

ВОЗДЕЙСТВИЕ ТРИХИНЕЛЛЁЗНОЙ ИНВАЗИИ НА ГЕНОМ ХОЗЯИНА ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ

**ПАШИНСКАЯ Е.С., БЕКИШ В.Я., БЕКИШ О.-Я.Л.,
ПОБЯРЖИН В.В.**

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет»*

Резюме. Секреторно-экскреторные продукты трихинелл обладают эмбриотоксическим воздействием к 14-му дню беременности самок белых беспородных мышей, которое характеризуется при заражении животных на 1-ый и 10-ый дни после оплодотворения повышением предимплантационной и постимплантационной гибели в 6-12 и 5-5,6 раз соответственно на миграционной и кишечной стадиях инвазии.

Эмбриотоксический эффект трихинелл сопровождается уменьшением средней массы эмбрионов и краниокаудального размера в 1,07-1,60 раза по отношению к контрольным показателям. Инвазия трихинеллами к 14-му дню беременности мышей при скрещивании на кишечной, миграционной и мышечной стадиях развития паразитов сопровождается эмбриотоксическим эффектом в виде роста предимплантационной гибели до 98-99 %.

При применении щелочного гель-электрофореза изолированных клеток установлено, что инвазия трихинеллами при заражении на 1-ый день после оплодотворения (14-ый день инвазии) сопровождается генотоксическим и цитотоксическим эффектами в соматических клетках костного мозга самок и их эмбрионов.

Инвазия характеризуется достоверным увеличением количества одноцепочечных разрывов и щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК в клетках костного мозга на 7% и в клетках эмбрионов на 8,24 %, а также ростом числа апоптотических клеток в 5,8-9,9 раз.

При скрещивании на миграционной и мышечной стадиях, секреторно-экскреторные продукты трихинелл обладают генотоксическим и цитотоксическим воздействиями на клетки костного мозга самок к 14-му дню беременности в виде роста в 1,9-4,3 раза процента ДНК в «хвостах комет» и длины «хвостов комет», в 7,7-10,7 раза «момента хвоста комет», а также числа апоптотических клеток в 7-11 раз.

Ключевые слова: трихинелла; беременность; генотоксическое, цитотоксическое, эмбриотоксическое воздействия.

Abstract. The secretory-excretory trichinella products have embryotoxic effect by the 14-th day of pregnancy of white mongrel female mice, which is characterized by 6-12 and 5-5,6 times increase of preimplantation and postimplantation death at the migration and intestinal stages of invasion in case of animals infection on the 1-st and the 10-th days after fertilization.

The embryotoxic effect is accompanied by 1,07-1,60 times decrease of embryos body weight and their craniocaudal size. Trichinella invasion of by the 14-th day of mice pregnancy on fertilization at the intestinal, migration and muscular stages of parasite development possesses embryotoxic effect, which is characterized by increase of preimplantation death of embryos up to 98-99%. When using single cell alkali gel electrophoresis it has been determined, that trichinella invasion during infection on the 1-st day after fertilization (the 14-th day of invasion) has genotoxic and cytotoxic effects on somatic cells of female mice bone marrow and those of their embryos.

The invasion is characterized by an increase of single-strand breaks, alkali-labile sites of nucleus DNA by 7% in bone marrow cells, by 8,24% in embryos cells as well as 5,8-9,9 times increase in the number of apoptotic cells.

While fertilization at the migration and muscle stages of parasite development, secretory-excretory trichinella products have genotoxic and cytotoxic effects on bone marrow cells of female mice by the 14-th day of pregnancy in the form of 1,9-4,3 times increase in the DNA breaks percentage and length of «comet tails», 7,7-10,7

times increase of «comet tail moment» as well as 7-11 times increase in the number of apoptotic cells,

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», - Пашинская Е.С.,

Мутагены химической, физической и биологической природы могут вызывать в клетках человека и млекопитающих первичные и вторичные повреждения молекулы ДНК (генные мутации, хромосомные aberrации, рекомбинации и геномные мутации) [3], образование которых приводит к увеличению наследственной, онкологической и сердечно-сосудистой патологии [5, 10].

