

STANISŁAW RAULUSZKIEWICZ, PIOTR WYROST, JAROSŁAW GRABIŃSKI

Badania kariologiczne bydła z wrodzonym położeniem serca na szyi

Z Kliniki Położniczej i Kliniki Chorób Wewnętrznych
Instytutu Patologii i Terapii Zwierząt
Wydziału Weterynaryjnego AR we Wrocławiu

Z Zakładu Anatomii Zwierząt Instytutu Nauk Fizjologicznych
Wydziału Weterynaryjnego AR we Wrocławiu

W 1931 r., od czasu badań Kralingera (cyt. za 8, 12), ustalono diploidalną liczbę chromosomów u bydła potwierdzoną licznymi badaniami kariologicznymi lat ostatnich, między innymi badaniami Makino (12), Steffenna i wsp. (17) oraz Hoffmanna (8). Według badań tych chromosomy u bydła (*Bos primigenius f. taurus*) układają się w pary i tworzą diploidalną liczbę $2n=60$. Chromosomy każdej pary są u bydła, według tych badań, homologiczne i uzupełniające się funkcjonalnie i z wyjątkiem determinujących płęć chromosomów X i Y wyglądają podobnie. Kariotyp bydła składa się zatem z 58 telocentrycznych autosomów i 2 submetacentrycznych chromosomów płciowych. Chromosom X, z submetacentrycznym kinetochorem, należy do największych chromosomów u krów i byków, a chromosom Y, również submetacentryczny, znajduje się w grupie najmniejszych chromosomów u samców tych zwierząt. W tym kontekście specyficzność kariotypu bydła polega więc na łatwym odróżnieniu chromosomów płciowych i powstałych w nich zaburzeń na tle aberracji liczbowych i strukturalnych oraz na praktycznej niemożności identyfikacji pozostałych chromosomów telocentrycznych — w związku z czym telocentryczne chromosomy w kariogramach bydła układane są według wielkości w kariotypie tylko na podstawie subiektywnej oceny badacza. Nowe, istniejące obecnie metody barwienia i analizy chromosomów metafazalnych, z zastosowaniem w badaniach fluorescencji i wybarwienia pasmowego, pozwalają na pewno w najbliższych latach rozszerzyć znacznie naszą wiedzę o tego typu chromosomach u bydła.

Doniesienia o występowaniu wad rozwojowych u bydła, oparte o badania cytogenetyczne, coraz częściej informują o współzależności anomalii fenotypowej z obserwowaną anomalią w kariotypie (2, 12, 13). U zwierząt tych, na przykład, obserwowane są aberracje chromosomalne, z których pewne mogą być odpowiedzialne za powstawanie anomalii dziedzicznych takich jak skrócenie kręgosłupa, wodogłowie, niedorozwój zuchwy itd. (4, 8, 9, 15—17). Pojawienie się wad wrodzonych u bydła może też być spowodowane wzajemnym ujemnym oddziaływaniem na siebie genów i środowiska. Niektóre z wad wrodzonych mogą być tak daleko posunięte, że mogą powodować nawet śmierć płodu lub noworodka. W większości przypadków nienormal-

ny rozwój danego osobnika jest jednak związany z jego homozygotycznością pod względem genu recesywnego. Obserwowana stałość materiału genetycznego, przenoszona w chromosomach, może też czasem ulegać spontanicznym zmianom, powodującym zaburzenia w strukturze i dziedziczeniu cech. Zaburzenia molekularne zaliczamy obecnie także do mutacji genowych (2—4). Znany jest też ujemny wpływ czynników chemicznych na zarodek, następstwem którego mogą być na przykład — bez widocznych równocześnie anomalii chromosomalnych — zaburzenia rozwojowe w ostatecznej lokalizacji serca (4).

Materiali i metody

Badania kariologiczne u bydła z wrodzonym położeniem serca na szyi (*situs cervicalis cordis congenitus*) wykonano u 4 następujących zwierząt rasy n.c.b.: 1. 3-letniej krowy nr 5, 2. 2-letniej jałówki nr 6, 3. 1-roczej jałówki nr 7 oraz dodatkowo 4. u 6-miesięcznego byczka nr 5/1 z sercem położonym normalnie, syna krowy nr 5.

