

ОБЛІК ЧАСТОТИ ЯДЕРНИХ ПОРУШЕНЬ ЕРИТРОЦИТІВ У КАРАСЯ ЗВИЧАЙНОГО *CARASSIUS CARASSIUS* L. ІЗ РІЗНИХ ВОДОЙМ М. ЛЮБОТИН ХАРКІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ

Данилова П.М.

Харківський національний педагогічний університет імені Г. С. Сковороди

Науковий керівник – Ликова І.О., кандидат біологічних наук,
доцент кафедри зоології Харківського національного педагогічного університету
імені Г. С. Сковороди

Проблема розробки ефективних методів оцінки як прямого, так і опосередкованого впливу техногенних та інших забруднювачів на живі організми в умовах підвищеного антропогенного тиску на навколишнє середовище є актуальною і потребує додаткових досліджень. Антропогенні зміни водних екосистем впливають на фізіологічний стан гідробіонтів, зокрема риб. Використання цито- та генотоксичних способів оцінки якості водного середовища за допомогою тест-організмів риб є швидким, технічно простим, універсальним та важливим біотестом для виявлення токсичних факторів і речовин, що забруднюють оточуюче середовище, зокрема для оцінки якості природних і питних вод.

Функціональні і структурні зміни формених елементів крові під дією різних екзогенних і ендогенних факторів можуть бути причиною порушень кровотворення на різних етапах онтогенезу риб. Науковий і практичний інтерес представляє вивчення різних морфологічних і фізіологічних порушень, що відбуваються при гемопоезі, зокрема при еритропоезі [5]. Актуальними є дослідження взаємозв'язку патології цих процесів з впливом різних зовнішніх і внутрішніх факторів. Аналіз мікроядер, як метод дослідження генотоксичності та біомаркер генотоксичного ризику для організму, останнім часом набуває все більшої популярності [1, 2, 4, 5, 7].

Метою даної роботи було дослідити частоту ядерних порушень еритроцитів у карася звичайного *Carassius carassius* L. із різних водойм м. Люботин Харківської області. Матеріалом для дослідження була кров *C. carassius* із різних водойм м. Люботин. Дослідження проводили у літній період 2018 р. Експериментальний матеріал для аналізу відловлювали вудочкою (загалом 18 ловів) на шістьох ділянках, які відповідали шести ставкам у м. Люботин. Ділянки №1, №2, №4, №5 – розташовувалися на ставках, які є екологічно чистими, відповідають санітарним нормам. Ділянка №3 знаходилася на ставку, куди скидаються місцеві каналізаційні стоки, тому має високий рівень фекального забруднення. Ділянка №6 знаходилася на ставку, який є технологічним, вода в нього потрапляє з Караванського заводу кормових дріжджів.

Дослідження загальних показників крові *C. carassius* проводилось за допомогою фіксованих мазків крові, які виготовляли за загальноприйнятою

методикою [6]. Для фіксації і забарвлення використовували фіксатор-фарбник Май-Грюнвальда і фарбник Романовського. Готові забарвлені препарати мікроскопували за допомогою мікроскопу Levenhuk D740T 5,1 M; Digital Trinocular Microscope на збільшенні x100, x400 та під масляною імерсією на збільшенні x1000. Фотографували мазки цифровою камерою Delta Optica/Pro 5 Mp USB 8,0, що виводить зображення на ноутбук Dell pp2aL.

Після загального дослідження мазків крові *S. carassius* проводили мікроядерний тест еритроцитів. Зміст тесту полягає у підрахунку частоти клітин периферійної крові (еритроцитів) з мікроядрами, що відображує цитогенетичний гомеостаз організму. Облік мікроядер здійснювали під мікроскопом із загальним збільшенням x1000 разів. Аналізували від 1000 до 2500 клітин від кожної особини. Результати підрахунків виражали в проміле (‰) [3]. При обліку частоти порушень враховувались клітини з мікроядром та з двома ядрами.

У результаті проведених досліджень були встановлені цитоморфологічні особливості клітин крові *S. carassius*. Аналіз мазків крові *S. carassius*, виловлених із різних ставків м. Люботин, показав, що еритроцити у даного виду овоїдної форми з чіткими контурами, цитоплазма оксифільно зафарбована, ядро темно-фіолетове, овоїдної форми, розташоване в центрі клітини. Відомо, що наявність ядра пояснюється великою тривалістю життя червоних клітин (до року), оскільки наявність ядра передбачає підвищену здатність клітинної мембрани і цитозольних структур до реставрації [4].

Аналіз форми еритроцитів показав, що в мазках крові *S. carassius* з об'єктів №2, №4, №5 еритроцити овоїдної форми з чіткими контурами, цитоплазма оксифільно зафарбована, ядро темно-фіолетове, овоїдної форми, розташоване в центрі клітини, в полі зору мазка еритроцити розташовуються рівномірно. У мазку крові з об'єкту №1 відмічено невелику кількість еритроцитів з порушенням форми (до 5%), але ядра клітин мали, здебільшого, правильну форму, ознак каріолізу не виявлено. У мазках крові з об'єктів №3 та №6 відмічено певні порушення форми еритроцитів, форма клітин змінена на грушоподібну та багатокутну, відмічено злипання еритроцитів у мазку, наявні ознаки каріолізу.

