

УДК 593.17+619:615

Коваленко В.Л., к. вет. н., ст. наук. співробітник¹©
Балим Ю.П., д. вет. н.², Лясота В.П., д. вет. н., проф.³
Іванова-Сальнікова В.Г., здобувач², Хмель М.М., к. с.-г. н., доц.²
Інститут ветеринарної медицини НААНУ¹,
Харківська державна зооветеринарна академія²
Білоцерківський національний аграрний університет³

ВПЛИВ ІМУНОСТИМУЛЯТОРА СЕЛІРАН НА ЖИТТЄДІЯЛЬНІСТЬ ВІЙЧАСТОЇ ІНФУЗОРИЇ *TETRAHYMENA* *PYRIFORMIS*

У науково-дослідній роботі проведено доклінічне вивчення впливу нової біологічно активної сполуки Селіран на життєдіяльність війчастой інфузорії *Tetrahymena pyriformis*. Виявлено, що оптимальною дозою впливу на процеси життєдіяльності є доза 1,0 мл/гол. Поведінка цієї популяції клітин може бути оціночним критерієм для імуностимулюючого препарату.

Досить актуальною науковою проблемою є вивчення впливу навколишнього середовища на життєдіяльність як цілісного організму, так і окремих його складових: функціональних систем, органів, тканин і клітин. Проведення саме таких досліджень є досить складним з методичних, економічних і гуманітарних міркувань. Одним із шляхів вирішення цієї проблеми є проведення експериментів на культурах клітин. Зауважимо, що їх етіологія обмежується певним органом або тканиною, а спектр функцій цих клітин є досить вузьким і специфічним. Тому унікальним є застосування для подібних досліджень представника найпростіших – інфузорії *Tetrahymena pyriformis*, яка в морфологічному аспекті є клітиною, а у фізіологічному – цілісним організмом [1]. Ці клітини є простими в застосуванні й не вимагають особливих затрат на підтримання життєдіяльності культури та проведення досліджень. Крім того, завдяки короткій тривалості життя і високій репродуктивній здатності вони дозволяють протягом короткого терміну простежити зміни фізіологічних процесів на кількох поколіннях [2, 3].

Використання *Tetrahymena pyriformis* для токсико-біологічної оцінки зумовлене тим, що в більшості випадків цей тест-організм реагує на дію хімічних, біологічних та фізичних факторів подібно до вищих тварин. Завдяки високій інтенсивності обміну речовин інфузорія швидко реагує на шкідливі включення [4, 5].

Метою роботи було вивчити вплив імуностимулятора Селіран на життєдіяльність війчастой інфузорії *Tetrahymena pyriformis*.

Матеріал і методика досліджень. Експериментальні дослідження виконані згідно з наказом Державного департаменту ветеринарної медицини Міністерства агропромислового комплексу України № 7 від 17.02 1999 р. “Про

© Коваленко В.Л., Балим Ю.П., Лясота В.П., Іванова-Сальнікова В.Г., Хмель М.М., 2012

посилення контролю за якістю і безпечністю ветеринарних препаратів і кормових добавок” та згідно з Міжнародним стандартом GLP (Належна лабораторна практика).

Для проведення експериментальних досліджень використовували лабораторний штам (WH₁₄), згідно з методикою П.В. Микитюка [2]. Спостереження за життєдіяльністю вільної інфузорії *Tetrahymena pyriformis* проводили через 1 хвилину та до 190 годин.

Результати досліджень. За результатами експериментальних досліджень встановлено, що будь-яких відхилень від нормального росту і розвитку в найпростіших імуностимулятор Селіран не викликав. Через три години після посіву в 0,56 %-ний розчин морської солі інфузорії починалися ділитися, особливо дослідні клітини. Активуючий вплив препарату на життєдіяльність найпростіших спостерігали при застосуванні дози 1,0 мл/гол (ділення). Найбільш активно процес мітозу відбувався при використанні саме цієї дози 1,0 мл/гол. На третю годину збільшення кількості клітин складало 5,4 %, порівняно з контрольними пробами (табл. 1, $p > 0,1$). Виявляли також і певну кількість клітин, що ділилися (вісімкоподібна форма) – $8,00 \pm 0,01$ %. На шосту годину спостережень процент збільшення складав 12,2 ($p < 0,05$). Надалі кількість клітин поступово збільшувалася і на 48-у годину експерименту в дослідних пробах в 1 мл середовища складала $35,20 \pm 1,11$ та – $30,60 \pm 1,23 \times 10^4$ контрольних, або 15,0 % при статистично вірогідному збільшенні. Кількість клітин, що діляться, становила $12,00 \pm 0,06$.

Таблиця 1

**Вплив імуностимулятора Селіран
на життєдіяльність вільної інфузорії *Tetrahymena pyriformis*,
 $\bar{X} \pm m_{\bar{x}}, n=3$**

