

УДК 619:639.3.636.09:576.353:639.371.5

Тафійчук Р.І., к. вет. н., доцент кафедри паразитології та іхтіопатології ©

Юськів І.Д., д. вет. н., професор кафедри паразитології та іхтіопатології
Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій
ім. С.З. Гжицького**ВПЛИВ МІГРУЮЧИХ ЛИЧИНОК PHILOMETROIDES CYPRINI НА
ПОКАЗНИКИ МІТОТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ В СОМАТИЧНИХ
КЛІТИНАХ КОРОПА (CYPRINUS CARPIO L.)**

*Представлено результати експериментальних досліджень початкової фази філометроїдозу коропа, яка пов'язана з міграцією личинок *Philometroides cyprini*. Встановлено, що міграції личинок філометроїдес спричиняють порушення мітотичної активності, яка проявляється в зміні фаз мітозу: профазі, метафазі, анафазі, телофазі у селезінці, зябрах, нирках, кишечнику коропа та в збільшенні загального рівня патологічних мітозів.*

Ключові слова: *короп, філометроїдоз, мітотична активність, хромосоми, селезінка, зябра, нирки, кишечник, соматичні клітини.*

Вступ. Мутагенна небезпека паразитів і питання про їх роль в хромосомній патології залишається невивченим [1, 2, 3]. Гельмінтози риб, зокрема філометроїдоз коропа (*Philometroides cyprini* Ishii, 1931; син. *Philometroides lusiana* Vismanis, 1966) [4] широко розповсюджений як в природних водоймах, так і в рибницьких ставах, що викликає інтерес з дослідження їх здатності викликати пошкодження геному хазяїна. На сьогоднішній день досліджень на коропі у цьому напрямку не проводилось, не зважаючи на те, що такі дані необхідні для проведення селекційно-плеємної роботи і виведення порід коропа, резистентних до гельмінтів, а також пошуку специфічного лікування.

Тому **метою даної роботи** було вивчити каріопатичні наслідки під впливом мігруючих личинок *Philometroides cyprini* на соматичні клітини коропа.

Матеріал і методи. Об'єктом дослідження був короп-дворічка, живою масою 230-280 г, експериментально заражений личинками *Philometroides cyprini*. Зараження коропа личинками *Philometroides cyprini* проводили ентеральним уведенням інвазованих рачків-циклопів в кількості 60-80 штук на рибу за допомогою сечостатевого катетера. Результативність зараження риб контролювали компресійним методом досліджуючи органи на наявність в них мігруючих личинок *Philometroides cyprini* третьої стадії [5, 6, 7]. Всього було сформовано п'ять груп дослідних і стільки ж контрольних груп, кожна з яких налічувала 10 риб. Досліди ставилися в протічних, добре аерованих басейнах при температурі 20°C. Для цитогенетичних досліджень у риб відбирались куски тканин зі селезінки, нирок, кишечника, зябер на 7-у, 15-у, 21-у, 30-у і 60-у добу інвазії. Для вивчення мітотичної активності популяцій соматичних клітин

користувалися загальноприйнятою методикою [8]. Статистичну обробку одержаних цифрових даних проводили на комп'ютері. Результати середніх значень вважали статистично вірогідними при $p < 0,05$ -*, $p < 0,01$ - ** та $p < 0,001$ - ***.

Результати дослідження При клінічному спостереженні коропа, інвазованого личинками філометроїдес встановлено, що найбільші зміни в поведінці спостерігались з 7-ої по 21-у добу інвазії. У риб відзначали плавальні рухи по колу на поверхні води акваріумів, збуджений стан, риби часто лягали на бік. Описана поведінка після 21-ї доби інвазії зникла і більше не спостерігалась.

При мікроскопічному дослідженні препаратів, отриманих від дослідних і контрольних груп риб на 7-у добу інвазії із селезінки, зябра, нирок та кишечника показало, що між ними спостерігалась істотна різниця (табл 1). Так, вірогідно зростає в усіх органах дослідної групи кількість анафаз і телофаз та зменшується кількість профаз і метафаз ($P < 0,001$). Мітотичний індекс у вищеназваних органах коропа дослідної групи не відрізнявся від контрольної, проте коефіцієнт фаз знижувався.