Повреждения наследственного аппарата, вызываемые мутагенами, могут служить причиной невынашивания беременности, задержки умственного развития, бесплодия, возникновения пороков физического развития [4]. В Республике Беларусь ежегодно рождается свыше 3500 детей с наследственной и врожденной патологиями, а умершие из них в перинатальном периоде и в детском возрасте составляют 30 % младенческой смертности [6]. Не всегда возможно установить причины наследственной и врожденной патологии у детей.

В 2004 г. при применении щелочного гель-электрофореза изолированных клеток, нами было показано, что метаболиты как половозрелых форм *Trichinella spiralis*, так и их личинок, обладают генотоксическим и цитотоксическим воздействиями на соматические и генеративные клетки инвазированного организма, вызывая увеличение количества одноцепочечных разрывов и щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК клеток костного мозга и семенников мышей-самцов линии СВА [1]

Повреждения ядерной ДНК клеток хозяина при трихинеллёзе зависели от стадий развития паразита, и были максимально выражены на стадиях миграции и инкапсуляции личинок паразитов [1]. Возможные изменения в геноме инвазированного трихинеллами хозяина на различных стадиях развития паразитов при беременности и в наследственном аппарате эмбриональных клеток, а также эмбриотоксические изменения ранее не исследовались.

Цель исследования – изучить эмбриотоксические изменения, а также возможные генотоксический и цитотоксический эффекты в клетках костного мозга беременных самок мышей при заражении личинками трихинелл до и после наступления беременности на различных стадиях инвазии.

Методы

Исследования проводились на 70 самках и 24 самцах белых беспородных мышей массой 18-20 г в возрасте 3-4 месяцев. Животных помещали в клетки в соотношении 3 самки – 1 самец. Скрещивание проводилось в течение 24 часов. Наступление беременности определялось по наличию сперматозоидов в мазке из влагалища и гиперемии наружных половых органов. Беременных самок разделяли на 7 групп по 10 животных в каждой для проведения двух серий опытов. Получение культуры личинок *T. spiralis* и заражение животных проводилось по методу О.-Я.Л. Бекиша и соавт. [2].

В первой серии опытов использовали самок мышей 1-ой, 2-ой и 3-ей групп для изучения изменений у животных, инвазированных после наступления беременности. Животным 1-ой группы (интактный контроль) вводили внутривентрикулярно 0,2 мл 2% крахмального геля. Мышей 2-ой и 3-ей групп заражали культурой личинок *T. spiralis* внутривентрикулярно в дозе 20 личинок на 1 г массы тела на 1-ый и 10-ый дни беременности соответственно. На 14-ый день беременности самок всех групп умерщвляли путем декапитации, выделяли бедренные кости и матки с эмбрионами. Эмбриотоксические, генотоксические и цитотоксические изменения у инвазированных самок и их эмбрионов 2-ой и 3-ей групп учитывали на 14-ый (миграционная стадия инвазии) и 4-ый (кишечная стадия инвазии) дни с момента заражения.

Во второй серии опыта использовали самок мышей 4-ой, 5-ой, 6-ой и 7-ой групп для изучения изменений у животных при заражении трихинеллами до наступления беременности. Мышам 4-ой группы (интактный контроль), до случки вводили внутривенно 0,2 мл 2% крахмального геля. Животные 5-ой, 6-ой, 7-ой групп заражались в дозе 20 личинок *T. spiralis* на 1 г массы тела животного. Случку животных 5-ой группы проводили на 4-ый день инвазии (кишечная стадия), 6-ой – на 13-ый день инвазии (миграционная стадия), 7-ой группы – на 21-ый день инвазии (мышечная стадия). На 14-ый день беременности всех самок умерщвляли путем декапитации, выделяли бедренные кости и матки с эмбрионами. Эмбриотоксические и цитогенетические изменения у инвазированных самок и их эмбрионов 5-ой, 6-ой и 7-ой групп учитывали на 18-ый, 27-ой и 35-ый дни с момента заражения.

