Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

УКРАЇНСЬКА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК

ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ
ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ

Тафійчук Роман Іванович

УДК 603:523.840.3

**ФІЛОМЕТРОЇДОЗ КОРОПА: ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ТА ІМУНОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ В СИСТЕМІ "ПАРАЗИТ-ХАЗЯЇН" ТА ВПЛИВ НА НЕЇ НЕМАТОЦИДНИХ ПРЕПАРАТІВ**

16.00.11 – паразитологія, гельмінтологія

**АВТОРЕФЕРАТ**

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата ветеринарних наук

Харків – 2002

Дисертацією є рукопис

Робота виконана на кафедрі паразитології та рибництва Львівської державної академії ветеринарної медицини ім.С.З.Ґжицького Міністерства аграрної політики України

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор **Секретарюк Кім Васильович,** завідувач кафедри паразитології та рибництва Львівської державної академії ветеринарної медицини імені С.З.Ґжицького

**Офіційні опоненти**:

доктор ветеринарних наук, професор **Шеховцов Віталій Степанович,** Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН, головний науковий співробітник лабораторії гельмінтології

кандидат ветеринарних наук, професор **Микитюк Петро Васильович,** Білоцерківський державний аграрний університет, завідувач кафедри ветсанекспертизи, директор НДІ ветсанекспертизи

**Провідна установа**: Одеський державний аграрний університет, Міністерства аграрної політики України, кафедра епізоотології та паразитології, м. Одеса.

**Захист відбудеться “\_\_\_\_\_” \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2002 р. о \_\_\_\_\_\_ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.359.01 при Інституті**

**експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН за адресою:**

**61023, м. Харків, вул. Пушкінська, 83**

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН за адресою: 61023, м. Харків, вул. Пушкінська, 83

Автореферат розісланий “\_\_\_\_\_” \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2002 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради Бабкін А. Ф.

###### ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** В західних областях України філометроїдоз риб родини коропових є найбільш масовою інвазією у коропа, сазана та їх гібридів. Вона завдає великих економічних збитків товарному рибництву: порушує метаболічні процеси в організмі, що знижує продуктивність риб, погіршує якість продукції, веде до збільшення витрат коштів на оплату кормів і на проведення лікувально-профілактичних заходів. Протипаразитарні препарати, що застосовуються у ветеринарній медицині при різних гельмінтозних захворюваннях, як правило, почали емпірично використовуватись для лікування філометроїдозу коропа. Але ефективність антгельмінтиків повинна оцінюватись не тільки за ступенем звільнення риб від гельмінтів, а і за контролем впливу впроваджених препаратів на стан хазяїна, зокрема на цитогенетичні структури. Вивченням окремих питань взаємовідносин у системі "паразит-хазяїн" при філометроїдозі коропа займались вітчизняні та зарубіжні вчені: Вісманіс К.О.[1966], Васильков Г.В.[1975], Борисова М.Н.[1980], Козаченко Н.Г.[1982] Пірус P.І.[1983], Секретарюк К.В.[1986], Давидов О.М.[1999]. Незважаючи на досягнення у дослідженні впливу цього захворювання на організм коропа, дії мігруючих личинок на геном соматичних клітин коропа та його імунореактивність залишається не вивченим. Отже, філометроїдоз коропа потребує подальшого більш глибокого дослідження як самої системи "паразит-хазяїн", так і дії на неї нематоцидних препаратів.

**Зв′язок роботи з науковими програмами, планами темами:** Дисертаційна робота виконувалась в рамках програми кафедри паразитології та рибництва ЛДАВМ ім. С.З.Ґжицького і є фрагментом наукових досліджень теми: УДК: 378:14:636, № Держреєстрації 0101U008300 “Наукові основи еколого-паразитологічного моніторингу при вирощуванні коропа та розробка засобів лікування і профілактики паразитозів".

**Мета і задачі досліджень**. Метою роботи було при паразито-хазяїнних взаємовідносинах дослідити вплив різних фаз розвитку *Philometroides lusiana* на геном соматичних клітин специфічного хазяїна та на його імунореактивність, а також дії на ці показники сучасних нематоцидних препаратів – левамізолу, альбендазолу, тіабендазолу; визначити каріотип та ембріогенез, *Ph. lusiana*, і вплив на геном яєць та на личинки нематоди вищеназваних препаратів. Досягнення цієї мети здійснювалось шляхом вирішення таких завдань:

1. З’ясувати можливу мутагенну дію личинок *Ph. lusiana* в період гострої форми філометроїдозу коропа;
2. Вивчити частоту та спектр хромосомних аберацій коропа, при міграції личинок *Ph. lusiana* в період гострої форми філометроїдозу коропа;
3. Дослідити імунологічну реактивність інвазованих коропів;
4. Вивчити імунологічну реактивність коропів при застосуванні нематоцидних антгельмінтиків;
5. Провести дослідження можливої мутагенної активності нематоцидних препаратів;
6. Провести дослідження ембріогенезу, каріотипу *Ph. lusiana* та вивчити вплив на ці структури та на її личинки нематоцидних антгельмінтиків.

*Об’єкт дослідження*: коропи, спонтанно і експериментально інвазовані філометроїдами, а також піддані впливу нематоцидних препаратів, нематода *Ph.lusiana.*

*Предмет дослідження*: вплив мігруючих личинок *Ph.lusiana* та нематоцидних препаратів на геном соматичних клітин коропа та на його імунологічні показники, дія нематоцидних препартів на геном яєць самки нематоди та її личинок.

*Методи дослідження:* Основний метод – експериментальний. Використовувались паразитологічні, цитогенетичні, імунологічні методи, та статистична обробка одержаних даних .

**Наукова новизна одержаних результатів.** Уперше при застосуванні цитогенетичного та імунологічного методів дослідження здійснено комплексний підхід до вирішення проблеми, стабільності геному та імунологічної реактивності в системі “філометроїдоз - короп”. Встановлено різноманітні аспекти прояву мутагенної дії личинок *Ph.lusiana* та нематоцидних препаратів на організм коропа.

Уперше отримані дані про перебіг нормальних фаз мітозів у клітинах імунокомпетентних органів коропа та спонтанних патологічних змін у них. Вивчено вплив мігруючих личинок на мітотичну активність цих органів. Отримані дані про спонтанну частоту та спектр хромосомних аберацій в органах коропа в нормі та при гострій формі філометроїдозу. Розроблено "Спосіб виготовлення прямих препаратів метафазних хромосом риб"(Патент 34814 А), який забезпечує отримання на 80% більше кількості метафазних пластинок хромосом високої якості. За допомогою мікроядерного тесту встановлено вплив міграції личинок на підвищення рівня еритроцитів з мікроядрами. Досліджено в системі "паразит-хазяїн" генотипи хазяїна та гельмінта

У динаміці розвитку міграційного філометроїдозу досліджено імунологічну реактивність коропа, яка проявляється у збільшенні виявлених циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) та імуноглобуліну Е (IgE). Уперше отримані дані про мутагенний вплив на геном коропа нематоцидних препаратів - левамізолу, альбендазолу та тіабендазолу, та їх вплив на імунологічну реактивність. Вперше досліджено каріотип *Ph.lusiana*. і встановлено, що самки філометроїдес мають 2n= 8 XX, а самці 2n=7 XO хромосом.

Уперше вивчено ембріологію нематоди, і вплив вищеназваних антгельмінтиків на її геном.

**Практичне значення одержаних результатів.** Визначається використанням отриманих даних цитогенетичних та імунологічних досліджень у практиці ветеринарної іхтіогельмінтології. На підставі одержаних результатів досліджень були розроблені методичні рекомендації "Цитогенетична оцінка впливу гельмінтів та нематоцидних препаратів на організм коропа”, що затверджені на засіданні вченої ради Львівської державної академії ветеринарної медицини ім. С.З Ґжицького (протокол № 1 від 31 січня 2002 року.), ці розробки дозволяють проводити оцінку впливу нематоцидних препаратів на геном та імунологічну реактивність риб.

**Особистий внесок здобувача** полягає у самостійному проведенні всього обсягу методичної, експериментальної й аналітичної роботи, статистичній обробці та аналізу отриманих даних за темою досліджень.

