

ПАТОМОРФОЛОГИЯ ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ *Fasciola hepatica* и *Paramphistomum cervi* ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ АНТИТРЕМА

О.И. БИБИК

кандидат биологических наук

Л.В. НАЧЕВА

доктор биологических наук

Кемеровская государственная медицинская академия,

650029, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а,

e-mail: ok.bibik@yandex.ru

И.А. АРХИПОВ

доктор ветеринарных наук

Всероссийский научно-исследовательский институт гельминтологии

им. К.И. Скрябина, 117218, г. Москва, ул. Б. Черемушкинская, д. 28,

e-mail: vigis@ncport.ru

Установлены изменения в органах и тканях трематод *Fasciola hepatica* и *Paramphistomum cervi* после воздействия антитрема в дозе 200 мг/кг, что свидетельствует об эффективности препарата при фасциозе и парамфистомозе.

Ключевые слова: антитрем, *Fasciola hepatica*, *Paramphistomum cervi*, гистохимия, патоморфология.

Наиболее действенной мерой борьбы с гельминтозами является химиотерапия с использованием высокоэффективных антигельминтиков, к которым относится антитрем [1, 2, 13].

Дегельминтизация требует более эффективных трематодоцидных средств, изыскание которых, помимо традиционных методов скрининга, целесообразно проводить путем гистологических, гистохимических и электронномикроскопических методов с разносторонним изучением механизма воздействия антигельминтиков на паразита, а также изучать в динамике структурные и функциональные изменения в тканях гельминта и в некоторых органах хозяина [3, 6, 17].

Исходя из этого, мы поставили цель выявить патоморфологические и гистохимические особенности органов и тканей *Fasciola hepatica* и *Paramphistomum cervi* после воздействия антитрема и определить их как соответствующие критерии эффективности антигельминтика.

Материалы и методы

Материал для исследований получали при вскрытии спонтанно инвазированных фасциолами коров и парамфистомами овец через 7 сут после дачи антитрема в дозе 200 мг/кг по ДВ однократно перорально. В качестве контроля исследовали фасциол и парамфистом до воздействия антитрема. Материал фиксировали в 70%-ном спирте и обрабатывали по общепринятым гистологическим методикам. Парафиновые срезы толщиной 5-6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, по Маллори. Из гистохимических красителей использовали толуидиновый синий (ТС), альциановый синий (АС), бромфеноловый синий по Бонхегу (БФС) и Шик-реакцией по Мак-Манусу с соответствующими ферментативными и химическими контролями [19].

Результаты и обсуждение

Воздействие разных антигельминтиков проявляется изменениями реактивности тканей *F. hepatica* и *P. cervi* при реакциях АС, ТС, БФС и Шик-реакции, что указывает на нарушение физиологического состояния гельминтов [4, 5, 7].

Данные исследования показали, что в результате интоксикации после воздействия антитрема в организме трематод происходит нарушение водно-электролитного и белкового обмена, что приводит к изменению коллоидно-осмотического давления и развитию гидropической дистрофии тканей гельминтов. Накопление воды вызывает набухание, расплавление и вакуолизацию тканевых и клеточных структур. После воздействия антитрема на *F. hepatica* и *P. cervi* в тканях и органах трематод отмечается выраженный отек и колликвационный некроз.

Выявляли атипичную вакуолизацию наружной части тегумента *F. hepatica*. Увеличение проницаемости тегумента для воды приводит к гипергидратации покровной ткани и увеличению межклеточных пространств. Эти наблюдения подтверждают результаты наших исследований.

Чувствительными к антитрему оказались как покровные ткани, так и пищеварительная система *F. hepatica* и *P. cervi* (табл. 1, 2). Избирательное воздействие антигельминтиков на тегумент и эпителий кишечника обсуждалось нами ранее. Антитрем преимущественно проникает в организм трематод через тегумент. Выраженный лизис структурных элементов кишечного эпителия трематод приводит к нарушению процессов всасывания и подтверждает высокую степень проникновения препарата через пищеварительную систему трематод.