Эмбриотоксические изменения определяли с учетом рекомендаций Б.И. Любимова и соавт. [7], Р.У. Хабриева и соавт. [9] по экспериментальному (доклиническому) изучению репродуктивной токсичности новых фармакологических веществ. После выделения маток у беременных самок определяли количество желтых тел, мест имплантации, общее количество эмбрионов, число живых и мертвых эмбрионов, количество резорбций, среднюю массу эмбрионов в помете и краниокаудальный размер.

Применяли бинокулярную лупу МБС 10 и электронные весы Adventurer Pro AV264 с погрешностью измерения в 0,0001 г. Основными показателями эмбриотоксичности считали предимплантационную смертность (разность между количеством желтых тел в яичниках и количеством мест имплантаций в матке) и постимплантационную гибель (разность между количеством мест имплантаций и количеством живых плодов).

Для изучения возможных генотоксических и цитотоксических нарушений в соматических клетках самок и их эмбрионов применяли щелочной гель-электрофорез изолированных клеток (метод «ДНК-комет») по N.P. Singh et al., модифицированному В. Hellman et al. и нами [8, 11, 18]. Повреждения молекулы ДНК определяли при помощи автоматической программы «CASP v.

1.2.2». В микропрепаратах подсчитывалось по 50 клеток, в каждой из которых учитывались следующие показатели генотоксичности: «длина хвоста кометы» в пикселях; процент ДНК в «хвосте кометы»; «момент хвоста», вычисленный программой из «длины хвоста», умноженной на процент ДНК в «хвосте кометы». Для оценки цитотоксического воздействия секреторно-экскреторных продуктов трихинелл в 100 случайно выбранных клетках костного мозга и эмбрионов определяли процент апоптотических, имеющих минимальные размеры ядра и большой разбросанный во все стороны «хвост кометы». Результаты обрабатывались статистически с использованием программы Excel 2002. Рассчитывали среднюю арифметическую и ее стандартное отклонение (M+SD). Достоверность выявленных различий определяли по t-критерию Стьюдента. Полученные данные у инвазированных трихинеллами самок и их эмбрионов сравнивались с показателями интактного контроля.

Результаты

В первой серии опыта для 1-ой группы животных (интактный контроль) показатель предимплантационной гибели составил 0,1%, а постимплантационной – 0,3% (таблица 1).

Таблица 1 - Показатели эмбриотоксичности при трихинеллезе у белых беспородных мышей-самок на 14-й день беременности при заражении после оплодотворения (M±SD)

Исследуемый показатель	Группа исследования		
	Контрольная	14-ый день инвазии <i>T. spiralis</i> (миграционная стадия), заражение на 1-ый день беременности	4-ый день инвазии <i>T. spiralis</i> (кишечная стадия), заражение на 10-ый день беременности
Количество желтых тел	10,10±2,33	8,40±3,53*	12,06±2,17
Количество мест имплантации	10,00±2,40	7,00±2,70*	12,00±2,40
Общее количество эмбрионов	10,00±2,45	5,60±2,37*	11,10±2,51
Количество живых эмбрионов	10,70±2,26	5,30±2,36*	9,20±3,19*
Количество резорбций	0,10±0,32	1,10±1,09*	0,60±0,26*
Количество мертвых эмбрионов	0,30±0,67	1,20±1,30*	0,80 ± 0,97*
Средняя масса эмбрионов в помете	0,35±0,11	0,26±0,08*	0,28±0,05*
Средний краниокаудальный размер	13,80±1,48	8,70±2,00*	8,10±1,10*
Предимплантационная гибель	0,10 %	1,20 %*	0,60 %*
Постимплантационная гибель	0,30 %	1,70 %*	1,50 %*

Примечание: * – достоверное отличие от данных контрольной группы при P<0,01-0,05.

