

ДОСЛІДЖЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ ПАТОГЕНЕЗУ ВІСЦЕРАЛЬНОГО ТОКСОКАРОЗУ СОБАК НА ЛАБОРАТОРНИХ БІЛИХ МИШАХ

Дубова О. А., к. вет. н., доцент
Бахур Т. І., асистент

Постановка проблеми. Токсокароз – це нематодозне захворювання, збудником якого у собак є *Toxocara canis*. Дослідження ряду авторів вказують на значне поширення токсокарозної інвазії в Україні як серед тварин, так і серед людей [1]. Токсокари є геогельмінтами, зараження сприйнятливих тварин відбувається при заковтуванні інвазійних яєць, які дозрівають у ґрунті. Статевозрілі токсокари викликають кишкову форму захворювання, а личинки – вісцеральну. Відтворити вісцеральний токсокароз в чистому вигляді можливо лише за умови зараження неспецифічного хазяїна [2].

У зв'язку з цим нині актуальним є дослідження особливостей патогенезу вісцерального токсокарозу собак з метою розробки науково обґрунтованих схем терапії тварин за токсокарозу. Для експериментального відтворення вісцерального токсокарозу об'єктом було обрано лабораторних білих мишей, у яких личинки токсокар здатні мігрувати по організму, але статевозрілі особини не утворюються.

Аналіз останніх досліджень. Основним шляхом міграції личинок токсокар є гепатопульмональний, характерний для аскарідат [3]. В процесі міграції та життєдіяльності личинки здатні спричинювати тяжкі поліорганні ураження аж до летальних. У людей за вісцерального токсокарозу спостерігаються легеневий синдром (сухий кашель, астматичне дихання, нічні напади кашлю), рецидивуюча лихоманка, збільшення печінки, лімфаденопатія, абдомінальний синдром (нудота, вздуття, іноді діарея та блювання), еозинофілія [4].

Мета дослідження. Дослідити особливості патогенезу вісцерального токсокарозу собак на лабораторних білих мишах.

Об'єкт дослідження. Експериментальний вісцеральний токсокароз лабораторних білих мишей.

Методика дослідження. Отримання, очищення, інкубацію інвазійних яєць *Toxocara canis* (*T. canis*) проводили за розробленим нами «Способом культивування інвазійних яєць роду *Toxocara* та зараження ними лабораторних тварин» (патент на корисну модель № 66144, 2011 р.). Контрольну мікроскопію та фотографування проводили за допомогою світлового мікроскопу «Біолам С 11» при збільшенні $\times 160$. Було сформовано 3 групи мишей одного віку масою 18–21 г ($n=5$). Тварини 1-ої групи були використані для отримання первинних показників, 2-га група слугувала контролем. Мишей 3-ої групи заражали з розрахунку $1000 \pm 12,0$ інвазійних яєць токсокар на тварину, змішавши з кормом. Еутаназію мишей проводили шляхом внутрішньочеревного введення препарату «Седазін» («Biowet Pulawy», Польща) в дозі 1 мг ксилазину на 10 г маси тіла.

Морфологічні дослідження крові здійснювали за загальноприйнятими методиками. Кількість еритроцитів і лейкоцитів підраховували в камері Горяєва, мазки крові фарбували за Романовським-Гімзою і виводили лейкограму. Вміст гемоглобіну в крові мишей визначали геміглобінціанідним методом.

Для виготовлення гістологічних зрізів фіксовані шматочки матеріалу заливали у парафін за загальноприйнятою схемою. З кожного органа виготовляли від 5 до 8 парафінових блоків, із яких на санному мікромомі МС-2 робили по 3–4 гістозрізи (товщиною до 10 мкм). Гістопрепарати фарбували гематоксиліном Караці та еозином. Морфометричні дослідження здійснювали згідно з загальноприйнятими методиками[5]. Гістопрепарати фотографували за допомогою світлового мікроскопа «Біолам С 11» та фотоапарату «Canon Power Shot A 4802» при збільшенні $\times 120$.