**Апробація результатів дисертації.** Матеріали дисертації доповідались на: науково-практичній конференції паразитологів України (Київ, 1999 р.), Міжнародній науковій конференції "С.З.Ґжицький і аграрна наука" (Львів, 2000 р.р.), а також, на 5 з′їзді паразитоценологів України (Харків, 2001), на 1 всеукраїнській конференції іхтіопатологів України (Київ, 2001 р.), на Міжнародній науково-практичній конференції "Проблеми аквакультури і функціонування водних екосистем" (Київ 2002 р.), на міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених та спеціалістів "Молоді вчені у вирішенні проблем аграрної науки і практики"(Львів 2002 р.)

**Публікації** . За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 9 наукових праць. Із них 5 у фахових журналах, затверджених у ВАК України, одержано 1 патент на винахід.

**Структура дисертації**. Дисертація викладена на 163 сторінках комп’ютерного тексту, містить 18 таблиць, 48 рисунків і включає вступ, огляд літератури, матеріали і методи досліджень, результати власних досліджень, обговорення одержаних результатів, висновки, пропозиції виробництву, список використаної літератури, додатки. Бібліографічний список включає 226 джерел,із них 68 іноземних авторів.

**ВЛАСНІ ДОСЛІДЖЕННЯ**

**Матеріали і методи досліджень.** З метою вивчення впливу мігруючих личинок *Ph.lusiana* та нематоцидних препаратів на геном коропа та його імунореактивність були проведені експериментальні та гельмінтологічні дослідження протягом 1998–2000 р. на кафедрі паразитології та рибництва ЛДАВМ ім. С.З.Ґжицького, гельмінтологічні дослідження – в рибницьких господарствах Львівської області. Досліджувались коропи 2-х і 3-х річного віку спонтанно, а також експериментально заражені збудником філометроїдозу.

Риби досліджувались методом повного паразитологічного розтину, розробленого Скрябіним І.І. (1928) і модифіковані стосовно до риб Догелем, В.А 1933 р.,і Маркевичем О.П.(1950). Об’єктом дослідження були як спонтанно, так і експериментально інвазовані коропи за методикою розробленою Вісманісом К.О. (1962), Івасиком В. М. (1967), Васильковим Г.В. (1973). Дво- і трьохрічки коропів заражали інвазованими циклопами за допомогою сечостатевого катетеру (80-100 інвазованих циклопів на рибу). Сформовані групи дослідних і контрольних риб (n=10)перебували в однакових умовах утримання. На 7-у, 15-у, 21-у, 30-у, 60-у добу міграції личинок у дослідних і контрольних груп риб відбирались проби крові й таких органів як: селезінка, нирки, зябра, лімфоїдний орган, кишечник. Вивчали мітотичну активність цих органів та рівень в них патологічних мітозів. Для цього ми готували тиснені препарати модифікованим методом, беручи за основу методики Ford С.Е., Hammerton J.L.(1970) та Блюмкіна В.Н. і Жданова В.М. (1978), які були розроблені для теплокровних підраховували під мікроскопом по 1000 клітин із кожного органу, які ділились і не ділились. Висновок про мітотичну активність робили за кількістю клітин, що знаходяться в поділі на різних фазах мітозу і за показником коефіцієнта фаз – відношення суми профаз-метафаз до суми анафаз і телофаз. Мітотичний індекс визначали за формулою:



де МІ – мітотичний індекс; П – кількість профаз; М – кількість метафаз; А – кількість анафаз; Т – кількість телофаз; N – загальна кількість підрахованих клітин.

Для дослідження частоти та спектру хромосомних аберацій у соматичних клітинах органів коропа застосували авторський метод, який був запатентований як “Спосіб виготовлення прямих метафазних хромосом риб” №34814А. Облік аберацій метафазних хромосом проводили згідно рекомендацій ВОЗ (Женева, 1980).

Для дослідження впливу міграції личинок на геном коропа використовували короткостроковий мікроядерний тест (Smidt W., 1973). Для цього мазок крові фіксували в метанолі (20 хв.), висушували і фарбували за Романовським-Ґімза. Підраховували, скільки серед 1000 еритроцитів знаходиться еритроцитів з мікроядрами. У цих та інших мікроскопічних дослідженнях використовували мікроскоп Jenamed-2 (Karl Zells Jenna). Фотографії робились на плівку “Мікрат 300” за допомогою мікрофотонасадки МФН 11 при збільшенні 40Х; і 100Х. Для імунологічних досліджень відбиралися проби крові із хвостової артерії. і шляхом відстоювання одержували нативну сироватку. Визначення IgE проводили за методом Желтвай В.В., Чекотило В.М. (1979), циркулюючі імунні комплекси визначали за методом Максимович К.А, Желтвай В.В.(1985), вміст антитіл до мікробних антигенів стафілококу і стрептококу проводився за Чекотило В.М., Желтвай В.В (1979). Усі описані вище методики ми застосовували для вивчення дії на організм коропа левамізолу, альбендазолу та тіабендазолу. Ці антгельмінтики задавали ентерально за допомогою сечостатевого катетера на 1%-ному крохмальному клейстері у дозах 50 мг активно діючої речовини на кілограм маси риб. Контрольній групі риб задавали чистий крохмальний клейстер. Для дослідження ембріогенезу, каріотипу та впливу нематоцидних препаратів на хромосоми яєць самки *Ph.lusiana* був застосований метод приготування як тиснених препаратів, так і сухоповітряних. (М. Алюарт 1989).

Для вивчення дії на личинки філометр нематоцидних препаратів використовували "тест паралічу личинок" (Martin et Le Jambre, 1971).

Статистичну обробку отриманих даних та їх вірогідність оцінювали за допомогою параметричного критерію Фішера-Стьюдента з використанням комп’ютерної програми Exel 2000. та пакету прикладних програм для статистичної обробки даних та їх графічної подачі "Statgraphics W.2.6".

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ**

**Вивчення мутагенного впливу міграційної форми філометроїдозу на показники мітотичної активності органів коропа**. Для дослідження відбирали проби органів із дослідних і контрольних груп риб на 7-у, 15-у, 21-у, 30-у і 60-у добу інвазії. У контрольних групах риб мітотична активність в дослідних органах коливалась в межах: профази – від 48,5±0,45 ‰ до 49,2±0,50 ‰ у зябрах ;у селезінці– від 47,5±0,50‰ до 48,8±0,55‰, у нирках –від 50,2±0,45‰ до 51,9±0,40‰, у кишечнику – від 50,8±0,50‰ до 51,8±0,55‰; метафази: у зябрах коливались від 36,0±0,35‰ до 38,2±0,50‰, у селезінці – від 39,6±0,30‰ до 41,4 ± 0,35‰ у нирках– від 37,5±0,25‰ до 38,8±0,40‰ і в кишечнику – від 38,3±0,35‰ до 39,1±0,20‰; анафази коливались у зябрах від 13,1±0,20‰ до 4,6±0,15‰ у селезінці – від 12,2±0,20‰ до 13,5±0,3‰, у нирках – від 10,3±0,30 до 11,2 ± 0,20‰, і в кишечнику – від 9,8±0,15‰ до 10,1±0,20‰; телофази коливались у зябрах від 1,1±0,10 до 1,3±0,15‰, у селезінці – від 1,4±0,5‰ до 1,7±0,20‰, у нирках – від 1,1±0,20‰ до 2,5±0,20‰, у кишечнику – від 1,5±0,10‰ до 2,3±0,25‰. Мітотичний індекс коливався від 10,05‰ (у зябрах) до 10,24‰ (у нирках), коефіцієнт фаз – від 0,54%(у зябрах) до 0,79% (у кишечнику). У контрольних групах риб патологічні мітози, пов’язані із відставанням хромосом в метафазі коливались в межах від 2,6±0,2‰ до 2,6±0,5‰; (у зябрах), від 1,8±0,18‰ до 2,4±0,40‰ (у селезінці) від 2,2±0,20 ‰ до 3,1±0,15‰, (у нирках) від 2,4±0,25‰ до 2,9±0,10‰, (у кишечнику). Рівень патологічних мітозів, пов’язаних із відставанням хромосом в анафазі і телофазі коливався від 2,9±0, 20‰ (у селезінці) до 3,1±0,15‰, (у зябрах ), від 1,4±0,20‰ до 1,9±0,15‰ (у кишечнику); рівень патологічних мітозів, пов’язаних з фрагментацією хромосом становив: від 0,10±0,05‰ (у зябрах) до 0,13±0,05‰; (у кишечнику), (вони появлялись на 30-60-у добу утримання риб). Рівень патологічних мітозів з мостами у селезінці коливався від 1,8±0,15‰ до 2,0±0,15‰; у зябрах - від 1,5±0,10‰ до 1,9±0,15‰; у нирках - від 1,7±0,15‰ до 2,2±0,25‰; у кишечнику від 1,2±0,20‰ до 2,4±0,20‰. Загальна кількість патологічних мітозів коливалась відповідно від 0,5%(селезінка) до 0,74% (кишечник).

