

К. А. ГАЛИЕВА, К.Ж. ДОСЫБАЕВ, А. С. МУСАЕВА, А. М. ЖОМАРТОВ,

Ж.С. СУЙЕСИНОВА, Р. ЖАПБАСОВ

(«Институт общей генетики и цитологии» КН МОН РК, г. Алматы)

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ОВЕЦ ИЗ ТЕРРИТОРИИ БЫВШЕГО СЕМИПАЛАТИНСКОГО ИСПЫТАТЕЛЬНОГО ПОЛИГОНА

Аннотация

Известно, что на пастбищных участках бывшего атомного испытательного полигона разводятся сель-скохозяйственные животные и, в частности, овцы. Овцы могут служить информативным биологическим индикатором загрязнения окружающей среды, так как они получают более высокие дозы облучения по сравнению с человеком из-за особенностей разведения и содержания. Мутагенное действие радионуклидов, содержащихся в почвах, травостоях и в воде бывшего полигона на организм овец, может быть установлено на основе метода цитогенетики – изучения уровня клеток с цитогенетической нестабильностью в пери-ферической крови овец.

Ключевые слова: овцы, хромосома, бывший ядерный полигон.

Кілт сөздер: қой, хромосома, бұрынғы ядролық полигон.

Key words: sheep, chromosome, former nuclear test site.

В настоящее время на территории бывшего Семипалатинского испытательного полигона участки с высоким уровнем радиации обозначены конкретно. В то же время на определенных территориях уровень радиации классифицируется как малые дозы, которые хронически действуют на организм обитающих здесь животных в течение длительного времени [1]. Следовательно, актуальность генетических исследований млекопитающих, которые обитают на территориях полигона, становится еще более очевидной в связи с предполагаемой поэтапной передачей отдельных, северных участков СИП в сельскохозяйственный оборот.

Материалы и методы исследования

Методы культивирования клеток овец *in vitro*, а также принципы проведения цитогенетического анализа и методические приемы приготовления препаратов хромосом включают следующие основные этапы: для индуцирования митозов при культивировании лимфоцитов периферической крови необходимо добавление ФГА; добавление колхицина для остановки клеток на стадии метафазы митоза; обработка клеток гипотоническим раствором KCl; фиксация клеток раствором абсолютного этилового спирта и уксусной кислоты (соотношение 3:1).

Методические приемы проведения цитогенетического анализа хромосом в метафазных клетках животных проводится в несколько этапов: предварительный анализ препаратов хромосом под микроскопом (объектив 20X, окуляр 20X) и отбор метафазных пластинок для проведения цитогенетического анализа; микрофотографирование метафазных клеток с использованием компьютерной программы Видео-КариоТест-3.1; изучение морфологии хромосом и определение их количества в метафазной клетке (объектив 100X, окуляр 20X); определение частоты встречаемости анеуплоидных (гиподиплоидных, гипердиплоидных) клеток и анализ частоты встречаемости клеток с полиплоидным набором хромосом у отдельных животных; установление уровня клеток с абберацией хромосом, а также определение спектра и типа хромосомных аббераций; статическая обработка материалов цитогенетического обследования; обобщение и анализ результатов [2].

Результаты и их обсуждение

От овец, которые разводятся на пастбищных участках, расположенных на северных территориях бывшего СИП, были исследованы 1259 метафазных клеток (таблица 1).