Krew do badań pobierano z żyły podskórnej brzucha. W prowadzeniu hodowli tkankowej posługiwano się metodą Moorheada, zakładając hodowlę na podłożu płynu Parkera i stymulując kulturę Phytohemagglutyniną M firmy Difco z dodatkiem surowicy cielęcej. Colcemid dodawano po upływie 72 godzin, przerywając mitozę. W 4 godziny po podaniu Colcemidu zakańczano hodowlę. Preparaty barwiono roztworem Giemsy. Oceniano je w powiększeniu 90×10 .

Równoległe z badaniami wyżej wymienionymi przeprowadzono także badania chromatyny płciowej, którą oceniano na podstawie cytogramów sporządzonych — po barwieniu Shorrem i Feulgenem — z komórek nabłonkowych spojówki oka lub rozmazów krwi barwionych metodą MGG. W cytogramach liczono ciała Barra w 100 jądrach komórek interfazalnych, a w rozmazach krwi — pałeczki dobosza w 100 jądrach leukocytów obojętnochłonnych. W obu metodach obliczeń dokonywano w imersji i przy powiększeniach 40×10 i 90×10 (2, 3, 13, 15, 16).

Wyżej wymienione badania kariologiczne uzupełniono w pracy, przeprowadzonymi równocześnie, badaniami hematologicznymi i klinicznymi obserwowanych zwierząt.

Wyniki

Wszystkie wykonane kariogramy (ryc. 1, tab. 1) odpowiadają, pod względem ilościowym i jakościowym, normalnym kariotypom bydła ($\text{♀} = 60, \text{XX}, \text{♂} = 60, \text{XY}$).

Jeśli natomiast idzie o chromantynę płciową, to tę — wnosząc z liczby ciałek Barra zawartych

w 100 jądrach komórek interfazalnych, wykonanych przez nas cytogramów lub z liczby pałeczek dobosza zawartych w 100 jądrach leukocytów obojętnochłonnych, wykonanych przez nas rozmazów krwi — stwierdzono tylko u krowy i dwóch jałówek w wysokości od 12 do 14% w cytogramach i w wysokości od 12 do 16% w rozmazach krwi (ryc. 1). U byczka nr 5/1, syna krowy nr 5, chromatyny płciowej nie stwierdzono (tab. 1).

Tab. 1. Wyniki badań kariologicznych

Zwierzę	Kariogram	Chromatyna płciowa	
		Cytogram	Rozmaz krwi
Krowa nr 5	60,XX	+, 12%	+, 14%
Jałówka nr 6	60,XX	+, 12%	+, 16%
Jałówka nr 7	60,XX	+, 14%	+, 12%
Byczek nr 5/1 (syn krowy nr 5)	60,XY	(-), (-)	(-), (-)

Wyniki przeprowadzonych przez nas badań hematologicznych i klinicznych zawarte są w tab. 2. Wynika z niej również, że u badanych zwierząt — uwzględniając ich różny wiek — skład i jakość krwi, z wyjątkiem jałówki nr 6, u której liczba erytrocytów osiąga górną dopuszczalną granicę normy, nie odbiega zasadniczo od norm fizjologicznych przyjętych dla bydła rasy n.c.b.

