

УДК 591.86:576.895.132

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТКАНЯХ ПРОМЕЖУТОЧНОГО И ДЕФИНИТИВНОГО ХОЗЯЕВ ПРИ ЗАРАЖЕНИИ ПРОТОСТРОНГИЛИДАМИ

А. Э. Кучбоев¹, Д. А. Азимов¹, В. И. Голованов¹,
Ф. Д. Акрамова¹, К. Р. Тухтаев²

¹ Институт зоологии Академии наук Республики Узбекистан,
ул. А. Ниязова, 1, Ташкент, 700095 Узбекистан
E-mail: krakhim@uzsci.net

² Ташкентская Медицинская академия,
ул. Фароби, 2, Ташкент, 700109 Узбекистан
E-mail: histo_kodir@mail.ru

Принято 14 сентября 2006

Структурные изменения в тканях промежуточного и дефинитивного хозяев при заражении протостронгилидами. Кучбоев А. Э., Азимов Д. А., Голованов В. И., Акрамова Ф. Д., Тухтаев К. Р. — В работе выяснены клеточные и субклеточные механизмы реакций тканей промежуточных (моллюски *Xeropicta candacharica*) и дефинитивных (*Ovis aries*) хозяев при инвазии их протостронгилидами. Реакция ткани промежуточного хозяина проявлялась в лимфоцитарной и макрофагальной инфильтрации пораженных участков, которая направлена на ограничение повреждающего действия паразита с последующим его уничтожением и элиминацией из организма. Наиболее выраженная реакция наблюдалась в легких зараженных овец при гистологических и электронно-микроскопических исследованиях лимфоцитарных и моноцитарно-макрофагальных клеток легочной ткани. Отмечена интенсивная фибробластическая реакция паренхимы органа, которая направлена на формирование соединительнотканых капсул вокруг гельминтов и тканевых зон их поражения.

Ключевые слова: Protostrongylidae, нематоды, *Xeropicta candacharica*, *Ovis aries*, ткань моллюсков, ткань легкого овец.

Structural Changes in the Tissues of Intermediate and Definitive Hosts Infected with Protostrongylides. Kuchboev A. E., Azimov D. A., Golovanov V. I., Akramova F. D., Tukhtaev K. R. — The work reveals cellular and subcellular mechanisms of the reaction of tissues in intermediate (mollusks *Xeropicta candacharica*) and definitive (*Ovis aries*) hosts infected with Protostrongylidae helminths. The reaction of the tissue of intermediate host is manifested in the lymphocytic and macrophage infiltration of the infected areas, which is aimed at restriction of the damaging effect of this parasite, destruction and removal from the organism. The histological study and electronic microscopy of the infected lungs revealed the activation of lymphocytic and monocytic-macrophage systems in the lung tissue. An intensive fibroblastic reaction of the parenchyma, which is aimed at the formation of the connective-tissue capsules around helminths and tissue zones of the infection, is noted.

Key words: Protostrongylidae, nematode, *Xeropicta candacharica*, *Ovis aries*, mollusk tissue, tissue of sheep lung.

Введение

Легочные гельминты, в том числе нематоды семейства Protostrongylidae (Leiper, 1926), как эндопаразиты вызывают серьезные заболевания домашних и диких жвачных животных. Они приспособились к обитанию в органах респираторной системы животных и широко представлены у паломорских горных экосистем Узбекистана. Жизненный цикл этих нематод проходит с участием промежуточного хозяина — наземных моллюсков (Давтян, 1949; Боев, 1975; Убайдуллаев, 1975; Кулмамаев и др., 1994; Anderson, 2000; Kuchboev et al., 2003; Акрамова, 2003).

Проблема структурных основ взаимоотношений паразита и его хозяина является одной из актуальных в теоретической и практической гельминтологии. К настоящему времени имеются отдельные сообщения, касающиеся тех или иных морфологических аспектов реакции некоторых органов и тканей хозяев на инвазию определенного вида этих нематод (Петросян, 1962; Beresford-

Jones, 1967; Трушин, 1975; Stockdale, 1976; Seese, Worley, 1993; Hoberg et al., 1995; Kutz et al., 1999). Однако клеточные и субклеточные реакции тканей организма промежуточных и дефинитивных хозяев остаются недостаточно выясненными. Решение этих вопросов имеет и прикладное значение, так как позволяет углубленно понимать взаимоотношения «паразит—хозяин» и способствует разработке рациональных путей профилактики и лечения этих гельминтозов.

