

ИЗУЧЕНИЕ ВНУТРИУТРОБНОГО ЗАРАЖЕНИЯ ТРИХИНЕЛЛЕЗОМ ПЛОДА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ С ГЕМОХОРИАЛЬНЫМ ТИПОМ ПЛАЦЕНТЫ НА РАННИХ СТАДИЯХ ЕГО ФОРМИРОВАНИЯ

Багаева У.В.¹, Бязырова А.Т.¹

¹ФГБОУ ВПО «Северо-Осетинский государственный университет им. К.Л. Хетагурова», г. Владикавказ, Россия, e-mail: u.bagaewa@yandex.ru

Исследовалась возможность внутриутробной инвазии трихинеллезом плода крыс линии Wistar на ранних сроках беременности, т.е. до образования плаценты. При этом, учитывались особенности жизненного цикла гельминта и эмбрионального развития экспериментальных животных. В эксперименте от 20 самок, был получен помет в количестве одной жизнеспособной особи; еще две особи, были с различными проявлениями недоразвитости. Результат патологоанатомического вскрытия показал, во-первых, развитие гнойно-некротических процессов в родовых путях самок и нарушение процесса оплодотворения, во-вторых, серьезные пороки развития, в виде анатомических дефектов эмбрионов. Такие серьезные патологии могут быть следствием ферментативно-токсического действия трихинеллы на организм, осложненного сопутствующей гельминту симбионтной микрофлорой. При заражении личинками трихинелл самок до образования плаценты, значительно снижается вероятность получения потомства вообще, и в том числе, в дальнейшем жизнеспособного. Кроме того, после вскрытия потомства и выявления бескапсульных форм, подтвердилось предположение о снижении иммунитета у зараженных беременных крыс.

Ключевые слова: трихинелла, внутриутробное заражение, оплодотворение, эмбриональное развитие.

EARLY PRENATAL TRICHINOSIS INFECTION IN LABORATORY ANIMALS WITH HEMOCHORIAL PLACENTATION IN THE EARLY STAGES OF ITS FORMATION

Bagaeva U.V.¹, Byazyrova A.T.¹

¹The North-Ossetian University of a Name of K.L. Hetagurova, Vladikavkaz, Russia, e-mail: u.bagaewa@yandex.ru

We investigated the possibility of intrauterine fetal trichinosis invasion Wistar rats during early pregnancy, ie before the formation of the placenta. We were taken into account peculiarities of helminth life cycle and embryonic development of the experimental animals. In the experiment, litter of 20 female rats consisted of one viable animal and two animals with different manifestations of underdevelopment. Autopsy showed, firstly, the development of necrotic processes in the female birth canal and the violation of the fertilization process, and secondly, major malformations, anatomical defects in the form of embryos. Such serious violations may be the result of enzymatic toxic effect on the fetus of rats *Trichinella*, which aggravated the symbiotic microflora associated with worms. When infecting larvae *Trichinella spiralis* female rats before the formation of the placenta, is greatly reduced probability of receiving all the progeny and further including viable. Moreover, the ratio of capsule forms and no capsule forms, which confirms the assumption that decrease of immunity in the infected pregnant rats.

Keywords: *Trichinella spiralis*, intrauterine infection, fertilization, embryo development.

Наиболее опасным из гельминтозных заболеваний, общих для человека и животных, является трихинеллез, характеризующийся широким распространением в природном и синантропном биоценозах. Клинические проявления трихинеллёза и их тяжесть определяются количеством поступающих личинок, а также уровнем неспецифической резистентности и специфического иммунитета у инвазированного. По характеру эпидемиологических вспышек (массовость, внезапность) трихинеллез напоминает многие инфекционные заболевания, а по злокачественности течения и смертности в случаях интенсивного заражения, не имеет себе равных. Кроме того, метаболиты половозрелых трихинелл и их личинок обладают эмбриотоксическим воздействием, которое характеризуется повышением предимплантационной и постимплантационной гибели

эмбрионов. Главным механизмом генотоксического и цитотоксического воздействия гельминтов на соматические и генеративные клетки хозяина, служит развитие окислительного и нитрозилирующего стресса [3].

Вместе с тем, причины нарушений беременности, ненормального развития эмбрионов и гнойно-некротического процесса, вызванные ферментативно-токсическим действием паразита на организм, могут быть осложнены сопутствующей симбионтной для паразита микрофлорой. Как следует из литературных источников [4], часто такая микрофлора представлена стафилококками, которые, в свою очередь, могут спровоцировать активный гнойный процесс и сепсис. В сущности, весь патогенез и симптомокомплекс трихинеллёза обусловлен симбиотическими стафилококками.

Несмотря на многочисленные исследования данного гельминтоза, вопрос о возможности трансплацентарного заражения плода трихинеллами у представителей различных видов млекопитающих в настоящее время остается спорным.

