

УДК 619:616.99:636.028/1

Штрикуль Н.С., аспірантка, **Джус П.П.**, аспірантка,[©]
(E-mail: natali-ltava@mai.ru)*Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ***МОРФОЛОГІЧНІ, БІОХІМІЧНІ ТА ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ПОКАЗНИКИ
КЛІТИН КРОВІ І КІСТКОВОГО МОЗКУ ЛАБОРАТОРНИХ МИШЕЙ,
ІНФІКОВАНИХ ЗБУДНИКАМИ КРОВОПАРАЗИТАРНИХ ХВОРОБ
КОНЕЙ**

Проведено біохімічний та морфологічний аналіз крові лабораторних мишей, інфікованих збудниками кровопаразитарних хвороб коней. Встановлено динаміку зміни біохімічних і морфологічних показників залежно від стадії інвазії. Вивчено цитогенетичні ефекти в клітинах кісткового мозку (мікроядерний і хромосомний аналіз лімфоцитів) мишей при інвазії кровопаразитами коней.

Ключові слова: миші, кровопаразитарні захворювання коней, біохімія, морфологія, мікроядра, хромосомні аберації.

На сучасному етапі розвитку конярства досить гостро постає питання щодо масштабів сезонних спалахів інфекційних захворювань даного виду сільськогосподарських тварин. Кровопаразитарні хвороби коней відносять до найбільш розповсюджених хвороб інфекційного блоку [2].

Продукти обміну кровопаразитів та гемолізу еритроцитів мають сильну токсичну дію на організм коней. У тварин спостерігаються біохімічні та морфологічні зміни крові, патологічний процес у серцево-судинній і дихальній системах, розвивається шлунково-кишковий синдром [5]. Поряд з цим, може відбуватися дестабілізація каріотипу соматичних і генеративних клітин організму [4].

Для детального з'ясування клініко-гематологічних, біохімічних і цитогенетичних аспектів патогенезу в динаміці інвазії, з урахуванням важкості перебігу хвороби, доцільним є використання лабораторних тварин, оскільки таким чином, можна зафіксувати час від моменту зараження до появи клінічних ознак і вивчати різного роду порушення на кожній із стадій інвазії.

Тому, **метою** нашої роботи було дослідження морфологічних і біохімічних показників крові та цитогенетичних параметрів клітин кісткового мозку лабораторних мишей, інфікованих збудниками кровопаразитарних хвороб коней.

Матеріали і методи. Для дослідження використовували білих нелінійних лабораторних мишей 2-місячного віку, вагою 23-25 г. Було сформовано дослідну (30 тварин) і контрольну (11 тварин) групи. Тварин першої групи заражали суспензією печінки лабораторних мишей, інвазованих збудниками кровопаразитарних хвороб коней лабораторних мишей. Суспензію вводили в

[©] Наукові керівники – д.вет.н, професор Прус М.П., к.б.н., доцент Костенко С.О.

Штрикуль Н.С., Джус П.П., 2011

об'ємі 1 мл внутрічеревно. Тваринам контрольної групи вводили 0,5 мл 0,9 % ізотонічного розчину натрію хлориду. Перед зараженням, на 14-ту, 21-шу і 28-му добу після зараження у мишей двох груп відбирали кров для приготування мазків і проведення біохімічних та морфологічних досліджень. У мазках крові визначали ступінь ураження еритроцитів (%) збудниками (в 100 полях зору).

Дослідження морфологічних показників крові проводили за загальноприйнятими методиками [1,3]. У сироватці крові визначали вміст глюкози, сечовини, креатиніну, загального білка, активність аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ), амілази, вміст лужної фосфатази і загального білірубину. Для цього був використаний біохімічний аналізатор GBG STAT FAX 1904 PLUS.

На 28-му добу у тотально знекровлених тварин дослідної (n=10) і контрольної (n=6) груп із стегнових кісток вимивали кістковий мозок для приготування цитогенетичних препаратів. При аналізі цитогенетичних препаратів враховували кількість лімфоцитів з мікроядрами (ЛМЯ), двоядерних (ДЯ) і апоптичних клітин (АП), мітотичний індекс. Від кожної тварини аналізували по 3000 клітин. При дослідженні метафазних пластинок встановлювали відсоток анеуплоїдних ($AI=2n\pm 2$) і поліплоїдних (ПП) клітин, хроматидних розривів (ХР), хромосомних фрагментів (ХФ), а також асинхронність розщеплення центромірних районів хромосом (АРЦРХ). У кожної тварини аналізували не менше 30 метафаз. Отримані результати були опрацьовані статистично.

Результати дослідження. Встановлено, що на всіх етапах досліду розвиток захворювання у інвазованих мишей супроводжується певними гематологічними змінами, які залежать від тривалості та інтенсивності інвазії (табл.1).

