

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ,
МИКРОМОРФОЛОГИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ
РЕАКЦИЙ ОБЛИГАТНЫХ И НЕОБЛИГАТНЫХ ХОЗЯЕВ ЛЕНТЕЦА
Diphylobothrium dendriticum (CESTODA: PSEUDOPHYLLIDAE)**

О.Е. МАЗУР¹

кандидат биологических наук

Н.М. ПРОНИН¹

доктор биологических наук

А.С. ФОМИНА¹

кандидат биологических наук

С.В. ПРОНИНА²

доктор биологических наук

¹ Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН,
г. Улан-Удэ, e-mail: olmaz33@yandex.ru

² Бурятский государственный университет, г. Улан-Удэ

Приведены результаты сравнительного анализа гематологических, микроморфологических и иммунологических реакций облигатного (серебристая чайка) и необлигатных (сирийский хомяк, кошка) хозяев лентеца *Diphylobothrium dendriticum*. Установлено снижение уровня гемоглобина в крови зараженных птенцов чаек, которое частично компенсируется интенсификацией эритропоэза. Отмечено угнетение эритропоэза у необлигатных хозяев. Показано, что инвазия лентецом вызывает активацию Т-клеточного звена иммунитета и иммунодепрессию гуморального звена иммунитета у необлигатных хозяев и низкую активность Т- и В-клеточных реакций у облигатного хозяина.

Ключевые слова: цестода, *Diphylobothrium dendriticum*, гематология, патоморфология, Т- и В-клеточный иммунный ответ.

Проблема взаимоотношений в системе паразит-хозяин – одна из важнейших в паразитологии и экологии, так как характеризует коадаптивные реакции двух и более антигенно и генетически чужеродных организмов. Необходимость изучения взаимоотношений в системе, образуемой ленточными червями сем. *Diphylobothriidae* (Luhe, 1910), определяется их эпидемиологическим и эпизоотическим значением. В бассейне оз. Байкал выявлено три вида дифиллоботриид: *Diphylobothrium latum* (Linnaeus, 1758), *D. dendriticum* (Nitsch, 1824) и *D. ditremum* (Creplin, 1825) [11].

D. dendriticum – лентец чаечный, на стадии плероцеркоида является паразитом рыб подотряда лососевидные (*Salmoidei*), а на имагинальной стадии – рыбоядных птиц в Байкальском природном очаге дифиллоботриоза. Плотоядные животные, в том числе человек также включаются в жизненный цикл лентеца, как необлигатные окончательные хозяева [16].

Описано заболевание, вызываемое *D. latum* – лентецом широким, патогенность которого установлена [2, 3, 22]. Имеются немногочисленные работы, посвященные влиянию *D. dendriticum* на морфофункциональные изменения в различных органах дефинитивного хозяина разных классов [1, 7, 10, 17]. Взаимоотношения плероцеркоидов *D. dendriticum* – рыбы на тканевом и

организменном уровне описаны в монографии [15]. *D. ditremum* не имеет эпидемиологического значения.

Исследований относительно ответных реакций иммунной системы на паразитирование *D. dendriticum* у дефинитивных хозяев не обнаружено. В связи с этим нами проведена серия экспериментов по заражению облигатных и необлигатных хозяев лентецом чаечным. Результаты этих опытов изложены в публикациях: по морфофункциональным реакциям отдельных органов [14, 18, 20] и частично по отдельным видам хозяев [5, 8, 9, 21]. В данной работе сделана попытка обобщить в сравнительном аспекте клеточные и тканевые реакции на инвазию *D. dendriticum* облигатного хозяина – серебристой чайки (*Larus argentatus mongolicus*) и необлигатных – сирийского хомяка (*Mesocricetus auratus*) и кошки домашней (*Felis catus*).

