

## ОСОБЕННОСТИ ПУТЕЙ МИГРАЦИИ *TOXOCARA CANIS* У НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ХОЗЯИНА - БЕЛЫХ МЫШЕЙ САМОК

Б.П.Романюк, О.Н.Фастова

*Луганский государственный медицинский университет*

### Вступление

Токсокароз - одно из паразитарных заболеваний, несмотря на широкое распространение и важную роль в патологии, особенно у детей, практические врачи уделяют недостаточно внимания. Симптоматика этого заболевания разнообразна, а поэтому с ним могут встречаться врачи самых разных специальностей - педиатры, терапевты, окулисты, гематологи, гастроэнтерологи, невропатологи и др. [1]. Известны два представителя токсокар: *Toxocara canis* (Werner, 1782) - гельминт, поражающий представителей семейства псовых и *Toxocara mystax* (Zeder, 1800) -гельминт семейства кошачьих, которого в англоязычных странах называют *Toxocara cati* [2]. Вся дальнейшая информация будет касаться только инвазии, вызванной *T.canis*. Ее роль в патологии человека доказана [3], тогда как роль *T.mystax* еще обсуждается.

Для человека - это зоонозная инвазия, которая характеризуется тяжелым, длительным и рецидивирующим течением, полиморфизмом клинических проявлений, обусловленных миграцией личинок токсокар по различным органам. Заражение человека происходит при случайном проглатывании инвазионных яиц токсокар. Эпидемиологический процесс при токсокарозе полностью зависит от эпизоотического процесса среди собак, являясь его ответвлением [4]. Инвазированные люди не бывают источником инвазии, так как в организме человека взрослые особи паразита из личинок не образуются и пропагандивные стадии (яйца) не выделяются. Для токсокар человек служит резервуаром или паратеническим хозяином, и факти-

чески человек является "экологическим тупиком" возбудителя [5, 6]. Таким образом, человек является неспецифическим хозяином, то есть развитие паразита ограничивается стадией мигрирующих личинок [7].

Так как лабораторные мыши являются также неспецифическим хозяином для токсокары, то была поставлена цель изучения миграции личинок в некоторых органах, а также гистохимические изменения в них под влиянием токсинов, выделяющихся мигрирующими личинками.

### Материалы и методы исследований

Эксперимент проводили на самках белых лабораторных мышей (по 20 небеременных и беременных, а также 10 контрольных) массой  $20,0 \pm 2,0$  грамма. Токсокароз моделировали путем введения подопытным (небеременным и беременным) животным через зонд инвазированных яиц *T.canis* в количестве 1000 на мыш. В течение 38 дней культура находилась в растворе Барбагалло. Инвазионность яиц подтверждалась биологическим методом. Сроки исследования составляли 2, 3, 5, 11, 12, 13 и 15 суток после заражения. На каждый срок наблюдений использовали 2 инвазированных мыши, которых умерщвляли путем дислокации шейных позвонков.

Следует отметить, что животные содержались на соответствующем рационе и под постоянным наблюдением. Все манипуляции с животными проводились согласно правил "Европейской Конвенции защиты позвоночных животных, которые используются в экспериментальных и других исследовательских целях" [8]. После умерщвления исследованию подвергались следующие органы: печень, легкие, мозг, кишечник, матка, плацента.

Полученные органы исследовались в день вскрытия для выявления живых личинок методом Бермана, который заключается в следующем: органы осторожно разрезались и помещались на металлическую сетку, которая впоследствии вставлялась в воронку, на конец которой надевалась резиновая трубка с маленькой пробиркой. Исследуемые органы заливались водой с температурой 45°C. Устройство с исследуемым мате-

риалом помещалось в термостат при температуре 45°C на 4-5 часов. Микроскопируя полученный осадок из пробирки выявляли живые личинки. При измерениях длины личинок, материал поддавался статистической обработке. Часть органов фиксировалась этиловым спиртом для получения гистопрепаратов.

Из гистологических методов применяли окраску препаратов для выявления мукополисахаридов [9, 10]:

- альцином синим (на кислые мукополисахариды);
- толуидиновым синим ( для дифференциации кислых мукополисахаридов от глико- и мукопротеидов);
- Шифф-реакция с амилазой слюны.

Гистоматериал окрашивался также общепринятыми красками - гематоксилин-эозином. После изучения под микроскопом они описывались с дальнейшим микрофотографированием.