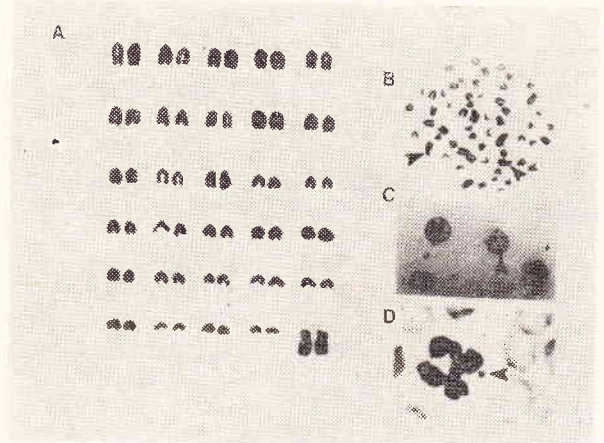
Tab. 2. Wyniki badań hematologicznych i klinicznych

Badanie	Zwierzę			
	nr 5	nr 6	nr 7	nr 5/1
Hemoglobina w g/%	9,6	10,5	8,0	9,0
Erytrocyty w 1 mm ³ w tys.	5690	9340	6180	6800
Wskaźnik hematokrytowy w %	27	34	27	28
Leukocyty w 1 mm ³	6900	11400	5000	11000
Skład białych ciałek krwi				
Granulocyty:				
Obojętnochłonne:				
Jądro pałeczkowate	3	6	35	3
Jądro podzielone	21	37	22	14
Kwasochłonne	4	6	5	3
Zasadochłonne	1	1	9	-
Linfocyty duże	13	8	25	8
Linfocyty małe	53	36	3	70
Monocyty	4	6	1	2
Komórki plazmatyczne	1	-	-	-
Srednia objętość erytrocytu w μm ³ (SOK)	47,5	36,4	43,7	41,2
Srednia waga hemoglobiny w erytrocytach w pg (SNH)	16,9	11,2	12,9	13,2
Srednie stężenie hemoglobiny w erytrocytach w % (SSH)	35,6	30,9	29,6	32,1
Tętno na 1 min.	52	56	84	88
Oddychy na 1 min.	26	26	34	32

Omówienie wyników i wnioski

Z badań przeprowadzonych na trzech krowach z wrodzonym położeniem serca na szyi oraz na jednym byczku z sercem ułożonym normalnie — synie krowy nr 5 — wynika, że otrzymane kariogramy tych zwierząt, jak i obraz chromatyny

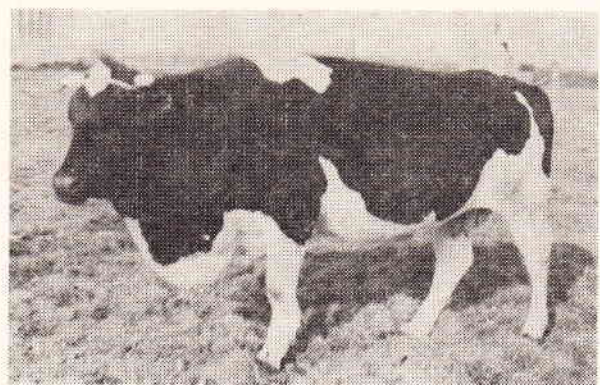
płciowej w sporządzonych z ich tkanek cytogramach i rozmazach krwi są — w porównaniu z wzorcem opracowanym przez Hsu i Benirschke (9) — prawidłowe. W tym świetle kariolo-



Ryc. 1. A. — kariogram jałówki nr 6 — 60,XX, B — płytka metafazalna z chromosomami płciowymi X oznaczonymi strzałką, C — ciało Barra w jądrze komórki interfazalnej oznaczone strzałką, D — chromatyna płciowa w postaci pałeczki dobosza w jądrze leukocyta obojętnochłonnego oznaczona strzałką

