

## МЕТАБОЛИТИ ASCARIS SUUM – МУТАГЕНИ СОМАТИЧНИХ КЛІТИН СВИНЕЙ

*В.В.Стибель, кандидат ветеринарних наук, доцент  
Львівська національна академія ветеринарної медицини ім.С.З.Жицького*

*Проведеними дослідженнями встановлено, що аскариси та їх метаболіти викликають цитогенетичні порушення частоти та спектру аберацій хромосом у лімфоцитах крові інвазованих свиней.*

*Установлено, что аскарисы и их метаболиты вызывают цитогенетические нарушения частоты и спектра абераций хромосом в лимфоцитах крови инвазированных свиней.*

**Постановка проблеми.** Цитогенетичний метод аналізу клітин кісткового мозку *in vivo* використовується для виявлення кластогенних або анеугенних чинників середовища, які здатні викликати зміни структури і числа хромосом. Хромосомний аналіз є тестом, що характеризує дію різних за походженням мутагенів на цілісний організм. Він позбавлений очевидних недоліків, пов'язаних із застосуванням штучних систем метаболічної активності *in vitro* [1]. Хромосомні зміни аналізують у метафазах мітотичного поділу клітин проліферуючих тканин [6]. Пошкодження хромосом у експериментальних тварин *in vivo* найчастіше вивчають у лімфоцитах крові, кістковому мозку і соматичних тканинах [3, 4].

**Завдання дослідження.** З даних літератури випливає, що проведення досліджень щодо вивчення хромосомних аберацій в клітинах лімфоцитів крові свиней за розвитку експериментального аскарозу є нагальним і визначає актуальність вивчення цієї проблеми.

**Матеріали і методика дослідження.** Клініко-експериментальні дослідження проведено на 24 поросятах великої білої породи 2- 4- місячного віку. Для досліду у всі групи тварин були відібрані здорові тварини за принципом аналогів (з урахуванням породи, живої маси, віку, статі, розвитку). До зараження та упродовж дослідів групи тварин знаходилися за однакових умов годівлі та утримання. Яйця від статевозрілих аскарисів отримували із калу та культивували до інвазійної стадії за методикою [2].

Тварин розділили на 4 групи по 6 особин у кожній. Поросят першої групи заражали в кількості 500 інвазійних яєць, другої — 750 яєць, третьої — 1000 інвазійних яєць *Ascaris suum* на 1 кг маси тіла тварини. Поросята четвертої групи слугували інтактним контролем. Суміш яєць у 2%-му крохмальному гелі з потрібною концентрацією вводили тваринам за допомогою металевого зонду. Контрольній групі поросят вводили 2% крохмальний гель. Для оцінки стану хромосом як дослідний біологічний матеріал використовували периферичну кров поросят, відібрану на 7-у, 14-у, 21-у, 28-у добу від часу зараження, оскільки вона є найбільш доступним об'єктом досліджень, не потребує їх забою та дає можливість проводити динамічне спостереження за мутагенним навантаженням на геном тварин упродовж тривалого періоду життя. Препарати метафазних хромосом із лімфоцитів крові свиней готували за загальноприйнятою методикою [5]. Кров культивували *in vitro* у живильному середовищі ІГЛА з глютаміном та сироваткою крові великої рогатої худоби. У якості стимулятора проліферації використовували фітогемаглютинін фірми “Difco” у стандартному розведенні. Облік аберацій хромосом проводили згідно з рекомендаціями.

**Результати дослідження.** Дослідженнями каріотипу клітин лімфоцитів периферичної крові контрольних поросят було встановлено, що кількість гіпоплоїдних клітин складала від  $0,8 \pm 0,23$  до  $1,4 \pm 0,17$  %, гіперплоїдних від  $0,6 \pm 0,22$  до  $0,8 \pm 0,05$  %, аберантних — від  $0,8 \pm 0,22$  до  $1,2 \pm 0,19$  %.

При зараженні у кількості 500 інвазійних яєць на 1 кг маси тіла у експериментальних тварин на 7-у добу інвазії відсотки аберантних і гіперплоїдних клітин у 3,0 і 1,8 ( $P < 0,01$ ) рази відповідно перевищували контрольні показники, кількість гіпоплоїдних клітин була в 1,3 рази вищою за контроль.