На 7-у добу інвазії (Р<0,001)у всіх органах дослідної групи кількість зростала анафаз і телофаз і зменшувалася кількість профаз і метафаз. Найбільше знижувався рівень профаз у кишечнику (до 15,8±0,40‰), найменше – у селезінці (40,1±0,35‰). Метафази зростали у нирках до 40,2±0,35‰, зменшувалися у селезінці (до 38,5±0,25‰), анафази зростали у всіх органах від 13,6±0,20‰ (у селезінці) до 38,4±0,25‰ (у кишечнику). Телофази також збільшувались у всіх органах від 6,9±0,20‰ (у зябрах) до 8,5±0,30‰ (у селезінці). Мітотичний індекс був практично однаковим, а коефіцієнт фаз знижувався від 0,35‰, (у селезінці) до 0,116‰ (у кишечнику). Кількість патологічних мітозів і їх рівень порівняно з контролем збільшувався у 1,5-3,5 рази. Так, відставання хромосом в метафазі у селезінці становило 7,4±0,20‰(Р<0,001);у зябрах–3,0±0,15‰ (Р>0,5), у нирках –7,1±0,30‰ (Р<0,001) та в кишечнику–7,2±0,30‰ (Р<0,001). Патологічні мітози, пов’язані з відставанням хромосом в анафазі і телофазі збільшувались в селезінці (5,1±0,20‰,) та в нирках (6,4±0,20‰) і кишечнику (4,2±0,20‰)(Р<0,001), у зябрах–2,7±0,15‰ (Р>0,5). Патологічні мітози, у яких спостерігалась фрагментація, коливались від 0,2±0,05‰ (у зябрах) до 4,1±0,15‰ (у селезінці). Найбільший рівень патологічних мітозів з мостами ми спостерігали у кишечнику (10,5±0,50‰), а найменший - у зябрах (1,7±0,15‰). Найвищий рівень загальних патологічних мітозів спостерігався в кишечнику – 2,6%, найменший – у зябрах – 0,76%. Мітотичний індекс був незмінним а коефіцієнт фаз знижувався.

На 15-у добу інвазії у другій дослідній групі також установлено вірогідне зниження кількості профаз у всіх органах і збільшення анафаз і телофаз (Р<0,001) порівняно з контролем. Рівень профаз знижувався у нирках (до 17,5±0,20‰), менше у селезінці (до 38,2±0,4‰), (Р<0,001). Метафази змінювалися невірогідно. Анафази зростали до найвищих величин у кишечнику (36,5±0,25‰) та нирках (35,5±0,40‰) (Р<0,001), найменше у селезінці (16,3±0,35‰ ),(Р<0,001). Рівень телофаз зростав у всіх органах від 7,1±0,30‰ (у нирках) до 8,1±0,30‰(у кишечнику),(Р<0,001). Мітотичний індекс коливався від 10,06% до 10,18%. Коефіцієнт фаз знижувався у всіх органах майже в 2,5 рази. Рівень патологічних мітозів зростав. Так патологічні мітози, пов’язані з відставанням хромосом у метафазі коливались від 3,3±0,15‰ (у зябрах) до 8,2±0,10‰ (у селезінці)(Р<0,001). Патологічні мітози, пов’язані з відставанням в анафазі й телофазі, збільшувались у селезінці – 6,9±0,30‰, у кишечнику –5,3±0,25‰ та нирках–(7,2±0,12‰), (Р<0,001). У зябрах їх рівень становив 3,55±0,20‰ (Р>0,5). Рівень патологічних мітозів, у яких була фрагментація хромосом, коливався від 0,35±0,15‰ (у зябрах) до 4,4±0,20‰ (у кишечнику). Патологічні мітози з мостами зростали у нирках (9,1±0,20‰), кишечнику (11,2±0,25‰) та в селезінці (5,3±10,35‰), (Р<0,001), у зябрах – 1,8±0,10‰ (Р>0,5). Рівень загальних патологічних мітозів коливався від 0,9% (у зябрах) до 2,9% (у кишечнику).

На 21-у добу інвазії цитогенетичні показники були подібні до показників попередніх дослідних груп, зменшувались профази і збільшувались анафази і телофази в усіх дослідних органах (Р<0,001). Рівень патологічних мітозів ,порівняно з контролем, зростав в 4,5 разів у нирках і в 5,5 – у кишечнику. Мітотичний індекс був незмінним, а коефіцієнт фаз знижувався.

На 30-у добу інвазії між цитогенетичними показниками контрольної і дослідної груп риб спостерігалась тенденція до вирівнювання співвідношень фаз мітозу. Так, профази коливались від 25,2±0,35‰ (у кишечнику) до 31,0±0,40‰ (у селезінці), метафази коливались від 36,4±0,40‰ (у зябрах) до 40,5±0,55‰ (у селезінці); анафази від 26,1±0,35‰ (у селезінці) до 32,5±0,30‰ (у кишечнику) і телофази від 6,1±0,25‰ (у кишечнику) до 8,2±0,35‰ (у зябрах). Мітотичний індекс змінювався від 10,17%(у кишечнику) до 10,47% (у селезінці), коефіцієнт фаз залишався низьким у всіх органах від 0,16‰ (у кишечнику) до 0,20‰ (у зябрах), (Р<0,001). Рівень патологічних мітозів зростав тільки до 3-х разів. Так патологічні мітози, пов’язані з відставанням хромосом в метафазі коливались від 6,80±0,45‰ до 8,5±0,35‰ (у селезінці), а патологічні мітози, пов’язані з відставанням хромосом в анафазі і телофазі збільшувались у селезінці 6,8±0,30‰ та нирках (6,3±0,25‰), і кишечнику (4,5±0,26‰),(Р<0,01);у зябрах їх різниця була невірогідною (2,2±0,25‰) (Р>0,5). Патологічні мітози із фрагментацією хромосом збільшувались у всіх органах і коливались від 0,9±0,12‰ (у зябрах), до 2,8±0,20‰ (у кишечнику), (Р<0,001). Патологічні мітози із хроматидними і хромосомними мостами також зростали у нирках (7,3±0,30‰), селезінці (4,5±0,25‰), (Р<0,001), кишечнику 3,2±0,10‰ та зябрах 2,8±0,20‰ (Р<0,05). Відповідно загальний рівень патологічних мітозів коливався від 1,3% (у зябрах) до 2,2% (у нирках). На 60-у добу інвазії в цитогенетичних показниках досліджуваних органів коропа в порівнянні з контролем не було виявлено вірогідних змін. Отже, міграція личинок *Ph.lusiana* викликає значні порушення мітотичної активності в соматичних клітинах, яка проявляється у порушенні співвідношень фаз мітозу та збільшення рівня патологічних мітозів в органах, що досліджувались.

