

ВРЕМЕННАЯ ДИНАМИКА ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ АНОМАЛИЙ В КЛЕТКАХ КРОВИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В УСЛОВИЯХ РАДИОНУКЛИДНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ**Н. А. Кобозева, Т. Т. Глазко***Институт агроэкологии УААН, Киев*

Выполнен анализ частот встречаемости различных цитогенетических аномалий у групп черно-пестрого скота в разные годы исследований и в разных поколениях, воспроизводящихся в условиях повышенного уровня радионуклидного загрязнения. Получены данные о нелинейном характере частоты встречаемости лимфоцитов с микроядрами у животных в разные годы исследований и у разных поколений.

В условиях повышенного антропогенного загрязнения окружающей среды большую важность приобретает оценка влияния радионуклидного загрязнения на цитогенетическую изменчивость.

В настоящее время для оценки дестабилизации генома используется целый ряд цитогенетических характеристик, однако их использование для тестирования генотоксических эффектов затруднено тем, что механизмы их возникновения сложны и недостаточно изучены, некоторые варьируют независимо друг от друга. В этой связи ведется поиск более простых методов оценки мутагенеза с использованием микроядерных тестов различных клеточных популяций крови – одноядерных лимфоцитов и эритроцитов.

Микроядерный тест основан на определении количества клеток, находящихся в интерфазе и несущих микроядра, он широко используется для определения наличия генотоксических факторов внешней среды. Однако необходимо заметить, что возникновение микроядер может иметь двойственную природу: они могут возникать как в результате хромосомных повреждений, так и при анеуплоидии.

В зарубежных изданиях опубликован ряд работ, в которых авторы исследовали частоту встречаемости цитогенетических аномалий у млекопитающих в различные годы, а также ее сезонные колебания. Так, работы некоторых авторов содержат информацию о том, что средние частоты хромосомных aberrаций у людей в 1987 г. оказались ниже, чем в 1988 г. (имеются отличия оценок в разные годы исследований), и всегда осенью и зимой ниже, чем весной и летом, а частота сестринских хроматидных обменов в 1987 г. оказалась существенно выше, чем в 1988 г., причем зимой и весной выше, чем летом и осенью [1]. Кроме того, ряд авторов обращает внимание на то, что частота aberrантных клеток у крупного рогатого скота значительно выше в осенний период, чем в весенний (существует сезонная зависимость) [2]. Однако этот вопрос, несмотря на его важность для оценок генотоксических воздействий, в том числе и ионизирующего излучения, остается недостаточно исследованным.

В связи с этим целью нашей работы был сравнительный анализ частот встречаемости цитогенетических аномалий у черно-пестрого скота в разные годы исследований и у разных поколений, воспроизводящихся в условиях повышенного уровня радионуклидного загрязнения. Так, был выполнен цитогенетический анализ образцов крови у четырех групп животных. Образцы крови отбирали в 1987 - 1990 гг. Животные содержались в хозяйстве "Владимировка", где уровень загрязнения по цезию-137 составлял 1500 - 3700 кБк/м², стронцию-90 - 3400 - 18,5 - 100 кБк/м². Кроме того, рассмотрены частоты встречаемости различных цитогенетических аномалий и в ряду поколений животных (родительского, первого, второго и третьего), воспроизводящихся в хозяйстве "Новошепеличи", где уровень загрязнения по цезию-137 и стронцию-90 составлял около 3700 - 74000 кБк/м² (данные приводятся по Атласу Украины по радиационному загрязнению на 1998 г.).

Материалы и методы

Выполнен анализ частот встречаемости следующих цитогенетических аномалий: количество эритроцитов и одноядерных лимфоцитов с микроядрами, а также частоты встречаемости двуядерных лимфоцитов и апоптозных клеток (%) из архивной коллекции мазков крови животных хозяйства "Владимировка", собранных в 1987 - 1990 гг. (суммарно 79 животных), и в поколениях животных экспериментального хозяйства "Новошепеличи", рожденных до и после аварии на ЧАЭС (суммарно 36 животных).