Материалы и методы

Работа выполнена в лаборатории паразитологии и экологии гидробионтов Института общей и экспериментальной биологии СО РАН, на кафедре анатомии и физиологии медицинского факультета Бурятского госуниверситета и на биостанции «Монахово» в Чивыркуйском заливе оз. Байкал в 2006, 2008–2009 гг. Инвазионный материал был получен от байкальского омуля – облигатного дополнительного хозяина *D. dendriticum* в оз. Байкал. Использованы экспериментальные модели *D. dendriticum* – серебристая чайка, *D. dendriticum* – сирийский хомяк и *D. dendriticum* – кошка:

1. Птенцы серебристой чайки были взяты из колонии на о-ве Малый Калтыгей Чивыркуйского залива оз. Байкал в возрасте 1–3 сут. Проведено 2 серии экспериментов: 1) птенцов (12 особей) заразили перорально 10 (1-я группа), 20 (2-я группа) и 30 (3-я группа) плероцеркоидами на одну птицу. Контролем служили незараженные птенцы; 2) птенцов заразили 10 плероцеркоидами и разделили на 2 группы по 6 птиц в каждой, 3-ю контрольную группу составили незараженные птицы (6 особей). Исследования проводили на 5 и 10-е сутки эксперимента.

2. Сирийские хомяки были взяты в возрасте 3-х месяцев. Доза заражения составила 17 плероцеркоидов на одно животное, заданных однократно перорально. Всего 9 хомяков, из которых трое служили контролем. Исследования проводили на 3, 8 и 16-е сутки после заражения.

3. Беспородные котята взяты в возрасте 18 сут. Животных распределили на 3 группы по 3 животных в каждой. 1-я группа служила незараженным контролем. Остальных котят заразили плероцеркоидами однократно перорально в дозе (на одно животное) 8 экз. (2-я группа), 16 экз. (3-я группа). Исследования проводили на 3 и 7-е сутки после заражения.

Для отражения общего характера изменений используются качественные (сильная, средняя, слабая) величины в виде векторов направления того или иного признака (табл. 1–3).

Копроовоскопические исследования проведены по методу Като [4]. Приживаемость гельминтов определяли при вскрытии экспериментальных животных. Морфофункциональную оценку иммунокомпетентных органов и гематологические исследования проводили по общепринятым методам [8, 14, 21].

Результаты и обсуждение

Изучение гельминтологических, гематологических, морфофункциональных и иммунологических параметров при экспериментальном заражении *D. dendriticum* дефинитивных хозяев облигатных (чайка) и необлигатных (хомяк, кошка) для данного паразита позволили проследить характер паразитозных отношений в модельных системах.

Приживаемость. Результаты по приживаемости плероцеркоидов лентеца чаечного у дефинитивных хозяев двух классов (птицы и млекопитающие) показали увеличение зараженности: 17,7 % (сирийский хомяк) – 47,1 % (серебристая чайка) – 75 % (кошка). У всех дефинитивных хозяев лентец чаеч-

ный локализуется в тощей кишке, а при сильной интенсивности инвазии и в двенадцатиперстной кишке у кошки [19]. Полученные нами результаты согласуются с данными экспериментов, проведенных ранее на моделях лентец чаечный – сирийский хомяк и лентец чаечный – чайка (из дельты р. Селенги), в которых также выявлен относительно высокий уровень приживаемости лентецов у необлигатного (31,1–31,8 %) и облигатного (34,5 %) хозяев [12, 13].

Тонкий кишечник. Проведенные исследования органа локализации лентеца – тонкого кишечника позволили выявить достоверное увеличение митотической активности клеток, числа бокаловидных клеток и плазмоцитов в собственной пластинке слизистой оболочки всех зараженных животных, наиболее выраженное у необлигатных хозяев (табл. 1).

1. Векторы интенсивности гематологических, иммунологических и микроморфологических параметров облигатного и необлигатных хозяев при экспериментальном заражении *D. dendriticum*

