

PATANATOMICAL DESCRIPTION OF THE ACUTE AFRICAN SWINE FEVER IN EXPERIMENT

*Karalova E.M., Arzumanyan H.A., Mirzoyan A.F., Hakobyan A.V., Karalyan Z.A.**Laboratory of Cell Biology, Institute of Molecular Biology of NAS RA, Yerevan, Armenia**Voskanyan H.E.**Scientific Center of Stock Breeding and Veterinary RA, Yerevan, Armenia**Karalyan N.Yu.**Center for the Prevention of particularly dangerous infection MH RA, Yerevan, Armenia*

It was shown the features of the clinical circuit of ASF provoked by intramuscular injections of the virus. The increase of the clinical symptomatology occurs faster in comparison with depicted. It was detected hemorrhages in the marginal lobe of the lung. For the first time were detected hemorrhages in the mesentery and in the big joints of the extremities.

УДК 616.423423-018.1-02: 576.858.13+576.858.51

ПОЛИПЛОИДИЯ ПРИ ИНФЕКЦИИ ПАРАМИКСОВИРУСАМИ

*Каралян З.А., Аброян Л.О., Акопян Л.А., Аветисян А.С., Закарян О.С., Каралова Е.М.**«Институт Молекулярной Биологии НАН РА», лаборатория клеточной биологии, г. Ереван, Республика Армения**Тер-Погосян З.Р.**«Национальный центр онкологии МЗ РА», г. Ереван, Республика Армения*

Полиплоидия (от греч. *polyploos* – многократный и *eidos* – вид) – наследственное изменение, заключающееся в кратном увеличении числа наборов хромосом в ядрах клеток. Полиплоидия весьма широко распространенное явление, биологическая роль которой не всегда ясна, но в физиологических условиях может быть связана с необходимостью увеличения числа структурных генов [1]. В условиях *in vitro* полиплоидия может быть обусловлена также блоком клеток в монослое при насыщении последнего вследствие контактного ингибирования.

Достоверные цитологические данные об уровнях плоидности клеток, инфицированных различными представителями парамиксовирусов, отсутствуют. Более того, практически не изучены механизмы умножения геномов, в инфицированных вирусами клетках. Тем не менее, важность ядерных структур для репликации парамиксовирусов несомненна. У различных парамиксовирусов, реплицирующихся в цитоплазме, выявлены белки, мигрирующие в ядро. Например, у вируса парагриппа человека, V протеин содержит сигнал ядерной локализации - NLS (специфическая последовательность необходимая для транспортировки белка в ядро). Этот белок локализуется в ядре [2]. А в случае вируса болезни Ньюкасла выявлена способность вирусного белка М к импорту в ядро [3]. Функции этих белков в ядре зараженной клетки изучены недостаточно, и практически не изучено влияние репликации парамиксовирусов на функциональное состояние ядер инфицированных клеток. Одним из таких, малоизученных в данном аспекте вирусов, является вирус кори.

Материалы и методы исследований. В работе использовалась культура линия аденокацномы толстого кишечника человека (CaCo-2). Клетки культивировались в среде Eagle, с добавлением 20 % фетальной бычьей сыворотки. Посевная доза 2×10^6 клеток/мл.

Для получения острой вирусной инфекции вирус кори (штамм *Edmonstone B*) использовался в дозе 1.0 ТЦД₅₀/мл.

Для моделирования влияния интерферона (ИФН) нами использовался α -ИФН в дозе 20 Ед/мл.

С помощью микроскопа-фотометра SMP-05 телевизионным методом после окраски препаратов реактивом Шифа по Фельгену определяли количество ДНК (λ 575 нм) в ядрах и ядрышках культуры клеток (CaCo-2) их площадь и периметр в процессе культивирования ежедневно по 24 часа по 144 часа в контроле, при инфекции вирусом кори и при действии α -ИФН. В качестве диплоидного стандарта использовали нестимулированные лимфоциты человека и выявляли распределение клеток культуры по плоидности (%). Данная методика является удобной для определения нарушений клеточного цикла *in vivo* [4] и *in vitro* [5], а также для определения полиплоидизации [6].

Достоверность различий между значениями распределения ДНК по классам плоидности определяли, используя χ -критерий Вилкоксона-Манн-Уитни, с помощью программы SPSS 14.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL).

Результаты исследований и их обсуждение. Вирус кори реплицировался в клетках культуры с накоплением титра (максимальные титры вируса – 3–4 ТЦД₅₀/мл) вплоть до 5 дня после инфекции (д.п.и.), затем титры вируса несколько снижались (1,5–2,75 ТЦД₅₀/мл).