Для анализа частоты встречаемости эритроцитов с микроядрами каплю периферической крови разводили физиологическим раствором (1 : 1) и готовили мазки. Мазки фиксировали метиловым спиртом и высушивали в комнатных условиях, затем окрашивали красителем Гимза. Анализ частот встречаемости двуядерных лимфоцитов и апоптозных клеток, а также лимфоцитов с микроядрами выполняли на этих же препаратах с сохраненной цитоплазмой.

Результаты и их обсуждение

Полученные данные частот встречаемости различных цитогенетических аномалий у исследованных животных представлены в табл. 1, в которой приведены следующие показатели: количество эритроцитов с микроядрами, двуядерных лимфоцитов, лимфоцитов с микроядрами и апоптозов на 1000 клеток в архивной коллекции мазков крови у черно-пестрого скота хозяйства "Владимировка", собранных в 1987 - 1990 гг.

Таблица 1

№ животного	ЭМЯ	ДЛ	ЛМЯ	А	№ животного	ЭМЯ	ДЛ	ЛМЯ	А
1987					1988				
6517	4,0	1,3	5,3	0,7	6735	5,0	3,3	7,0	1,7
4389	3,3	1,3	3,0	0,3	6736	4,3	3,0	5,3	0,3
6739	3,7	2,0	3,0	2,0	6734	5,3	2,0	7,7	1,3
4217	5,0	1,0	3,7	1,0	6737	7,0	1,3	4,0	1,3
4376	3,0	1,7	4,0	0,3	6738	5,3	5,0	7,3	1,3
4364	4,3	1,7	3,3	0,3	04518	4,0	1,3	5,0	0,3
4234	2,7	1,3	2,7	0,7	03218	4,7	1,3	4,0	0,3
6358	3,3	1,0	2,7	0,7	12718	3,7	2,3	6,7	1,3
4225	3,0	1,3	2,3	0,7	5637018	3,7	3,0	6,3	0,3
8469	2,7	1,3	1,3	2,3	9018	4,0	3,3	5,3	0,3
4220	2,7	1,0	1,7	0,7	5634018	6,0	1,7	5,3	0,7
	3,4 ± 0,2	1,4 ± 0,1	3,0 ± 0,3	0,9 ± 0,2	4253018	6,7	1,7	5,0	1,0
					564018	5,7	2,0	6,7	0,3
					4255018	7,3	4,3	7,3	1,7
					563318	5,7	3,3	7,7	0,3
					0003018	5,0	1,0	6,3	0,3
					38318	4,0	1,7	4,7	0,3
					4256018	3,7	1,0	2,3	3,3
						5,1 ± 0,3	2,4 ± 0,3	5,8 ± 0,1	0,9 ± 0,2
1989					1990				
5300	4,3	2,0	4,7	0,3	6826	5,3	2,3	5,7	0,7
5794	3,3	2,0	4,3	1,3	6855	5,3	2,0	5,7	1,3
5068	3,3	1,0	3,0	3,	6692	4,7	2,3	7,0	0,3
5632	3,3	1,3	3,3	0,3	6813	4,7	1,7	5,7	0,7
5654	3,3	2,0	4,3	1,3	5623	5,3	2,3	6,7	0,7