**Полученные результаты и их обсуждение**

Из приведенного цифрового материала в таблицах 1 и 2 следует, что наибольшее количество личинок наблюдалось в печени как у небеременных, так и у беременных животных, по видимому, они попадают гематогенным путем из кишечника. При дальнейшей миграции личинки достигают легких, где наблюдается их увеличение к 15 суткам. В дальнейшем прослеживается миграция личинок по бронхам, бронхиолам и трахее и случайное заглатывание их со слюной с дальнейшим попаданием в желудочно-кишечный тракт и в отличие от специфического хозяина - собаки, у которого происходит превращение их в половозрелую форму, у мышей они выделяются с каловыми массами, что подтверждено нашими исследованиями.

При исследовании гистопрепаратов печени и легкого, окрашенных гематоксилин-эозином, в них отмечаются очаги воспалительного процесса вокруг имеющих личинок (рис.1, 2).

Измеряя личинки, они характеризуются разными размерами. Так, у небеременных животных в печени от 0,356 ± 0,003 мм до 0,392 ± 0,003 мм; в легких от 0,387 ± 0,002 мм до 0,390 ± 0,004 мм; в мозге от 0,384 ± 0,003 мм до 0,408 ± 0,003 мм; в кишечнике от 0,376 ± 0,003 мм до 0,408 ± 0,005 мм (табл. 1).

Таблица 1  
Выявление личинок токсокар в органах небеременных мышей

Сроки выявления и зафиксирована (сутки)	Личинки в органах, их размер (мм)											
	печень		легкие		мозг		кишечник		мышца			
	количество экземпляр	M±m	количество экземпляр	M±m	количество экземпляр	M±m	количество экземпляр	M±m	количество экземпляр	M±m	количество экземпляр	M±m
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	14	0,384±0,005	5	0,390±0,004	16	0,384±0,003	-	-	-	-	-	-
11	42	0,392±0,003	0	-	32	0,480±0,003	34	0,376±0,003	-	-	-	-
12	12	0,356±0,005	4	0,387±0,002	41	0,396±0,001	4	0,480±0,005	-	-	-	-
13	19	0,364±0,002	-	-	32	0,480±0,003	-	-	-	-	-	-
15	35	0,372±0,002	-	-	17	0,393±0,004	44	0,387±0,004	-	-	-	-

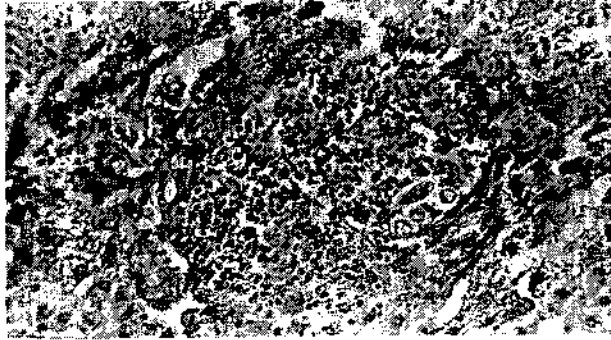


Рис. 1. Личинки в печени мыши. Окраска - гематоксилин-эозином, х 200.

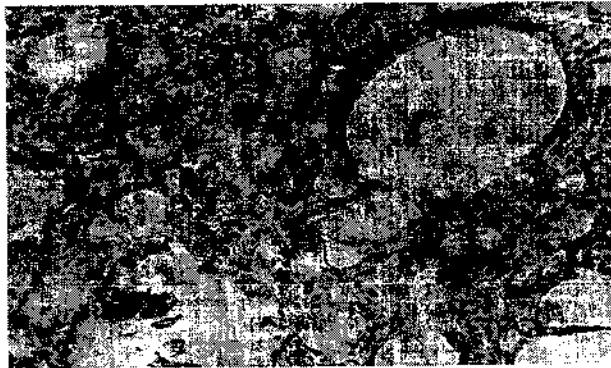


Рис. 2. Личинки в легком мыши. Окраска - гематоксилин-эозином, х 200.

У беременных животных измерения личинок в исследуемых органах были следующие: в печени от  $0,385 \pm 0,003$  мм до  $0,393 \pm 0,003$  мм; в легких от  $0,358 \pm 0,003$  мм до  $0,393 \pm 0,005$  мм; в мозге от  $0,363 \pm 0,003$  мм до  $0,385 \pm 0,003$  мм; в кишечнике отсутствовали; в матке только один размер  $0,393 \pm 0,005$  мм и плаценте -  $0,393 \pm 0,005$  мм (табл. 2).

Большой интерес представлял собой изучение миграции личиной у беременных мышей, связанного с вопросом о плацентарном барьере при токсокарозе.