Таблица 1 – Уровень клеток с цитогенетической нестабильностью у овец из бывшего Семипалатинского испытательного полигона

№ пп и пол овец	Изучен о метафа з	Из них, в %				Общий уровень цитогенетической нестабильности, в %	
		гиподи- плоидия	гиперди- плоидия	абerr. хромос.	поли- плоидия	А*	Б*
1 ♂	103	19,4	0,97	3,9	2,9	27,2	7,7
2 ♂	69	15,9	–	–	1,4	17,4	1,4
3 ♂	83	16,9	–	1,2	–	18,1	1,2
4 ♂	105	17,1	1,90	2,9	2,9	24,8	7,6
5 ♀	147	15,6	–	1,4	0,7	17,7	2,0
6 ♀	186	22,0	0,54	3,2	1,6	27,4	5,4

7 ♀	51	19,6	–	–	–	19,6	–
8 ♂	56	14,3	–	1,8	1,8	17,8	3,6
9 ♂	73	19,2	–	1,4	1,4	21,9	2,7
10 ♂	54	9,25	–	1,8	–	11,1	1,8
11 ♀	101	15,8	–	2,0	–	17,8	2,0
12 ♀	92	11,9	1,08	–	1,1	14,1	2,2
13 ♀	31	16,1	–	–	–	16,1	–
14 ♀	108	18,5	–	1,8	0,92	21,3	2,8
Всего	1259	16,6±0,9	0,32±0,1 5	1,52±0,3 3	1,04±0,2 7	19,4±1,2	2,9±0,6
<p><i>Примечания:</i> А* – общий уровень цитогенетической нестабильности (гиподиплоидия + гипердиплоидия + полиплоидия + aberrация хромосом); Б* – уровень цитогенетической нестабильности (гипердиплоидия + полиплоидия + aberrация хромосом).</p>							

Клетки с гипердиплоидным набором хромосом обнаружены только у 4 овец (29 %) из всех обследованных животных (в среднем $0,32\pm 0,15$ %). Для того чтобы идентифицировать клетки с гипердиплоидным набором хромосом, необходимо провести кариотипирование всего набора хромосом клетки. В гипердиплоидных клетках идентифицированные «дополнительные» хромо-сомы по морфологии являются маленькими акроцентриками.

Средний уровень клеток с aberrациями хромосом у этих животных составляет $1,5\pm 0,33$ %. Спектр хромосомных aberrации у животных представлен концевыми делециями в одной или двух хроматидах мета- и акроцентрических хромосом, вследствие чего в метафазных клетках идентифицируются одиночные или парные ацентрические фрагменты хромосом.

Клетки с полиплоидным набором хромосом обнаружены у 64 % обследованных животных со средним уровнем $1,04\pm 0,27$ %. Полиплоидные клетки были представлены, в основном, с тетра-плоидным набором хромосом (87%).

Анализ данных таблицы 1 показывает, что у трех животных (№ 1, 4, 6) общий уровень цито-генетической нестабильности (А) был высоким (соответственно 27,2%, 24,8%, 27,4%).

Аналогичный цитогенетический показатель у ягнят № 9 и №14 был в пределах 21,8% и 21,3%. При этом надо отметить следующее важное обстоятельство: во-первых, у 4-х летних животных (№ 1, 4, 6) уровень цитогенетической нестабильности с учетом гипердиплоидных, полиплоидных и aberrантных клеток (Б) составил, соответственно 7,7%, 7,6% и 5,4%; во-вторых, одноименный цитогенетический показатель у ягнят (№9, 14) был почти в 2, 8 раза меньше (соответственно 2,7% и 2,8%), чем показатели 4-х летних

животных. Отсюда следует, что соотношение общей суммы клеток с цитогенетической нестабильностью с учетом гиподиплоидных, гипердиплоидных, полиплоидных и aberrантных клеток (А) к сумме только гипердиплоидных, полиплоидных и aberrантных клеток (Б) у 4-х летнего барана №1 составляет 72% к 28%, тогда как у ягненка №9 эти данные характеризуются следующими показателями – 88% к 12%. Эти статистические данные наглядно показывают, что увеличение общего количества клеток с цитогенетической нестабильностью у 4-летних животных произошло исключительно за счет возрастания доли клеток с гипердиплоидным, полиплоидным наборами и с хромосомными aberrациями. Следует отметить, что общий уровень клеток с цитогенетической нестабильностью (А) у контрольных животных был $12,8 \pm 1,7 \%$, а частота встречаемости гипердиплоидных, полиплоидных и aberrантных клеток (Б) составила только $0,92 \pm 0,40 \%$.