Результати дослідження. Для ефективної боротьби з токсокарозом необхідно застосовувати комплексний підхід до вивчення впливу токсокар на організм м'ясоїдних тварин, що враховуватиме особливості патогенезу захворювання. Ми вирішили дослідити, як впливає інвазія нематодами роду *Toxocara* на зміни гематологічних показників та морфології органів-мішеней личинок – печінки, легень та скелетних м'язів. Адже ці органи в процесі гепато-пульмональної міграції личинок токсокар зазнають токсичного, трофічного, механічного та інокуляторного впливу.

Експериментальне відтворення вісцерального токсокарозу найдоцільніше проводити на лабораторних гризунах. Ці тварини є неспецифічними хазяями токсокар, у яких личинки здатні мігрувати по організму, але статевозрілі особини паразита не утворюються. Лабораторних білих мишей для зараження культурою інвазійних яєць токсокар було обрано завдяки їх невеликому розміру і непримхливості у догляді.

Нами було проведено дослідження крові клінічно здорових білих мишей і заражених інвазійними яйцями токсокар. Як видно з наведених даних (таблиця), у групі інвазованих мишей спостерігали різке зниження кількості еритроцитів (на 29,0 %, $p < 0,001$) та вмісту гемоглобіну (на 33,3 %, $p < 0,001$), підвищення кількості лейкоцитів (на 17,2 %, $p < 0,001$), еозинофілів (у 9,5 разів, $p < 0,001$), рівномірне підвищення кількості нейтрофілів різних класів (паличкоядерних – на 26,7 %, $p < 0,01$, сегментноядерних – 57,8 %, $p < 0,001$), відносну лімфоцитопенію, підвищення рівня моноцитів на 94,0 % у порівнянні із групою здорових мишей ($p < 0,001$).

Таблиця

Гематологічні показники лабораторних білих мишей, $M \pm m$ (n=5)

Показники	Контроль, клінічно здорові (до початку експерименту)	Дослідні (через 30 діб після початку експерименту)	
		Клінічно здорові	Заражені яйцями <i>T. canis</i>
Еритроцити, Т/л	9,43 \pm 0,23	9,39 \pm 0,21	6,71 \pm 0,18***
Гемоглобін, г/л	147,00 \pm 6,67	144,50 \pm 5,96	98,00 \pm 4,01***
Лейкоцити, Г/л	9,00 \pm 0,34	9,07 \pm 0,28	10,55 \pm 0,21***
Базофіли, %	-	-	0,60 \pm 0,30
Еозинофіли, %	1,80 \pm 0,20	1,80 \pm 0,21	17,20 \pm 0,40***
Нейтрофіли, %	Ю	-	-
	П	3,00 \pm 0,50	3,20 \pm 0,47
	С	20,40 \pm 1,95	19,80 \pm 1,15
Лімфоцити, %	71,40 \pm 0,95	71,80 \pm 0,91	39,60 \pm 1,65***
Моноцити, %	3,40 \pm 0,32	3,40 \pm 0,33	6,60 \pm 0,58***

Примітка: ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ – порівняно з контрольною групою.

Еритроцитопенія й гемоглобінемія вказує на пригнічення кровотворної функції кісткового мозку дослідних мишей під впливом метаболітів личинок токсокар, а також продуктів руйнування тканин у результаті міграції паразитів по організму. Лейкоцитоз у заражених тварин спостерігається з причини стимуляції органів лейкопоезу продуктами розпаду тканинних білків, що потрапляють у кров внаслідок механічного впливу личинок, а також токсинами токсокар. Гостру еозинофілію у заражених мишей можна пояснити алергічним впливом метаболітів личинок токсокар. Рівномірне підвищення кількості нейтрофілів і яскравий моноцитоз вказують на легкий перебіг загального запального процесу.