Таблиця 1

**Показники мітотичної активності органів коропа
на 7-у добу міграції личинок філометроїдес ($M \pm m, p$)**

Групи риб	Органи коропа	Фази мітозів %				Мітотичний індекс (МІ) %	Коефіцієнт фаз (КФ)%
		Профази	Метафази	Анафази	Телофази		
Контроль (n=10)	селезінка	47,6±0,45	41,4±0,40	12,3±0,20	1,7±0,20	10,3	0,63
	зябра	49,0±0,50	36,0±0,30	14,1±0,25	1,2±0,15	10,03	0,55
	нирки	50,2±0,55	38,8±0,35	10,3±0,35	1,1±0,20	10,04	0,70
	кишечник	51,6±0,40	38,3±0,40	10,1±0,20	2,1±0,20	10,21	0,54
Дослід (n=10)	селезінка	40,1±0,35 ***	38,5±0,25 ***	13,6±0,20 ***	8,5±0,30 **	10,07	0,35
	зябра	38,1±0,40 ***	37,1±0,40 *	18,5±0,25 ***	6,9±0,20 ***	10,06	0,29
	нирки	38,1±0,45 *	40,2±0,35 ***	15,5±0,35 ***	7,1±0,15 ***	10,09	0,34
	кишечник	15,8±0,40	38,2±0,35	38,4±0,25 **	8,1±0,25 ***	10,05	0,116

При цьому кількість патологічних мітозів і їх рівень порівняно з контролем вірогідно збільшується у 1,5-3,5 раза (рис. 1). Серед них найбільш часто зустрічались такі види, як відставання хромосом в метафазі, анафазі та анафазні мости.

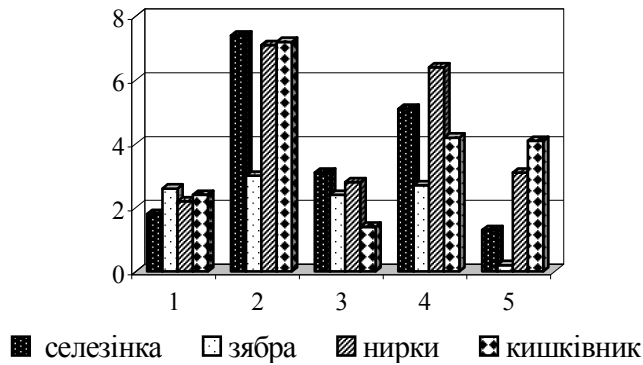


Рис. 1. Патологічні мітози, зв’язані з пошкодженням хромосом (n=10) на 7-у добу міграції личинок філометроїдес.

Відставання хромосом: 1 – в метафазі (контроль); 2 – в метафазі (дослід); 3 – в анафазі і телофазі (контроль); 4 – в анафазі і телофазі (дослід); 5 – Фрагментація хромосом (%).

При дослідженні органів коропа на 15-у добу інвазії у другій дослідній групі також встановлено достовірне зниження кількості профаз у всіх органах і збільшення анафаз і телофаз ($p < 0,001$) порівняно з контролем (табл. 2). Проте кількість метафаз змінювалася невірогідно. Мітотичний індекс, як і в попередній групі, був майже незмінним і коливався від 10,06% до 10,18%. Коефіцієнт фаз знижувався у всіх досліджуваних органах майже в 2,5 раза.

Однак вірогідно зростав рівень патологічних мітозів порівняно з контролем (рис. 2) у різних органах він коливався неоднаково. Найменше зріс у зябрах – в 1,3 раза проти контрольної групи, а найбільше – селезінці, нирках, кишечнику – в середньому у 5 разів.

Таблиця 2

Показники мітотичної активності органів коропа на 15-у добу міграції личинок філометроїдес (M±m, p)

Групи риб	Органи коропа	Фази мітозів %				Мітотичний індекс (MI) %	Коефіцієнт фаз (КФ)% ₀₀
		Профази	Метафази	Анафази	Телофази		
Контроль (n=10)	селезінка	47,5±0,50	39,8±0,40	13,0±0,20	1,6±0,20	10,19	0,59
	зябра	48,5±0,45	38,2±0,35	13,1±0,25	1,1±0,10	10,09	0,61
	нирки	50,4±0,50	38,1±0,13	11,2±0,20	2,6±0,15	10,23	0,64
	кишечник	50,8±0,40	39,0±0,40	10,1±0,15	1,5±0,10	10,14	0,54
Дослід (n=10)	селезінка	38,2±0,40 ***	39,3±0,25	16,3±0,35 ***	8,0±0,25 ***	10,18	0,32
	зябра	35,5±0,35 ***	37,2±0,40	20,3±0,20 ***	7,5±0,20 ***	10,05	0,26
	нирки	21,1±0,25 ***	38,1±0,45	35,51±0,40 ***	7,1±0,30 ***	10,18	0,139
	кишечник	17,5±0,20 ***	38,5±0,40	36,5±0,25 ***	8,1±0,30 ***	10,06	0,125