1. Морфофункциональные изменения и патогенез в органах и тканях *F. hepatica* и *P. cervi* после воздействия антитремом

Патологический процесс	Органы					
	тегумент		кишечник		паренхима	
	<i>F.hepatica</i>	<i>P.cervi</i>	<i>F.hepatica</i>	<i>P.cervi</i>	<i>F.hepatica</i>	<i>P.cervi</i>
Дистрофия:						
гидропическая	+++	++	++	++	+++	++
углеводная	+++	+++	+++	+++	+++	+++
белковая	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Аутолиз	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Базофилия ткани	+++	++	+++	++	+++	++
Деструкция	+++	++	+++	++	+++	++
Дезорганизация	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Декомпозиция	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Некробиоз	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Некроз	++±	+	+++	++	+++	++

Примечание к таблицам 1-3. + (плюс) – положительная реакция; – (минус) – отрицательная реакция; + – патологическая картина с незначительными морфофункциональными изменениями после воздействия антигельминтика; ++ – выраженные морфофункциональные изменения; +++ – необратимые процессы патогенеза; ± – процессы с разной степенью проявления.

На изменение реактивности тканей трематод, их функционального состояния указывает увеличение базофильности тканевых структур. Это свидетельствует о смещении в сторону кислотности ткани внутренней среды в организме трематод. Снижение рН среды и активация гидролитических ферментов повышает гидролиз высокомолекулярных соединений в тканях, способствуя разрушению белково-полисахаридных комплексов. Происходит деструкция клеточных и тканевых структур. Наиболее вероятно, что при взаимодействии антигельминтика с биополимерами тканей гельминта изменяется

число ионогенных групп биосубстрата, что приводит к смещению рН внутренней среды и набуханию структур организма трематод.

Адсорбируясь изначально на поверхности тела гельминта, антигельминтик блокирует мукополисахаридный слой гликокаликса, покрывающий тегумент трематод. Этот компонент влияет на свойства клеточной поверхности – всасывание, иммунологическое поведение, адгезивные силы, выполняет барьерную функцию в сложившейся системе «паразит-хозяин» [10, 18, 24-26]. Гликокаликс – сильно ионизированный мукополисахарид, а образуемая им сеть может выполнять функции молекулярного сита, ионообменника, избирательно накапливающего некоторые типы молекул, предупреждая проникновение на поверхность липопротеиновой мембраны крупных частиц и бактерий [20, 21]. Аналогичные механизмы были выявлены при изучении функциональной морфологии разных трематод [16]. Наружная сторона гликокаликса контактирует с внутренней средой хозяина, а внутренняя – с цитоплазматическим матриксом – наружной частью тегумента. Поэтому, даже небольшие концентрации токсических веществ, чем и является действующий антигельминтик и его метаболиты, могут или блокировать, или разрушать структуру рецепторов тегумента паразита, что пагубно сказывается на регуляции его клеточного метаболизма, а затем организма гельминта в целом (по принципу «цепной реакции»). Нарушение защитного барьера – зоны гликокаликса резко усиливает явления проницаемости. Далее, абсорбируясь во внутренние отделы организма, препарат снижает количество углеводного компонента в наружном слое тегумента трематод, и паразит теряет способность защищать организм от внешнего воздействия.

Нарушение антитремом тинкториальных свойств в пограничных зонах трематод – тегументе и кишечном эпителии подтверждается ослаблением окрашивания тканевых структур АС. Незначительное количество гексозаминогликанов (ГАГ) свидетельствует о разрушении защитного барьера в пограничных органах.

Увеличение содержания Шик-положительных веществ в тканях трематод подтверждает токсичность препарата на состояние ферментативных систем. Последнее доказывается снижением реакции с БФС и извращенным окрашиванием тканевых структур трематод. Накопление веществ углеводного характера указывает на нарушение обмена веществ за счет их нерасщепления в процессе жизнедеятельности. Выявляется прокрашивание скорлупы яиц, особенно, у *F. hepatica*, что указывает на ее повышенную проницаемость.

Возрастание степени интенсивности положительной Шик-реакции свидетельствует об увеличении полисахаридов. Возможно, это происходит за счет групп каких-либо внешних источников (например, полисахаридов цементирующего вещества, скрепляющего отдельные структуры в ткани) или из-за 1,2-гликолевых групп, присутствующих в коллагеновых волокнах, что и было характерно для базальных мембран. Реакционно способные группы в нормальных условиях не могут вступать в реакцию вследствие их химического замещения, либо их блокировки факторами физико-химической природы.

Вопрос о перестройке белково-углеводных комплексов после воздействия антигельминтных препаратов, с образованием Шик-положительных углеводов и свободных белков, которые дают усиление окрасок на полисахариды и белок, уже обсуждался ранее [14].