Структурный компонент	Чайка	Хомяк	Кошка
Слизистая оболочка кишечника			
Плазмоциты	↑	↑↑	↑↑↑
Интраэпителиальные лимфоциты (Т-лимфоциты)	↑↑	↑↑	↑↑↑
Митотически делящиеся клетки	↑↑	↑↑	↑↑↑
Бокаловидные клетки	↑	↑↑	↑↑
Тучные клетки	0	↑↑↑	0
Эозинофилы	↑↑	↑	↑
Периферическая кровь			
Гемоглобин	↓	↓↓	↓↓
Эритроциты	N	↓	↓
Незрелые эритроциты	↑↑↑	–	–
Лейкоциты	↓	↓	↓↓↓
Иммуноглобулины	N	–	↓↓↓
Т-лимфоциты	↓↓↓	↓	–
Т-лимфоциты хелперы	–	↓	–
Т-цитотоксические лимфоциты	–	↓↓	–
В-лимфоциты	↓↓	↓↓↓	–
Тимус			
Площадь мозговой зоны	↑↑	↑↑↑	–
Площадь телец Гассалья	↑↑↑	↑↑	–
Митотически делящиеся клетки	↑	↑↑↑	–
Бластные формы и большие лимфоциты	↑↑↑	↑↑↑	–
Малые лимфоциты корковой зоны тимуса	↓↓↓	↓↓	–
Тучные клетки	0	↑↑	–
Эозинофилы	↑↑↑	0	–
Клетки с деструктивными изменениями	↑↑	↑↑	–
Селезенка			
Площадь лимфоидной ткани	↑↑	↑↑↑	–
Большие лимфоциты	↑	↑	–
Малые лимфоциты в Т- зоне	↓	↓↓	–
Плазмоциты в маргинальной зоне и в эллипсодах	↑↑	↓↓	–
Нейтрофильные лейкоциты в маргинальной зоне и в эллипсодах	↑↑	↑↑	–

Примечание. ↑ – увеличение признака; ↓ – уменьшение признака, «–» – не исследовано; «N» – нет изменений по сравнению с незараженными особями; «0» – не обнаружено; «↑» – слабые изменения; «↑↑» – средние; «↑↑↑» – сильные изменения.

Отмечена активная выработка бокаловидными клетками муцинов в просвет кишечника. Муцины защищают слизистую оболочку кишечника хозяина от механического воздействия паразита, блокируя двигательную активность гельминтов. У серебристой чайки и котят тучные клетки в слизистой оболочке кишечника нами не выявлены как у интактных, так и у зараженных особей. Напротив, у хомяков при инвазии лентецом обнаружено значительное увеличение содержания и функциональной активности таковых. При этом максимальное увеличение числа тучных клеток наблюдали в тот период инвазионного процесса, когда паразит начинает продуцировать половые продукты.

Кровь. Система гемопоэза обладает высокой реактивностью. Эритроидные клетки и иммуноциты легко перераспределяются, циркулируя по всему организму, тем самым, обеспечивая развитие адаптивных и иммунных реакций. Изменения красной крови у зараженных плероцеркоидами *D. dendriticum* животных однотипные: достоверно снижается уровень гемоглобина и общее число эритроцитов (табл. 1). Наиболее значительные изменения в эритроцитарной картине крови наблюдали у хомяков и котят. Напротив, изменения гематологических реакций у чаек имели в основном характер тенденции. Стабильный уровень эритроцитов крови зараженных птиц сохранялся за счет интенсификации эритропоэза (увеличение числа незрелых форм). Выявленные гематологические трансформации у облигатного и необлигатных хозяев указывают на нарастающее угнетение дыхательных процессов крови при отсутствии дегенеративных нарушений эритроидных клеток.

В динамике уровня иммуноцитов крови облигатных и необлигатных хозяев в период активного созревания *D. dendriticum* прослеживается единая тенденция – снижение общего числа лейкоцитов, абсолютного содержания Т-лимфоцитов и их субпопуляций – Т-хелперов и Т-цитотоксических клеток (Тц) (табл. 1). Известно, что воспалительные Т-хелперы (Th1) активируют к пролиферации и дифференцировке цитотоксические Т-лимфоциты [6], поэтому в условиях угнетения хелперной активности иммуноцитов вполне объяснимо снижение Т-цитотоксического потенциала клеток. Аналогичную закономерность наблюдали в популяции зрелых В-клеток крови (низкий уровень показателя) у птенцов серебристой чайки и хомяков. Снижение хелперной активности Т-лимфоцитов крови ведет к уменьшению пула зрелых В-лимфоцитов. К концу эксперимента, когда все дифиллоботрииды достигли половозрелой стадии иммунологические реакции хозяина характеризовались активацией Т-системы иммунитета за счет Т-хелперов. Однако усиление хелперной активности лимфоцитов было недостаточным для стимуляции противопаразитарной защиты организма (низкий уровень Тц и В-лимфоцитов).

