

УДК 576.893.16:575.24

**З.Н. Соболев, А.В. Степанов**

## **Анализ результатов микроядерного теста у аутбредных мышей, спонтанно инвазированных *Lambliа muris***

Лямблиоз – болезнь человека и животных, вызываемая паразитирующими в тонком кишечнике условно-патогенными возбудителями рода *Lambliа*, протекающая субклинически или с симптомами поражения пищеварительного тракта, нервной, иммунной, кровеносной и других систем [1]. Вследствие сложности строения и биохимизма паразиты могут быть источником большого количества антигенов [2], которые могут воздействовать на организм хозяина.

Ряд исследователей связывает патогенное влияние лямблий на организм хозяина с их токсическим действием [3], что подтверждается множеством аллергических реакций при лямблиозе [4]. Описаны случаи кожных высыпаний типа крапивницы [5], сообщается о заболевании артритом [6], возможны хронические аллергодерматозы на фоне этого заболевания [7].

Лямблии способны оказывать локальный цитотоксический эффект на клетки хозяина [8].

В лейкоцитах крови больных лямблиозом наблюдается достоверное увеличение продуктов перекисного окисления липидов [9], которые способны по

вышать содержание свободных радикалов кислорода в клетках [10].

Основываясь на свободнорадикальном механизме биомутагенеза, представляет интерес изучение влияния лямблиозной инвазии и метаболитов паразитов на наследственный аппарат соматических клеток хозяина.

В эксперименте использованы 100 белых беспородных мышей как самцов, так и самок, спонтанно инвазированных *Lambliа muris* и не зараженных этими паразитами. Наличие инвазии устанавливалось копроскопическим методом с последующим подтверждением в результате микроскопии соскобов и содержимого тонкого кишечника после вскрытия.

Отобранные животные были разделены на две группы. В первую входили мыши (самцы и самки), используемые для интактного контроля, во вторую – спонтанно зараженные лямблиями. Интактные животные не содержали в кишечнике лямблий и другой патогенной флоры. Инвазированные содержали только *Lambliа muris*.

Состояние наследственного аппарата как у контрольных, так и у спонтанно инвазированных мышей оценивалось при помощи микроядерного теста. Микроядерный тест на клетках эритроцитарного ряда костного мозга выполнялся по методике, предложенной *W. Schmid* [11], с учетом рекомендаций НИИ генетики и селекции НАН Беларуси. Микроядра образуются в поздней телофазе из ацентрических фрагментов и целых отставших хромосом. Микроядра встречаются как в полихроматофильных, так и в нормохроматофильных эритроцитах костного мозга, и представляют собой центрически расположенные образования округлой формы.

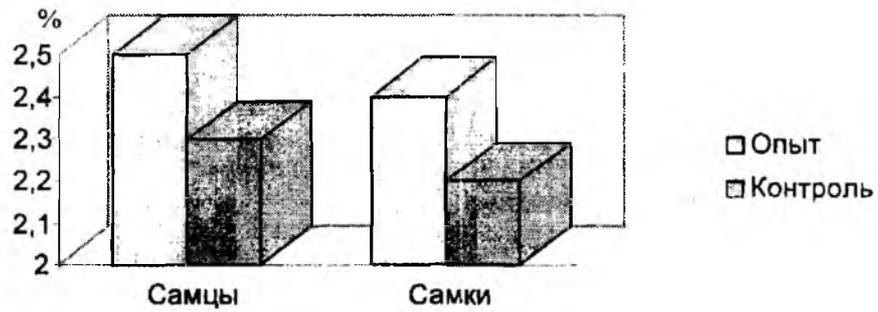
Как у контрольных, так и у инвазированных животных определяли три показателя: содержание полихроматофильных эритроцитов с микроядрами, нормохроматофильных эритроцитов с микроядрами и соотношение поли- и нормохроматофильных эритроцитов.

Учитывая требования к проведению микроядерного теста Агентства по защите окружающей среды [12], просматривалось не менее 10 000 клеток, а результаты рассчитывались на 1000 эритроцитов. Всего было получено 150 препаратов микроядерного теста, которые изучались при увеличении  $\times 1000$  на микроскопе с оптикой Carl Zeiss (Iena). Статистическая и графическая обработка данных проводилась на компьютере Pentium 150 с использованием программ Word 7.0 и Excel 7.0. При выполнении экспериментальных исследований строго придерживались "Правил проведения работы с использованием экспериментальных животных".

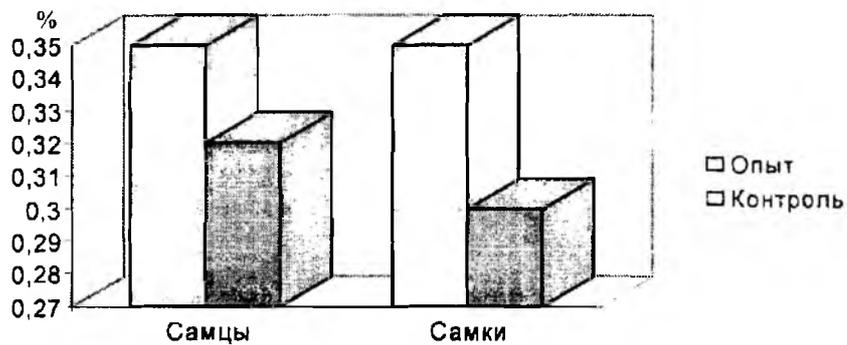
Анализ проведенного исследования показал, что содержание полихроматофильных эритроцитов с микроядрами составляло  $2,5 \pm 0,2 \%$  у самцов и  $2,4 \pm 0,2\%$  у самок в группе инвазированных животных. В то же время этот показатель в контрольной группе был равен  $2,3 \pm 0,3\%$  у самцов и  $2,2 \pm 0,2\%$  у самок (рис. 1).

