуплоїдних клітин ($18,55 \pm 3,39$ ‰). Встановлено тісний кореляційний зв'язок ($r=0,85$) між частотою клітин з мікроядрами та відсотком анеуплоїдії у тварин при хронічному низькодозовому опроміненні. Виявлено статистично вірогідний вплив радіаційного фону території утримання свиноматок на частоту клітин з мікроядрами та відсоток анеуплоїдних клітин.

Ключові слова: свиня свійська, мікроядра, анеуплоїдія, низькодозове іонізуюче опромінення.

Вступ. Після аварії на ЧАЕС на значних територіях України склалися несприятливі радіоекологічні умови. У зонах з підвищеним радіаційним фоном досить часто розміщені господарства інтенсивної відгодівлі свиней, тому актуальним є прогноз наслідків впливу хронічного низькодозового опромінення на популяції даного виду сільськогосподарських тварин. Швидка зміна поколінь, багатоплідність і вивченість геному робить свиню свійську вдалим модельним об'єктом для такого роду досліджень.

За рахунок генетичної гетерогенності, яка притаманна свиням, та характеру їх утримання групами різної чисельності, генетичні процеси, що в них відбуваються, можна розглядати як процеси на рівні популяції. Результати, одержані в ході комплексного цитогенетичного скринінгу свиней, можна екстраполювати на популяції інших видів ссавців, в тому числі і людей, за рахунок анатомічної та функціональної подібності свиней до людини.

Тому метою нашої роботи був порівняльний аналіз цитогенетичних параметрів свиноматок, що утримуються в різних радіоекологічних умовах.

Матеріали та методи дослідження. Досліджували тварин господарства ТОВ «Шплі» с. Шпилі Іванківського району Київської області та ТОВ «Луговське» с. Александропіль Дніпропетровської області. Перше господарство знаходиться в зоні дії хронічного низькодозового іонізуючого опромінення. За даними ветеринарної служби Іванківського району загальний радіаційний фон

території становить 96 мікроренген на годину (мкР/год), що перевищує загальний фон по Україні у 7-9 разів. Радіаційний фон у Дніпропетровській області не перевищує 20 мкР/год.

Периферійну кров відбирали з вушної вени тварин одного віку (15-16 місяців) з дотриманням максимальних умов стерильності. В результаті такого вибору до групи досліджуваних тварин увійшло 15 свиноматок господарства ТОВ «Шпилі» та 10 – ТОВ «Лугоське».

Цитогенетичні препарати готували за методикою А.Ф. Яковлева [1]. При мікроскопії визначали частоти лімфоцитів з мікроядрами (МЯ), двоядерних (ДЯ) і апоптозних (АП) клітин та мітотичний індекс (МІ). Підрахунок здійснювали на 1000 клітин. Від кожної тварини аналізували не менше 3000 клітин. При дослідженні метафазних пластинок встановлювали відсоток хромосомних та хроматидних розривів, а також відсоток клітин з анеуплоїдією ($AI=2n\pm 2$), поліплоїдією (ПП) та асинхронним розщепленням центромірних районів хромосом (АРЦРХ). У кожній тварини аналізували не менше 30 метафаз. Для дослідження цитогенетичних препаратів тимчасових культур лімфоцитів використовували біокулярний мікроскоп Carl Zeiss. Аналіз каріотипу здійснювали при збільшенні мікроскопа у 1000 разів.

Результати дослідження та їх обговорення. Частоти клітин з мікроядрами та структурними і числовими порушеннями хромосом використовують в якості цитогенетичних індикаторів радіаційного впливу на організм [4].

Результати цитогенетичного аналізу свиноматок представлені на гістограмі рис.1.

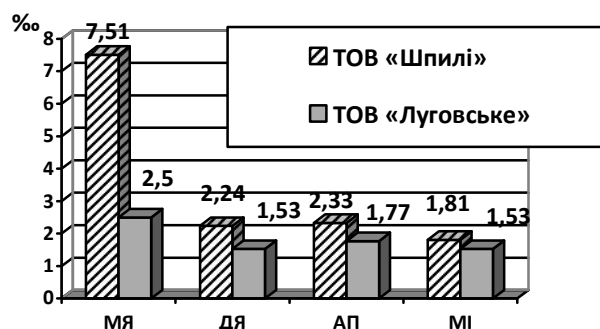


Рис. 1. Цитогенетичні показники свиноматок (на 1000 клітин, ‰)