Воздействие антитрема выразилось уменьшением или исчезновением метахромазии хроматропных структур, что указывает на снижение в тканях гельминтов ГАГ или нарушении их структурной организации. Исчезновение хроматропов из органов и тканей трематод связано с прижизненным возникновением комплексов между этими структурами трематод и нехроматропными веществами – антигельминтиками или их метаболитами. Препараты взаимодействуют с активными кислотными группами тканевого субстрата. Образование подобных комплексов приводит к уменьшению активных центров –

реакционно способных групп, количество которых в субстрате снижается, расстояние между ними увеличивается и они встречаются реже, что и вызывает ослабление окраски.

Бледное окрашивание ТС паренхимы трематод с ослаблением эффекта метахромазии свидетельствует о структурной дезорганизации основного цементирующего вещества соединительной ткани. Происходит нарушение изоосмии ткани внутренней среды и гомеокинеза гельминта, тело трематод теряет упругость, меняется его форма.

Выявление сульфатированных мукополисахаридов в тегументе трематод связывают с их участием в регуляции ионного равновесия процессов диффузии на уровне тканей гельминтов, что свидетельствует об избирательной проницаемости покровной ткани трематод и ее взаимозависимости не только с обменными процессами самого паразита, но и с метаболизмом хозяина [16]. Уменьшение содержания муциноподобных веществ нарушает избирательную проницаемость тканей, ослабляя роль тегумента и кишечного эпителия в защитных реакциях организма; гельминты становятся уязвимыми со стороны эндостазии хозяина.

После антитрема в тегументе и кишечнике выявлено большое число ядер (табл. 2), сохраняющих контур границ, но с прозрачным содержимым, что указывает на разрушение генетического материала трематод в жизненно важных структурах. Наблюдаемая пролиферация ядер дистальной части тегумента и базальной части эпителия кишечника после воздействия антитрема подтверждает патологию клеточного ядра, происходящие изменения его функционального состояния. На увеличение содержания нуклеиновых кислот (ДНК) указывает возрастание базофильности кариоплазмы. Реакция пролиферации характеризует воспалительный процесс, возникающий в результате токсического воздействия [12], в данном случае, антигельминтика.

2. Морфофункциональные изменения ядер тегумента и кишечного эпителия *F. hepatica* и *P. cervi* после воздействия антитремом

Патологический процесс	Ядро	
	<i>F. hepatica</i>	<i>P. cervi</i>
Базофилия	–	+++
Пролиферация	Только в эпителии	+
Пикноз	+++	–
Лизис	+++	+++

Разрушение тегумента и кишечного эпителия трематод как мультифункциональных органов [15], обеспечивающих динамическую стабилизацию гельминта, способствует усилению токсикогенного влияния и проникновения антигельминтика в организм паразита, оказывая воздействие на паренхиму – ткань внутренней среды, а далее органы половой системы.

Выявление ГАГ в эпителии матки, желточниках и яйцах у *F. hepatica* и *P. cervi* после воздействия антитрема в большем количестве, чем при норме свидетельствует о повышении секреторной активности органов и их защитной функции. Такая картина характерна и для трематод других видов [9, 16].

Основной принцип химиофилактики – губительное воздействие малых доз лекарственных препаратов на развивающихся и развившихся яиц гельминтов, и угнетение их репродуктивных свойств [11, 22].

Антитрем вызывает значительные микроморфологические изменения цитоархитектоники половых желез (табл. 3), нарушения процессов сперматогенеза, овогенеза и вителлогенеза, а также прекращение развития яиц в разных отделах матки фасциол и парамфистом, но ответные реакции трематод определяются их видовой специфичностью.

Окрашивание тканей БФС показывает присутствие суммарных белков в определенном месте. После воздействия антитрема у трематод в тканевых

структурах всех органов происходило изменение природы белкового компонента, перераспределение его функциональных групп, о чем свидетельствовало извращенное окрашивание БФС.