Содержание нормохроматофильных эритроцитов с микроядрами составляло у зараженных мышей  $0,35 \pm 0,05\%$  (как у самцов, так и у самок), у контрольных  $0,32 \pm 0,04 \%$  (самцы) и  $0,3 \pm 0,05\%$  (самки) (рис. 2).

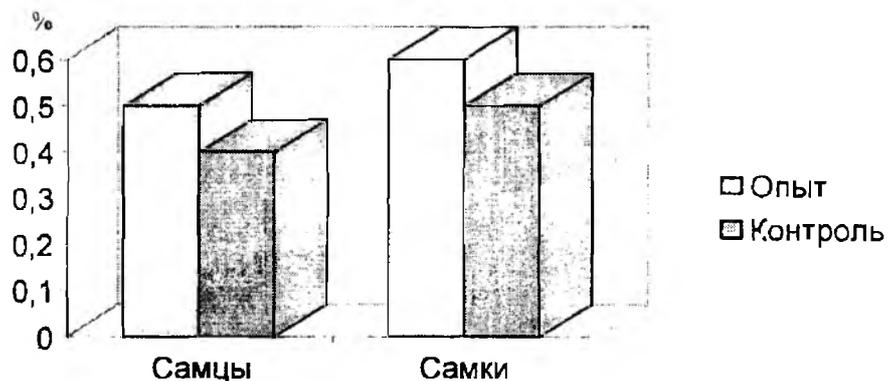
Показатель соотношения поли- и нормохроматофильных эритроцитов в группе инвазированных животных был равен  $0,5 \pm 0,03\%$  у самцов и  $0,6 \pm 0,02\%$  у самок. У контрольных животных этот показатель был равен  $0,4 \pm 0,02\%$  и  $0,5 \pm 0,05\%$  у самцов и самок, соответственно (рис. 3).



**Рис. 1. Содержание полихроматофильных эритроцитов с микроядрами у инвазированных и контрольных мышей**



**Рис. 2. Содержание нормохроматофильных эритроцитов у инвазированных и контрольных мышей**



**Рис. 3. Показатель соотношения поли- и нормохроматофильных эритроцитов у инвазированных мышей**

Таким образом, сравнивая показатели микроядерного теста у инвазированных и контрольных мышей, наблюдали увеличение числа поли- и нормохроматофильных эритроцитов с микроядрами ( $P < 0,05$ ), а также соотношение поли- и нормохроматофилов у спонтанно зараженных животных ( $P > 0,05$ ).

Полученные результаты позволяют заключить, что лямблии способны оказывать общее цитотоксическое влияние на соматические клетки хозяина в виде сдвигов в их наследственном аппарате.

## ЛИТЕРАТУРА

1. **Астафьев Б.А., Яроцкий Л.С., Лебедева М.Н.** Экспериментальные модели паразитозов в биологии и медицине. М.: Наука, 1989. - 279 с.
2. **Найт Р.** Паразитарные болезни. М.: Медицина, 1985. - 416 с.
3. **Stevens David P.** Giardiasis: host-pathogen biology // *Rev. Infect. Diseases*, 1982, 4, №4. P. 851-858.
4. **Кривохижа М.Я.** Дифференциальная диагностика легких форм дизентерии и лямблиоза. Дизентерия. Киев, 1965. - 174 с.
5. **Kennon M.F., Jenayan S., Reknis M., et al.** Manifestation cutanees on cours des giardioses. A propos de quelques cas cliniques // *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, 1980, 57, №3. P. 257-260.
6. **Gonzalez - Goy M.A., Cereljo M.J., Agnero J.J., et al.** Artritis reactiva a *Giardia lamblia* // *Med. Clin.*, 1992, №9. P. 359.
7. **Татареева С.В., Медведева С.Ю.** Роль лямблиоза в формировании хронических аллергодерматозов у детей // Атопич. дерматит у детей: Тез. докл. межд. конф. Екатеринбург, 1994. С. 38-39.
8. **Chaver B., Gonzalez - Mariscal L., Cedillo R., et al.** *Giardia lamblia*: cytopathic effect of human is dafes of carrier and symptomatic infections // *Bull. Soc. fr. Parasitol.* 1990, 8 - Suppl, №1. P. 346.
9. **Козюк П.М.** Влияние лямблий на свободнорадикальное окисление липидов в лейкоцитах // Биофизические и физико-химические исследования в витаминологии. М., 1981. С. 39-43.
10. **Clark I.A., Cowder W.B., Hunt N.H.** Free-radical-induced pathology // *Med. Res. Rev.* 1985, 5. P. 297-332.
11. **Schmid W.** The micronucleus test // *Mutat. Res.* 1975. Vol. 31, №1. P. 9-16.
12. **Cimino M.C.** New micronucleus guideline for the U.S. enviromintal protection agency // *Environ. And Mol. Mutogenes.* 1991, 17, Suppl. n.19. P. 83.

## S U M M A R Y

*In was established during study of the results of micronucleus test at autbred mice, spontaneously infected by lamblia muris, that content of micronucleus poly- and normochromatophilic erythrocytes, and also index of correlation betwiin poly- and normochromatophills at the bone marrow of infected animals was higher than at the control group, thus, lamblia are capable to influence general cytotoxic effect on somatic cells of the host.*