Таким чином, у особин із водойм, де спостерігається високий антропогенний тиск, спостерігається зміна форми еритроцитів та їх збільшена агрегація (злипання).

Другим етапом досліджень була оцінка частоти ядерних порушень в еритроцитах *S. carassius* із різних водойм м. Люботин. На мазках крові ми порівнювали форму і стан ядра еритроцитів особин із різних водойм, фіксували клітини з мікроядрами і вели їх підрахунок в проміле (кількість клітин з мікроядрами на 100 еритроцитів).

Як відомо з літературних джерел [2], наявність еритроцитів з мікроядрами в нормі може зустрічатися в невеликій кількості (близько 3-4%), при дії токсичних речовин, в умовах гіпоксії та при дії інших поллютантів

спостерігається збільшення кількості еритроцитів з мікроядрами, що є результатом хромосомних та ядерних порушень в наслідок негативної дії токсикантів.

Дослідження мазків особин із водойм №1, 2, 4, 5 показали, що еритроцити, у більшості випадків, мали чіткі межі, овальну форму та одне ядро. Розміри еритроцитів становили в середньому $13,7 \pm 0,9$ мкм, середній розмір ядер становив $5,4 \pm 0,07$ мкм. Аналіз наявності мікроядер в еритроцитах *C. carassius* із зазначених водойм показав, що середня кількість ядерних порушень склала 3,5-4,4%, що є в межах нормальних показників (рис. 1).



Рис. 1. Частота ядерних порушень (%) в еритроцитах карася звичайного *Carassius carassius* L. із різних водойм м. Люботин

В еритроцитах *C. carassius* із водойм №3 і №6 виявлено ряд патологічних відхилень у будові еритроцитів. Спостерігався пойкилоцитоз, фестончатість, зсув ядра та збільшення кількості молодих еритроцитів. Зустрічалися клітини грушоподібної, серповидної та ромбовидної форми. Патологічна форма еритроцитів з відростками (характерна для пригнічення еритропоезу) зустрічалася одиночно. Зниження еластичності клітинної мембрани еритроцитів побічно свідчить про зміну її осмотичних властивостей. Також в еритроцитах цих особин виявлені мікроядра в кількості вищій за норму (рис. 1).

Аналіз частоти ядерних порушень в еритроцитах *C. carassius* із водойми №3 показав, що середня частота порушень склала 6,8%, що перевищує нормальні показники в 1,5 рази. У особин із водойми №6 було виявлено велику кількість мікроядер, частота ядерних порушень склала 9,8%, що в 2,5 рази вище за норму (рис. 1). Такі зміни свідчать про порушення фізіологічного стану риб у водоймах №3 і №6, що викликано негативним впливом поллютантів, які потрапляють у водойми із каналізаційним стоками до водойми №3 та відходами дріжджового заводу у водойму №6 (рис. 1).

Відомо, що дія різноманітних чинників, насамперед антропогенних, впливає на хімічний склад води поверхневих водних об'єктів [1, 2, 3, 6, 7]. Це супроводжується помітною мінливістю кисневого режиму, аж до його критичного падіння внаслідок забруднення органічними речовинами та біогенними елементами, підвищення сполук важких металів тощо. Токсичний вплив цих речовин призводить до порушень під час поділу клітин, сприяє появі клітин з аміотичними ядрами, відбувається каріолізис та хроматинолізис. Наявність різних полютантів у воді призводить до патологічних змін в еритроцитах (пойкілоцитоз, фестончатість, зміщення ядра) і змін в лейкоцитарній формулі [7].

У результаті проведених досліджень встановлено, що антропогенний вплив на деякі водойми м. Люботин призводить до потрапляння у водойми шкідливих речовин, що має негативний вплив на процеси цитогенетичного гомеостазу популяції *C. carassius* і спричиняє хромосомні порушення в еритроцитах даного виду, порушуючи, тим самим, процеси гемопоезу.

Список використаних джерел:

1. Бедункова О. О. Облік частоти ядерних порушень еритроцитів у представників іхтіофауни малої річки Замчисько. *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету ім. В. Гнатюка, Серія: Біологія*. 2014. № 2 (59). С. 25–30.
2. Верголяс М. Р. Визначення токсичності водних зразків з використанням гематологічних параметрів риб. *Фактори експер. еволюції організмів*. 2015. Том 17. С. 299–302.
3. Верголяс М. Р., Кучеренко Т. В., Архипчук В. В. Сравнительный анализ частоты проявления клеток с микроядрами и двойными ядрами у карася *Carassius auratus* в природных и лабораторных условиях. *Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології. Збірник наукових праць*. К.: Логос, 2007. №1. С. 203–206.
4. Дехтярьов П. А., Євтушенко М. Ю., Шерман І. М. *Фізіологія риб*: Підручник. К.: Аграрна наука, 2010. 315 с.
5. Кузина Т. В. Анализ патологических форм эритроцитов крови судака (*Stizostedion luciperca*) Волго-Каспийского канала. *Естественные науки*. Астрахань, 2009. №4 (29). С. 96–100.
6. Ронін В. С., Старобинец Г. М. *Керівництво до практичних занять за методами клінічних лабораторних досліджень*. Навч. посібник. 4-е вид. М.: Медицина, 1989. 320 с.
7. Шарамок Т. С., Єсіпова Н. Б. Вплив антропогенних факторів на гематологічні показники риб. *Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол.*, 2015, № 3-4 (64). С. 722–726.