3. Морфофункциональные изменения и патогенез в органах репродуктивной системы *F. hepatica* и *P. cervi* после воздействия антитремом

Патологический процесс	Органы			
	яичник		семенники	
	<i>F.hepatica</i>	<i>P.cervi</i>	<i>F.hepatica</i>	<i>P.cervi</i>
Дистрофия: гидропическая	+++	++	+++	++
углеводная	+++	+++	+++	+
белковая	+++	+++	+	+
Аутолиз	+++	++	+++	++
Базофилия	+	+	+	++
Деструкция	+++	++	+++	++
Дезорганизация	+++	+++	+++	+++
Декомпозиция	+++	+++	+++	+++
Пикноз ядер	++	–	++	+
Лизис ядер	+++	+	+++	+
Некробиоз	+++	+++	+++	+++
Некроз	+++	++	+++	++

Воздействие антитрема вызывало перераспределение в сторону кислых белков у *P. cervi* со стороны кишечного эпителия. Изменение цветовой гаммы тканевых структур в реакции с БФС после воздействия антитрема у *F. hepatica* и *P. cervi* указывает на большее количество мукополисахаридов. Воздействие антитрема на *F. hepatica* приводило к наличию нехарактерного, коричневого и болотного, окрашивания тканевого субстрата. Препарат, вероятно, вызывает денатурацию белков необратимого характера.

Окрашивание тканей трематод БФС на белки выявляет наличие хлопьевидной массы коагулирующего белкового компонента, выпадающего в виде осадка в большом количестве после воздействия антитрема.

При разрушении белково-углеводных комплексов, происходит освобождение анионных центров, которые задерживают антигельминтики – катионные молекулы, образуя комплексы. Поэтому, мы считаем, что при взаимодействии в системах «антигельминтик-полимер ткани», с одной стороны, могут образовываться солевые связи между антигельминтиком и карбоксиланионами поликислот, которыми и являются ГАГ ткани паразита, а с другой стороны, молекулы препарата могут связываться с основной цепью белково-углеводного комплекса благодаря неполярным взаимодействиям.

Установлено, что изменение химической структуры фасциолицидов влияет на избирательную токсичность: антигельминтики с карбоциклическим строением активнее ациклических; разделение фенольных колец у производных дифенилов метиленовой группой и в большей степени серой и еще больше окисленной, уменьшает фасциолицидную эффективность; с увеличением атомов хлора в соединении возрастает эффективность препарата; активность соединений, содержащих нитрогруппы, выше, чем содержащих атом брома [23].

Гистохимически установлено, что антитрем вызывает структурные изменения в тканях тегумента, паренхимы, пищеварительной и половой систем трематод (рис.), которые выражались дистрофиями разного генеза: 1) декомпозицией – деструкция углеводно-белковых комплексов с высвобождением и накоплением составляющих их химических веществ (белков, углеводов); 2) инфильтрацией (дистрофия количественного характера) – накопление белков и углеводов в результате истощения ферментных систем, метаболизирующих

эти продукты; 3) извращенным синтезом (дистрофия качественного характера) на уровне белков – нарушение ферментативных процессов (ферментопатия). Гистохимическая гиперплазия характеризовалась увеличением количества белков хлопьевидной формы, что проявлялось при БФС окрашивании и указывало на нарушение внутриклеточного транспорта продуктов метаболизма. Выявляемый некробиоз тканей трематод подтверждал необратимые дистрофические изменения на уровне нарушения углеводного и белкового обменов. Исчезновение гликогена после воздействия антигельминтика указывает на преобладание в тканях трематод катаболических реакций над анаболическими, а значит происходит нарушение биохимических путей синтеза жизненно важных веществ.

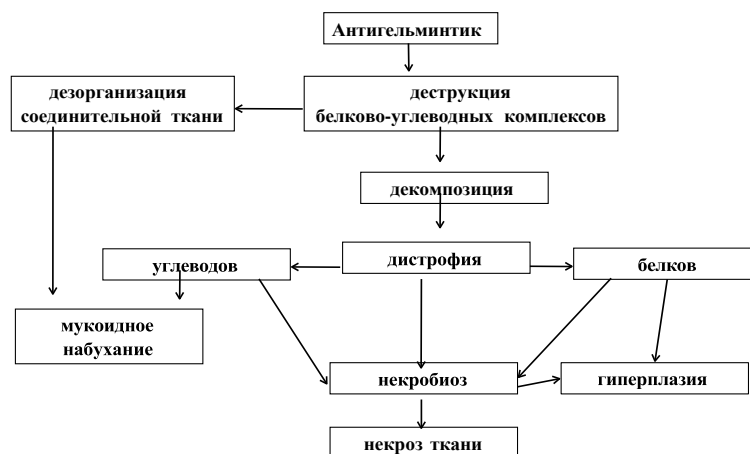


Рис. Схема механизмов морфофункциональных изменений тканей трематод после воздействия антигельминтиков