У ході проведених досліджень у свиноматок господарства ТОВ «Шпилі» виявлено значну індивідуальну варіабельність за частотою лімфоцитів з мікроядрами. Загальний розмах значень даного показника коливався від $4\pm 0,57$ ‰ до $12,33\pm 2,18$ ‰, що пов'язано з індивідуальними особливостями організму окремих тварин при ідентичній радіаційній дії. Середнє значення частот клітин з мікроядрами по групі досліджуваних тварин становило $7,51\pm 0,66$ ‰. Це перевищує верхню межу параметрів умовного контролю за кількістю клітин з мікроядрами для ссавців, яка складає 5,6 ‰ [2] і статистично достовірно вище

(при $P > 0,999$), ніж у свиноматок з Дніпропетровської області, частота лімфоцитів з мікроядрами у яких становила $2,5 \pm 0,29$ ‰. У тварин з Київської області дещо вищими були також показники частот двоядерних лімфоцитів ($2,24 \pm 0,27$ ‰) і апоптозних клітин ($2,33 \pm 0,22$ ‰) порівняно з аналогічними показниками свиноматок з Дніпропетровської області, що дорівнювали $1,5 \pm 0,14$ ‰ та $1,77 \pm 0,16$ ‰ відповідно. Значення мітотичного індексу у двох досліджуваних груп тварин було досить низьким – $1,81 \pm 0,68$ ‰ (у свиноматок ТОВ «Шпилі») і $1,53 \pm 0,49$ ‰ (у свиноматок ТОВ «Луговське»). Це можна пояснити однаковим сезоном відбору крові (осінь), в який спостерігається зниження мітотичної активності клітин.

При аналізі метафазних пластинок було виявлено наступний спектр геномних та хромосомних порушень. Процентне вираження одержаних результатів наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

Результати аналізу метафазних пластинок свиней, (%)

Місце утримання	Анеуплодія	Поліплоїдія	АРЦРХ	Хроматид розрив	Хром. фрагмент
ТОВ «Шпилі» Київської обл.	$18,55 \pm 3,39^*$	$2,98 \pm 1,75$	$2,89 \pm 0,03$	$5,69 \pm 0,12$	$1,32 \pm 0,02$
ТОВ «Луговське» Дніпропетровської обл.	$4,52 \pm 0,03^*$	-	$1,34 \pm 0,02$	-	-

* $P > 0,999$

Як свідчать дані, відображені в таблиці 1, у свиноматок, що утримуються на території з підвищеним радіаційним фоном значним був відсоток анеуплоїдних клітин. Лімфоцити з анеуплоїдією типу $2n \pm 2$ зустрічалися з частотою $18,55 \pm 3,39$ ‰. Це статистично достовірно вище (при $P > 0,999$), ніж у тварин з радіоекологічно благополучної території утримання, відсоток анеуплоїдних клітин у яких становив $4,52 \pm 0,03$ ‰. За даними С.Т. Джепарідзе, у свиней рівень анеуплоїдії в клітинах крові в нормі не перевищує 5,4-6,2 ‰. З віком відсоток анеуплоїдних клітин може підвищуватися до 19,4% [3]. Оскільки досліджувані тварини були молодими за віком, то хронічне низькодозове опромінення, при якому утримуються свиноматки господарства ТОВ «Шпилі», можна вважати основним детермінуючим фактором кількісних змін їх каріотипу по типу анеуплоїдії.

Досить часто наслідком анеуплоїдії є мікроядра. Тому для встановлення зв'язку між частотою виникнення мікроядер та анеуплоїдією було проведено кореляційний аналіз. Кореляційний аналіз свідчить про пряму залежність між частотою лімфоцитів з мікроядрами та відсотком анеуплоїдних клітин. Для свиноматок ТОВ «Шпилі» значення коефіцієнту кореляції становило $r = 0,85$, для тварин з ТОВ «Луговське» $r = 0,62$. Тобто підвищення частоти утворення мікроядер у тварин з радіоекологічно забрудненої території зумовлено втратами хромосом.

За даними Нечипоренко рівень поліплоїдії в нормі не перевищує 3 ‰. В результаті проведеного нами цитогенетичного аналізу у свиноматок господарства ТОВ «Шпилі» відсоток поліплоїдних клітин дорівнював

2,98±1,75, що практично збігається з результатами інших авторів [3]. У тварин, які утримуються в Дніпропетровській області, не виявлено поліплоїдних клітин та метафазних пластинок з хромосомними абераціями.