**Імунологічна реактивність коропа під впливом міграційної форми філометроїдозу.** Отримані дані свідчать про те, що рівень ЦІК у риб контрольних груп коливався в межах 50,0±4,5–52,0±7,1 одиниць оптичної густини. У дослідних групах рівень ЦІК підвищувався з 7-ї доби міграції – 115,0 ± 5,09; 15-ї доби – 135,0± 5,08; 21-ї – 141,0 ± 4,8 (Р<0,001). Починаючи із 30-ї доби після зараження рівень ЦІК знижувався і на 60-у добу міграції становив 75,0 ± 6,5 одиниць оптичної густини. Проводили визначення рівня IgE та імунних тіл до стафілококу та стрептококу. Встановлено, що у коропів контрольних груп середній рівень IgE коливався від 1,25±0,25 до 1,6±0,22 ІО (інтернаціональних одиниць). Протягом усього періоду міграції личинок рівень імуноглобуліну Е був збільшений. Так, на 15-у добу до 51,0±4,1 і на 21-у добу - до 56,0±3,2(P<0,001). Ці дані співпадають із ростом циркулюючих імунних комплексів. Рівень антитіл до стафілококів коливався у контрольній групі від 0,5±0,6 до 0,6±0,25 од.опт. густини, у дослідній–від 1,06±0,7 до 1,1±0,25 од.опт.густини. Рівень антитіл до стрептококів коливався у контрольних риб від 0,32±0,79 до 0,40±0,8 од. опт.густини, та від 0,4±0,6 до 0,6±0,9 од.опт.густини у дослідних (Р>0,5). Очевидно ці антитіла не відіграють визначної ролі в імунологічних реакціях організму при філометроїдозі.

Отже, в патогенезі міграційної форми філометроїдозу беруть участь аутоімунні і імунопатологічні механізми, що формуються в умовах порушення ланок імунологічної реактивності коропа.

**Дослідження частоти та спектру хромосомних аберацій у експериментально заражених *Ph. lusiana* коропів.** Для точного обліку частоти та спектру хромосомних аберацій у дослідних і контрольній групах готувались in vivo препарати метафазних хромосом із двох органів: лімфоїдного і нирок. Проби тканин органів відбирались на 7-у, 15-у, 21-у, 30-у, 60-у добу міграції. Каріотип дослідних коропів становив 2n=100.

Установлено, що частота та спектр спонтанних хромосомних аберацій на рибу у контрольній групі становили: у лімфоїдному органі 0,78%, у нирках – 1,06%. Середній рівень аберацій хроматидного типу у лімфоїдному органі становив 0,63%, у нирках– 0,85%. Середній рівень аберацій хромосомного типу в лімфоїдному органі становив 0,15%, у нирках – 0,21% від загальної кількості досліджуваних клітин. Загальна частота та спектр хромосомних аберацій у них становили у нирках 0,53%; у лімфоїдному органі – 0,39%. На 7-у добу після зараження рівень клітин з абераціями хроматидного типу в лімфоїдному органі коропів становив 1,2%, у нирках – 1,58%, що відповідно перевищувало контрольні показники приблизно в 1,9 рази. Рівень клітин з абераціями хромосомного типу мав тенденцію до збільшення і становив у нирках - 0,21% і лімфоїдному - 0,30%. Загальна частота і спектр хромосомних аберацій зростали в усіх органах і становили: у нирках – 0,65% і лімфоїдному органі –0,76%. (Р>0,5).Частота та спектр хромосомних аберацій на індивіда збільшувалась (P<0,01) у 2 рази і становили у нирках 2,13% та лімфоїдному органі–1,53%. На 15-у добу інвазії виявлено, що рівень клітин з хроматидними абераціями в лімфоїдному органі складав 2,5%, а в нирках–2,05%, тобто збільшувався порівняно з контрольною величиною відповідно в 3,96 і 2,4 рази. Рівень клітин з абераціями хромосомного типу також зростав у 3 рази і становив 0,48% в лімфоїдному органі і 0,55% у нирках. Показники частоти та спектру аберацій на рибу зростали в 3,8 і 2,5 рази. Рівень загальної частоти хромосомних аберацій зростав, відповідно, в цих органах у 3,8 та 2,5 рази (Р<0,01).На 21-у добу рівень аберацій у досліджуваних органах мав тенденцію до зниження. Аберації хроматидного типу становили у лімфоїдному органі 2,2%,а в нирках 1,5%, будучи збільшені у 3,5 та в 1,2 разів. Число клітин із хромосомними абераціями в цих органах дорівнювало 0,60% та 0,70%, що перевищувало контрольні величини відповідно у 4,0 та в 3,33 рази. Зберігалась й різниця між групами у загальній частоті та спектрі хромосомних аберацій на одного індивіда (P<0,01). У лімфоїдному органі вона становила 1,4%, у нирках -1,1%, будучи збільшеною у 3,6 і 2,1 рази. Середній рівень частоти та спектру хромосомних аберацій на одну рибу становив в лімфоїдному органі 2,8%, а в нирках 2,2%.Аналізуючи частоту та спектр хромосомних аберацій на 30-у добу зараження, встановлено зниження їх рівня. Так рівень аберацій хроматидного типу у лімфоїдному органі становив 1,1%, у нирках –1,3%. Число клітин з хромосомними абераціями в лімфоїдному органі становило 0,56%, а в нирках – 0,64%. Вірогідно збільшилась і частота хромосомних аберацій, яка становила 0,83% в лімфоїдному органі та 0,97% в нирках. Однак рівень частоти та спектру хромосомних аберацій на одну рибу залишався високий і становив 1,66% у лімфоїдному органі та 1,94% у нирках, що майже у два рази перевищувало аналогічні показники у риб контрольної групи. На 60-у добу міграції личинок показники дослідної і контрольної груп вірогідно не відрізнялись.

Отже, відтворений міграційний філометроїдоз достовірно підвищував рівень аберацій хромосом в лімфоїдному органі та нирках дослідних коропів із 7-ї по 30-у добу після зараження, викликаючи в геномі соматичних клітин органів мутагенні зміни.

**Вплив гострої форми філометроїдозу на частоту мікроядер в еритроцитах коропа у мікроядерному тесті**. При вивченні індукції мікроядер у експериментально заражених філометроїдозом коропів встановлено, що на 7-у добу міграції личинок у дослідній групі збільшується кількість мікроядер в еритроцитах – 11,5±0,51 (у контрольній–8,1±0,42) (P<0,01). На 15-у добу міграції число еритроцитів з мікроядрами зростало і становило 13,5±0,4 (у контрольній–8,6±0,48), (P<0,001). На 21-у добу інвазії кількість еритроцитів з мікроядрами різко збільшилась і становила 16,6±0,45 (у контрольній 8,4±0,54),(P<0,001).На 30-у добу інвазії кількість мікроядер в еритроцитах крові коропа зменшилась і становила 11,9±0,61 (у контрольній – 8,8±0,58) (P<0,05). На 60-у добу інвазії різниця між показниками дослідних і контрольних груп риб була недостовірна.

Отже, мікроядерний тест виявився також досить чутливим і підтвердив значну мутагенну дію мігруючих личинок *Ph. lusiana* на геном коропа.

**Корелятивні взаємозв’язки між цитогенетичними та імунологічними показниками на різні дні міграції личинок *Рh.lusiana*.** При дослідженні тісноти взаємозв’язку між загальними патологічними мітозами і циркулюючими комплексами встановлено пряму, тісну, (R=0,86), статистично вірогідну (Р<0,06) кореляційну залежність. При дослідженні кореляційних взаємозв’язків між загальним рівнем патологічних мітозів та рівнем IgE виявлено щільну (R=0,91), статистично вірогідну (Р<0,03) кореляційну залежність. Досліджуючи тісноту кореляційних взаємозв’язків між загальним рівнем патологічних мітозів та абераціями хроматидного типу у нирках протягом усього періоду міграції виявили середню (R=0,73), статистично вірогідну (Р<0,05) кореляційну залежність впродовж усього періоду міграції личинок При дослідженні кореляційних взаємозв’язків між загальним рівнем патологічних мітозів та рівнем аберації хромосомного типу протягом усього періоду міграції личинок установлено пряму, тісну (R=0,93), статистично вірогідну (Р<0,03) кореляційну залежність.

Отже, кореляційний аналіз між цитогенетичними показниками та рівнем імунологічної реактивності протягом всього періоду міграцїї личинок установив між ними позитивну, статистично вірогідну кореляційну залежність.