Продолжение табл. 1

№ жи- вот- ного	ЭМЯ	ДЛ	ЛМЯ	А	№ жи- вот- ного	ЭМЯ	ДЛ	ЛМЯ	А
6717	3,0	2,3	4,3	0,7	6667	2,7	1,0	4,0	1,0
5700	6,0	1,3	5,0	0,3	6851	4,7	2,3	5,0	0,3
5589	4,0	2,0	7,0	0,3	5516	4,3	2,3	4,3	0,3
5686	2,7	1,7	4,7	1,0	5505	4,7	1,0	5,3	0,3
5689	3,0	1,3	5,0	0,3	6398	4,7	1,7	5,7	0,3
	3,6 ± 0,3	1,7 ± 0,1	4,6 ± 0,4	0,9 ± 0,9	5654	5,7	2,0	4,7	0,7
					5320	4,3	2,7	6,0	0,3
					8977	4,3	1,7	4,7	1,0
					5536	4,3	2,3	4,0	2,0
					4381	5,3	1,7	4,0	0,7
					6684	5,3	2,7	6,3	0,3
					5533	4,3	3,0	5,7	1,0
					5578	3,0	3,7	5,0	0,7
					5617	3,7	3,7	3,0	1,0
					5321	4,0	2,0	5,0	0,3
					5534	5,7	4,0	4,0	0,3
					5651	5,3	2,0	4,7	0,7
					5315	5,0	4,3	3,3	0,7
					5315	5,0	3,0	4,7	0,3
					6759	5,3	4,3	5,7	0,3
					6243	4,7	2,3	4,7	0,3
					6273	4,7	3,3	4,7	0,3
					6348	3,7	2,3	4,7	0,3
					6219	4,0	2,3	4,0	0,3
					6793	4,3	2,7	4,7	1,0
					6327	2,7	1,3	3,3	1,3
					6735	4,0	3,3	4,7	0,3
					6202	3,7	4,3	3,7	0,3
					6782	3,7	3,7	3,3	0,3
					6221	5,0	4,0	5,0	0,3
					5340	3,0	4,7	3,3	0,3
					6278	5,7	3,0	6,0	0,7
					6760	5,3	3,0	5,0	0,3
					5336	4,3	3,0	5,0	0,3
					6257	4,0	2,7	5,0	0,3
						4,5 ± 0,1	2,7 ± 0,1	4,8 ± 0,1	0,6 ± 0,1

Примечание. ЭМЯ - эритроциты с микроядрами; ЛМЯ - лимфоциты с микроядрами; ДЛ - двуядерные лимфоциты; А - апоптозы.

Обнаружено, что у животных 1988 г. частота встречаемости эритроцитов ($P < 0,01$) и лимфоцитов с микроядрами ($P < 0,01$), а также двуядерных лимфоцитов ($P < 0,001$) достоверно выше, чем у животных 1987 г. Частота встречаемости апоптозных клеток у животных в 1988 г. как и в 1987 г. была практически одинаковой. Частота встречаемости этих же характеристик у животных в 1989 г. достоверно ниже, чем у животных в 1988 г. ($P < 0,01$, $P < 0,05$ и $P < 0,05$ соответственно). К 1990 г. опять наблюдается достоверное увеличение частот встречаемости этих характеристик по сравнению с 1989 г.: эритроцитов с микроядрами ($P < 0,01$), двуядерных лимфоцитов ($P < 0,01$). Частота встречаемости лимфоцитов с микро-

ядрами незначительно увеличивается к 1990 г. по сравнению с 1989 г., а апоптозных клеток незначительно снижается у животных в 1990 г. Таким образом, частота встречаемости эритроцитов и лимфоцитов с микроядрами, а также двуядерных лимфоцитов у животных хозяйства “Владимировка” в разные годы после аварии на ЧАЭС носит нелинейный характер: увеличивается к 1988 г. по сравнению с 1987 г., затем снижается к 1989 г. и снова увеличивается к 1990 г.

Выполнен также сравнительный анализ частот встречаемости (количество событий на 1000 клеток) эритроцитов с микроядрами, двуядерных лимфоцитов и лимфоцитов с микроядрами в клетках периферической крови животных разных поколений из хозяйства “Новошепеличи” (табл. 2), где уровень радионуклидного загрязнения выше, чем в хозяйстве “Владимировка”. Стадо подразделялось на родительское поколение (родившееся до Чернобыльской аварии) и три поколения, родившихся после аварии.

Таблица 2

Количество животных	Поколение	ЭМЯ	ДЛ	ЛМЯ	Количество животных	Поколение	ЭМЯ	ДЛ	ЛМЯ
6	0	5,0±1,0	8	4,5±0,4	15	I	4,5±0,3	5,4±0,5	2,4±0,4
12	II	5,9±0,5	5,3±1,0	3,0±0,3	3	III	5,0±0,6	6,0±3,0	1,5±0,4

Примечание. ЭМЯ - эритроциты с микроядрами; ДЛ - двуядерные лимфоциты; ЛМЯ - лимфоциты с микроядрами.