Таблица 2  
Выявление личинок токсокар в органах беременных мышей

Сроки выявления экзархоза (сутки)	Личинки в органах, их размер (мм)											
	печень		легкие		мозг		кишечник		матка		плацента	
	количество экземпляров	M ± m	экземпляров	M ± m	экземпляров	M ± m	экземпляров	M ± m	экземпляров	M ± m	количество экземпляров	M ± m
2	328	$0,393 \pm 0,002$	4	$0,358 \pm 0,003$	-	-	-	-	-	-	-	-
3	32	$0,385 \pm 0,003$	8	$0,384 \pm 0,003$	-	-	-	-	-	-	-	-
5	46	$0,385 \pm 0,003$	10	$0,375 \pm 0,003$	-	-	-	-	-	-	-	-
11	46	$0,385 \pm 0,003$	11	$0,375 \pm 0,003$	-	-	-	-	-	-	-	-
12	3	$0,393 \pm 0,003$	11	$0,375 \pm 0,003$	15	$0,374 \pm 0,005$	-	-	-	-	-	-
13	41	$0,385 \pm 0,003$	15	$0,385 \pm 0,003$	40	$0,388 \pm 0,003$	-	-	-	-	76	$0,393 \pm 0,005$
15	6	$0,393 \pm 0,003$	19	$0,393 \pm 0,005$	188	$0,363 \pm 0,003$	-	-	-	-	6	$0,393 \pm 0,005$

При исследовании органов плодов у новорожденных мышат по методу Бермана и при гистологическом изучении органов личинок не обнаружено. Хотя личинки токсокары и выявлены в стенке матки, где они вызывали реактивное воспаление (рис.3) и единичные в плаценте на 15 сутки. Но, по всей видимости, плацента неспецифического хозяина играет роль такого биологического фильтра, через который личинки масово не проникают. Может быть это связано со структурно-функциональными образованиями, а может с накоплением в ней биологически активных веществ, которые губительно действуют на занесенную током крови личинку, а возможно, что оба эти фактора и играют роль в плацентарном барьере.

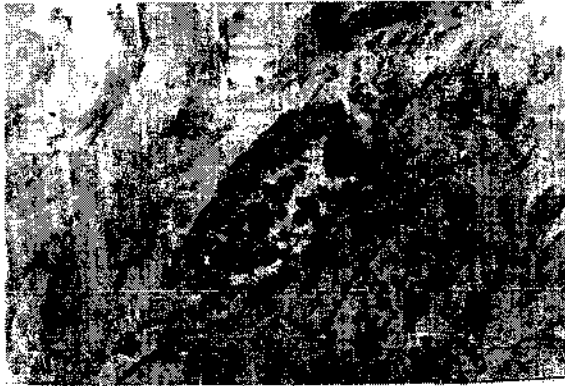


Рис. 3. Личинки в матке мыши. Окраска - гематоксилин-эозином, х 200.

Как известно, мукополисахариды представляют собой сложные высокомолекулярные соединения, построенные из гексаминнов и гексуроновых кислот (кислые мукополисахариды), или же вместо кислот соединенных с белками (мукопротеиды). Мукополисахариды содержатся в различных живых организмах. У животных эти соединения входят в состав, главным образом соединительной ткани и особенно в состав межтканевого и межклеточного вещества. Мукополисахариды играют важную роль в процессах регенерации и роста тканей, в оплодотворении, взаимодействии организма с рядом инфекционных

агентов. Поэтому изучение вопроса о влиянии мигрирующих личинок на мукополисахаридный обмен представляет собой очень важную проблему.

При окраске алыциановым синим срезов печени опытных мышей на гистологических препаратах мы наблюдали неравномерность окраски печеночной ткани. Наиболее интенсивно окрашивались очаги воспаления и ядра печеночных клеток условно обозначаемых как (++++) и (+++++). Характер окраски легкого опытных мышей: интенсивная окраска соединительной ткани и очагов воспаления имела (++++) и (+++++).

Кроме методики по выявлению кислых мукополисахаридов алыциановым синим нами применялся метод окраски толуидиновым синим с разными значениями pH, что позволяет дифференцировать кислые мукополисахариды с глико- и мукопротеидами. При pH 2,2 выявляются кислые мукополисахариды, а при pH 7,6 муко- и гликопротеиды. При pH 2,2 ткань легкого окрашивалась в слабо-фиолетового тона (++) и (+++). Очаги воспаления и соединительная ткань окрашены сильнее (++++). Сама личинка окрашена неравномерно, с более интенсивным окрашиванием внутренних органов. При pH 7,6 ткань легкого окрашивалась в темно-фиолетовые тона (+++), неравномерно, с более интенсивным окрашиванием очагов воспаления. Личинка окрашена равномерно в темно-фиолетовые тона (++++). Результаты окраски по Шиффу с амилазой слюны: нейтральные мукополисахариды и гликоген концентрируются в наибольшей степени в очагах воспаления, что связано, как отмечают некоторые авторы, с интоксикацией. На контрольных срезах, которые обрабатывались слюной при температуре 37°C после окрашивания реактивом Шиффа, интенсивность окраски значительно ослаблялась, что доказывает наличие в данных структурах нейтральных мукополисахаридов и гликогена.