Асинхронність розходження центромірних районів хромосом відображає особливості організації перицентромерного гетерохроматину хромосом та функціонування веретена поділу. В ході наших досліджень у свиноматок господарства ТОВ «Шпилі» виявлено збільшення частоти АРЦРХ (2,89±0,03 %) порівняно з аналогічним показником у тварин ТОВ «Луговське» (1,34±0,02 %). Проте різниця статистично не підтвердилася. За даними А.В. Шельова, найвищу частоту асинхронності розходження центромірних районів спостерігали у миргородської породи свиней (4,69±0,65 %), найнижчу – у великої білої породи (2,03±0,34 %).

Для встановлення характеру впливу умов утримання свиноматок на частоту лімфоцитів з мікроядрами та відсоток анеуплоїдних клітин проведено дисперсійний аналіз. Сила впливу умов утримання на частоту виникнення мікроядер та анеуплоїдії у свиней становить 62,0 %, що статистично вірогідно при $P > 0,999$. Отже, радіаційний фон території відгодівлі свиней можна вважати визначальним фактором соматичної мінливості їх геному.

Подальші дослідження варто присвятити вивченню впливу хронічного низькодозового опромінення на репродуктивні якості тварин.

Висновки. 1. У свиноматок в умовах хронічного низькодозового опромінення спостерігається статистично достовірне підвищення частоти лімфоцитів з мікроядрами, двоядерних лімфоцитів та апоптозних клітин порівняно з тваринами з радіоекологічно благополучних територій утримання.

2. Відсоток анеуплоїдії у тварин ТОВ «Шпилі» статистично вище (18,55±3,4) порівняно із аналогічним показником свиноматок ТОВ «Луговське» (4,52±0,03). Виявлено значний прямий кореляційний зв'язок між частотою мікроядер та відсотком анеуплоїдних клітин в периферійній крові свиней.

3. Встановлено, що у свиноматок в умовах хронічного низькодозового опромінення частота метафазних пластинок з хромосомними абераціями становить в середньому 3,5±0,07 %, з поліплоїдією – 2,98±1,75 %.

4. В ході дисперсійного аналізу виявлено статистично достовірний вплив особливостей умов утримання на частоту лімфоцитів з мікроядрами та відсоток анеуплоїдії в периферійній крові свиноматок з силою впливу 62,0 %.

Література

1. Кариологический анализ свиней / Яковлев А.Ф., Бавин В.Г., Стефанова В.Н. [и др.] // Методические рекомендации. – Ленинград. – 1984. – 44 с.
2. Костенко С.О. Показники цитогенетичної мінливості *Sus scrofa* / С.О.Костенко, О.М.Коновал, О.В.Сидоренко, В.Т.Сметанін // Фактори експериментальної еволюції організмів : Зб. наук. праць. – К. : Логос. Т. 6 – 2009. – С. 149 – 154.
3. Красавцев Ю.Ф. Кариотипическая изменчивость у домашней

свиньи в связи с возрастными, половыми и другими характеристиками : автореф. дис. на соискание уч. степени канд. биол. наук : спец. 03.103 «Генетика» / Ю.Ф.Красавцев – К., 1971. – 26 с.

4. Пикалова Л. В. Применение цитогенетических методов исследования хромосом в радиологии/ Л.В. Пикалова// Молекулярная биология. – Т. 9. – 2007. – С. 160 – 168.

Робота проведена за підтримки Державного фонду фундаментальних досліджень МОН України.

Summary

CYTOGENESIS ANALYSES OF PIGS WHICH ARE GROWING UP IN THE DIFFERENT RADIOECOLOGY CIRCUMSTANCES

Cytogenesis analyses of sows which are growing up in the different radioecology circumstances bare done. Increasing of frequencies of lymphocytes with micronucleus and aneuploid cells of animals under influence of low dose ionization radiation in comparison with animals from welfare by radioecology situation districts is researched.

Clouse correlation between frequencies of cells with micronucleus and percent of aneuploid cells in the animals influence under low dose ionization radiation is defined.

Key words: *micronucleus, aneuploid cells, low dose ionization radiation, Sus scrofa*

Стаття надійшла до редакції 6.04.2010