**Вивчення мітотичної активності та загального рівня патологічних мітозів у органах коропа під впливом нематоцидних антгельмінтиків**. Установлено, що в контрольній групі риб профази у органах коливались в межах від 48,0±0,51‰ (у зябрах) до 51,4±0,55‰ (у нирках); метафази – від 37,0±0,25‰ (у зябрах) до 40,3±0,40‰ (у селезінці); анафази – від 9,8±0,55‰ (у кишечнику) до 14,2±0,20‰ (у зябрах) і телофази відповідно від 1,2±0,20‰ (у зябрах) до 1,9±0,20‰ (у кишечнику). Найменший рівень спонтанних патологічних мітозів з відставанням хромосом в метафазі спостерігався в зябрах (1,7±0,15‰), а найбільший – в нирках (3,1±0,20‰), патологічні мітози, пов’язані з відставанням хромосом в анафазі і телофазі, були найменше в кишечнику (1,5±0,10‰), а найбільше – в зябрах (3,1±0,15‰). Фрагментаціяхромосом була знайдена тільки в нирках і становила 0,15±0,20‰. Найнижчий рівень клітин із хроматидними мостами в стадії анафази був у селезінці (1,6±0,10‰) найвищий – у зябрах (2,1±0,15‰). В цілому рівень спонтанних патологічних мітозів у різних органах коливався у межах 0,56–0,69%. Найвищий мітотичний індекс був у селезінці – 10,32%, найменший – у зябрах і нирках. Коефіцієнт фаз відповідно коливався від 0,53‰ (у зябрах) до 0,78‰ (у кишечнику).

У коропів першої дослідної групи, яким уводився левамізол, в у всіх органах установлено вірогідну зміну фаз мітозів.(Р<0,001).Так, рівень профаз був найнижчим у кишечнику (15,2±0,20‰) і найвищим у зябрах (18,52±0,25‰). Збільшувались метафази – від 41,2±0,20‰ (у зябрах) до 48,2±0,25‰ (у нирках); анафази – від 28,3±0,40‰ (у кишечнику) до 38,2±0,30 (у селезінці), і телофази – від 2,9±0,25‰ (у кишечнику) до 4,1±0,20 ‰ (у нирках). Змінювався мітотичний індекс – від 9,29 (у зябрах) до10,36 (у нирках) (Р<0,001), та коєфіцієнт фаз – від 0,15±0,02‰ (у селезінці) до 0,18±0,03‰ (у кишечнику). Рівень патологічних мітозів, пов’язаних із відставанням хромосом у метафазі коливався від 8,2±0,10‰ (у кишечнику), до 9,3±0,20‰ (у нирках). Рівень патологічних мітозів, пов’язаних із відставанням в анафазі і телофазі, коливався від 5,1±0,15‰ (у кишечнику) до 12,0±0,10‰ (у нирках). Кількість патологічних мітозів з фрагментацією хромосом коливались від 3,3±0,10‰ (у селезінці) до 3,8±0,15‰ (у кишечнику), а патологічні мітози із мостами коливались від 6,4±0,15(у селезінці) до 13,4±0,20 (у кишечнику) (Р<0,001). Кількість виявлених патологічних мітозів разом, порівняно з контролем, збільшувалась пропорційно у всіх органах в середньому в 4,5 рази, і їх рівень коливався від 1,85% (у зябрах) до 3,3% (у нирках).

У другій дослідній групі риб, яким уводився альбендазол, було виявлено, що досліджуваний препарат також змінював співвідношення фаз, але в меншій мірі, ніж левамізол (Р<0,01). Профази коливались від 21,8±0,40‰ (у нирках) до 25,0±0,35‰ (у селезінці), метафази –від 38,2±0,20‰ (у селезінці) до 46,2±0,45‰ (у кишечнику), анафази – від 28,5±0,40‰ (у кишечнику) до 34,1±0,15‰ (у селезінці). Телофази відповідно зростали від 2,6±0,20‰ (у зябрах) до 3,5±0,15‰ (у нирках). Мітотичний індекс становив 10,0%, а коефіцієнт фаз коливався від 0,17‰ до 0,22‰. Патологічні мітози, пов’язані з відставанням хромосом в метафазі коливались від 6,48±0,15 (у нирках) до 7,3±0,15 (у кишечнику); патологічні мітози із відставанням хромосом у анафазі і телофазі коливались від 4,4±0,16 ‰ (у зябрах) до 5,5±0,10‰ (у селезінці). Фрагментація хромосом у всіх органах коливалась від 0,5±0,10‰ (у зябрах) до 1,2±0,15‰ (у кишечнику). Патологічні мітози, в яких реєструвались хромосомні і хроматидні мости, коливались від 3,9±0,10 ‰ (у зябрах) до 5,6±0,5‰ (у селезінці) (Р<0,01).

Виявлено, що у риб третьої дослідної групи тіабендазол викликає зменшення кількості профаз від 40,0±0,55‰ (у нирках) до 45,5±0,40‰ (у селезінці), збільшення метафаз від 42,4±0,30‰ (у селезінці) до 45,8±0,5‰ (у нирках), (Р<0,01). Анафази у селезінці становили - 9,4±0,15‰; телофази – 2,6±0,15‰, у зябрах анафази становили 12,2±0,20‰, телофази–1,5±0,20‰; унирках: анафази – 11,5±0,25‰, телофази – 2,7±0,20‰; у кишечнику – анафази–10,4±0,30‰, телофази–2,8±0,15‰ (Р>0,5). Патологічні мітози, пов’язані з відставанням хромосом в метафазі, коливались від 2,77±0,20‰ (у зябрах) до 3,25±0,10‰ (у кишечнику). Патологічні мітози, пов’язані з відставанням хромосом у анафазі і телофазі коливались від 2,33±0,15‰ (у селезінці), до 3,6±0,20‰ (у кишечнику). Фрагментація хромосом у клітинах органів становила 0,1±0,02‰ (у кишечнику) і 0,25±0,10‰ (у нирках) (Р<0,5). Рівень патологічних мітозів з хромосомними мостами коливався від 3,1±0,10‰ (у селезінці) до 3,8±0,10‰ (у нирках). У цілому їх загальний рівень зростав, у середньому, в 1,5 рази і коливався від 0,85% (у селезінці) до 1,02% (у нирках і кишечнику) порівняно з контролем. Препарат, що досліджувався не впливав істотно на показники мітотичного індексу і коефіцієнту фаз.

Отже, левамізол, альбендазол і тіабендазол впливали на мітотичну активність соматичних клітин риб, змінюючи співвідношення фаз мітозу. Найвищий рівень патологічних мітозів індукували левамізол і альбендазол, а тіабендазол порівняно з ними проявляв меншу мутагенну дію.

**Вплив нематоцидних препаратів на частоту та спектр хромосомних аберацій в органах коропа**. У контрольній групі риб рівень спонтанних аберацій хроматидного типу в лімфоїдному органі становив 0,58%, а у нирках – 0,52%. Рівень аберацій хромосомного типу складав в лімфоїдному органі 0,12%, а у нирках – 0,11%. Загальна частота хромосомних аберацій і частота та спектр хромосомних аберацій на рибу була, приблизно, однакова в обох органах. Аналізуючи рівень аберацій у першій дослідній групі, де уводився левамізол, було встановлено їх вірогідне збільшення. Так, аберації хроматидного типу в лімфоїдному органі становили 2,65% у нирках – 2,7%, тобто більше в 4,5 рази порівняно до контролю. Рівень аберацій хромосомного типу також зростав і становив 0,95% у лімфоїдному органі та 1,7% у нирках, збільшуючись у 7 і 8 разів. Загальна частота хромосомних аберацій також, відповідно, зростала і становила 1,8% в лімфоїдному органі та 1,7% у нирках. Частота і спектр хромосомних аберацій на рибу в лімфоїдному органі були дещо вищими і становили 3,6%, тоді як у нирках була 3,4%, що в 5 разів перевищувало аналогічні показники контрольної групи риб. Досліджуючи частоту та спектр хромосомних аберацій у риб 2-ї дослідної групи, де задавався альбендазол, було встановлено також вірогідне збільшення рівня хромосомних аберацій у порівнянні з контролем. Рівень клітин з абераціями хроматидного типу в нирках та лімфоїдному органі зростав у 1,6-2 рази і становив 1,2-1% від загального числа клітин. Рівень клітин з абераціями хромосомного типу також вірогідно збільшувався у порівнянні з контролем і становив у лімфоїдному органі 0,65%, а в нирках – 0,75%, що відповідно перевищувало контрольний показник в 5,4 та 7,5 разів. Загальна частота хромосомних аберацій зростала до 0,95%, а в нирках – 0,87%. Порівнюючи частоту та спектр хромосомних аберацій на рибу встановлено достовірну різницю. У нирках їх рівень зростав до 1,75%, а у лімфоїдному органі – 1,9%, що в 2,4-2,7 рази перевищувало контрольні величини. Рівень частоти та спектру хромосомних аберацій у коропів третьої дослідної групи, якій задавався тіабендазол, був значно нижчий, ніж у двох попередніх групах. Порівняно з контрольною, рівень аберацій хроматидного типу достовірно не відрізнявся, (у лімфоїдному органі – 0,51%, у нирках – 0,65%), проте рівень аберацій хромосомного типу в органах збільшувався. Так, в лімфоїдному органі і нирках він був, приблизно, в 3,6-4 рази вищий і становив, відповідно, 0,44% і 0,40%. Загальна частота та спектр хромосомних аберацій на одну рибу, порівнюючи з контролем зростала невірогідно і становила у лімфоїдному органі–0,51% і у нирках –0,52%.