#### Выводы

1. Наибольшее количество мигрирующих личинок у мышей, зараженных *T. canis* отмечается в печени, что связано, вероятно, с тесной связью печени через разветвленную кровеносную систему с кишечником и ее барьерной функцией, а также в легких.

2. Длина личинок в организме неспецифического хозяина - мышей - не изменяется. Личинки остаются на 2 стадии развития, т.е. такими же, как и в инвазионном яйце, что, может быть, связано с иными условиями жизни и другими специфическими факторами, препятствующими процессу линьки и росту личинок токсокары в организме факультативного хозяина.

3. Поступление личинок токсокары в организм беременных мышей влечет за собой проникновение в плаценту и матку, но к плоду неспецифического хозяина личинки токсокары не попадают, что, возможно, объясняется неприспособленностью последних к структурно-функциональным образованиям плаценты мышей и к тем активно-физиологическим веществам, которые плацента вырабатывает в процессе своего развития и функционирования.

4. Изучение обменных процессов показывает, что при заражении культурой *T. canis* происходит увеличение количества мукополисахаридов в очагах воспаления с преобладанием нейтральных мукополисахаридов (глико- и мукопротеидов) над кислыми мукополисахаридами, что по всей вероятности, связано с выделениями личинками токсинов, которые нарушают внутриклеточный обмен с дальнейшим повышенным потреблением глико- и мукопротеидов развивающейся личинкой.

### Литература

1. Алексеева М.М. Токсокароз: клиника, диагностика, лечение (лекция) // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. - 1984. - № 6. - С.66-72.
2. Замазий Т.Н., Здор О.А. Особенности эпидемиологии и клинического течения токсокароза в современных условиях // Международный медицинский журнал. - 2005. - № 1. - С.133-135.
3. Beaver P.C. Larva migrants a reven // Exp. Parasitol. - 1956. - № 2 - P.587-621.
4. Glickman L.T. The epidemiology of human toxocariasis. In *Toxocara and toxocariasis* / J.W. Lewis, R.M.Maizels (ed.) // Brit. Soc. for Parasitol., Londres. - 1993. - № 2. - P. 3-10.

5. Никулин Ю.Т. Реакция фагоцитоза при экспериментальном токсокарозе // Иммунология, аллергология, инфектология. - 2004. - № 2. - С. 99-102.

6. Бодия Е.И., Замазий Т.Н. Токсокароз - паразитарное заболевание животных и человека // Мистецтво лікування. - 2006. - № 6 (32). - С. 57-59.

7. Пішак В.П., Бойчук Т.М., Бажора Ю.І. Клінічна паразитологія. - Чернівці: Медакадемія, 2003. - С.241-245.

8. European convention for protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe. - (18.03.1986). - Strasburg, 1986. - 52 p.

9. Пирс Э. Гистохимия теоретическая и прикладная. - М.: Изд-во иностр.литер., 1962. - 962 с.

10. Кононский А.И. Гистохимия. - Киев: Вища школа, 1976. - 280 с.

### Резюме

**Романюк Б.П., Фастова О.Н.** Особенности путей миграции *Toxocara canis* у неспецифического хозяина - белых мышей самок.

Изложены результаты исследований по миграции личинок у неспецифического хозяина - лабораторных белых мышей самок. Было доказано, что половозрелые особи паразита не образуются и личинки не проходят через плаценту, а погибают в ней.

**Ключевые слова:** *Toxocara canis*, миграция личинок.

### Резюме

**Романюк Б.П., Фастова О.Н.** Особливості шляхів міграції *Toxocara canis* у неспецифічного хазяїна - білих мишей самок.

Наведено результати досліджень по міграції личинок у неспецифічного хазяїна - лабораторних білих мишей самок. Було доказано, що статевозрілі особи паразита не формуються і личинки не проходять через плаценту, а гинуть в ній.

**Ключові слова:** *Toxocara canis*, міграція личинок.

### Summary

**Romanjuk B.P., Fastova O.N.** Peculiarities of migration of *Toxocara canis* in nonspecific owner - female white mice.

The results of researches on migration of maggots in nonspecific owner - laboratory female white mice, are exposed in this article. It was set, that pubertal individuals of parasite don't form and maggots don't pass through a placenta, but perish in it.

**Key words:** *Toxocara canis*, migration of maggots.