

УДК 591.85:616.99

**ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ МЕТАБОЛІТІВ ЛИЧИНОК *STRONGILOIDES PAPILLOSUS* НА ФОРМУВАННЯ МІКРОЯДЕР В ЕРИТРОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ В ЕКСПЕРИМЕНТІ НА БІЛИХ ЩУРАХ****ШЕНДРИК Х. М.**, к. вет. н.**ШЕНДРИК Л. І.**, к. біол. н.**ШЕНДРИК І. М.**, к. вет. н.Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро  
[shendrikkh@gmail.com](mailto:shendrikkh@gmail.com)

Представлено результати досліджень периферичної крові щурів за експериментального стронгілоїдозу в мікроядерному тесті, які свідчать що продукти метаболізму личинок *Strongyloides papillosus* є мутагенами для організму хазяїна і спричинюють формування мікроядер в його еритроцитах. Ймовірно, висока біологічна активність паразитів і виділення ними значного об'єму секреторно-екскреторних продуктів життєдіяльності спричинює вірогідне збільшення кількості еритроцитів з мікроядрами. Вже на сьомий день експерименту кількість еритроцитів з мікроядрами у крові щурів дослідних груп збільшилось у 2,3 рази у порівнянні з тваринами контрольної групи.

**Ключові слова:** личинки стронгілоїдесів, мікроядерний тест, мутагени, патогенний вплив, стронгілоїдоз.

**Актуальність проблеми.** Гельмінтози й нині залишаються актуальним питанням для тваринництва України. Одним із небезпечних вважають стронгілоїдоз, збудники якого високпатогенні, добре пристосовані до паразитування в організмі різних видів тварин і людини та тривалого існування у навколишньому середовищі [2, 5]. У сучасних наукових дослідженнях особливого значення надають вивченню взаємовідносин «паразит-хазяїн», а саме аспекту мутагенного впливу паразита на спадковий апарат соматичних і генеративних клітин хазяїна. Відомо, що секреторно-екскреторні продукти життєдіяльності стронгілоїдесів, як очевидно і інших гельмінтів є неприродними речовинами для організму хазяїна і певним чином впливають на його фізіологічні процеси [3, 4].

Для з'ясування рівня такого впливу існують цитогенетичні методи, за використання яких можливо реєструвати у ссавців зміни на хромосомному і геномному рівнях організації спадкової інформації. Одним із цитогенетичних методів експрес-оцінки генетичної небезпеки такого впливу паразитів є мікроядерний тест [1, 6].

**Метою** роботи було дослідити мутагенну дію метаболітів *Strongyloides papillosus* в мікроядерному тесті за експериментального стронгілоїдозу на білих щурах, частоту виникнення поліхроматофільних еритроцитів у перифе-

ричній крові для реєстрації нестабільності генному.

**Матеріали і методи досліджень.** Показники мікроядерного тесту визначали на 24 білих щурах-самцях середньою вагою тіла 130 г, яких сформували у 4 групи, по 6 тварин у кожній. Дослідних тварин 1-ї, 2-ї та 3-ї груп заражали, інвазійними личинками *Strongyloides papillosus* відповідно, у кількості – 5, 10 і 20 інвазійних личинок на 1 г маси тіла. Щури 4-ї групи (інтактні) були контролем. Суміш дослідної концентрації личинок у 2%-й крохмальній суспензії в об'ємі 0,2 мл вводили тваринам перорально за допомогою гумового зонда. Щурам контрольної групи задавали чисту крохмальну суспензію у такому ж об'ємі. Визначення змін в еритроцитах щурів проводили на 7-у, 14-у, 21-у та 42-у доби після їх зараження личинками *Strongyloides papillosus*.

Для визначення змін в еритроцитах, краплю крові наносили на предметне скельце, змішуючи її з краплею 10%-го розчину натрію цитрату і готували мазки. Готові мазки, висушували на повітрі, фіксували в метанолі та фарбували за Романовським. За допомогою мікроскопа (зб. 90×10) рахували кількість мікроядерних нормохроматофільних еритроцитів на 1000 клітин кожного мазка. Мікроядрами в кров'яних клітинах вважали помітні великі утворення з діаметром 1/5–1/20 величини еритроцита. Результати дослідження виражали у проміле (‰).