Авторами предпринята попытка выяснения клеточных и субклеточных механизмов реакций тканей промежуточных (моллюсков) и дефинитивных (овец) хозяев при инвазии их протостронгидами.

Материал и методы

Для морфологических исследований использовали ткани наземных моллюсков — *Xeropicta candacharica* (L. Pfeiffer, 1846), экспериментально зараженных личинками, а также ткань легкого овец, инвазированных половозрелыми нематодами — *Protostrongylus rufescens* (Leuckart, 1895) и *Cystocaulus ocreatus* (Railliet, Henry, 1907).

Для проведения гистологических исследований были взяты легкие спустя 30 сут после заражения овцы (*Ovis aries*) в лабораторных условиях (per os 1000 личинок протостронгилид). У экспериментально зараженных моллюсков L₁ протостронгилид — *X. candacharica* на 35-е сут после заражения исследовали ногу моллюска *X. candacharica*.

Макроскопически зараженные участки ткани ног наземных моллюсков выглядели в виде темных пятен от коричневого до черного цвета, размерами 2–3 мм. Поверхность пораженных участков легкого бутриста, мраморного цвета и уплотнена, размерами 1–3 см. Для исследований были взяты кусочки из нескольких участков — непосредственно в точке нахождения паразита, перифокальной и отдаленной зонах. Для светоптической микроскопии кусочки фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине и заливали в парафин. Срезы толщиной 5–8 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и исследовали с помощью микроскопа МБР–17 с цифровой камеры. Для электронно-микроскопических исследований образцы тканей последовательно фиксировали в 2,5%-ном растворе глутарового альдегида и 2%-ном растворе четырехоксида осмия (OsO₄) и заливали в смесь эпон-аралдит. Ультратонкие срезы, полученные на ультратоме LKB–V (Швеция), после контрастирования исследовали с помощью электронного микроскопа JEM–100SX (Япония) при ускоряющем напряжении 80–100 кВ.

Результаты гистологических исследований моллюсков, зараженных личинками протостронгилид

Результаты исследования показали, что при заселении личинками гельминта ткани моллюска образуются очаги, как в ножках, так и в пищеварительной трубке промежуточного хозяина. У зараженных моллюсков в фрагментах мышечной ткани обнаружены личинки овальной формы с толстой оболочкой; вокруг личинок — соединительнотканые и некротические очаги (рис. 1). При этом распределение личинок паразита носило выраженный гетерогенный характер. В одних участках отмечали значительные их скопления, а в других — особенно в мышечной ткани, обнаруживали лишь единичных личинок или же они вовсе отсутствовали. В слизистой оболочке пищеварительной трубки моллюска отмечали отек, деструкцию и десквамацию эпителия с наличием локального лизиса клеток и межклеточного вещества. В их просвете обнаруживали фрагменты разрушенных личинок и скопления мононуклеарных клеток. В окружающей паренхиматозной ткани отмечена выраженная лимфоидно-макрофагальная реакция, проявляющаяся как в виде диффузной их локализации, так и по типу клеточных локусов. Наиболее плотные скопления мононуклеарных клеток часто обнаруживали вокруг личинок протостронгилид. При этом, как вокруг относительно сохраненных, так и разрушенных в структурном отношении личинок протостронгилид, наблюдали очаги отека различной протяженности. Очаги отека и клеточной деструкции были окружены мононуклеарными клетками различных типов. Среди них преобладали клетки лимфоцитарного и моноцитарно-макрофагального ряда. Вокруг очагов инвазии реже наблюдали формирование крупных многоядерных клеток по типу «клеток инородного тела».