Воздействие антигельминтиков на органы и ткани *F. hepatica* и *P. cervi* выражалось постепенными изменениями: 1) деформацией, вакуолизацией, отечностью, некрозом тегумента и кишечного эпителия; 2) набуханием, углеводно-белковой инфильтрацией всех соединительнотканых волокон, их лизисом; 3) исчезновением гликогена как запасного питательного материала, частичными некротическими явлениями; 4) декомпозицией половых желез, инфильтрацией их клеток и волокон углеводами, извращенным синтезом белков, разрушением цитофоров и распадом клонов, их смешиванием, с участками коагуляционного некроза; 5) разрушением зрелых яиц и морфофункциональных блоков их формирования, нарастающей дистрофией желточников с распадом желточных клеток, их декомпозицией и склеротизацией гранул; 6) извращенным и нарастающим снижением окрашивания тканей при реакциях толуидиновым, бромфеноловым и альциановым синим, ШИК-реакцией, что свидетельствовало о белково-углеводной дистрофии.

После воздействия антитрема морфологические изменения однотипных морфофункциональных процессов (декомпозиция, дезорганизация и др.) в организме *F. hepatica* и *P. cervi* проявляются специфично. Это связано не только с тем, что трематоды разной видовой принадлежности, но и с тем, что они занимают в организме хозяина разные паразитарные ниши – эндостации. О специфических изменениях в тканях у представителей разных видов гель-

минтов после воздействия одних и тех же антигельминтиков упоминалось в работах других исследователей [8].

Таким образом, исследования показали, что патоморфологический контроль тканей трематод и их гистохимическую реактивность можно использовать как критерии оценки эффективности воздействия антитрема на *F. hepatica* и *P. cervi*. Степень воздействия антигельминтика на органы и ткани трематод определяется химической структурой препарата и является процессом, сопровождаемым определенной морфологической перестройкой, в основе которой лежат тонкие изменения внутриклеточного метаболизма.

Нарушение белкового и углеводного обмена с перераспределением и накоплением компонентов в тканях трематод кислого характера, приводящее в итоге к необратимым процессам некробиоза и некроза тканевых и органических структур гельминта, подтверждает сильную степень фасциоло-паразитомоцидного воздействия антитрема. Но необратимые некротические изменения тканей после воздействия антитрема более значительные в организме фасциол, чем парамфистом.

Литература

1. *Архипов И.А.* Химиотерапия гельминтозов животных: успехи, проблемы, перспективы // Основные достижения и перспективы развития паразитологии // Матер. докл. Междунар. конф. – М., 2004. – С. 30–31.
2. *Архипов И.А.* Антигельминтики: фармакология и применение. – М., 2009. – 405 с.
3. *Бибик О.И.* Микроморфология органов и тканей *Fasciola hepatica*, взятых после лечения антитремом // Сб. науч. тр. «Медико-биологические проблемы». – Кемерово, 2005. – Вып. 14. – С. 77–79.
4. *Бибик О.И.* Патоморфологический контроль токсикогенного действия тегалида на органы и ткани *Paramphistomum cervi* // Тр. Всерос. ин-та гельминтол. – 2006. – Т. 44. – С. 46–52.
5. *Бибик О.И.* Гистохимические исследования нарушения углеводного обмена в тканях и органах фасциол после воздействия тегалида // Тр. Всерос. ин-та гельминтол. – 2007. – Т. 45. – С. 40–45.
6. *Бибик О.И.* Морфофункциональная характеристика органов и тканей паразита и хозяина при трематодозах после химиотерапии антигельминтиками // Рос. паразитол. журнал. – 2008. – № 1. – С. 99–106.
7. *Бибик О.И., Начева Л.В.* Гексозаминогликаны в органах и тканях половозрелых *Fasciola hepatica* после воздействия триклабендазола // Рос. паразитол. журнал. – 2008. – № 3. – С. 72–76.
8. *Богоявленский Ю.К., Казанцева Г.Н.* Гематологические и гистохимические исследования тканей гельминтов и органов их хозяев в химиотерапии гельминтозов // Тез. докл. науч. конф. «Эколого-биологические и фаунистические аспекты гельминтозов». – М., 1991. – С. 17.
9. *Гребенщиков В.М.* Микроморфологические и гистохимические исследования половой системы и гаметогенеза некоторых трематод в норме и при действии антигельминтиков: Автореф. дис... канд. биол. наук. – Алма-Ата, 1984. – 20 с.
10. *Давыдова В.Г.* Ультраструктурные исследования цестод в аспекте взаимоотношений в системе «паразит-хозяин» // Тез. докл. науч. конф. «Гельминтология сегодня: проблемы и перспективы». – М., 1989. – С. 104.
11. *Демидов Н.В., Поникаров А.В.* Опыт применения лечебных антигельминтных композиций пролонгированного действия для профилактики фасциолёза ягнят // Тез. докл. науч. конф. «Эколого-биологические и фаунистические аспекты гельминтозов». – М., 1991. – С. 41–42.
12. *Казанин В.И.* Систематика клеточных реакций в патологии. – М.: Медицина, 1983. – 69 с.