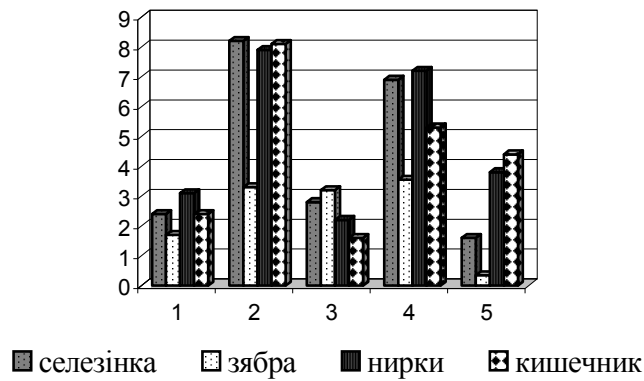


Рис. 2. Патологічні мітози, зв’язані з пошкодженням хромосом (n=10) на 15-у добу міграції личинок філометроїдес.

Відставання хромосом: 1 – в метафазі (контроль); 2 – в метафазі (дослід); 3 – в анафазі і телофазі (контроль); 4 – в анафазі і телофазі (дослід); 5 – Фрагментація хромосом (%).

На 21-у добу інвазії коропа личинками філометроїдес (табл. 3) цитогенетичні показники в органах третьої дослідної групи були подібні до показників двох попередніх дослідних груп тобто зменшувались профази і збільшувались анафази і телофази в усіх дослідних органах ($p < 0,001$). Рівень патологічних мітозів порівняно з контролем зростав у в 4,5 раза у нирках і в 5,5 раза в кишечнику. Найменший рівень їх зростання спостерігався у зябрах – в 1,5 раза (рис. 3). Мітотичний індекс порівняно з контролем мав недостовірну різницю, а коефіцієнт фаз знижувався.

Таблиця 3

Показники мітотичної активності органів коропа на 21-у добу міграції личинок філометроїдес ($M \pm m, p$)

Групи риб	Органи коропа	Фази мітозів %				Мітотичний індекс (МІ) %	Коефіцієнт фаз (КФ) %
		Профази	Метафази	Анафази	Телофази		
Контроль (n=10)	селезінка	48,0±0,45	40,1±0,40	13,5±0,25	1,5±0,10	10,31	0,59
	зябра	49,2±0,50	37,1±0,45	14,6±0,20	1,3±0,15	10,22	0,54
	нирки	50,9±0,55	37,8±0,35	11,2±0,15	1,4±0,10	10,13	0,70
	кишечник	50,5±0,40	39,1±0,40	10,1±0,20	2,0±0,20	10,17	0,74
Дослід (n=10)	селезінка	14,8±0,20***	40,1±0,45	38,5±0,30***	8,1±0,20***	10,15	0,12
	зябра	15,3±0,30***	38,0±0,35	40,6±0,25***	7,5±0,25***	10,14	0,11
	нирки	16,2±0,25***	38,5±0,35	38,7±0,25***	8,2±0,15***	10,16	0,12
	кишечник	15,5±0,25***	37,5±0,45	38,5±0,40***	8,8±0,20***	10,03	0,11

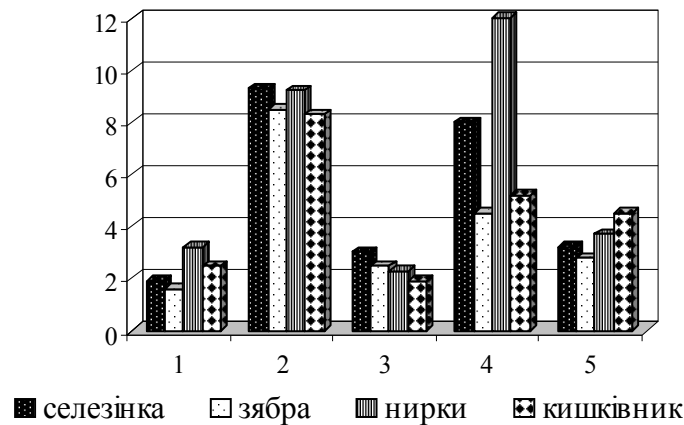


Рис. 3. Патологічні мітози, зв’язані з пошкодженням хромосом (n=10) на 21-у добу міграції личинок філометроїдес.

Відставання хромосом: 1 – в метафазі (контроль); 2 – в метафазі (дослід); 3 – в анафазі і телофазі (контроль); 4 – в анафазі і телофазі (дослід); 5 – Фрагментація хромосом (%).