Таким образом, в организме промежуточного хозяина при инвазии гельминтами отмечаются определенные признаки, характеризующие тканевые и клеточные взаимоотношения паразита и хозяина. Реакция ткани промежуточного хозяина проявляется в лимфоцитарной и макрофагальной инфильтрации

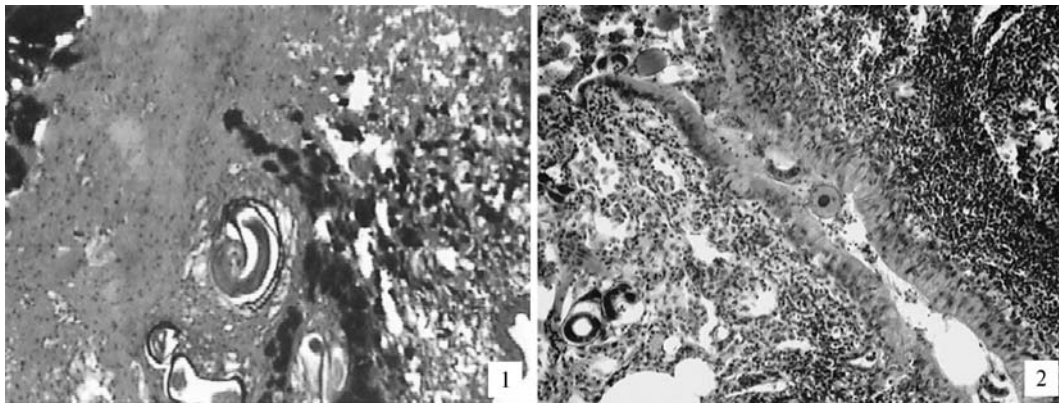


Рис. 1. Личинка в ноге моллюска. В тканях видна личинка паразита. Вокруг нее дистрофическое воспаление с очагами некроза. Окраска гематоксилином и эозином; 7 x 10.

Fig. 1. A larva in the foot of the mollusk. A dystrophic inflammation with the focuses of necrosis surrounds the larva. Staining with hematoxylin and eosin; 7 x 10.

Рис. 2. Ткань легкого из очага поражения гельминтами. Локализация частично или полностью деструктивных гельминтов в просвете бронха, вокруг которого выявлена интенсивная лимфоцитарно-макрофагальная реакция. Окраска гематоксилином и эозином; 10 x 20.

Fig. 2. A lung tissue from the helminth infection focus. The localization is partly or completely destructive helminths in the lumen of the bronchus, around which an intensive lymphocytic-macrophage reaction is revealed. Staining with hematoxylin and eosin; 10 x 20.

пораженных участков, которая направлена на ограничение повреждающего действия паразита с последующим его уничтожением и элиминацией из организма.

Результаты гистологических исследований дефинитивных хозяев, зараженных протостронгидами

Общеморфологическое исследование ткани легкого показало, что наблюдаемые изменения в структуре органа носят гетерогенный характер в зависимости от локализации очага поражения. Наиболее выраженные воспалительно-деструктивные изменения обнаруживали в тех участках ткани легких, где макроскопически было отмечено появление темно-красных или коричнево-черных пятен. Вокруг этих пятен и отдаленных от них участков клеточная реакция ткани легких была менее выраженной.

Пораженные зоны характеризовались нарушениями гистоархитектоники легочной ткани. Наблюдалось уплотнение легочной паренхимы, спадение или эмфизематозное расширение альвеол, отек и набухание слизистой оболочки бронхов практически всех калибров, особенно малых бронхов и терминальных бронхиол. В просвете ряда бронхов выявлялись скопления клеточного детрита со слизистым компонентом, на фоне которых идентифицировали нематод. Последние, в зависимости от стадии развития и степени их деструктивных изменений, имели гетерогенное морфологическое строение. Наряду с гельминтами типичной формы в виде изогнутой палочки или закрученной спирали, выявляли набухших и деструктивно измененных паразитов шаровидной формы (рис. 2). Некоторых нематод обнаруживали и в перибронхиальной соединительной ткани. Обращала на себя внимание выраженная гиперплазия перибронхиальных лимфатических фолликул, которые достигали крупных размеров и характеризовались большими центрами размножения. Наряду с этим отмечалось наличие выраженного отека фолликул, очаги которого имели различные размеры. В клетках, среди инфильтрирующих перибронхиальных пространств, преобладали малые и средние лим-

фоциты, между которыми довольно часто встречались крупные макрофаги и единичные гранулоциты.