Отже, достовірна різниця, встановлена між контрольною та дослідними групами, вказує на здатність нематоцидних препаратів індукувати мутації в соматичних клітинах коропа.

**Імунологічна реактивність у коропів під впливом нематоцидних препаратів.** У контрольних групах риб стан гуморального імунітету характеризувався показниками: рівень ЦІК становив 51,0±6,2 од.опт.густини; рівень IgE – 1,4±0,3 ІО, а рівень антитіл до гемолітичного стафілококу і гемолітичного стрептококу, відповідно, – 0,63±0,3 та 0,42±0,7 одиниць оптичної густини.

У групі риб, де уводився левамізол, спостерігали різке збільшення ЦІК – 150,0±5,2 та IgE – 45,0±2,0(Р<0,001), рівень антитіл до стафілококу та стрептококу був незначно збільшений і становив 1,3±0,2 та 1,8±0,4 одиниць оптичної густини

У групі риб, яким уводився альбендазол, відмічалось також вірогідне збільшення ЦІК – 125,0±4,8 одиниць оптичної густини та IgE – 21,0±1,3 одиниць оптичної густини (Р<0,001). Різниця між рівнем антитіл до стафілококів і стрептококів, порівняно з контролем, була невірогідна.

Найменшу різницю, порівняно з контрольною групою, виявлено у групі, де задавався тіабендазол. Рівень ЦІК тут становив 100,0±6,2 од. опт. густини, імуноглобуліну Е – 12,0±1,1 ІО (Р<0,01). Рівень антитіл до стафілококу та стрептококу коливався невірогідно.

Отже, найбільшу імунодепресивну дію в даних дозах проявляють левамізол і альбендазол, а найменшу – тіабендазол.

**Вивчення впливу нематоцидних препаратів на частоту мікроядер в еритроцитах периферичної крові коропа за допомогою мікроядерного тесту.** Установлено різке збільшення числа мікроядер в еритроцитах крові коропів, яким уводився левамізол – 22,2±0,68‰, що майже в 2,5 рази перевищувало контрольні показники (8,4±0,48‰) (Р<0,01). Число еритроцитів із мікроядрами у риб яким задавався альбендазол становило 16,0±0,55‰, збільшуючись у 2 рази порівняно з контролем. Кількість мікроядер в еритроцитах коропів, яким уводили тіабендазол порівняно з контролем зростала невірогідно –10,3±0,61 (Р>0,5).

Отже, встановлено, що найбільш значний мутагенний ефект проявляв левамізол і альбендазол. Тіабендазол не проявив властивість індукувати мікроядра.

**Корелятивні взаємозв’язки між цитогенетичними та імунологічними показниками у коропа при застосуванні нематоцидних препаратів**. При дослідженні тісноти взаємозв’язків між мітотичною

активністю органів коропів у контролі та під впливом левамізолу встановлено середню кореляційну залежність (R=0,62);(Р<0,04). Досліджуючи тісноту взаємозв’язків між рівнем патологічних мітозів у нирках та показниками імунологічної реактивності під дією левамізолу встановлена щільна кореляційна залежність між патологічними мітозами та Ig E (R=0,78),(Р<0,08) і середня між патологічними мітозами і ЦІК (R=0,59);(Р<0,07), При дослідженні тісноти взаємозв’язку між мітотичною активністю органів коропів у контролі та під впливом альбендазолу, встановлена середня кореляційна залежність (R=0.69),(Р<0,08) Досліджуючи тісноту взаємозв’язків між рівнем патологічних мітозів у нирках та показниками імунологічної реактивності під дією альбендазолу встановлено середню кореляційну залежність між патологічними мітозами та IgE (R=0.71),(P<0.02) і щільну між патологічними мітозами і ЦІК(R=0.89),(Р<0,03). При дослідженні тісноти взаємозв’язку між мітотичною активністю органів коропів у контролі та під впливом тіабендазолу, встановлена тісна кореляційна залежність (R=0,96),(Р<0,001). Досліджуючи тісноту взаємозв’язків між рівнем патологічних мітозів в нирках і показниками імунологічної реактивності встановлена щільна кореляційна залежність між патологічними мітозами та IgE (R=0.93);(P<0.001) та між патологічними мітозами і ЦІК (R=0, 83),(P<0,003).

Отже, кореляційний аналіз між цими показниками встановив щільну, статистично вірогідну кореляцію

**Дослідження каріотипу** ***Ph. lusiana.*** Оскільки в доступній літературі даних щодо будови хромосомного апарату самки *Ph. lusiana* ми не знайшли, то було вирішено дослідити її каріотип.

З даних таблиці 1 видно: між довжиною 4-х пар хромосом існує вірогідна різниця. Індекс спіралізації становив 71,43%, що свідчить про значну варіабельність хромосом. Хромосоми даного виду нематоди голокінетичні, не мають чітко локалізованої центромери, в диплоїдному наборі яєць знайдено 7 і 8 хромосом, які чітко відрізняються за довжиною. Це можна пояснити тим, що тип утворення статі визначається як ХХ–ХО., тобто самка має 2n=8, хромосом, а самець – 2n=7 хромосом.

**Метричні ознаки хромосом *Ph. lusiana* Таблиця 1**

| Хромоcоми | Абсолютна довжина мкм.(межі) | Стандарт­не відхилен­ня | Коефіці­єнт варіацій | Коефіці­єнт Ст’ю­дента | Відносна довжина (межі, %) | Cтан­данртневідхилен­ня | Коефіці­єнтваріацій |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| \*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*5 І | 3,85±0,095(3,7–4,0) | 0,25±0,04 | 6,49 | 1,0 | 63,150,62(60,10-66,20) | 1,3±0,30 | 2,05 |
| ІІ | 3,50±0,70(3,4–3,6) | 0,20±0,01 | 5,71 | 0,70 | 45,6±0,35(43,1–47,8) | 1,1±0,25 | 2,64 |
| ІІІ | 3,15±0,050(3,0–3,3) | 0,18±0,08 | 5,71 | 0,70 | 43,4±0,43(42,2 – 44,5) | 0,90±0,20 | 2,07 |
| ІV | 2,75±0,030(2,6–2,9) | 0,13±0,05 | 4,72 | 0,60 | 38,5±0,45(37,4 – 39,7) | 1,05±0,22 | 2,72 |

Отже, вивчений нами каріотип *Ph. lusiana* в порівняно з іншими нематодами риб, має свої певні особливості.

**Дослідження ембріогенезу *Ph. lusiana***. Яйця у цього виду нематоди– голобластичного типу з тонкою ліпоїдною оболонкою, що обумовлює швидкий розвиток личинок. Ділення повне рівномірне, видоспецифічне (для нематод). Установлено, що будова яєць, які знаходяться в проксимальній частині матки, відрізняється значним поліморфізмом, між яйцями на стадії 32-х бластомер наявні і ті, які мають по 16 бластомер. Водночас є і не запліднені яйця з тонкою оболонкою, під якою видно нитки хроматину. У дистальній частині матки у запліднених яйцях відбувається різка перебудова цитоплазматичних структур, спостерігаються фігури мейозу та мітозу. Видно яйця в стадії лептотени та пахітени в усіх бластомерах. Це наводить на думку про синхронізацію ділення. На кінцевій стадії формування личинок (стадія гаструли.) яйця стають видовжені, “підковоподібні”, відбувається занурення в глибину статевого зародку і насування на краї бластопору клітин хвостової ектодерми. Потім із яєць формуються недиференційовані рабдитовидні личинки, які відрізняються від дорослої нематоди будовою головного кінця.