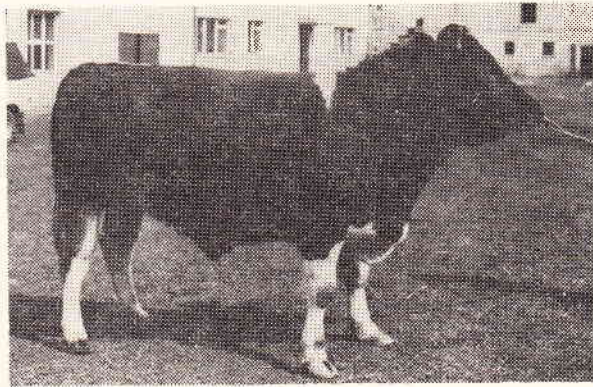
giczna ocena powstania u badanych zwierząt wyżej wymienionej anomalii rozwojowej nie da się uzasadnić zaburzeniami w strukturze chromosomów tych zwierząt. Można co najwyżej przyjąć, że anomalia ta mogła powstać u nich tylko w następstwie zadziałania na zarodek, we wczesnym okresie życia tych zwierząt (u bydła przed upływem 40 dnia życia zarodka) (6, 7), negatywnych, bliżej nie określonych i różnej natury czynników, które jednak nie były jeszcze w stanie wywołać u badanych zwierząt — poza zatrzymaniem serca w rozwoju na szyi — żadnych innych uchwytanych zmian w strukturze ich chromosomów.

Ciekawy jest też fakt pełnej rozrodczej sprawności niektórych z badanych zwierząt, np. krowy nr 5 (ryc. 2) oraz byka nr 5/1, a także



Ryc. 2. Krowa nr 5 z wrodzonym położeniem serca na szyi — matka byczka nr 5/1

nieprzekazywanie przez te zwierzęta potomstwu jakichkolwiek z własnych zaburzeń w rozwoju morfologicznym, czego przykładem mogą być dwaj dobrze morfologicznie i fizjologicznie ukształtowani synowie krowy nr 5, a to obecnie 28-miesięczny byk nr 5/1 (ryc. 3) i 12-miesięczny byczek nr 5/2, obaj z sercem ułożonym prawidłowo i obaj niczym nie odbiegający w swym rozwoju osobniczym od zwierząt o normalnym pochodzeniu i prawidłowej budowie morfologicznej.



Ryc. 3. Byczek nr 5/1 z sercem położonym normalnie — syn krowy nr 5

Przedstawione badania, wespół z uprzednio publikowanymi już przez ośrodek wrocławski wynikami badań klinicznych, fizjologicznych i anatomicznych (1, 5, 10, 11, 14, 18—21), stanowią dalszy wartościowy przyczynek do znajomości genetyki powstawania wrodzonych zaburzeń w zstępowaniu serca u zwierząt domowych oraz do anatomicznej i fizjologicznej oceny przydatności zwierząt z sercem umieszczonym na szyi do chowu użytkowego i rozrodu. Wynika z nich jednoznacznie, że o ile zaburzeniom tego typu nie towarzyszą inne poważne zaburzenia w rozwoju opisywanych zwierząt — zwierzęta te żyć mogą długo i sprawnie pod warunkiem, że zapewni się im nieco staranniejszą opiekę. W ich kariogramach nie stwierdza się w każdym bądź razie żadnych, uchwytanych dotychczasowymi metodami badań zmian strukturalnych.

Piśmiennictwo

1. Bant A., Wyrost P.: Folia Morph. (Warsz.) 22, 257, 1963.
2. Barr M., Carr D.: Acta Cytol. 6, 34, 1962.
3. Boczkowski K.: Cytogenetyka kliniczna. PZWL, 1970.
4. Derecki J.: Postępy Techn. Jądrowej, 1969.
5. Gienc J., Grabiński J., Stefanowski T., Wyrost P.: Streszcz. ref. na VIII Zjazd PTA, Katowice-Rokitnica, 1967.
6. Golub D.: Z. Anat. Entw. Gesch. 95, 447, 1931.
7. Hammond W.: Am. J. Anat. 62, 149, 1937.
8. Hoffmann R.: Methodik und Theorie der Chromosomenanalyse beim Haustier. Dysert. dokt. München, 1967.
9. Hsu T., Benirschke K.: An atlas of mammalian chromosomes, 1. Springer-Verlag, 1967.
10. Jankak T.: Medycyna Wet. 10, 83, 1954.
11. Kowarzyk H., Grabiński J., Jagielski J., Wyrost P., Gieron-Zasadzińska M.: Pol. Tyg. lek. 23, 1388, 1968.
12. Makino M.: Mammal. Chromosomes Newsl. 9, 5, 1963.
13. Moor K.: The sex chromatin. WB. Saunders Company, 1966.
14. Niżankowski C.: Zeszyty Nauk. WSR we Wrocławiu, Wet. 4, 135, 1958.
15. Rauluszkiewicz S., Senze A., Elezow G.: Zeszyty Nauk. WSR we Wrocławiu, Wet. 25, 95, 1969.