На рис. 1–3 представлены метафазные клетки с хромосомными aberrациями и геномными мутациями овец с СИПа.

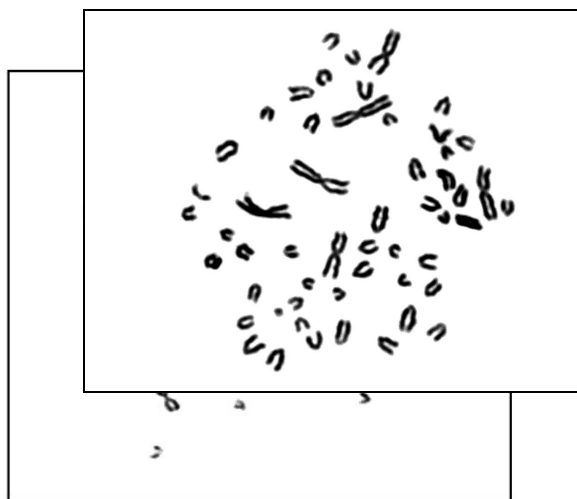


Рисунок 1 – Метафазная клетка
с гиподиплоидным набором хромосом:

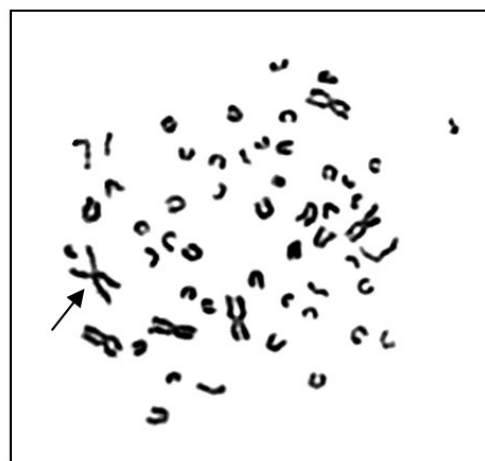
$$2n = 53, XY$$

Рисунок 2 – Метафазная клетка с
делецией

в акроцентрической хромосоме и
пробелом

в метацентрической хромосоме (указаны
стрелками)

Рисунок 3 – Метафазная клетка с делецией
в метацентрической хромосоме (указана
стрелкой)



Таким образом, с использованием методики культивирования лимфоцитов периферической крови в лабораторных условиях *in vitro*, состояние хромосом в соматических клетках изучены у 14 животных, которые содержались на пастбищных участках северной территории бывшего СИП. Был изучен уровень клеток с гиподиплоидным, гипердиплоидным и полиплоидным наборами хромосом, а также клеток с абберациями хромосом.

При этом установлено, что уровень гиподиплоидных клеток у этих животных находится в пределах от 9,25 до 22,04%. Частота гипердиплоидных клеток, которая в свою очередь указывает на число митозов с неправильным распределением хромосом между дочерними клетками, у изученных овец колеблется от 0 до 1,90 %. Уровень клеток с геномными мутациями хромосом, т.е. числа клеток с полиплоидным набором хромосом, отражает частоту незавершенных клеточных делений, когда митоз из-за воздействия на организм овец неблагоприятных факторов не приводит к цитотомии и, вследствие чего число хромосом в клетках увеличивается кратно к диплоидному набору. Цитогенетический анализ показал, что средняя частота встречаемости клеток с полиплоидным набором хромосом у животных была $1,04 \pm 0,27\%$ (с вариациями от 0 до 2,91%).

Специфическим радиационным эффектом, который проявляется на хромосомном уровне клеток, считается суммарный процент клеток с хромосомными абберациями и геномными мутациями. Уровень клеток с хромосомными нестабильностями (А) у обследованных животных был в пределах 11,1–27,41%. Причем у 85% животных общий уровень клеток с цитогенетической нестабильностью был выше, чем у контрольных овец ($12,8 \pm 1,7\%$).