На 14-у добу інвазії відсоток гіпоплоїдних клітин був у 2,2 рази вище від контрольного показника ( $P < 0,05$ ), рівень аберантних клітин у 3,1 рази вірогідно був вищим, ніж у контрольній групі ( $P < 0,01$ ). До 21-ї доби спостережень відсоток гіпоплоїдних клітин був у 2,3 рази вищим, ніж у контролі. Кількість аберантних клітин перевищувала у 5,4 ( $P < 0,001$ ) і гіперплоїдних у 2,0 рази

ці величини у контрольних тварин ( $P < 0,01$ ). На 28-у добу рівні гіпоплоїдних, гіперплоїдних і аберантних клітин були у 1,7, 2,2 і 3,3 рази, відповідно, вище контрольних показників.

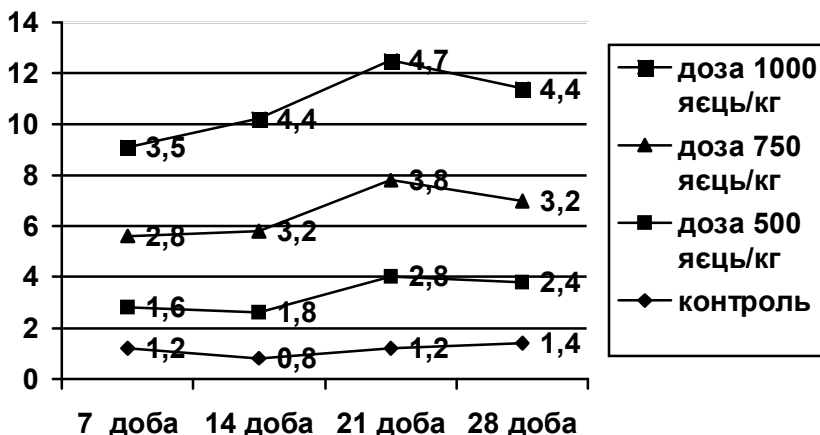


Рис. 1. Частота виявлення гіпоплоїдних клітин у лімфоцитах крові поросят, заражених в дозі 500, 750 і 1 тис яєць аскарисів/кг

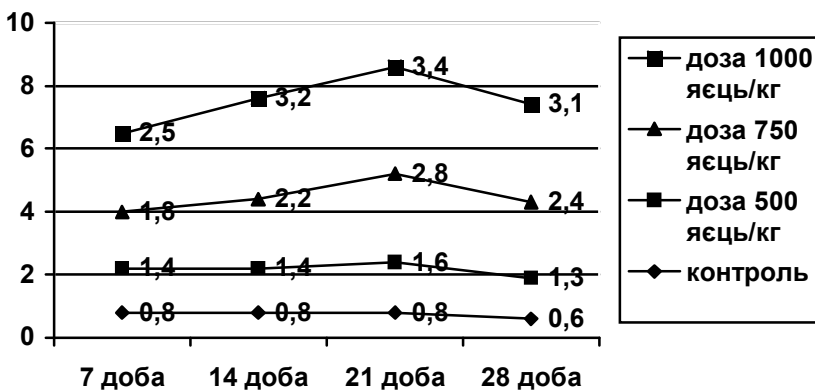


Рис. 2. Частота виявлення гіперплоїдних клітин у лімфоцитах крові поросят, заражених в дозі 500, 750 і 1 тис. яєць аскарисів/кг

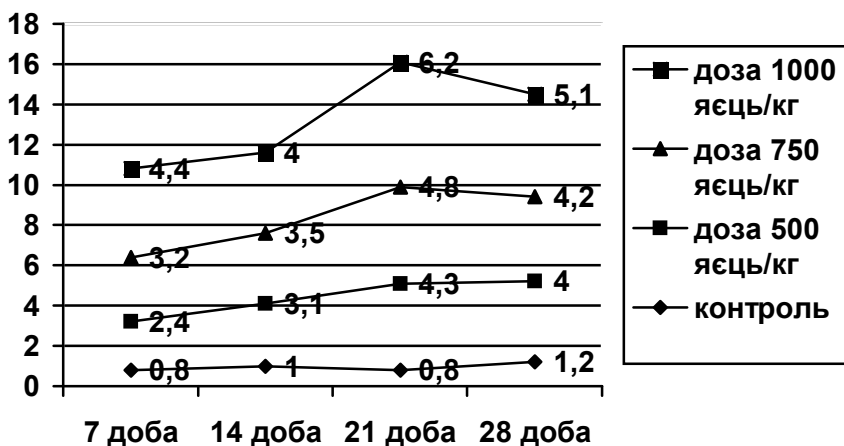


Рис. 3. Частота виявлення аберантних клітин у лімфоцитах крові поросят, заражених в дозі 500, 750 і 1 тис яєць аскарисів/кг