Отже, ембріональний розвиток нематоди *Ph.lusiana* має певні особливості порівняно з іншими нематодами риб .

**Вивчення дії нематоцидних препаратів на хромосоми яєць *Ph. lusian*a *in vivo***. При мікроскопічному дослідженні хромосомних препаратів, які були отримані з нематод контрольної і дослідних груп риб виявлено збільшення хромосом на стадіїї метафази в яйцях нематод, на які діяли левамізолом та тіабендазолом Ми припускаємо, що це явище пов’язане з цитостатичною дією тіабендазолу і левамізолу в терапевтичних дозах. Воно має назву К-мітоз.Також знайдена кінцева дилеція в зиготі майбутньої самки під впливом тіабендазолу. Частота повторень цієї аберації в метафазних пластинках із яєць самки філометри, що були оброблені тіабендазолом, складала 1,5-2% від загальної кількості проаналізованих хромосом. Зовсім протилежну картину виявлено в препаратах з нематод, які були піддані дії альбендазолу, яйця яких не відрізнялись від контрольних. Вони мали бластомери, які знаходяться на стадії інтерфази.

Отже, левамізол і особливо тіабендазол зупиняє мітотичний поділ в яйцях самки філометри на стадіях прометафази і метафази. Виявлені нами аберації хромосом, які індуковані тіабендазолом, свідчать про значну мутагенну дію цього препарату на геном самки філометри.

**Дослідження впливу нематоцидних антгельмінтиків на личинки *Ph.lusiana in vitro****.* Установлено, що досліджувані нематоцидні препарати в однакових розведеннях на личинки *Ph.lusiana* проявляли різну дію. Так левамізол, в концентраціях 1000,0 мкг/л; 100,0 та 10,0 мкг/мл проявив свою дію протягом двох годин, а в концентраціях 0,1-0,01 мкг/мл – протягом наступних восьми годин. Концентрація левомізолу 0,001 мкг/мл викликала загибель личинок протягом 18 годин.Альбендазол в концентраціях 1000,0 мкг/мл і 100,0 мкг/мл. проявив свою дію на шосту і десяту години експерименту, а у концентраціях 10,0 мкг/мл і 1,0 мкг/мл відповідно на 12 і 18 годину. Інші концентрації на личинки дії не проявили. Щодо дії тіабендазолу, то тільки в концентраціях 1000,0 мкг/мл; 100,0 та 10,0 мкг/мл протягом 10-12 годин установлено загибель личинок.

Отже, тільки левамізол проявляє найбільший паралізуючий ефект. В той час як два інших – альбендазол та тіабендазол – на личинки проявили слабку паралізуючу дію.

**ВИСНОВКИ**

1. У дисертації викладено теоретичне узагальнення і нове вирішення наукової проблеми, що виявляється у комлексному дослідженні цитогенетичними, імунологічними, гельмінтологічними методами системи "паразит-хазяїн" при філометроїдозі коропа та впливу на неї нематоцидних препаратів; установлено різноманітні аспекти прояву цитогенетичної нестабільності у геномі соматичних клітин хазяїна та імунодепресивній дії мігруючих личинок *Ph.lusiana* і досліджуваних антгельмінтиків - левамізолу, альбендазолу та тіабендазолу; у вивченні каріотипу, ембріогенезу нематоди і впливу на її геном та на личинки вищеназваних нематоцидних препаратів, що суттєво доповнює загальнобіологічні відомості щодо патогенезу цього гельмінтозу і дає можливість нових методичних підходів у скринінгу антгельмінтиків при гельмінтозах риб.

2. Міграція личинок філометроїдес із 7-ї по 30-у добу інвазії здатна викликати порушення перебігу фаз мітозу, що проявляється у зменшенні коефіцієнта фаз у різних імунокомпетентних органах коропа із 0,75‰ у контролі до 0,125‰ у досліді, підвищувати рівень патологічних мітозів у 3,1 рази, збільшувати частоту поліхроматофільних еритроцитів з мікроядрами на 47 % та індукувати хромосомні аберації у 3, 6 рази в соматичних клітинах нирок та лімфоїдного органу.

3. Період міграційного філометроїдозу супроводжується збільшенням рівнів ЦІК та імуноглобуліну Е із 50,0 ± 4,5 та 1,25 ± 0,25 у контролі до 141,0 ± 4,8 та 56,0 ± 3,2 відповідно у досліді .

4. Порівняльними дослідженнями впливу левамізолу, альбендазолу та тіабендазолу встановлено, що найбільшу мутагенну та імунодепресивну активність має левамізол та альбендазол, а тіабендазол є в порівнянні з ними менш цитотоксичним.

5. Встановлено, що каріотип самки *Ph. lusiana* складає 2n=8 ХХ хромосом, а самця – 2n=7 ХО хромосом., досліджено ембріогенез цієї нематоди.

6. Із досліджених нами нематоцидних препаратів (тіабендазол левамізол, альбендазол), два перших на спадковий апарат *Ph. lusiana* проявили свою дію, яка виявляється в зупинці поділу в яйцях на стадіях прометафази та метафази і появою хромосомних аберацій

1. Найбільш сильний паралізуючий ефект на личинки *Ph. lusiana у* дослідах *in vitro* проявив левамізол, який можна із певними застереженнями застосовувати при лікуванні міграційної форми філометроїдозу.

**ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ**

1 Розроблено "Спосіб виготовлення прямих препаратів метафазних хромосом риб"(Патент 34814 А), який забезпечує отримання на 80% більше метафазних пластинок хромосом хорошої якості.**\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*2 розроблено методичні рекомендації "Цитогенетична оцінка впливу гельмінтів та нематоцидних препаратів на організм коропа ", затверджені на засіданні вченої ради Львівської державної академії ветеринарної медицини ім. С.З Ґжицького (протокол № 1 від 31 січня 2002 року).**

3. При дегельмінтизації риб та в процесі вивчення патогенезу філометроїдозу потрібно враховувати прояви цитогенетичної нестабільності геному соматичних клітин коропів під впливом міграційної форми філометроїдозу.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Тафійчук Р.І.Оцінка цитогенетичного статусу українського лускатого коропа (Сyprinus Carpio L.) та його імунологічної реактивності .//Книга наукових статей "Актуальні проблеми медицини,біології, ветеринарії та сільського господарства”.– Львів.- 1998. – кн.4–С. 248-251.

2. Р.І.Тафійчук К.В.Секретарюк “Цитохімічні і цитогенетичні дослідження самки Рhilometra Lusiana. //Науковий вісник Львівської державної академії ветеринапрної медицини ім.С.З.Гжицького.1999.–вип 2– С.117-124.

(Р.І.Тафійчук–збирання фактичного матеріалу, підбір і аналіз літератури, написання статті.)

3. Р.І.Тафійчук К.В.Секретарюк “Вплив левамізолу на цитогенетичний гомеостаз коропа” //Збірник матеріалів 1 Всеукраїнської науково-практичної конференції паразитологів України. 24-28 жовтня.1999р.НАУ.Київ.– 1999. – С.48

(Р.І.Тафійчук – збирання фактичного матеріалу, підбір і аналіз літератури та написання статті.)

4. Р.І.Тафійчук “Вплив експериментального філометроїдозу на імунологічну реактивність коропа(CYPRINUS CARPIO L.)// Науковий вісник Львівської державної академії ветеринарної медицини ім.С.З.Гжицького.2000. т.2, частина 1.До сторіччя від дня народження С.З.Ґжицького Матеріали Міжнародної конференції “С.З.Ґжицький і сучасна аграрна наука”,Львів. 14-17 квітня 2000 р.С.180-182.

5. Секретарюк К.В., Стибель В.В, Сварчевський О.А., Тафійчук Р.І “Паразитоценоз та його генетичні аспекти”.//Збірник наукових праць харківського зооветеринарного інституту “Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини”/ ветеринарні науки/ випуск 7(31) Матеріали 5-го З′їзду паразитоценологів України м.Харків 5-6 квітня 2001 р. С.61. (Дисертант дослідив генетичні аспекти паразитоценозу у коропів ).