Результаты исследования, полученные в данной работе, указывают на увеличение нестабильности генома в соматических клетках, по-видимому, индуцированные слабыми дозами радиоактивного загрязнения среды обитания животных [3].

С учетом этих данных необходимо отметить, что, несмотря на закрытие полигона, проблемы экологических последствий радиоактивного загрязнения территории полигона в течение много-летних ядерных испытаний остаются актуальными.

ЛИТЕРАТУРА

1 Актуальные вопросы радиэкологии Казахстана. – № 1 // Радиэкологическое состояние «северной» части территории Семипалатинского испытательного полигона / Коллектив авторов с руководством Лукашенко С.Н. – Павлодар, 2010. – 234 с.

2 Жапбасов Р. Қойдың цитогенетикасы және тератологиясы. – Алматы, 2006. – 287 б.

3 Исамов Н.Н., Козьмин Г.В., Кругликов Б.П. и др. Состояние здоровья сельскохозяйственных животных на территориях, подвергшихся радиоактивному загрязнению в результате аварии на Чернобыльской АЭС // Радиация и риск. – 1997. – №9. – С. 48-52.

REFERENCES

1 Aktual'nye voprosy radiojekologii Kazahstana. – № 1 // Radiojekologicheskoe sostojanie «severnoj» chasti territorii Semipalatinskogo ispytatel'nogo poligona / Kollektiv avtorov s rukovodstvom Lukashenko S.N. – Pavlodar, 2010. – 234 s.

2 Zhabbasov R. Kojdyn citogenetikasy zhane teratologijasy – Almaty, 2006. – 287 b.

3 Isamov N.N., Koz'min G.V., Kruglikov B.P. i dr. Sostojanie zdorov'ja sel'skohozjajstvennyh zhivotnyh na territorijah, podvergshijsja radioaktivnomu zagrjazneniju v rezul'tate avarii na Chernobyl'skoj AJeS // Radiacija i risk. – 1997. – № 9. – S. 48-52.

Резюме

Қ. А. Ғалиева, Қ. Ж. Досыбаев, А.С. Мұсаева, А.М. Жомартов, Ж. С. Сүйесінова, Р. Жапбасов

(ҚР БҒМ ҒК «Жалпы генетика және цитология институты», Алматы қ.)

БҰРЫНҒЫ СЕМЕЙ ЯДРОЛЫҚ ПОЛИГОНЫ АУМАҒЫНДА
ӨСІРІЛЕТІН ҚОЙЛАРДЫ ЦИТОГЕНЕТИКАЛЫҚ ЗЕРТТЕУ

Бұрынғы Семей ядролық полигоны жайылымдарында өсірілетін қойлардың соматикалық клеткаларындағы хромосомалардың аберрациялары мен геномдық мутацияларының өзгеру деңгейін зерттеу арқылы қоршаған ортадағы радионуклидтердің жануарларға әсері анықталды.

Кілт сөздер: қой, хромосома, бұрынғы ядролық полигон.

Summary

K. A. Galiyeva, K. Zh. Dossybaev, A.S. Mussaeva, A.M. Zhomartov, Zh.S. Suiessinova, R. Zhabassov

(«Institute of General Genetics and Cytology» CS MES RK, Almaty)

CYTOGENETIC STUDY OF SHEEP FROM SEMIPALATINSK FORMER NUCLEAR TEST SITE

It is known that on the pastoral areas of the former nuclear test site farm animals especially sheep are bred. Sheep can be used as an informative biological indicator of pollution, because they receive higher doses of radiation compared to human due to special features of breeding. Mutagenic effect on sheep of radionuclides that have been found in the soil, grass and water of the former nuclear test site can be established using the cytogenetic methods of the study of the cell with cytogenetic instability quantity in the peripheral blood of sheep.

Key words: sheep, chromosome, former nuclear test site.

Поступила 19.03.2013 г.