Культура CaCo-2 после формирования монослоя оказалась относительно стабильной популяцией и содержала, в среднем, 2,2–2,6 ядрышек на ядро. Для нее характерно относительно стабильное содержание ДНК и невыраженные колебания распределения ядер клеток по классам плоидности [7].

Вирус кори реплицировался в клетках культуры с накоплением титра (максимальные титры вируса – 3–4 ТЦД₅₀/мл) вплоть до 5 дня после инфекции (д.п.и.), затем титры вируса несколько снижались (1,5–2,75 ТЦД₅₀/мл).

Исследование распределения ядер клеток CaCo-2 по классам плоидности ДНК выявило, что под действием инфекции вируса кори в течение первых двух суток наблюдалось смещение гистограммы вправо (рис.). При сравнении распределения ядер зараженных клеток с контрольными, оказалось, что к 24 часам, число инверсий по χ -критерию равно 3, ($p < 0,05$), а разница с группой клеток, подвергшихся воздействию ИФН не достоверна. К 48 часам число инверсий по χ -критерию, при сравнении зараженных и контрольных клеток, равно 0 ($p < 0,01$), а при сравнении зараженных клеток с группой клеток получивших воздействие ИФН, число инверсий равно 2 ($p < 0,05$).

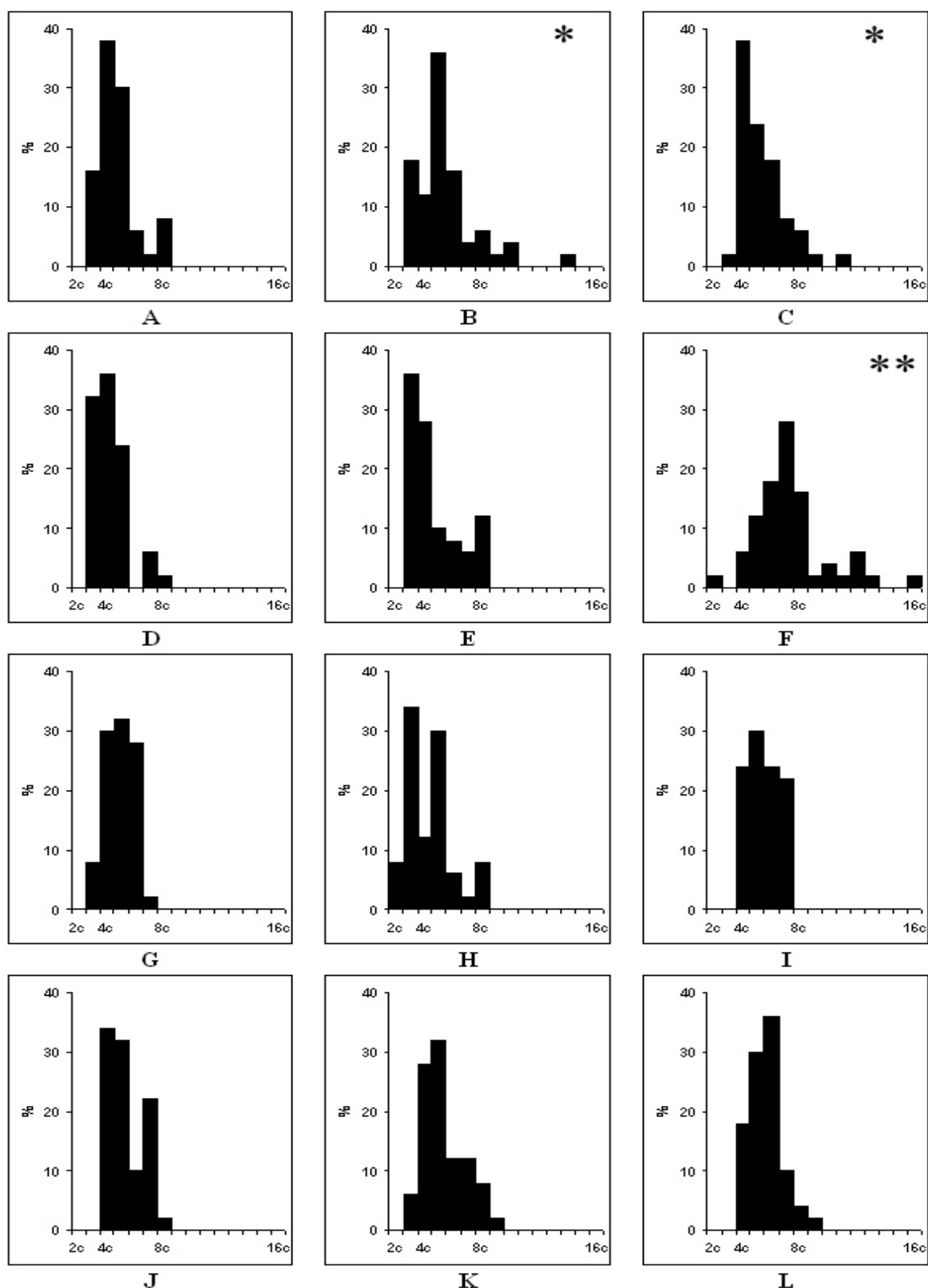


Рис. Распределение ядер клеток CaCo-2 по классам пloidности в контроле, под действием вируса кори и под действием α -ИФН

Левая колонка – распределение ядер клеток CaCo-2 по классам пloidности в контроле; Центральная колонка \square распределение ядер клеток CaCo-2 по классам пloidности под воздействием α -ИФН; Правая колонка – распределение ядер клеток CaCo-2 по классам пloidности под воздействием вируса кори.

1 ряд – 24 ч.п.и. (C), 24 ч после инкубации с ИФН (B) и соответствующий контроль (A); 2 ряд – 48 ч.п.и. (F), 48 ч после инкубации с ИФН (E) и соответствующий контроль (D); 3 ряд – 72 ч.п.и. (I), 72 ч после инкубации с ИФН (H) и соответствующий контроль (G); 4 ряд – 96 ч.п.и. (L), 96ч после инкубации с ИФН (K) и соответствующий контроль (J).

* достоверные отличия по сравнению с контролем ($p < 0.05$); ** достоверные отличия по сравнению с контролем ($p < 0.01$) и клетками, подвергшимися воздействию ИФН ($p < 0.05$).

Очевидно, это явление связано с нарушениями клеточного цикла, описанными при коревой инфекции [8, 9]. При этом на ранних стадиях вирусной инфекции происходил блок клеток в фазе G2 клеточного цикла, чему свидетельствует увеличение числа тетра- окта- и гипертетраплоидных клеток в сроки 24–48 ч.п.и. Последнее вероятно является результатом действия ИФН, вырабатывающегося в ответ на вирусную инфекцию. Об этом свидетельствует и сходные изменения распределения ядер клеток по классам плоидности при воздействии ИФН (рис.).