Гиперплазия лимфоидной ткани в очаге поражения не ограничивалась лишь перибронхиальными зонами. Вдали от бронхов, вокруг кровеносных сосудов, выявляли крупные лимфатические фолликулы, в которых основную площадь занимали реактивные центры. Стенка сопровождающих фолликулы сосудов, как правило, отечная, просвет их несколько сужен. Взаимоотношения паразитов и лимфоидной ткани прослеживались практически всюду, где наблюдалась инвазия гельминтами. В очагах скопления личинок гельминтов нередко удавалось обнаружить обильную инфильтрацию лимфоцитов и клеток моноцитарно-макрофагального ряда. Создавалось впечатление, что в этих очагах идет формирование новых лимфатических фолликул. Наряду с очагами отека и просветления в них нередко выявляли формирующиеся реактивные центры, содержащие в основном молодые клетки по типу лимфобластов и монобластов. Характерно, что гельминты, расположенные вокруг этих фолликулов, в большинстве своем, были деструктивно изменены и окружены тонкой соединительнотканной капсулой.

Одной из характерных особенностей тканевой реакции легких на инвазию является активизация клеток фибробластического ряда с последующим развитием соединительной ткани. Пучки новообразованных коллагеновых волокон в комплексе с фибробластоподобными клетками встречались повсеместно в местах локализации гельминтов, окружая и ограничивая их миграцию. Вокруг пораженных участков отмечалось формирование мощных пучков коллагеновых волокон, среди которых обнаруживали фрагменты деструктивных гельминтов, подвергнутых фибриноидному набуханию и лизису. Формировались толстые соединительнотканнные капсулы, в толще и вокруг которых располагались макрофаги и клетки инородных тел (рис. 3). Локализация гельминтов вокруг кровеносных сосудов приводила к формированию вокруг них зоны отека и разрастанию соединительной ткани. При этом стенка сосудов была отечной, с фрагментацией гладкомышечных пучков и коллагеновых волокон.

Результаты электронно-микроскопических исследований дефинитивных хозяев, зараженных протостронгидами

Изложенная выше клеточная реакция легочной ткани нашла свое подтверждение и на электронно-микроскопическом уровне исследования. В средних и малых бронхах выявлены деструктивные изменения эпителиальных клеток слизистой оболочки по типу локального лизиса и редукции ресничек (рис. 4). За счет слипания альвеолярных эпителиоцитов I типа их просвет был закрыт, а многие альвеолы ателектазированы. В альвеолярных перегородках между альвеолоцитами I типа выявлены клетки по типу фибробластов и моноцитов. Сам аэрогематический барьер местами подвержен деструкции. В результате этого свободные эритроциты и нейтрофильные гранулоциты нередко обнаруживали в межальвеолярных пространствах за пределами капилляров. Во многих участках очагов поражения наблюдается выраженное утолщение межальвеолярных перегородок, в структуре которых обнаружены многочисленные лимфоцито- и фибробластоподобные клетки. Деструктивные фибробласты выявлены и в толще эпителия малых бронхов. Это сопровождалось отеком, локальным лизисом цитоплазмы и выраженной редукцией ресничек. В очагах поражения (в широких пределах) варьировала ультраструктура больших альвеолоцитов II типа, цитоплазма которых содержала значительное количество осмиофильных телец. В этих случаях наблюдается утолщение аэрогематического барьера и инфильтрация межальвеолярных перегородок фибробластоподобными клетками. Чаще отмечается дегрануляция альвеолоцитов II типа. На фоне редукции их микровилл наблюдается появление светлых вакуолей