Нами також проведено дослідження гістозрізів життєво важливих органів білих мишей, заражених інвазійними яйцями токсокар у порівнянні із такими у клінічно здорових тварин. У результаті дослідження виявлено, що у печінці клінічно здорових мишей чітко видно часточкову будову. Гепатоцити мають овальну або округлу форму з добре вираженими округлими ядрами. Часточка печінки має балкову будову за рахунок зосередженості гепатоцитів у вигляді ланцюжків. У печінці мишей, заражених токсокарами, на 30-ту добу від початку досліду спостерігали добре помітні осередки некрозу в печінці. По всій часточці печінки або тільки центральній її зоні спостерігається скупчення крові. Між часточками відмічали розростання сполучної тканини та деструкцію печінкової тканини. Жовчні протоки розширені, їх стінки потовщені за рахунок набряку та запалення. Міжчасточкові артерії печінки заражених мишей збільшені в діаметрі, їх стінки потовщені. В ділянці тріади жовчних ходів відзначається атрофія сполучної тканини балок печінки.

Легені здорових мишей складаються з дихальної частини (альвеол, альвеолярних порожнин, альвеолярних мішечків та бронхів різного калібру), а також стромы, яка побудована з добре розвинених кровоносних судин, ретикулярної та пухкої сполучної тканини. Бронхи побудовані з 2-ох шарів – ретикулярної тканини та в'їчастого миготливого епітелію. У паренхімі легень інвазованих мишей ми спостерігали розширені кровоносні капіляри, заповнені кров'ю. Дрібні бронхи були розширені, оточені лімфоїдним інфільтратом, що свідчить про розвиток запального процесу. Середні та великі за діаметром бронхи розширені, деякі з них заповнені кров'ю. Альвеоли мають потоншені стінки, місцями заповнені ексудатом, у якому знаходяться злучені епітеліальні клітини. Зустрічаються також ділянки некрозу та розростання сполучної тканини.

За вісцерального токсокарозу личинки токсокар здатні мігрувати в скелетні м'язи, де в подальшому вони інкапсулюються. Ми вирішили дослідити, як процес міграції личинок впливає на гістологічну структуру м'язової тканини. Скелетні м'язи здорових мишей побудовані з міофібрил, що розмежовані прошарками пухкої сполучної тканини. Міофібрили мають повздовжній та поперечний напрямок. М'язи хворих на токсокароз тварин відрізнялися тим, що міофібрили втрачають свій хід. Між м'язовими волокнами спостерігається інфільтрація лімфоїдними клітинами. Місцями м'язові волокна набрякли, межі між ними згладжені.

Висновки. Отримані дані вказують на порушення кровотворення, розвиток алергічного процесу, гостру запальну реакцію у білих мишей, заражених яйцями токсокар. В результаті гістологічного дослідження печінки, легень та скелетних м'язів лабораторних білих мишей за експериментального вісцерального токсокарозу виявлено ознаки білкової дистрофії печінки, проліферативного запалення легень та генералізованого міозиту.

Використані джерела інформації

1. Сорока Н. М. Гельмінтофауна собак центральної частини України / Н. М. Сорока, Ю. І. Дахно // Науковий вісник НУБіП України. – К., 2010. – Вип. 151. – Ч. 2. – С. 176–178.

2. Дубина И. Н. Гельминтозы собак: монография / И. Н. Дубина // Витебск: УО ВГАВМ, 2006. – 200 с.
3. Zimmermann U. Untersuchungen über die Wanderung und Streuung der Larven von *Toxocara canis* Werner 1782 (*Anisakidae*) im definitiven Wirt (Beagle) nach Erst- und Reinfektion / U. Zimmermann, M. D. Löwenstein, M. Stoye // Zbl. Veter.-Med. Reihe B., 1985 – № 32 – V. 1. – P. 1–28.
4. Бекиш В. Я. Состояние генома хозяина при гельминтозах / В. Я. Бекиш, О.-Я. Л. Бекиш. — Витебск: Изд. ВГМУ, 2004. — 218 с.
5. Горальский Л. П., Хомич В. Т., Кононський О. І. Основи гістологічної техніки і морфологічних методів дослідження у нормі та при патології: Навч. посібник. – Житомир: Полісся, 2005. – 288 с.