Таблиця 1

Гематологічні показники мишей при кровопаразитарних захворюваннях, n=5

Показники	Дослідна група			Контрольна група
	14-та доба	21-ша доба	28-ма доба	
Гемоглобін, г/л	95,6±0,2*	110±0,3	110,6±0,6	98,0±0,9
Еритроцити, Т/л	3,4±0,4**	5,52±0,04	7,78±0,1***	5,74±0,4
Лейкоцити, Г/л	11,68±0,2**	7,4±0,1**	8,36±0,1*	9,68±0,6
ШОЕ, мм/год	0,92±0,1	0,92±0,05	0,94±0,04	0,46±0,02
Нейтрофіли, %				
паличкоядерні, %	0,6 ±0,2	0,6±0,4	0,8±0,4	0,4±0,2
сегментоядерні, %	11,0 ±0,3	7,8±0,5	5,4±0,4	29,2±1,2
Еозинофіли, %	0,4± 0,2	0,4±0,2	0,6±0,2	0,8±0,4
Лімфоцити, %	81,6±0,7	78,2±1,9	73,8±1,1***	65,0±1,3
Моноцити, %	5,8±0,4***	5,0±0,3**	5,0±0,4*	3,6±0,2

Примітка: * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001

З таблиці 1 видно, що у крові хворих мишей на 14-ту добу спостерігали різке зниження кількості еритроцитів – 3,4±0,4 Т/л порівняно з контрольною групою – 5,74±0,4 Т/л, тоді як на 28-му добу досліджень кількість еритроцитів збільшилась і становила 7,78±0,1 Т/л, що на 35,5% вище, ніж у тварин контрольної групи.

Проаналізувавши показники вмісту гемоглобіну крові тварин на всіх етапах дослідження, встановили, що на 21-шу і 28-му добу він був на 15% ніж на 14-ту добу – $95,6 \pm 0,2$ г/л ($p < 0,05$). У крові мишей дослідної групи статистично достовірними (при $p < 0,01$) були зміни показників кількості лейкоцитів і моноцитів порівняно з контрольною групою.

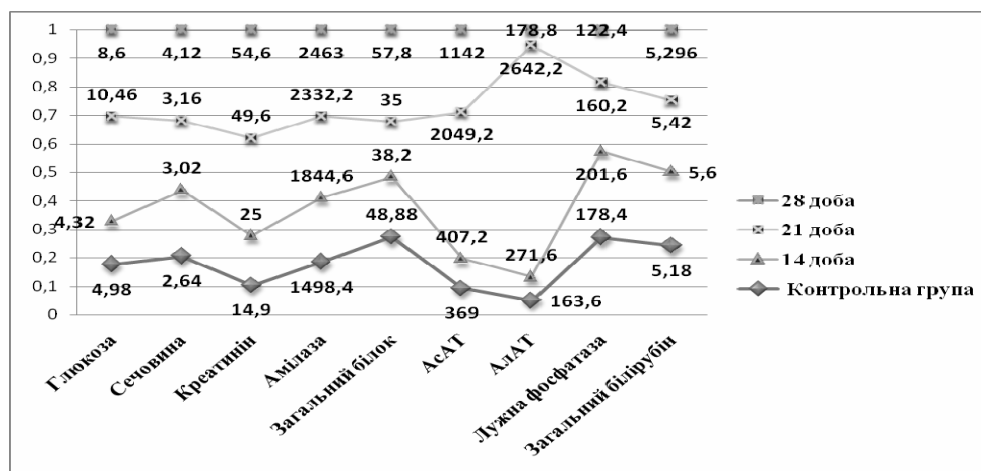


Рис. 1. Динаміка біохімічних показників сироватки крові мишей

Аналізуючи біохімічні показники (рис.1), ми встановили, що такі з них як вміст глюкози, креатиніну, активність амілази, АсАТ, АлАТ у сироватці крові мишей дослідної групи на 21-шу добу були вищими в 2,4; 1,9; 1,3; 5 і 9,7 рази порівняно з аналогічними показниками 14-ї доби досліджень. На 28-му добу спостерігали підвищення активності амілази на 64%. На 14-ту і 21-шу добу відмічено зниження вмісту загального білку порівняно з контрольною групою – ($38,2 \pm 0,9$ г/л, $35 \pm 0,1$ г/л, $48,88 \pm 2,8$ г/л, що статистично достовірно при $p < 0,01$ та $p < 0,001$ відповідно). Вміст сечовини і загального білірубину у крові тварин дослідної групи за весь час досліджень майже не змінювався порівняно з контролем.

Збільшення кількості моноцитів та лімфоцитів у крові мишей дослідної групи може свідчити про активацію імунної системи. Наведені біохімічні показники свідчать про розвиток патологічного процесу з глибокими дистрофічними змінами у паренхіматозних органах.

У табл. 2 наведено результати аналізу цитогенетичних препаратів клітин кісткового мозку мишей на 28-му добу інвазії.