Реакция иммунной системы дефинитивных хозяев на заражение лентецом сопровождалась стабильным уровнем иммуноглобулинов в сыворотке крови на протяжении всего эксперимента у птенцов чаек, по сравнению с контролем, и сильным его снижением у котят.

Тимус. В тимусе зараженных хомяков и птенцов серебристой чайки наблюдали идентичные микроморфологические изменения (табл. 1). Выявлено достоверное увеличение относительной площади мозгового вещества и телец Гассала. В функциональных зонах долек тимуса у зараженных животных отмечено увеличение доли бластных клеток в корковой зоне, числа клеток с деструктивными изменениями, эозинофилов и тучных клеток. Однако, число митотически делящихся клеток и больших лимфоцитов было ниже у облигатного хозяина. При инвазии также достоверно снижалось содержание малых и средних лимфоцитов (исключение – субкапсулярная зона).

Селезенка. В селезенке отмечено увеличение площади лимфоидной ткани по сравнению с незараженными особями, более выраженное у необлигатного хозяина (табл. 1). Во всех функциональных зонах селезенки серебристой чайки и хомяка регистрировали однотипное повышение числа больших лимфоцитов и снижение малых лимфоцитов, наблюдали инфильтрацию нейтрофильными лейкоцитами эллипсоидов (серебристая чайка) и маргинальной

зоны (хомяк) органа. У хомяка отмечено сильное снижение зрелых плазмочитов в маргинальной зоне, что указывает на ингибирующее воздействие паразита на процесс дифференцировки В-лимфоцитов в их эффекторные формы, и, напротив, у чайки – увеличение числа этих клеток в эллипсоидах селезенки.

Брыжеечные лимфатические узлы. Структурно-функциональные изменения в брыжеечных лимфатических узлах при инвазии лентецом чаечным изучали только у хомяков (табл. 2).

2. Векторы интенсивности изменения структурных компонентов брыжеечных лимфатических узлов необлигатного хозяина (сирийский хомяк) при экспериментальном заражении *D. dendriticum*

Структурный компонент	Вектор
Большие лимфоциты	↑↑↑
Малые лимфоциты	↑
Тучные клетки	↑↑
Плазмочиты в мозговых тяжах	↓↓↓
Эозинофилы	↓

Можно выделить два направления изменения признаков: усиление Т-клеточного иммунного ответа (увеличение числа больших и малых лимфоцитов), и угнетение В-клеточного иммунного ответа, на что указывают значительное снижение числа плазматических клеток в мозговых тяжах узла у зараженных особей, а в мантии лимфатических узлов их не обнаруживали вовсе. Полученные данные свидетельствуют о нарушении образования эффекторных В-лимфоцитов.

Бурса. Инвазия лентецом чаечным вызывает увеличение относительной площади коркового вещества фолликулов в бурсе серебристой чайки, повышение пролиферативной активности лимфоцитов, инфильтрацию межфолликулярного пространства эозинофилами и псевдоэозинофилами (табл. 3). Достоверно увеличивалось число деструктивно измененных клеток при одновременном снижении их макрофагальной активности. Увеличение содержания малодифференцированных клеток по сравнению с контролем отмечено в корковой зоне, снижение малых и средних лимфоцитов – в корковой и мозговой зонах.