13. Кошеваров Н.И. Эколого-эпизоотологические особенности трематодозов жвачных в Нечерноземье РФ и влияние антигельминтиков в системе «паразит-хозяин»: Автореф дис... д-ра вет. наук. – М., 2011. – 49 с.
14. Кошкина Н.Г. Празиквантель при экспериментальном фасциолезе крыс // Матер. докл. VII науч. конф., посвящ. теор. и практ. вопр. общей и экологической паразитол. – Кемерово, 1984. – С. 31–33.
15. Начева Л.В. Сравнительная морфофункциональная организация кишечника трематод // Тез. докл. VIII науч. конф., посвящ. теор. и практ. вопр. общей биологии и паразитол. – Кемерово, 1985. – С. 43–48.
16. Начева Л.В. Морфоэкологический анализ и эволюционная динамика тканевых систем трематод, реактивность их органов и тканей при действии антигельминтиков: Автореф. дис... д-ра биол. наук. – М., 1993. – 57 с.
17. Начева Л.В., Бибик О.И., Гребенщиков В.М. Антигельминтики, эффективность их действия на органы и ткани *Opisthorchis felinus* (гистологические и гистохимические исследования). – Кемерово, 2000. – 92 с.
18. Перминов А.А., Воробьева Е.И. Морфоэкологические особенности адгезии между гельминтом и хозяином в зависимости от эндостасти паразитирования // Сб. науч. раб. «Медико-биологические проблемы». – Кемерово, 1995. – С. 26–27.
19. Пирс Э. Гистохимия. – М., 1962. – 962 с.
20. Уголев А.М. Мембранное пищеварение. Полисубстратные процессы, организация и регуляция. – Л.: Наука, 1972. – 356 с.
21. Уголев А.М. Эволюция пищеварения и принципы эволюции функций: элементы современного функционирования. – Л.: Наука, 1985. – 544 с.
22. Федянина Л.В., Астафьев Б.А., Коваленко Ф.П., Найденова А.С. Изучение овицидного и ларвицидного эффекта отечественных антигельминтиков // Матер. докл. науч. конф. «Гельминтозоозы – меры борьбы и профилактики». – М., 1994. – С. 168–170.
23. Ханбегиан Р.А. Поиск фасциолицидов преимагинального действия и некоторые стороны их антигельминтного механизма и фармакодинамики: Автореф. дис. ... д-ра вет. наук. – М., 1977. – 45 с.
24. Ястребов М.В. Соотношение понятий «хозяин» и «среда обитания» и вопрос о сущности паразитизма // Экология. – 1996. – Т. 27, № 1. – С. 61–64.
25. Gabrion C., Gabrion J. Etude ultrastructurale de la larva de *Ahomataenia constricta* (Cestoda, Cyclophyllidae) // Ztschr. Parasitenc. – 1976. – Bd. 49, № 2. – P. 164–177.
26. Threadgold L.T., Befus A.D. *Hymenolepis diminuta*: ultrastructural localization of immunoglobulin – binding sites on the tegument // Exp. Parasitol. – 1977. – V. 43, № 1. – P. 169–179.

Pathomorphology of bodies and tissues of *Fasciola hepatica* and *Paramphistomum cervi* after antitrem treatment

O.I. Bibik, L.V. Nacheva, I.A. Arkhipov

Histologic and histochemical researches have shown features of changes in bodies and tissues of trematodes (*Fasciola hepatica* and *Paramphistomum cervi*) also have confirmed efficiency antitrem at trematodosis.

Keywords: antitrem, *Fasciola hepatica*, *Paramphistomum cervi*, histochemistry, pathomorphology.