Аналіз препаратів із різних серій дослідів показав, що в еритроцитах периферичної крові білих щурів різних груп мікроядра виявлялися з різною частотою у неоднакові доби дослідів.

Так, вивчення периферичної крові білих щурів контрольної групи показало, що кількість еритроцитів з мікроядрами коливалась від  $1,0 \pm 0,48$  до  $1,3 \pm 0,33$  у 1000 еритроцитах протягом 42-х діб дослідження. У крові щурів 1-ї дослідної групи, заражених інвазійними личинками стронгілоїдесів у кількості 5 екз./г маси тіла, вже на 7-у добу дослідження частота виявлення еритроцитів із мікроядрами не-

значно відрізнялась від такого ж показника у щурів контрольної групи і становила  $1,2 \pm 0,45$  на 1000 еритроцитів. На 14-у добу кількість еритроцитів з мікроядрами зросла до  $2,2 \pm 0,52$  %, а до 21-ї доби кількість мікроядер в еритроцитах вірогідно перевищувала цей показник у тварин контрольної групи у 2,6 рази ( $p < 0,05$ ). На 42-у добу дослідів кількість еритроцитів з мікроядрами становила  $2,6 \pm 0,74$  %, що вірогідно не відрізнялося від таких показників у щурів контрольної групи (таблиця).

**Таблиця. Кількість еритроцитів із мікроядрами у периферичній крові білих щурів, заражених інвазійними личинками стронгілоїдесів, проміле %, ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )**

Доба дослідів	Група тварин, кількість личинок на 1 г маси тіла			
	контрольна	Перша дослідна, 5 лич./г м. т.	Друга дослідна, 10 лич./г м. т.	Третя дослідна, 20 лич./г м. т.
7	$1,10 \pm 0,37$	$1,20 \pm 0,45$	$2,50 \pm 0,46^*$	$3,60 \pm 0,74^*$
14	$1,30 \pm 0,33$	$2,20 \pm 0,52$	$3,70 \pm 0,64^{**}$	$5,90 \pm 0,38^{***}$
21	$1,20 \pm 0,71$	$3,10 \pm 0,28^*$	$5,40 \pm 0,62^{**}$	$7,70 \pm 0,92^{***}$
42	$1,00 \pm 0,48$	$2,60 \pm 0,74$	$4,70 \pm 0,82^{**}$	$5,00 \pm 0,91^{**}$

Примітки: \* $p < 0,05$  – порівняно з контрольною групою; \*\* $p < 0,01$  – порівняно з контрольною групою; \*\*\* $p < 0,001$  – порівняно з контрольною групою

При зараженні лабораторних щурів суспензією з вмістом *Strongyloides papillosus* у дозі 10 личинок на 1 г маси тіла до 7-ї доби розвитку інвазії частота виявлення еритроцитів із мікроядрами у 2,3 рази перевищувала показники у тварин контрольної групи ( $p < 0,05$ ). До 14-ї доби експерименту в інвазованих тварин кількість еритроцитів з мікроядрами перевищувала у 2,8 рази, показники у контролі ( $p < 0,01$ ). Кількість еритроцитів з мікроядрами на цей час становила у середньому  $3,70 \pm 0,64$  %. На 21-у добу інвазії кількість еритроцитів із мікроядрами в 4,5 рази перевищувала показники у контрольних щурів ( $p < 0,01$ ). До 42-ї доби в інвазованих тварин кількість еритроцитів із мікроядрами дещо знизилась і склала  $4,7 \pm 0,82$  % на 1000 еритроцитів ( $p < 0,01$ ), що можна пояснити зниженням кількості життєвих виділень личинок або формуванням толерантності організму лабораторних тварин.