При аналізі цитогенетичних препаратів клітин кісткового мозку мишей виявлено статистично достовірну різницю за частотою анеупloidії (AI) і поліплоїдії (ПП) у тварин дослідної і контрольної груп (при $p < 0,05$) і за хроматидними розривами (XP) (при $p < 0,01$). За АРЦРХ і відсотком

хромосомних фрагментів (ХФ) вірогідність різниці між дослідною і контрольною групою не підтвердилась.

Таблиця 2

Цитогенетичні параметри клітин кісткового мозку мишей дослідної і контрольної груп

Група тварин	У відсотках, %					На 1000 клітин, ‰		
	АІ	ПП	АРЦРХ	ХР	ХФ	МЯ	ДЯ	АП
Дослід (n=10)	339 метафаз					30000 клітин		
	6,92±	2,45±	6,44±	4,91±	3,54±	21,4±	6,4±	15,4±
	1,15*	0,72	1,29	0,94**	0,94	0,84***	0,89*	3,04***
Контроль (n=6)	171 метафаза					15000 клітин		
	3,15±	-	3,04±	1,32±	1,67±	4,11±	1,39±	8,44±
	1,29*	-	1,04	0,62**	0,54	0,45***	0,26*	0,87***

при $p < 0,05$; ** - при $p < 0,01$; *** - при $p < 0,001$

У досліді вірогідно вищими були також частоти лімфоцитів з мікроядрами і апоптичних клітин (при $p < 0,001$) та двоядерних лімфоцитів (при $p < 0,05$) порівняно із значеннями аналогічних показників в контролі.

У тварин двох груп встановлено пряму кореляційну залежність з високим ступенем зв'язку між значенням мікроядерного індексу та відсотком анеуплоїдних клітин ($r = 0,86$ ($p < 0,001$) у дослідній групі, $r = 0,74$ ($p < 0,05$) у контрольній). Це свідчить про формування мікроядер цілими хромосомами при їх втраті під час мітотичного поділу лімфоцитів.

Отже, за результатами цитогенетичного аналізу клітин кісткового мозку мишей, можна вважати, що при інфікуванні організму кровопаразитами на генетичному рівні клітин відбувається порушення структур, що відповідають за розходження хромосом при мітозі. Внаслідок чого підвищується частота утворення анеуплоїдних клітин. Крім того, продукти життєдіяльності збудників кровопаразитарних хвороб можуть порушувати хімічну будову ДНК, що призводить до хроматидних (хромосомних) розривів. Наявність поліплоїдних клітин у інфікованих мишей пояснюється компенсаторно-адаптивним механізмом захисту геному від мутагенів інфекційної природи.

Висновки:

1. У мишей, експериментально заражених збудниками кровопаразитарних хвороб коней, спостерігається активація імунної системи, про що свідчить підвищення у їх крові кількості моноцитів і лейкоцитів порівняно з контролем.

2. Підвищення активності амілази в сироватці крові у 1,6 раза на 28-му добу, вмісту АсАТ і АлАТ – у 5,6 і 16,2 раза відповідно на 21-шу добу досліджень порівняно з контрольною групою свідчить про розвиток патологічного процесу з глибокими дистрофічними змінами у паренхіматозних органах.

3. При інфікуванні організму збудниками кровопаразитарних хвороб виявляється вірогідне підвищення кількості анеу- і поліплоїдних клітин та хроматидних розривів в імунокомпетентних клітинах кісткового мозку мишей.

4. Підвищення частоти лімфоцитів з мікроядрами у інвазованих тварин зумовлюється формуванням останніх окремими хромосомами, втраченими при мітозі. Про це свідчить пряма кореляційна залежність із високою силою зв'язку між мікроядерним індексом і відсотком анеуплоїдних клітин.

Література

1. Атлас ветеринарної гематології / Риган В., Сандерс Т., Деникола Д. – М: Аквариум, 2000. – 136с.

2. Галатюк О.Є. Заразні хвороби коней / Галатюк О.Є. – Житомир: «Волинь», 2003. – 280с.

3. Методичні вказівки: Фізико-хімічні, морфологічні та біохімічні дослідження крові сільськогосподарських тварин / [упорядкув., М.І. Цвіліховський, І.Г. Погурський, В.О. Бондар та ін.]. – К.: НАУ, 2002. – 50с.

4. Пикалова Л. В. Применение цитогенетических методов исследования хромосом в радиологии / Л.В. Пикалова // Молекулярная биология. – Т. 9. – 2007. – С. 160 – 168.

5. Христиановский П.И. Инвазионные болезни лошадей / П.И. Христиановский, И.С. Пономарева. – Оренбург: Издательский центр ОГАУ, 2006. – 108с.

Summary

The biochemical and morphological analysis of a blood of the laboratory mice infected with originators hematozoons of illnesses of horses is carried out. Established dynamics of change of biochemical and morphological indicators depending on an invasion stage. Cytogenetic effects in marrow cells (the micronuclear and chromosomal analysis of lymphocytes) mice are studied at an invasion hematozoons horses.

Key words: mice, hematozoon diseases of horses, biochemistry, morphology, microkernels, chromosomal aberrations.

Стаття надійшла до редакції 20.04.2011