Некоторые авторы отмечали отрицательный результат внутриутробного заражения плода *T. spiralis* у лабораторных белых мышей, крыс [5, 6], домашних собак и кошек [5], инбредных мышей линий DBA (масть – серая) и C57BL6 (масть – черная), белых крыс линии Wistar, кроликов породы Советская Шиншилла, в том числе и лактогенного пути инвазии *T. nativa* [1]. Ранее проведенные нами исследования, по изучению возможности внутриутробной инвазии *T. spiralis* плода крыс линии Wistar на разных сроках беременности также не выявили зависимости миграции личинок через плацентарный барьер от времени заражения и сроков беременности родительских особей [2]. Однако, некоторыми исследователями была выявлена трансплацентарная передача *T. spiralis* у мышей с заражением потомства от 20 до 25% [9], *T. pseudospiralis* – у хорьков, морских свинок и мышей [10]. При иммунологическом обследовании плаценты и пупочных канатиков, полученных от женщин, перенесших трихинеллез во время беременности, обнаружили специфические трихинеллезные антитела и иммуноглобулины G, E, A, M, что может указывать на возможную трансплацентарную передачу личинок паразита [7]. Столь различные результаты по интраутеринной передаче инвазионного начала плодам от зараженных трихинеллами беременных самок могут быть связаны не только с различным строением плаценты, но и с различным уровнем «врожденного» и адаптивного иммунитета к личинкам трихинелл [8].

В связи с этим возникает необходимость проведения дальнейших исследований по изучению миграционных путей личинок трихинелл в организме хозяина, в том числе, через плацентарный барьер и, что не менее важно, в зависимости от типа и стадии формирования плаценты.

Цель исследования. Изучение возможности внутриутробного заражения плода на ранних сроках беременности, в том числе до образования плаценты.

Материал и методы исследования. Внутриутробное заражение плода крыс трихинеллезом на ранних стадиях беременности, т.е. до образования плаценты, изучали исходя из особенностей онтогенеза крыс и развития личинок трихинелл с момента их попадания в организм животного.

Возможность внутриутробной инвазии плода трихинеллезом изучали в лабораторных условиях на крысах линии Wistar, экспериментально инвазированных трихинеллезом. Выбор лабораторных животных был обоснован известным фактом – плацента этих животных, по типу и физиологии, аналогична приматам и человеку.

В эксперименте использовано 20 лабораторных животных и полученный от них помет.

Учитывалось, во-первых, что личинки трихинелл в организме крысы становятся половозрелыми на 2 – 3 день после заражения и уже на 5 – 6 день самка трихинеллы начинают отраждать личинок, которые затем проникают в кровеносные сосуды и разносятся по всему организму. Во-вторых, плацента у крыс образуется на 5 – 7 день после оплодотворения.

Лабораторные животные были разделены на две группы по 10 голов в каждой. Заражение самок крыс проводили за три дня до спаривания, исходя из того, что к моменту миграции личинок в кровеносное русло плацента не образуется. Самки первой группы, получили по 15 капсул на голову. Самкам второй группы дозу инвазии увеличили до 20 капсул на голову. Родительское поголовье забивали по истечении физиологических сроков беременности, а также при проявлении выраженных признаков ослабленности. Распределение личинок в скелетной мускулатуре самок и особей в их потомстве изучали методом компрессорной трихинеллоскопии в 12 группах мышц, затем определяли среднее количество личинок на 1 г мышечной массы каждого животного.

Результаты исследования и их обсуждение. На стадии зиготы диплоидные зародыши располагаются в отграниченном от прочих тканей пространстве яйцевода. На второй день, на стадии бластомеров, зародыши крысы уже перемещаются в верхнюю треть яйцевода. На третий день развития плода количество бластомеров уже достигает 8. Зародыши к этому времени уже находятся в нижней трети яйцевода. Стадия однослойной бластоцисты возникает на 5-й день развития крысиных зародышей. Плацента у крыс образуется на 5 – 7 день после оплодотворения.

Плацента крысы относится к дискоидальному, гемохориальному, лабиринтному типу. На 8 день беременности происходит инвазия клеток трофобласта в артерии эндометрия. В результате ферментативной активности децидуальных и трофобластических клеток и

разрушения стенок сосуда в кровяные пространства поступает и начинает циркулировать материнская кровь.

Животные первой группы, (получившие по 15 капсул на голову), в течение беременности, были более активны.

Самки второй группы (получившие по 20 капсул на голову) проявляли заметные признаки патологических процессов, выраженные истощением, слабостью, взъерошенностью шерсти и снижением аппетита, особенно во второй половине беременности.