Таблиця 4

Показники мітотичної активності органів коропа на 30-у добу міграції личинок філометроїдес (M±m, p)

Групи риб	Органи коропа	Фази мітозів %				Мітотичний індекс (МІ) %	Коефіцієнт фаз (КФ)%
		Профази	Метафази	Анафази	Телофази		
Контроль (n=10)	селезінка	48,5±0,45	41,1±0,50	13,1±0,30	1,4±0,15	10,41	0,62
	зябра	49,3±0,55	37,1±0,35	14,5±0,25	1,2±0,20	10,24	0,55
	нирки	51,2±0,55	37,7±0,40	11,2±0,20	1,9±0,10	10,20	0,68
	кишечник	51,8±0,40	38,8±0,45	9,9±0,45	2,1±0,15	10,26	0,75
Дослід (n=10)	селезінка	31,0±0,40***	40,5±0,55	26,1±0,35***	7,1±0,25***	10,47	0,20
	зябра	29,3±0,35***	36,4±0,40	28,5±0,30***	7,9±0,30***	10,21	0,18
	нирки	30,8±0,30***	37,1±0,35	26,8±0,45***	8,2±0,35***	10,29	0,19
	кишечник	25,2±0,35***	37,5±0,30	32,5±0,30***	6,1±0,25***	10,17	0,16

На 30-у добу інвазії коропа личинками філометроїдес у четвертій дослідній групі між цитогенетичними показниками контрольної і дослідної групи спостерігалась тенденція до вирівнювання співвідношень профаз, метафаз, анафаз і телофаз, однак різниця була достовірною у всіх органах (табл. 4). Коефіцієнт фаз продовжував залишатись низьким порівняно з контролем. Проте почав знижуватись рівень патологічних мітозів у порівнянні з

попередніми дослідними групами коропа. В середньому він зростав до 3,0 разів (рис. 4).

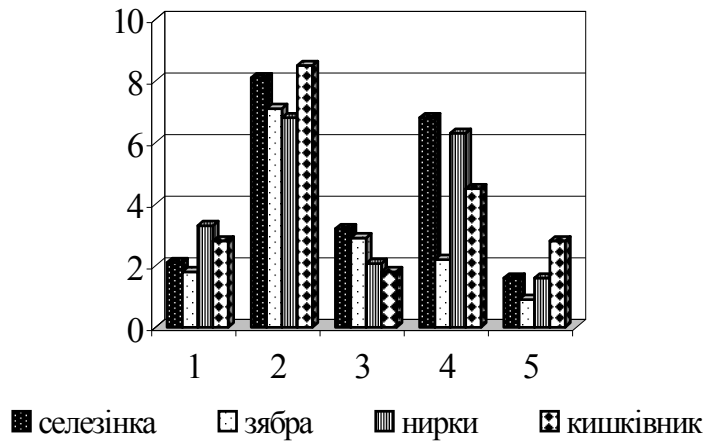


Рис. 4. Патологічні мітози, зв’язані з пошкодженням хромосом (n=10) на 30-у добу міграції личинок філометроїдес.

Відставання хромосом: 1 – в метафазі (контроль); 2 – в метафазі (дослід); 3 – в анафазі і телофазі (контроль); 4 – в анафазі і телофазі (дослід); 5 – Фрагментація хромосом (%).

Слід відзначити, що на 60-ту добу інвазії коропа личинками філометроїдес в цитогенетичних показниках досліджуваних соматичних клітинах із селезінки, зябер, нирок та кишечника в порівнянні з контролем не було виявлено будь-яких вірогідних змін (див. табл. 5, рис. 5).

Таблиця. 5

Показники мітотичної активності органів коропа на 60-у добу міграції личинок філометроїдес (M±m, p)

Групи риб	Органи коропа	Фази мітозів %				Мітотичний індекс (МІ) %	Коефіцієнт фаз (КФ)%
		Профази	Метафази	Анафази	Телофази		
Контроль (n=10)	селезінка	48,8±0,55	39,6±0,45	12,2±0,25	1,5±0,20	10,20	0,64
	зябра	49,0±0,50	37,5±0,40	13,2±0,20	1,9±0,25	10,16	0,57
	нирки	50,2±0,45	37,5±0,35	11,1±0,30	2,5±0,20	10,13	0,64
	кишечник	51,3±0,55	38,4±0,40	9,8±0,35	2,3±0,25	10,18	0,74
Дослід (n=10)	селезінка	48,2±0,50	39,1±0,40	12,8±0,25	1,6±0,25	10,17	0,60
	зябра	48,5±0,45	36,9±0,30	14,0±0,30	2,0±0,35	10,15	0,53
	нирки	50,0±0,55	37,2±0,35	11,8±0,35	2,6±0,30	10,16	0,60
	кишечник	51,5±0,50	37,8±0,45	10,1±0,30	2,1±0,25	10,15	0,70

Висновки.