16. Rauluszkiewicz S.: Acta Vet. Brno 42, 99, 1973.
17. Steffenn J., Maik H.: Genetica Pol. 7, 1, 1966.
18. Wyrost P., Grabiński J.: Medycyna Wet. 26, 112, 1970.
19. Wyrost P., Grabiński J.: Medycyna Wet. 32, 6, 1976.
20. Wyrost P., Wustinger J.: Pol. Arch. wet. 14, 127, 1971.
21. Wyrost P., Wustinger J.: Pol. Arch. wet. 15, 823, 1972.

Adres autora: Stanisław Rauluszkiewicz, ul. Kożuchowska 1/3, 51-631 Wrocław 12.

Раулушкевич С., Вырост П., Грабинский Я. — **Кариологические исследования крупного рогатого скота страдающего врожденным расположением сердца на шее.**

Кариологические исследования скота с врожденным расположением сердца на шее произвели у одной взрослой коровы nr. 5 и у 2 нетелей (nr. 6 и 7) а также у 6-месячного бычка с нормально расположенным сердцем рожденного коровой nr. 5. Исследования вели по модифицированному методу Moorhead'a. Из коровы приготавливали тканевую культуру на среде Паркера с фитогемагглютинами Difco и с телячьей сывороткой. Митоз прерывали спустя 72 часа при помощи кальцемида. После 4 часов действия кальцемида приготавливали препараты и окрашивали их раствором Гемзы.

Установили, что кариограммы коровы и обеих нетелей являлись нормальными (60,XX); нормальным оказался также кариограмм бычка (60,XY). Половой хроматин в виде телей Барра и палочек барабанщика обнаружили только у коровы и обих нетелей в количестве 12—14% в цитограммах и 12—16% в мазках крови; у бычка полового хроматина не наблюдали. На основании проведенных кариологических исследований авторы приходят к выводу что причиной выше описанной аномалии не можно признать расстройств в структуре хромосом. Самое большое — можно полагать, что локализация сердца на шее могла появиться вследствие воздействия на эмбрион в ранний период его жизни каких то негативных факторов, которые не были в состоянии вызвать у исследуемых животных каких либо заметных изменений в хромосомах за исключением задержки сердца на шее. Заслуживает внимания сохранение некоторыми из исследуемых животных полной способности к репродукции, а также факт не передачи потомству описанной морфологической аномалии.

Rauluszkiewicz S., Wyrost P., Grabiński J. — **Karyological examinations of cattle with situs cervicalis cordis congenitus.**

Karyological examination of cattle with situs cervicalis cordis congenitus were carried out in one cow (No 5) and two heifers (No 6 and 7). In addition, the same examination was performed in a six-month old bull-calf with normal position of the heart (son of cow No 5). The assessment was done by means of modified Moorhead's method. Blood was used for tissue culture covered by Parker's medium with calf serum and was stimulated with „Phytohaemagglutinin M". After 72 hours Colcemid was added to inhibit mitosis, and 4 hrs later the culture was ended. The preparations were stained with Giemsa solution. The karyograms of the cow and both heifers were normal (60, XX), and so was that of the bull-calf (60, XY). Sex chromatin in the form of Barr bodies and drumsticks were found in the cow and both heifers at 12—14% in cytograms, and at 12—16% in blood smears. On the strength of the findings the authors believe that the anomaly in the animals could have appeared in their early life due to the action of some undetermined factors, which were unable to bring about any perceptible changes in the structure of their chromosomes apart from stopping the development of the heart on the neck. It was of interests that the animals preserved full reproductive efficiency and did not transmit any of their own disturbances in the morphological development to their offsprings.