От 10 животных первой группы, включенных в эксперимент, был получен помет, представленный всего одной особью, при норме 8 – 14 детенышей от одной самки, без выраженных признаков недоразвитости. Этого детеныша принесла наиболее активная самка. Сроки ее беременности укладывались в рамках физиологической нормы – 25 дней. Другие самки этой группы потомства не принесли.

Животные второй группы, в конце физиологической нормы беременности, потомства не принесли.

По истечении физиологических сроков беременности и выраженных признаках ослабленности, самки опытных групп были забиты для выявления трихинелл в мышечных тканях через 35 дней от начала эксперимента.

При нормальном течении беременности особенностью эмбрионального развития крыс является то, что у них на 9-й день в теле плода возникают серьезные перемены – появляется головной отросток, а также нервная пластинка. Помимо этого, под микроскопом можно разглядеть переднее кишечное выпячивание и нервные валики. Уже на следующий, 10-й, день зародыш обладает полностью сформированной нервной трубкой и двумя жаберными щелями. В это время число сомитов уже обычно достигает количества 10 – 12 пар. На 12 – 13-й дни от начала оплодотворения животного зародыш переживает стадию пальцевой пластинки передних конечностей. Одновременно наблюдается срастание верхнечелюстных и нособочковых отростков.

Учитывая приведенные физиологические нормы, обратило на себя внимание то, что при вскрытии самки первой экспериментальной группы, родившей одного детеныша, в родовых путях, остался не рождённым плод с явными признаками недоразвития. У эмбриона была сформирована голова, грудная клетка с передними конечностями, но отсутствовала задняя часть тела. В полости матки признаков воспаления не обнаруживалось.

Вероятно, тератогенным фактором, который привел к такому пороку развития эмбриона, являлась интоксикация организма самки продуктами, выделяемыми личинками трихинелл при развитии инвазии.

У обнаруженного в родовых путях второй самки эмбриона были сформированы лишь некоторые ткани, напоминающие по структуре паренхиматозную и хрящевую. Поперечный разрез оказался полым. Признаков формирования органов не выявлено. Тератогенный эффект в данном случае проявился как анатомический дефект (собственно уродства). У остальных самок первой группы при вскрытии признаков оплодотворения не выявлено.

Вскрытие самок второй группы (получивших по 20 экз./голову) показало явные признаки гнойно-некротического разложения эмбрионов, что и являлось причиной проявившихся клинических признаков (взъерошенная шерсть серого оттенка, сильное снижение веса к концу физиологической нормы беременности).

Таким образом, данный тератогенный фактор, обусловленный, вероятно, токсичностью нематоды, имеет определенную пороговую дозу действия, чувствительность к которому зависит, как от стадии эмбрионального развития плода, так и от интенсивности инвазии.

Мышцы молодняка, полученного от самок первой группы подвергли компрессорному трихинеллоскопическому исследованию. При исследовании мышц новорожденных особей личинки трихинелл нами не обнаружены.

Существование в тканях хозяев личинок гельминтов определяется способностью последних подавлять реакцию лейкоцитов хозяина и индуцировать формирование хозяином капсулы специфического строения, но при ослабленном иммунитете часто не выражается [4].

У самок, инвазированных возбудителями *T. spiralis* при трихинеллоскопии мышечных препаратов были выявлены капсульные и бескапсульные формы паразита в соотношении 1:1 (фото 1, 2; табл. 1).



а



б

Фото. 1. Бескапсульные формы трихинелл, обнаруженные в мышечных срезах самок опытных групп: а – бескапсульная форма самок первой группы; б – бескапсульная форма самок второй группы.

Присутствие бескапсульных форм трихинеллы спиральной, свидетельствуют о существенной иммунодепрессии, возникающей по разным причинам, в том числе и в следствии токсического влияния на организм продуктов метаболизма нематоды.



Фото 2. Капсульные формы трихинелл, обнаруженные в мышечных срезах самок опытных групп.

В таблице представлены данные по соотношению капсульных и бескапсульных форм личинок трихинелл, обнаруженных в различных мышечных группах зараженных самок.

Таблица

Соотношение капсульных и бескапсульных форм личинок *T. spiralis* в мышцах экспериментально инвазированных групп животных

№	Группа мышц	Количество личинок трихинелл в 1 г мышечной массы животных					
		1-я группа			2-я группа		
		капсульные формы	б/к формы	всего	капсульные формы	б/к формы	всего
1	Диафрагма	18	8	26	14	18	32
2	Язык	15	7	22	11	16	27
3	Жевательная	10	10	20	10	15	25
4	Шейная	9	7	16	9	13	21
5	Межреберные	11	3	14	3	10	13
6	Икроножная	8	2	10	6	10	16
7	Спинные	10	3	13	9	6	15
8	Тазовые	9	2	11	9	6	15
9	Предплечье	8	1	9	8	5	13
10	Филейная	5	2	7	6	5	9
11	Бедренная	4	1	5	4	4	8
12	Поясничные	2	0	2	2	3	5
	Среднее кол-во личинок трихинелл в 1г мышечной массы	9,0	3,8	12,8	7,6	9,2	16,8