В дальнейшем гистограмма возвращалась к прежним значениям, а к 120–144 часам инфицирования начиналась деградация монослоя.

Выводы. Таким образом, можно утверждать, что на ранних стадиях инфекция парамиксовирусами (по крайней мере, вирусом кори) способна вызвать полиплоидизацию клеток монослоя.

Список литературы

1. Бродский, В. Я. Клеточная полиплоидия. Пролиферация и дифференцировка [Текст] / В.Я. Бродский, И.В. Урываева. – М.: Наука, 1981. – 259 с.
2. Identification of the sequences responsible for nuclear targeting of the V protein of human parainfluenza virus type 2 [Text] / N. Watanabe [at al.] // J. Gen. Virol. – 1996. – Vol. 77. – P. 327–338.
3. Nuclear entry and nucleolar localization of the Newcastle disease virus (NDV) matrix protein occur early in infection and do not require other NDV proteins [Text] / M.E. Peoples [at al.] // J. Virol. – 1992. – Vol. 66. – P. 3263–3269.
4. A distinct pattern in the DNA ploidy histograms of hydatidiform moles and nonmolar abortuses is caused by accumulation of trophoblasts in the late s-phase [Text] / M. Pradhan [at al.] // Int. J. Gynecol. Pathol. – 2007. – Vol. 26, № 4. – P. 432–436.
5. In vitro investigations of interphase and metaphase argyrophilic nucleolar organizer regions and cellular proliferation in the human urothelial cancer cell line HOK-1 [Text] / A. Hittmair [at al.] // Virchows Arch. – 1994. – Vol. 424, № 2. – P. 149–154.
6. Haploid unit-ploidy transition of tetraploid and octaploid H1 (ES) cells in long-term culturing [Text] / K. Fujikawa-Yamamoto [at al.] // Hum. Cell. – 2011. – № 2. – P. 78–85.
7. Morphometry of nuclear and nucleolar structures in a CaCo-2 cell line [Text] / Z. Karalyan [at al.] // Cell Biol. Int. – 2004. – Vol. 28, № 4. – P. 249–253.
8. Measles virus nucleoprotein induces cell-proliferation arrest and apoptosis through NTA1L-NR and NTA1L-FcgammaRIIB1 interactions, respectively [Text] / D. Laine [at al.] // J. Gen. Virol. – 2005. – Vol. 86 (Pt. 6) – P. 1771–1784.
9. Growth arrest of epithelial cells during measles virus infection is caused by upregulation of interferon regulatory factor 1 [Text] / S. Yokota [at al.] // J. Virol. – 2004. – Vol. 78, № 9. – P. 4591–4598.