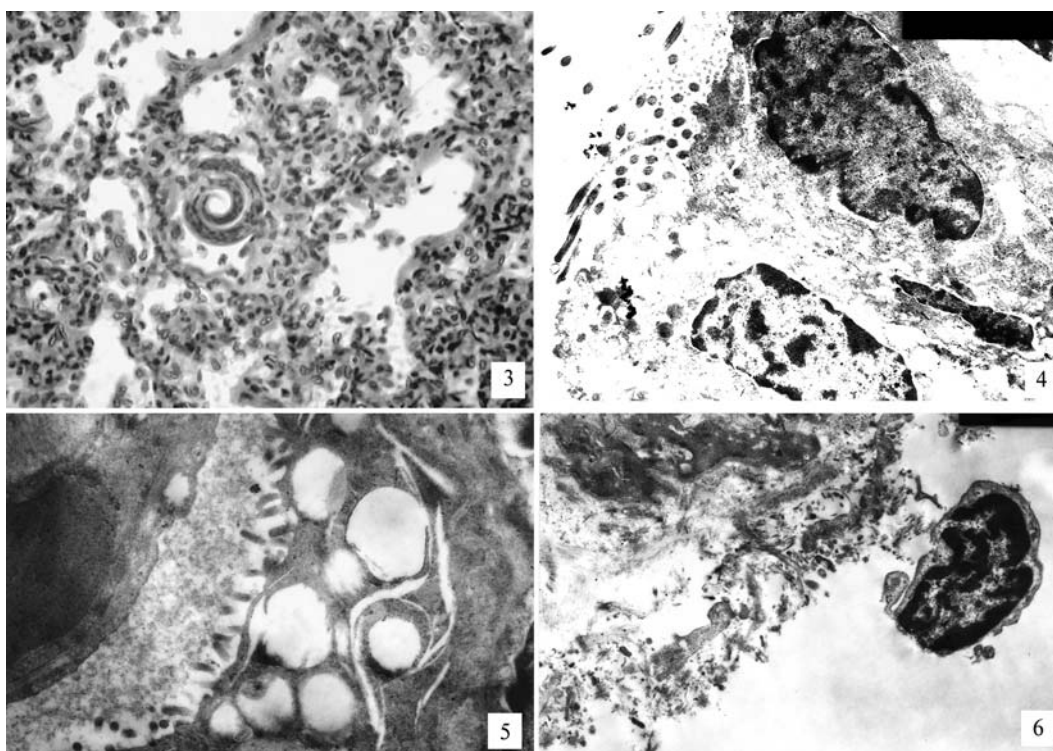


Рис. 3. Ткань легкого из очага поражения гельминтами. Соединительнотканная капсула, содержащая макрофаги, фибробласты и многоядерные клетки вокруг гельминта без выраженных признаков деструкции. Окраска гематоксилином и эозином; $\times 20$.

Fig. 3. A lung tissue from the helminth infection focus. A connective capsule containing macrophages, fibroblasts and multinuclear cells around the helminth without pronounced signs of destruction. Staining with hematoxylin and eosin; $\times 20$.

Рис. 4. Трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ) ткани легкого из очага поражения гельминтами. Деструктивные изменения эпителиальных клеток слизистой оболочки среднего бронха по типу локального лизиса и редукции ресничек; $\times 3500$.

Fig. 4. Transmission electron microscopy (TEM) of the lung tissue taken from the focus of infection by helminths. Destructive changes of the epithelial cells of the mucous membrane of mid-bronchus by the type of a local lysis and reduction of cilia; $\times 3500$.

Рис. 5. Трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ) ткани легкого из очага поражения гельминтами. Редукция микровилл альвеолоцитов II типа, появление светлых вакуолей в их цитоплазме при полном отсутствии осмиофильных телец; $\times 4000$.

Fig. 5. Transmission electron microscopy (TEM) of the lung tissue taken from the focus of infection by helminths. The reduction of alveolocyte microvilli of type II, emergence of light vacuoles in their cytoplasm at the complete absence of osmiofiles corpuscles; $\times 4000$.

Рис. 6. Трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ) ткани легкого из очага поражения гельминтами. Контакт малого лимфоцита с клеточным детритом в результате деструкции легочной паренхимы; $\times 3000$.

Fig. 6. Transmission electron microscopy (TEM) of the lung tissue taken from the focus of infection by helminths. The contact of the small lymphocyte with the cellular detritus as a result of the destruction of the lung parenchyma; $\times 3000$.

в цитоплазме при практически полном отсутствии осмиофильных телец (рис. 5). Все это указывает на то, что инвазия не только оказывает отрицательное влияние на структуру аэрогематического барьера, но и существенно подавляет сурфактантную систему легких. Это, в свою очередь, способствует повышению степени ателектаза легких и снижению интенсивности газообмена. Субмикроскопические деструктивные изменения в легочной паренхиме сопровождаются повсеместным повышением количества лимфоцитов, моноцитов и макрофагов. Нередко эти клетки вплотную примыкают к деструктивным участкам легочной паренхимы (рис. 6).

Таким образом, инвазия в легочной ткани сопровождается выраженной ответной реакцией, направленной на локализацию и подавление активности гельминтной агрессии. При этом на светооптическом и на электронно-микроскопическом уровнях исследования выявлена выраженная активация лимфоцитарной и моноцитарно-макрофагальной систем легких. Одновременно отмечена интенсивная фибробластическая реакция паренхимы органа, которая направлена на формирование ограничивающих соединительнотканых капсул вокруг гельминтов и тканевых зон их поражения. Вместе с тем продукты жизнедеятельности гельминтов оказывают определенное отрицательное влияние на легкие, проявляющееся в образовании очагов ателектаза и эмфиземы, склерозированием межальвеолярных перегородок и нарушением целостности аэрогемаического барьера.