6. К.В.Секретарюк, Р.І.Тафійчук.”Генетичні аспекти сприйнятливості і стійкості коропа до філометроїдозу” Матеріали 1 Всеукраїнської конференції іхтіопатологів України Київ,24-27 серпня 2001 р. С.105.

(Р.І.Тафійчук–збирання фактичного матеріалу, підбір і аналіз літераури, узагальнення даних експериментівта написання статті.)

7. К.В.Секретарюк, Р.І.Тафійчук "Цитогенетичний (метафазний) метод дослідженняметод дослідження соматичних клітин коропа”.//Праці міжнародної науково-практичної конференції "Проблеми аквакультури і функціонування водних екосистем".– Київ: інститут рибного господарства 2002.– С.123-124. (Р.І.Тафійчук–збирання фактичного матеріалу, підбір і аналіз літераури, узагальнення даних експериментів та написання статті.)

8.Р.І.Тафійчук К.В.Секретарюк, "Вивчення впливу нематоцидних препаратів на личинки Рh. lusiana in vitro". Науковий вісник Львівської державної академії ветеринарної медицини ім.С.З.Гжицького. 2002.р т.4 (№2), частина 1. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених та спеціалістів "Молоді вчені у вирішенні проблем аграрної науки і практики" 26-27-червня 2002 р.С 147-150. (Р.І.Тафійчук–збирання фактичного матеріалу, підбір і аналіз літераури, узагальнення даних експериментів, та написання статті.)

9.Секретарюк К.В.,Тафійчук Р.І.,Сєднєва І.А. “Спосіб виготовлення прямих препаратів метафазних хромосом риб” Деклараційний патент України на винахід № 34814 А від 15.03.2001 р. (Р.І.Тафійчук - винайдення способу).

**Тафійчук Р.І. Філометроїдоз коропа: цитогенетичні та імунологічні дослідження в системі "паразит-хазяїн" та вплив на неї нематоцидних препаратів -Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.11, – паразитологія, гельмінтологія, Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН м. Харків 2002р.

У дисертації викладено матеріали щодо дослідження впливу міграції личинок *Ph.lusiana* на геном соматичних клітин коропів та його імунореактивність. Встановлено, що у коропів змінюється перебіг фаз мітозу, підвищується рівень патологічних мітозів збільшується частота та спектр хромосомних аберацій в органах, і кількість еритроцитів із мікроядрами. У інвазованих коропів збільшується також рівень циркулюючих імунних комплексів та імуноглобуліну Е. Установлено, що застосування левамізолу, альбендазолу, тіабендазолу приводило також до порушення стабільності геному дослідних коропів і викликало імуносупресивну дію. Досліджений каріотип та ембріогенез *Ph.lusiana* а також вивчені різноманітні аспекти дії на ці структури і личинки вищеназваних нематоцидних антгельмінтиків. Розроблено методичні рекомендації щодо цитогенетичної оцінки впливу гельмінтів та нематоцидних препаратів на організм коропа.

**Ключові слова**: філометроїдоз коропів, цитогенетика, імунологія, нематоцидні препарати.

**Тафийчук Р.И. Филометроидоз карпа: цитогенетические и иммунологические исследования в системе "паразит-хозяин" и влияние на нее нематоцидных препаратов.-Рукопись.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук. Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины УААН г. Харьков 2002.

В результате проведенных исследований установлено, что миграция личинок филометроидес в организме экспериментально инвазированных карпов на разные сутки инвазии вызывала начиная с 7– й по 30 – ые сутки миграции в соматических клетках нарушение протекания фаз митоза, которые проявляются в изменении их соотношений а также повышением уровня патологических митозов в соматических клетках почек, селезенки, жабер, кишечника в 3,1 раза уменьшала коэффициент фаз в разных иммунокомпетентных органах с 0,75‰ в контрольной группе до 0,125‰ в опыте, индуцировала хромосомные перестройки в клетках почек и лимфоидного органа приблизительно 3,6 раза, увеличивать количество полихроматофильных эритроцитов с микроядрами в периферической крови на 47%. Инвазия карпов приводит также и к увеличению уровня циркулирующих иммунных комплексов с 50,0 ± 4,5 единиц оптической плотности в контрольной группе до 141,0 ± 4,8 единиц оптической плотности. в опыте и иммуноглобулина Е с 1,25 ± 0,25 интернациональных единиц в контрольной группе до 56,0 ± 3,2 интернациональных единиц в опыте в сыворотке крови инвазированных карпов Параллельно исследовалось влияние нематоцидов – левамизола, альбендазола и тиабендазола на геном соматических клеток и иммунореактивность карпов. Установлено, что левамизол способен повышать уровень патологических митозов в среднем в 4,5 раза, в 8 раз увеличивать частоту и спектр хромосомных аббераций, повышать уровень эритроцитов с микроядрами в 2,5 раза а также повышать уровень ЦИК до 150,0 ± 5,2 и иммуноглобулина Е до 45,0±2,0 интернациональных единиц. Альбендазол также изменял соотношение фаз митозов в органах и повышал уровень патологических митозов в 3 раза, в 5,4 раза повышал уровень хромосомных перестроек и в 2 раза по сравнению с контрольной группой уровень эритроцитов с микроядрами. Тиабендазол существенно не изменял соотношение фаз митоза, повышая тем не менее уровень патологических митозов в 1,5 раза, и в 3 раза частоту и спектр хромосомных аббераций в органах, уровень эритроцитов с микроядрами изменялся недостоверно, но уровень ЦИК повышался до 100,0±6,2 единиц оптической плотности а уровень иммуноглобулина Е до 12,0±1.1 интернациональных единиц. Кореляционный анализ между исследоваными данными установил прямую, статистически достоверную кореляционнную зависимость. Был также изучен кариотип *Ph.lusiana*. Установлено что кариотип самки равен 2n=8, самца 2n=7 тип образования пола определяєтся как ХХ–ХО. Исследованы основные этапы эмбриогенеза. Установлено цитотоксическое влияние на геном яиц нематоды тиабендазола и левамизола что можно объяснить их цитостатическим действием. Изучалась также эффективность антгельминтиков в опытах на личинках in vitro. Установлено сильное парализирующее действие левамизола, в то время как два других–альбендазол и тиабендазол на личинки действовали очень слабо. В результате разработаны методические рекомендации "Цитогенетична оцінка впливу гельмінтів та нематоцидних препаратів на організм коропа" утвержденные Ученым советом ЛДАВМ им. С.З.Гжицкого. Таким образом, во время дегельминтизации карпов необходимо учитывать как влияние мигрирующих личинок так и нематоцидных антгельминтиков на геном карпа и его иммунореактивность

**Ключевые слова**: филометроидоз карпов цитогенетика, иммунология, нематоцидные препараты.

**Tafiychuk R.I. Phylometroidoses of carps: cytogenetical and immunological research in the system “parasit-host” and influence of nematocydes preparations on it. – The manuscript.**

The dissertation for the scientific degree of Candidate of Veterinary sciences, speciality 16.00.11, - Parasitology, Helminthology. – The Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine of Ukrainian Academy of Agrarian Sciences, Kharkov, 2002.

The dissertation is presented the material pertaining the research of influence of the migration of larves *Ph. lusiana* on the genome of somatic cells of carps and its immunoreactivity. The change of the course of phases of mitosis, the increase of the level of pathological mitosises, the increase of the frequency and spectrum of chromosome aberrations in organs and number of erythrocytes with micronucleuses of carps were established. The level of circulating immune complexes and immunoglobulin E were increased of infection carps. The use with levamizole, albendazole, tyabendazole lead to the disorder of the stability of genome of carps under examination and caused the immunosuppressive action. The cariotype under examination and embriogenesis *Ph. lusiana* and learned difference aspects of the action on these structures and larves of above mention nematocydes anthelminthics. The methodical recomendations pertaining cytogenetical mark of influence of helminthes and nematocydes preparations on the carp′s organism.

**Key words:** Phylometroidoses of carps, cytigenetics, immunology, nematocydes preparations.

Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>