THE POLYPLIODIZATION AS RESULT OF PARAMIXOVIRUS INFECTION

Karalyan Z.A., Ter-Pogosyan Z.R., Abroyan L.O., Hakobyan L.H., Awetisyan A.S., Zakaryan H.S., Karalova E.M.

Institute of Molecular Biology NAS RA; Oncological research Center

With the help of the example of the measles virus it was shown the possibility of the appearance of the polypliodity during the paramixovirus infection. The polypliodity appears in the CaCo-2 cells culture after 48 hours from the infection and has short duration. The detected polypliodity is induced by virus and has no relationships with the release of the interferon during the measles infection.

УДК 619:579.831:639.311:614.48

ВИЗНАЧЕННЯ БАКТЕРИЦИДНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ПРЕПАРАТУ «ДЗПТ-2» ЩОДО *AEROMONAS SALMONICIDATA* *VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS*

Кікоть Г.В., Стегній Б.Т., Завгородній А.І., Палій А.П.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

Забезпечення стабільного благополуччя щодо інфекційних хвороб риб у більшості випадків залежить від наявності ефективних методів діагностики та проведення профілактичних заходів [1].

За останні 10–15 років в умовах аквакультури та природних водоймах захворюваність риб на вірусні та бактеріальні хвороби значно зросла, що наносить великі економічні збитки промислового рибництва. Поширенню інфекційних хвороб сприяли безконтрольне завезення риби з рибогосподарств з невизначеною епізоотичною ситуацією, незадовільний санітарний стан водойм, а також несвоєчасна діагностика захворювань. Важливе значення в профілактиці інфекційних хвороб відіграє регулярне та якісне проведення ветеринарно-санітарних заходів, які здійснюють шляхом обробки водойм дезінфікуючими препаратами. Ефективність профілактичної або вимушеної дезінфекції залежить від правильного вибору дезінфікуючого препарату з урахуванням стійкості збудників. Необґрунтоване використання одного й того ж препарату зумовлює у мікроорганізмів формування підвищеної стійкості до дезінфікуючого засобу. У подальшому застосування його є неефективним для проведення всього комплексу ветеринарно-санітарних заходів, направлених на знищення збудників, які знаходяться у водоймах. Разом з цим необхідно зазначити, що дезінфікуючі препарати, які застосовуються у рибництві, повинні мати широкий спектр антимікробної дії, добре розчиняються у воді за різних температур [2, 3, 4].

Отже правильна організація робіт по підготовці об'єктів, що підлягають знезараженню (ретельна механічна очистка, визначення оптимальної концентрації та експозиції дезінфектанту), а також ретельний підбір дезінфікуючого засобу є передумовою високої ефективності проведення дезінфекції, що сприяє зменшенню витрати дезінфектантів та зниженню забруднення навколишнього середовища [5, 6].

Матеріали та методи. Об'єктом досліджень був новий дезінфікуючий препарат «ДЗПТ-2» з діючою речовиною (ДР) глутаровий альдегід. Препарат представляє собою рідку безбарвну прозору речовину, зі слабким специфічним запахом. Засіб добре розчиняється у воді. Використовується для проведення профілактичної та вимушеної дезінфекції тваринницьких приміщень при інфекційних захворюваннях тварин. Дезінфектант розроблено співробітниками відділу з вивчення туберкульозу та бруцельозу ННЦ «ІЕКВМ».

Для проведення досліджень з визначення бактерицидних властивостей засобів була виконана робота з підготовки лабораторного посуду, приготування реактивів, перевірки обладнання (термостатів, мікроскопів тощо) згідно існуючих методологій [7, 8].

В якості тест-культур застосовували ізоляти *Aeromonas salmonicida* 11-11 та *Vibrioparahaemolyticus* № 3. За позитивний контроль приймали завись тестових культур *A. salmonicida* та *V. parahaemolyticus* не оброблених дезінфектантом. За негативний контроль брали завись тестових культур *A. salmonicida* та *V. parahaemolyticus* оброблених 3,0 % лужним розчином формальдегіду.

Розведення препарату «ДЗПТ-2» (за ДР) готували на дистильованій воді extempore згідно листівки-вкладки. У дослідях застосовували розведення препарату: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 %. Експозиція дії препарату: 1; 3; 5; 24 год.