1. При експериментально відтвореній міграційній формі філометроїдозу встановлено вплив личинок *Philometroides surpinii* на цитогенетичні показники

мітотичної активності популяції соматичних клітин органів коропа, яка проявляється у порушенні співвідношень фаз мітозу в селезінці, зябрах, нирках, кишечнику, які є кровотворними та імунокомпетентними.

2. Мігруючі личинки *Philometroides* *сурґіні* здатні індукувати мутації в соматичних клітинах коропа викликаючи вірогідне підвищення рівня патологічних мітозів та зміну коефіцієнта фаз.

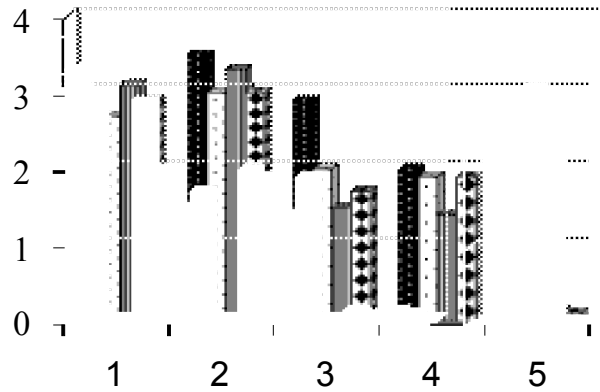


Рис. 5. Патологічні мітози, зв'язані з пошкодженням хромосом (n=10) на 60-у добу міграції личинок філометроїдес.

Відставання хромосом: 1 – в метафазі (контроль); 2 – в метафазі (дослід); 3 – в анафазі і телофазі (контроль); 4 – в анафазі і телофазі (дослід); 5 – Фрагментація хромосом (%).

Перспективи подальших досліджень будуть спрямовані на вивчення морфологічних змін органів імуногенезу коропа за міграції личинок філометроїдес.

Література

1. Степанов А.В. Характеристика хромосомного апарата хозяина при трихоцефалезной инвазии / А.В. Степанов : материалы XI конф. Укр. общ. паразитологов. – К. – 1993. – С. 156.
2. Декларацийний патент України на винахід № 34814 А від 15.03.2001. Спосіб виготовлення прямих препаратів метафазних хромосом риб / Секретарюк К.В., Тафійчук Р., Седнева І.А; заявник і патентовласник ЛДАВМ ім.. С.З. Гжицького. – 4 с.
3. Сивкова Т.Н. Кариопатическое действие соматического экстракта личинок анизакид на костный мозг мышей и протективное действие витаминов – антиоксидантов / Т.Н. Сивкова // Российский паразитологический журнал. – 2008. – № 4 – С.63-67.

4. Moravec F., Cervinka S. Female morphology and systematic status of *Philometroides cyprini* (Nematoda: Philometridae), a parasite of carp // *Dis Aquat Org.* – 2005. – Vol. 67. – P. 105–109.

5. К изучению цикла развития *Philometroides lusiana* Vismanis [Ивасик В.М., Сковронский Р.В., Свирепо Б.Г., Ворона К.И.]; Проблемы паразитологии. – К.: Наукова думка, 1967. – С. 462.

6. Васильков Г.В. Филометроидоз карпов: автореф. дисс. на соискание учен. степени док. вет. наук. – Москва, 1973. – 40 с.

7. Висманис К.О. Цикл развития возбудителя филометроидоза и физиологическое состояние карпов / К.О. Висманис // Рыбохоз. исслед. в басс. Балт. моря. – Рига: Зинатне, 1981. – № 16. – С. 75-81.

8. Руководство по изучению генетических эффектов в популяции человека. – Женева: ВОЗ, 1989. – 121 с. 9

P.I. Tafiychuk, I.D. Yuskiv, Lviv State National University of Veterinary Medicine and Biotechnology named after S.Z. Gzhytskyj, Lviv, Ukraine

THE IMPACT OF MIGRATION LARVAE PHILOMETROIDES ON CYPRINI SCORE OF MITOTIC ACTIVITY OF SOMATIC CELL CARP (CYPRINUS CARPIO L.)

Summary

The results of experimental studies initial phase philometroidosis carp that related to migration of larvae Philometroides cyprini. Found that of migration of larva philometroidosis violation mitotic activity, which in manifested in the changing phases of mitosis: prophase, metaphase, anaphase, telophase, in the spleen, gills, kidneys, of carp and increase the overall level of pathological mitosis.

Стаття надійшла до редакції 20.04.2010.