Частота встречаемости лимфоцитов с микроядрами в родительском поколении (0) была близкой к значениям у животных в хозяйстве “Владимировка” и оказалась достоверно выше, чем в первом (I) ($P < 0,01$), во втором (II) ($P < 0,01$) и в третьем (III) ($P < 0,001$) поколениях животных, рожденных в зоне повышенного радионуклидного загрязнения. Это, по-видимому, свидетельствует как о наличии постоянного генотоксического давления на животных, впервые попавших под хроническое действие повышенного уровня ионизирующего излучения, так и о наличии популяционно-генетической адаптации в поколениях, рожденных в таких условиях. Интересно отметить, что у разных поколений животных, рожденных как до аварии на ЧАЭС, так и после нее, частота встречаемости лимфоцитов с микроядрами, также как и у животных в хозяйстве “Владимировка”, носит нелинейный характер: уменьшается в первом (I) поколении по сравнению с родительским (0), затем увеличивается во втором (II) и снова уменьшается в третьем (III) поколении.

Таким образом, частота встречаемости лимфоцитов с микроядрами носит нелинейный характер в разные годы исследований (увеличивается к 1988 г. по сравнению с 1987 г., затем снижается к 1989 г. и снова увеличивается к 1990 г.) и у разных поколений (уменьшается к первому (I) поколению, по сравнению с родительским (0), затем увеличивается ко второму (II) и снова уменьшается к третьему (III) поколению). Такая “нелинейность”, по-видимому, может быть обусловлена разными причинами. Колебания частот встречаемости различных цитогенетических аномалий могут быть связаны с описанными в литературе их отличиями в разные годы исследований [1]. Свой вклад в этот феномен могут вносить процессы популяционно-генетической адаптации в поколениях животных, воспроизводящихся в условиях повышенного уровня радионуклидного загрязнения. Полученные данные свидетельствуют о том, что наблюдаемую “нелинейность” изменчивости характеристик мутагенеза в соматических клетках необходимо учитывать при оценке генотоксических эффектов различных воздействий, в частности ионизирующего излучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Anderson D.A., Frances A.J., Godbert P, et al.* Chromosome aberrations (CA), sister-chromatid (SCE) and mutagen-induced blastogenesis in cultured peripheral lymphocytes from 48 control individuals sampled 8 times over 2 years // *Mutat. Res.* - 1991. - Vol. 250. - P. 467 - 476.
2. *Rubes J., Horinova Z., Gustavson J. et al.* Somatic chromosome mutations and morphological abnormalities in sperm of boars // *Hereditas.* - 1991. - Vol. 115. - P. 139 - 143.

**ЧАСОВА ДИНАМІКА ЦИТОГЕНЕТИЧНИХ АНОМАЛІЙ У КЛІТИНАХ КРОВІ
ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ В УМОВАХ РАДІОНУКЛІДНОГО ЗАБРУДНЕННЯ****Н. А. Кобозева, Т. Т. Глазко**

Виконано аналіз частот зустрічальності різних цитогенетичних аномалій у групах чорно-рябої худоби в різні роки досліджень і в різних поколіннях, що відтворюються в умовах підвищеного рівня радіонуклідного забруднення. Одержано дані про нелінійний характер частот зустрічальності лімфоцитів із мікроядрами у тварин у різні роки досліджень і в різних поколіннях.

**TEMPORAL DYNAMICS OF CYTOGENETIC ANOMALIES IN BLOOD CELLS
OF CATTLE UNDER RADIOACTIVE POLLUTION****N. A. Kobozeva, T. T. Glazko**

Quantitative analysis of the various cytogenetical anomalies in groups of cattle which reproduced under conditions of high level environment radioactivity is performed. Data about the nonlinear character of investigated anomalies frequency at different years and different animal generations are presented.

Поступила в редакцію 06.09.05,
после доработки – 09.11.05.