Введення дослідним тваринам суспензії личинок у кількості 20 екз./г маси тіла, мало ще більш помітніші зміни. Так, на 7-у добу розвитку стронгілоїдозної інвазії, кількість еритроцитів з мікроядрами у 3,3 рази ( $p < 0,05$ ) перевищувала контроль. На 14-у добу у дослідних тварин кількість еритроцитів з мікроядрами була у 4,5 рази вища, ніж у контролі ( $p < 0,001$ ), а 21-у добу після зараження кількість еритроцитів із мікроядрами у дослідних щурів у 6,4 рази перевищувала ці показники у тварин контрольної групи ( $p < 0,001$ ).

На 42-у добу дослідів в еритроцитах білих щурів кількість еритроцитів із мікроядрами незначно зменшилась, як і у тварин двох попередніх груп, і склала  $5,0 \pm 0,91$  % ( $p < 0,01$ ).

Таким чином, мікроядра в периферичній крові щурів виявляли з різною частотою в залежності від кількості інвазійних личинок стронгілоїдесів, якими їх заражали та доби до-

сліджень. Найвищу їх частоту виявлено за введення найбільшої кількості личинок (20 лич/г маси тіла щурів) на 21-у добу після зараження.

#### Висновки.

1. Зажиттєві виділення личинок *Strongyloides papillosus* мають мутагенні властивості і здатні спричинювати формування мікроядер-

них еритроцитів у периферичній крові щурів.

2. На 21-у та 42-у доби експерименту, кількість еритроцитів з мікроядрами зменшилась у периферичній крові лабораторних тварин, що, ймовірно, є наслідком зниження рівня зажиттєвих виділень личинок *Strongyloides papillosus*.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Бекиш В. Я. Генетические аспекты взаимоотношений в системе паразит-хозяин при аскаридозе: Тр. науч.-практич. конф. «Ткан. гельминтозы: диагностика, патогенез, клиника, лечение и эпидемиология» / В. Я. Бекиш. – Витебск, 2000. – С. 18–27.
2. Пономар С. І. Ефективність комплексного підходу за постановки діагнозу на стронгілоїдоз / С. І. Пономар, В. П. Гончаренко, О.В. Кручиненко, Х. М. Шендрік // Науковий вісник ветеринарної медицини Білоцерківського національного аграрного університету. – 2014. – Вип.13 (108). – С 190–193.
3. Стибель В. В. Вплив інвазії *Oesophagostomum dentatum* на геном білих нелінійних щурів / В. В. Стибель // Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини імені С. З. Гжицького. – 2005. – Т. 7. – № 3 (26). – ч. 1. – С. 115–122.
4. Стибель В. В. Вплив трихуросної інвазії на частоту виявлення мікроядер в еритроцитах білих нелінійних щурів у мікроядерному тесті / В. В. Стибель // Ветеринарна медицина. – 2005. – Вип. 85. – Т. 2. – С. 1050–1054.
5. Усенко-Шендрік Х.М. Особливості епізоотології стронгілоїдозу худоби в центральній частині України: Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини імені С. З. Гжицького. – 2009. – Т. 11, № 2 (41), ч. 1. – С. 326–328.
6. Schmid W. The micronucleus test / W. Schmid // Mutat. Res.– 1975. – Vol. 31. – № 1. – P. 9–16.

### ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ МЕТАБОЛИТОВ ЛИЧИНОК *STRONGILOIDES PAPILLOSUS* НА ФОРМИРОВАНИЕ МИКРОЯДЕР В ЭРИТРОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА БЕЛЫХ КРЫСАХ

Шендрік К. Н., Шендрік Л. И., Шендрік И. Н.

Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет, г. Днепр

Представлены результаты исследований периферической крови крыс при экспериментальном стронгилоидозе в микроядерном тесте, которые свидетельствуют, что продукты жизнедеятельности личинок *Strongyloides papillosus* являются мутагенами для организма хозяина и провоцируют образование микроядер в его эритроцитах. Вероятно, высокая биологическая активность паразитов и выделение ими большого объема секреторно-экскреторных продуктов жизнедеятельности способствует увеличению количества эритроцитов с микроядрами.