Після зараження дослідних тварин у дозі 750 інвазійних яйцець на 1 кг маси тіла тварин до 7-ї доби інвазії кількість гіпоплоїдних у 2,3 ( $P < 0,01$ ), гіперплоїдних у 2,3 і аберантних у 4,0 рази вірогідно перевищували контрольні величини ( $P < 0,001$ ). На 14-у добу інвазії всі показники незначно зросли, за цих умов відсоток гіпоплоїдних клітин був у 4,0 ( $P < 0,01$ ) рази вище контрольного показника. Рівень аберантних клітин у 3,5 рази був вірогідно вищим, ніж у контрольній групі ( $P < 0,001$ ). До 21-ї доби спостереження відсоток гіпоплоїдних клітин зріс у 3,2 рази ( $P < 0,01$ ). Кількість аберантних клітин перевищувала у 6,0, гіперплоїдних у 3,5 рази ці величини у контрольних тварин ( $P < 0,001$ ). На 28-у добу рівні гіпо- та гіперплоїдних клітин були у 2,3 і 4,0 рази вірогідно вище контрольних показників ( $P < 0,01$ ). Кількість аберантних клітин була у 3,5 рази більша, ніж у контролі ( $P < 0,001$ ).

Підвищення інвазійної дози до 1000 яєць на 1 кг маси тіла тварин характеризувалося до 7-ї доби досліді вірогідним підвищенням кількості гіпоплоїдних клітин у 2,9 ( $P < 0,001$ ), гіперплоїдних у 3,1 ( $P < 0,001$ ) та аберантних у 5,5 раз ( $P < 0,001$ ). До 14-ї доби експерименту кількість гіпоплоїдних клітин складала  $4,4 \pm 0,36$  %, гіперплоїдних  $3,2 \pm 0,28$  %, аберантних клітин —  $4,0 \pm 0,39$  %,

рівень вірогідності становив ( $P < 0,001$ ). На 21-у добу інвазії рівень гіпоплідних клітин у 3,9, гіперплідних у 4,3 і аберантних у 7,7 рази був вищим, ніж у контрольній групі ( $P < 0,001$ ). До 28-ї доби інвазії кількість гіпоплідних та аберантних клітин дещо зменшувалася і становила відповідно  $4,4 \pm 0,36$  %,  $3,1 \pm 0,14$  % та  $5,1 \pm 0,48$  % ( $P < 0,001$ ).

Отже, у первинному патогенетичному механізмі за розвитку експериментального аскарозу поряд з фізіологічними виникають генетичні зміни соматичних клітин з ознаками “хромосомних хвороб”.

### **Висновки.**

1. Цитогенетичний аналіз частоти та спектру аберацій хромосом показав, що метаболіти нематоди *Ascaris suum* призводять до підвищення рівня хромосомних аберацій у лімфоцитах крові поросят.
2. Підвищення рівня хромосомних аберацій у лімфоцитах периферичної крові з 7-ої до 28-ої доби інвазії можливо пов'язано із високою біологічною активністю паразитів і виділенням великої кількості метаболітів безпосередньо у тканини хазяїна.
3. Зниження кількості хромосомних аберацій у лімфоцитах периферичної крові на 28-у добу зараження можливо є наслідком зменшення виділення екскреторно-секреторних метаболітів личинками, спричинене зниженням їх біологічної активності.

### **ЛІТЕРАТУРА**

1. Гигиенические критерии состояния окружающей среды 51: Руководство по краткосрочным тестам для выявления мутагенных и канцерогенных химических веществ / Совместное издание Программы ООН по окружающей среде, МОТ и ВОЗ.- Женева: Изд-во "Медицина", 1989.-212 с.
2. Котельников Г.А. Гельминтологические исследования животных и окружающей среды. - М.: Колос, 1984. - С. 60-61.
3. Стибель В.В. Экспериментальный аскаридоз: цитогенетичні, імунологічні та біохімічні зміни у поросят і показники мутагенності *Ascaris suum* та авермектинів: Автореф. дис.... канд. вет. наук. - Біла Церква, 1996.- 21с.
4. Galloway S.M. Cytotoxicity and Chromosome Aberrations In Vitro: Experience to Industry and the Case for an Upper Limit on Toxicity in the Aberration Assay // Mutat. Res. Fund. and Mol. Mech. of Mutagen. -2000. -Vol 35. -P. 191-201.
5. Moorhead P.S., Nowell P.C., Mellman W.J., Battips D.M., Hungerford D.A. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. Exp. Cell Res., - 1960. - Vol. 20. - P. 613-616.
6. Natarajan A.T. Chromosome aberrations: past, present and future // Mutat. Res. Fund. and Mol. Mech. of Mutagen. -2002. - Vol. 504. -P. 3-16.