Выводы

При заражении протостронгидами в легких развивается своеобразный продуктивный воспалительный процесс лобулярного характера с выраженной ответной неспецифической реакцией, направленной на локализацию и подавление активности гельминтной агрессии.

У животных при этой инвазии в легких и ткани ног моллюсков выявлена выраженная активация лимфоцитарной и моноцитарно-макрофагальной систем. Одновременно отмечена интенсивная фибробластическая реакция паренхимы органа, направленная на формирование ограничивающих соединительнотканых капсул вокруг гельминтов и тканевых зон их поражения.

Работа выполнена в рамках гранта Р—114 между Украинским научно-технологическим центром (УНТЦ), Институтом зоологии Академии наук Республики Узбекистан и Службой сельскохозяйственных исследований Департамента сельского хозяйства США. Авторы благодарны сотрудникам Службы сельскохозяйственных исследований и УНТЦ за постоянную помощь и содействие, оказываемые в течение выполнения работы.

- Акрамова Ф. Д.* Популяционная структура и функционирование нематод рода *Spiculocaulus* Schulz, Oglow et Kutass, 1933 — эндопаразитов животных : Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Ташкент, 2003. — 20 с.
- Боев С. Н.* Основы нематодологии. Протостронгилиды. — М. : Наука, 1975. — Т. 25. — 266 с.
- Давтян Э. А.* Цикл развития нематод легких овец и коз Армении // Зоол. сб. Ин-та фитопат. и зоол. АН АрмССР. — 1949. — Вып. 6. — С. 185—266.
- Кулмаматов Э. Н., Исакова Д. Т., Азимов Д. А.* Гельминты позвоночных горных экосистем Узбекистана. — Ташкент : Фан, 1994. — 151 с.
- Петросян С. Л.* Патоморфологические изменения в легких лосей при варестронгилезе // *Helminthologia*. — 1962—1963. — 4. — С. 390—395.
- Трушин И. Н.* О продолжительности жизни личинок мюллериев в организме наземных моллюсков // Тр. ВИГИС. — 1975. — 22. — С. 169—175.
- Убайдуллаев Я. У.* Экология и жизненные циклы протостронгилей мелкого рогатого скота в Узбекистане : Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Ташкент, 1975. — 26 с.
- Anderson C.* Nematode parasites of vertebrates: their development and transmission. — Wallingford : CABI publ., 2000. — 650 p.
- Beresford-Jones W. P.* Observations on *Muellerius capillaries* (Mueller, 1889) Cameron, 1927. III. Experimental infection of sheep // *Res. Vet. Sci.* — 1967. — 8. — P. 272—279.
- Hoberg E. P., Polley L., Gunn A., Nishi J. S.* *Umingmakstrongylus pallikuukensis* gen. nov. et sp. nov. (Nematoda: Protostrongylidae) from muskoxen, *Ovibos moschatus*, in the central Canadian Arctic, with comments on biology and biogeography // *Can. J. Zool.* — 1995. — 73. — P. 2266—2282.
- Kuchbaev A. E., Akramova F. D., Karimova R. R. et al.* Terrestrial mollusks environment for the larvae of the family Protostrongylidae, Leiper, 1926 // *Helminths, Helminthoses and Environment : 9th Internat. Helminthol. Symp.* (Stara Lesna, Slovak Republic. June 9—13, 2003). — Košice, 2003. — P. 57.
- Kutz S. J., Hoberg E. P., Polley L.* Experimental infections of muskoxen (*Ovibos moschatus*) and domestic sheep with *Umingmakstrongylus pallikuukensis* (Nematoda: Protostrongylidae): Parasite development, population structure and pathology // *Canad. J. Zool.* — 1999. — 77. — P. 1562—1572.

- Seese F. M., Worley D. E.* Experimental infection of *Dictyocaulus viviparus* in dairy calves, with Observations on histopathology, peripherale blood parameters, and inhibited fourth stage larvae // *Helminthologia*. — 1993. — **30**. — P. 119—125.
- Stockdale P. H. G.* Pulmonary pathology associated with metastrongyloid infections // *Br. Vet. J.* — 1976. — **132**. — P. 595—608.