**Ключевые слова:** личинки стронгилоидесов, микроядерный тест, мутагены, патогенное воздействие, стронгилоидоз

### STUDY OF METABOLITES *STRONGILOIDES PAPILLOSUS* LARVAE ON THE FORMATION ERYTHROCYTES MICRONUCLEI IN PERIPHERAL BLOOD IN AN EXPERIMENT ON WHITE RATS

Ch. Shendrik, L. Shendrik, I. Shendrik

Dnipropetrovsk State Agrarian and Economic University, Dnipro

**Background.** Helminthiasis and now are pressing issue for livestock Ukraine. Strongyloidosis find dangerous highly pathogenic, well adapted to parasitism in the body different types of animals and humans and the continued existence in the environment. In the current research of special importance to the study of the relationship

«parasite-host», namely the aspect mutagenic effects on the parasite hereditary apparatus of somatic and generative cells of the host. We know that excretory-secretory products of strongyloides, obviously helminths and other substances are unnatural for the host organism and in some way affect his physiological processes.

To determine the level of such effects are cytogenetic methods, the use of which may be registered in mammalian chromosomal changes in the levels of genomic and genetic information. One of cytogenetic techniques of rapid assessment of the genetic dangers of such exposure are parasites micronucleus test.

**Objective.** The aim was to investigate the mutagenic metabolites *Strongyloides papillosus* in the micronucleus test experimentally for strongyloidosis on white rats, the incidence of polihromatofil red blood cells in peripheral blood for the registration of genomic instability.

**Methods.** Indicators micronucleus test was determined by 24 white male rats an average body weight of 130 g, which formed 4 groups of 6 animals each. Experimental animals the 1st, 2nd and 3rd groups infected, invasive larvae *Strongyloides papillosus* respectively, in the number – 5, 10 and 20 infective larvae per 1 g weight. Rats 4th group (intact) were controlled. A mixture of experimental concentrations of larvae in 2 % starch suspension in a volume of 0.2 ml was administered orally to animals with a rubber probe. Rats in the control group asked a pure starch slurry in the same volume. Determination of changes in red blood cells of rats was performed on the 7th, 14th, 21st and 42th days after infection larvae *Strongyloides papillosus*.

To determine the changes in red blood cells, a drop of blood deposited onto a piece of glass, mixing it with a drop of 10 % sodium citrate and prepared smears. Ready smears, air dried, fixed in methanol and stained with Romanovsky. Using the microscope (90×10) counted the number of erythrocyte micronucleus normohromatofil 1000 cells each stroke. Micronuclei in blood cells was considered notable large formation with a diameter of 1/5 - 1/20 erythrocyte size. The experimental results are expressed in ppm (‰).

**Results.** Analysis of samples of various series of experiments showed that the red blood cells of peripheral blood white rats of different groups of micronuclei were found with varying frequency to vary day experiment.

Thus, the study of peripheral blood white rats in the control group showed that the number of red blood cells with micronuclei ranged from  $1.0 \pm 0.48$  to  $1.3 \pm 0.33$  in 1000 erythrocytes within 42 days of the study. In the blood of rats 1st experimental group was infected with invasive larvae of *strongyloides* of 5 exp./g body weight at the 7-day study incidence of red blood cells with micronuclei slightly different from that of the rats in the control group and was  $1.2 \pm 0.45$  per 1000 erythrocytes. After 14 days the number of red blood cells with micronuclei increased to  $2.2 \pm 0.52$  ‰, and the 21 th day the number of micronuclei in erythrocytes significantly exceeded the figure of animals in the control group 2.6 times ( $p < 0.05$ ). After 42 days the experiment, the number of erythrocytes with micronuclei was  $2.6 \pm 0.74$  ‰, which probably did not differ from those parameters in rats in the control group.

**Conclusion.** Lifetime excreta of larvae *Strongyloides papillosus* are mutagenic and can cause micronucleus formation of red blood cells in the peripheral blood of rats. At the 21st and the 42 nd day of the experiment, the number of red blood cells with micronuclei decreased in the peripheral blood of laboratory animals is probably a reducing of lifetime excreta larvae *Strongyloides papillosus*.

**Key words:** micronucleus test, mutagens, pathogenic influence, *strongyloides* larvae, strongyloidiasis.

---