Спостереження через:	<i>Контроль</i>	Дослід	Кількість клітин, що діляться
1 хв	$30,20 \pm 1,13$	$30,20 \pm 1,08$	–
30 хв	$30,30 \pm 1,20$	$30,40 \pm 1,10$	–
1 год	$30,50 \pm 1,10$	$30,54 \pm 1,08$	–
3 год	$30,50 \pm 1,15$	$32,15 \pm 1,20$	$6,00 \pm 0,01$
6 год	$30,50 \pm 1,17$	$34,25 \pm 1,60$	$8,00 \pm 0,03$
9 год	$30,50 \pm 1,12$	$34,30 \pm 1,30$	$8,00 \pm 0,06$
12 год	$30,55 \pm 1,22$	$34,60 \pm 1,14^*$	$8,00 \pm 0,08$
24 год	$30,60 \pm 1,16$	$34,90 \pm 1,21^*$	$10,00 \pm 0,02$
48 год	$30,60 \pm 1,23$	$35,20 \pm 1,11^*$	$12,00 \pm 0,06$
72 год	$30,60 \pm 1,33$	$35,10 \pm 1,17^*$	$14,00 \pm 0,07$
96 год	$30,60 \pm 1,32$	$35,16 \pm 1,60^*$	$14,00 \pm 1,00$
120 год	$30,60 \pm 1,12$	$35,00 \pm 1,40^*$	$10,00 \pm 1,05$
140 год	$30,40 \pm 1,09$	$32,10 \pm 1,29^*$	$10,00 \pm 1,12$
160 год	$30,50 \pm 1,22$	$32,00 \pm 1,30^*$	$10,00 \pm 1,01$
190 год	$30,40 \pm 1,19$	$30,90 \pm 1,44^*$	$8,00 \pm 1,10$

Примітка. * $p < 0,05$.

Вірогідні зміни в активізації процесу ділення відбувалися і при дозах 1,5–2,5 мл/гол, але процент збільшення клітин був дещо нижчим, ніж при використанні дози 1,0 мл/гол: 1,5 мл/гол – 3,2–8,3 %, 2,0 мл/гол – 5,6–9,3 % та 2,5 мл/гол – 1,0–5,0 %.

Вивчаючи функціональні показники інфузорії *Tetrahymena pyriformis*, виявляли, що клітини в контрольних і дослідних зразках рухалися прямолінійно й активно. Протягом усього періоду спостережень сповільнення росту клітин не виявляли, що свідчило б про зниження їхньої життєвої активності через наявність у середовищі токсичних речовин. Не спостерігали і змін характеру руху, морфології клітин чи появи аномальних форм. Найпростіші мали густий ріст, рухалися активно і поступально-прямолінійно. Форма їх була овально-довгаста, середнього наповнення. Зважаючи на те, що на сьогодні доведена мутагенна, тератогенна і канцерогенна дія ряду хімічних і фізичних факторів, проби продовжували інкубувати з метою виявлення молекулярної кумуляції, тобто накопичення токсичного ефекту.

Можливу мутагенність визначали шляхом сканування на наявність мутантів за допомогою середовища виживання – кофеїну. Нормальна інфузорія гинула в 10 молярному розчині кофеїну. Мутанти до такого розчину стійкі, що дозволило б виділити його від вихідного штаму інфузорій. У досліді всі інфузорії гинули в згаданому розчині кофеїну.

Важливими були і такі функціональні показники, як рухливість і характер руху клітин. У контрольному і дослідному зразках культури рух був прямолінійний і активний. Усе це дає підставу стверджувати про нешкідливий вплив імуностимулятора Селіран на живу клітину у дозі 1,0 мл/гол. Сповільнення процесу ділення інфузорії зі збільшенням часу впливу вказує на часову залежність стимулюючого ефекту препарату.

Висновки.

1. Результати проведених досліджень свідчать про те, що Селіран активізує процеси життєдіяльності вільної інфузорії *Tetrahymena pyriformis* (мітоз становив 9,0–15,3 %; $p < 0,05$).

2. Препарат не проявляв мутагенного впливу на клітини найпростіших. Виявлено, що оптимальною дозою впливу на процеси життєдіяльності є доза 1,0 мл/гол.

3. Поведінка цієї популяції клітин може бути оціночним критерієм для імуностимулюючого препарату, що має важливе значення для вивчення екологічних, фізіологічних та медичних аспектів чутливості і стійкості живих систем до антропогенних факторів.

Література

1. Дітчук О.П. Фізіолого-морфологічні особливості життєдіяльності інфузорії *Paramecium caudatum* під впливом лікарських засобів: Автореф. дис. ... канд. биол. наук : 14.00.03 / Львів. Академ. Вет. мед. – Львів., 1998. – 17 с.

2. Микитюк П.В. Методические рекомендации (микрометод) токсикологической оценки рыбы и других гидробионтов. – Киев, 1997. – С. 10.

3. Лабораторные методы исследования в клинике.: Справочник // В.В. Меньшиков, Л.Н. Делекторская / Под ред. В. В. Меньшикова . – М.: Медицина, 1987. – 368 с.

4. Коваленко В.Л. Визначення ефективності знезараження дезінфектантом Діамант та тест-об'єктах. / В.Л. Коваленко, М.Ф. Яценко, А.І. Чехун // Міжвідомчий тематичний науковий збірник УААН. Ветеринарна медицина – Харків, – 2008. – Т. 91. – С. 220–222.

5. Коваленко В.Л. Оцінка нешкідливого впливу дезінфікуючих препаратів діамант, дезаінсект на інфузорії тетрахімена піріформіс / В.Л. Коваленко, С.М. Терещенко // Ветеринарна біотехнологія. Бюлетень № 16. – К. – 2010. – С. – 93–97.

Summary

Kovalenko V.L., Balum Ju. P., Lysota V.P.,

Ivanova-Salnikova V.G., Chmel N.N.

Institute Veterinary Medicine NAANU,¹ Kharkiv State Zooveterinary academy²

Bilcerkivskal National Agrarian University³

INFLUENCE OF IMMUNOSTIMULANT SELIRAN IS ON VITAL FUNCTIONS OF CILIARY INFUSORIAN OF TETRAHYMENA PYRIFORMIS

In research work the clinical study of influence of new bioactive connection of Seliran is conducted on the vital functions of ciliary infusorian of Tetrahymena of pyriformis. It is discovered that the optimal dose of influence on the processes of vital functions is a dose 1,0 mls/goal. Behavior of this population of cages can be an evaluation criterion for preparation.

Рецензент – д.б.н., професор Маслянюк Р.П.