3. Векторы интенсивности изменения структурных компонентов бursы облигатного хозяина (серебристая чайка) при экспериментальном заражении *D. dendriticum*

Структурный компонент	Вектор
Бластные клетки	↑↑↑
Малые лимфоциты корковой зоны	N
Плазмочиты корковой зоны	↓↓
Плазмочиты мозговой зоны	N
Клетки с деструктивными изменениями в корковой и мозговой зонах	↑↑↑
Эозинофилы	↑

Таким образом, в результате экспериментального исследования клеточных и тканевых реакций органов иммуно- и гемопоза в паразито-хозяинных системах «*Diphyllbothrium dendriticum* – дефинитивные хозяева (облигатный – серебристая чайка, необлигатные – сирийский хомяк, кошка)» установлено:

- характер и глубина клеточных и тканевых реакций у дефинитивных хозяев в модельных системах зависят от специфичности паразита;
- активация Т-клеточного звена иммунитета у необлигатных хозяев и низкая его активность у облигатного хозяина;

- слабая активация В-клеточного звена иммунитета у облигатного хозяина и иммунодепрессия его – у необлигатных;
- аллергические процессы к инвазии развиваются у всех видов хозяев;
- интенсификация эритропоэза у облигатного хозяина и угнетение его у необлигатных хозяев;
- уровень системного иммунного ответа у облигатного хозяина (серебристая чайка) более высокий, чем у необлигатных хозяев (сирийский хомяк, кошка), у которых более выражены местные реакции иммунной защиты.

Работа выполнена по проекту НИР СО РАН № VI. 43.1.3 «Паразитарные системы...» и при поддержке РФФИ (проект № 08-04-98035р-сибирь-а). Благодарим сотрудников лаборатории паразитологии и экологии гидробионтов ИОЭБ СО РАН Л.В. Толочко и И.А. Кутырева за содействие в проведении экспериментов.

Литература

1. Герасимова А.В., Благоев Н.А., Рженицин В.В. и др. О роли чаек в распространении дифиллоботриозов // Матер. науч. конф. Всес. о-ва гельминтол. – М., 1969. – Ч. 2. – С. 189–187.
2. Гостева Л.А., Сергеева В.Т., Макаревич Н.И. Активность лизоцима у больных дифиллоботриозом // Мед. паразитол. и паразит. бол. – 1991. – № 2. – С. 11–13.
3. Делямуре С.Л., Скрябин А.С., Сердюков А.М. Дифиллоботрииды – ленточные гельминты человека, млекопитающих и птиц // Основы цестодологии. – М.: Наука, 1985. – Т. XI. – 200 с.
4. Котельников Г.А. Гельминтологические исследования животных и окружающей среды. – М.: Колос, 1983. – 208 с.
5. Кутырев И.А., Пронина С.В. Изменение состава тучных клеток двенадцатиперстной кишки сирийского хомяка при экспериментальном дифиллоботриозе // Морфология. – 2010. – № 2. – С. 44–47.
6. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунная недостаточность (выявление и лечение). – М.: Мед. книга, 2003. – 443 с.
7. Майборода А.А., Тимошенко Т.М., Козакова А.А. и др. Структура природного очага дифиллоботриоза в районе пролива Малое море оз. Байкал // Республ. сб. науч. тр. «Гельминтозы человека». – Л.: Изд-во Ленингр. НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, 1987. – С. 56–62.
8. Мазур О.Е., Пронин Н.М., Толочко Л.В. Гематологические и иммунологические характеристики птенцов серебристой чайки (*Larus argentatus*) при экспериментальном заражении *Diphyllbothrium dendriticum* (Cestoda: Pseudophyllidae) // Известия РАН, серия биол. – 2007. – № 4. – С. 420–427.
9. Мазур О.Е., Толочко Л.В., Пронина С.В. Гематологические характеристики котят *Felis catus* при экспериментальном заражении *Diphyllbothrium dendriticum* (Pseudophyllidae: Diphyllbothriidae) // Вестн. БГУ. – 2007. – № 3. – С. 228–231.
10. Плотников Н.Н. К клинике, патогенезу и терапии дифиллоботриозной анемии // Клин. мед. – 1955. – № 7. – С. 38–43.
11. Пронин Н.М. Паразиты рыб и других гидробионтов Байкальского региона опасные для людей // Проблемы общей и региональной паразитологии. – Улан-Удэ: Изд-во Бурят. с.-х. академии, 2000. – С. 134–140.
12. Пронин Н.М., Пронина С.В., Тимошенко Т.М. Золотистые хомячки в модели паразитарной системы // Тез. докл. XII Всес. конф. по природной очаговости болезней. – Новосибирск, 1989. – С. 167–168.
13. Пронин Н.М., Тимошенко Т.М., Санжиева С.Д. Динамика яйцепродукции и плодовитость цестоды *Diphyllbothrium dendriticum* (Nitzsch, 1824) (Cestoda: Pseudophyllidae) // Паразитология. – 1989. – Т. 23, Вып. 2. – С. 146–151.
14. Пронина С.В., Мазур О.Е., Пронин Н.М. и др. Морфофункциональные характеристики тимуса и иммунологические показатели сирийского хомяка при экспериментальном заражении цестодой *Diphyllbothrium dendriticum*