Интенсивность инвазии различных групп мышц напрямую зависит от дозы инвазии. У животных первой группы, получивших всего 15 экз./голову, по сравнению с самками второй группы, получившие по 20 экз./голову, количество личинок в мышцах было меньше в среднем на 4. В то же время у всех животных прослеживалась динамика интенсивности инвазии различных групп мышц, в соответствии с их нагрузкой и снабжении их кровеносными сосудами. Среднее количество личинок трихинелл в 1г мышечной массы самок первой группы составило 12,8; самок второй группы – 16,8.

Как показано в таблице, у самок первой группы в срезах мышц, преобладали капсульные формы по сравнению с бескапсульными в 2,3 раза. Интенсивность инвазии различных групп мышц в среднем варьировала от 2 (поясничные) до 26 (диафрагма).

У всех самок второй группы (получивших по 20 экз./голову) в исследуемых мышцах преобладали бескапсульные формы трихинелл с различной интенсивностью инвазии, количество которых было больше в среднем в 1,2 раза по сравнению с капсульными. Следовательно, интенсивность инвазии различных групп мышц в среднем варьировала от 5 (поясничные) до 32 (диафрагма).

Выводы

При заражении плода *T. spiralis* на ранних сроках беременности, т.е. до образования плаценты, происходит интенсивная интоксикация организма, связанная с метаболитами нематод, сопутствующими симбионтами и др., значительно ослабляющие иммунитет животного, в следствии чего нарушаются все физиологические нормы оплодотворения и развития плода. По приведенным причинам экспериментальные группы животных не принесли потомства, достаточного для получения достоверного результата. Вместе с тем, при исследовании мышечных тканей единственной особи, полученной от самок первой группы, личинок трихинелл не выявлено.

Список литературы

1. Андреев О.Н. Возможность интраутеринного и лактогенного путей передачи трихинеллезной инвазии // Мат.докл.научн.конф. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – М.: – 2014. – Вып.15. – С. 24-26.
2. Багаева У.В., Бязирова А.Т., Фидаров Р.Х., Вазагова З.М. Исследование вероятности трансплацентарной инвазии плода трихинеллезом лабораторных животных с гемохориальным типом плаценты // Известия ГГАУ. – Владикавказ. – 2014. – Т. 51. Часть 3. – С. 156-159.
3. Бекиш В.Я., Гидранович В.И., Бекиш Л.Э., Коневалова Н.Ю., Зорина В.В., Пашинская Е.С. Воздействие паразитов на организм млекопитающих и человека при беременности // Вестник ВГМУ. – Витебск. – 2010. – Том 9, №2. – С. 1-12.
4. Березанцев Ю.А. Трихинеллез. – Л.: Медицина, – 1974. – С. 160.
5. Дубницкий А.А. К вопросу о возможности интраутеринной инвазии при трихинеллезе плотоядных животных. // Матер. научн.конф. ВОГ. – М.: – 1965. – С. 70-73.
6. Сапунов А.Я. Совершенствование мер борьбы с трихинеллезом в северо-западном регионе Кавказа // дис... докт. вет. наук. – Краснодар. 2000. - 518 с.

7. Nuñez GG1, Costantino SN, Gentile T, Venturiello SM. Immunoparasitological evaluation of *Trichinella spiralis* infection during human pregnancy: a small case series // *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* – 2008. – Vol. 102, № 7. – P. 662–668.
8. Odoevskaia I.M. On the possibility of vertical transmission of *Trichinella* and the impact of its invasion // *Med Parazitol.* – М.: – 2014. №4. – P. 28-31.
9. Wang Z.Q., Han H.M., Cui J. Preliminary study on congenital transmission of *Trichinella spiralis* in mice // *J. Helminthologia.* – 2005. – Vol. 23, №2. – P.73-77.
10. Webster P., Kapel C.M. Studies on vertical transmission of *Trichinella* spp. in experimentally infected ferrets (*Mustela putorius furo*), foxes (*Vulpes vulpes*), pigs, guinea pigs and mice // *Vet. Parasitology.* – 2005. – № 130. – P. 255– 262.

Рецензенты:

Калабеков А.Л., д.б.н., профессор кафедры зоологии, биоэкологии и биотехнологии ФГБОУ ВПО «Северо-Осетинского государственного университета им. К.Л. Хетагуров», г. Владикавказ;

Козырев С.Г., д.б.н., профессор кафедры нормальной и патологической анатомии и физиологии животных ФГБОУ ВПО «Горского государственного аграрного университета», г. Владикавказ.