cum (Pseudophyllidae: Diphylobothriidae) // Паразитология. – 2010. – 44(2). – С. 135–145.

15. Пронина С.В., Пронин Н.М. Взаимоотношения в системах гельминты – рыбы. – М.: Наука, 1988. – 176 с.

16. Пронина С.В., Пронин Н.М. Байкальский природный очаг дифиллоботриоза (структура, эпизоотология и эпидемиология). – Улан-Удэ: Изд-во БГУ, 2010. – 44 с.

17. Пронина С.В., Тимошенко Т.М. Влияние лентеца чаек *Diphylobothrium dendriticum* (Nitsch, 1824) на микроморфологическую картину органов пищеварения золотистых хомяков // Сиб. биол. журнал. – 1991. – Вып. 2. – С. 47–52.

18. Пронина С.В., Фомина А.С. Морфофункциональные изменения в тимусе сирийского хомяка при экспериментальном заражении цестодой *Diphylobothrium dendriticum* (Pseudophyllidae: Diphylobothriidae) // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – Иркутск. – 2009. – № 2(66). – С. 125–128.

19. Толочко Л.В., Пронин Н.М. Приживаемость *Diphylobothrium dendriticum* (Pseudophyllidae: Diphylobothriidae) от байкальского омуля у различных видов окончательных хозяев в эксперименте // Вестн. Бурят. гос. ун-та. Биология, география. – Улан-Удэ: Изд-во Бурят. гос. ун-та, 2008. – Вып. 9. – С. 205–207.

20. Фомина А.С., Пронина С.В. Реакция эозинофилов тимуса и бursы серебристой чайки при экспериментальном заражении лентецом чаечным *Diphylobothrium dendriticum* (Nitzsch, 1924) (Cestoda: Pseudophyllidae) // Морфология, 2010. – Т. 138, № 5. – С. 36–39.

21. Фомина А.С., Пронина С.В. Реакция иммунокомпетентных органов серебристой чайки. Гистоморфология органов при заражении *Diphylobothrium dendriticum*. – Изд-во LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH & Co. KG Dudweiler Landstraße 99 66123 Saarbrücken Germany, 2011. – 152 с.

22. Vuylsteke P., Bertrand C., Verhoef G.E., Vandenberghe P. Case of megaloblastic anemia caused by intestinal taeniasis // Ann. Hematol. – 2004. – V. 83, № 7. – P. 487–488.

Comparative analysis of hematological, micromorphological and immunological reactions of obligate and not obligate definitive hosts *Diphylobothrium dendriticum* (Cestoda: Pseudophyllidae)

O.E. Mazour, N.M. Pronin, A.S. Fomina, S.V. Pronina

The data on hematological, micromorphological and immunological reactions of obligate hosts (nestlings of herring gull) to cestode *Diphylobothrium dendriticum* invasion in comparison with ones of unobligated hosts (syrian hamster, a cat) were analyzed. There were clear tendency to decreasing of hemoglobin level in blood of the infected herring gull's nestlings. The tendency is partially compensated with the intensification of erythropoiesis in obligate hosts, and vice versa its depression in unobligated hosts. The cestode invasion activates T-cell immune response and suppresses a B-cell response of unobligated hosts and activates lowly T- and B-cell reactions of the obligate hosts.

Keywords: cestoda, *Diphylobothrium dendriticum*, hematology, pathologic morphology, T- and B-cell immune response.