У зараженных в дозе 20 личинок *T. spiralis* на 1 г массы тела мышей с 1-го дня беременности на 14-ый день инвазии (миграционная стадия) отмечалось снижение количества желтых тел в 1,2 раза, мест имплантации – в 1,4 раза, общего числа эмбрионов – в 1,8 раза по отношению к контрольным показателям (таблица 1).

Количество живых эмбрионов достоверно снизилось в 2 раза по сравнению с интактным контролем. Вместе с тем, количество резорбций в матках возросло в 11 раз, а мертвых эмбрионов – в 4 раза.

Показатели средней массы эмбрионов и краниокаудального размера были ниже в 1,3 и 1,6 раза соответственно по сравнению с контролем. У зараженных самок предимплантационная гибель превысила контрольный показатель в 12 раз, а постимплантационная – в 5,6 раза.

При заражении мышей 3-ей группы на 10-ый день беременности к 4-му дню от начала инвазии (кишечная стадия трихинеллеза), количество желтых тел, мест имплантаций и общее число эмбрионов не отличалось от показателей интактного контроля (таблица 1).

Количество живых эмбрионов снизилось в 1,2 раза по сравнению с контрольным уровнем.

Число резорбций достоверно увеличилось по отношению к контролю в 6 раз, в мёртвых эмбрионов – в 2,6 раза. Средняя массы эмбрионов и краниокаудальный размер были меньше в 1,25 и 1,07 раза соответственно, чем в группе интактного контроля.

Предимплантационная гибель эмбрионов у инвазированных самок достоверно превысила контрольный показатель в 6 раз, а постимплантационная – в 5 раз.

При оценке результатов применения метода «ДНК-комет» установлено, что при заражении на 1-ый день беременности все исследуемые показатели генотоксичности в клетках костного мозга самок достоверно превышали контрольные величины (таблица 2)

Таблица 2 - Показатели щелочного гель-электрофореза изолированных клеток при трихинеллезе в костном мозге белых беспородных мышей-самок и их эмбрионов на 14-й беременности при заражении после оплодотворения (M±SD)

Группа исследования		Исследуемый показатель			
		Длина «хвостов комет» (в пикселях)	% ДНК в «хвостах комет»	«Момент хвоста комет»	% апоптотических клеток
Контрольная	Костный мозг самок	2,92±0,32	0,65±0,24	0,03±0,29	0,29±0,53
	Клетки эмбрионов	3,86±0,70	1,65±0,60	0,09±0,05	0,80±0,89
14-ый день инвазии <i>T. spiralis</i> (миграционная стадия), заражение на 1-ый день беременности	Костный мозг самок	12,67±3,12*	7,65±0,54*	0,86±0,56*	4,65±0,89*
	Клетки эмбрионов	16,34±1,67*	9,89±0,67*	1,02±0,78*	7,98±1,54*
4-ый день инвазии <i>T. spiralis</i> (кишечная стадия), заражение на 10-ый день беременности	Костный мозг самок	3,03±0,65	1,01±0,43	0,10±0,67	0,04±0,34
	Клетки эмбрионов	4,98±1,02*	2,23±0,24*	0,09±0,43	0,90±0,78

Примечание: * – достоверное отличие от данных контрольной группы при P<0,01-0,05.

Так, длина «хвостов комет» была в 4,3 раза выше контроля. Процент ДНК в «хвостах комет» был выше контрольного показателя в 4,6 раза. «Момент хвоста» в 9,5 раз превышал контрольный уровень. Число апоптотических клеток оказалось выше в 5,8 раза по отношению к данным интактного контроля. В клетках эмбрионов длина «хвостов комет» и процент ДНК в «хвостах комет» в 4,2 и 5,9 раза соответственно превышали контрольные показатели. «Момент хвоста» также превышал контрольный уровень в 11,3 раза. Число апоптотических эмбриональных клеток было достоверно выше в 9,9 раза контрольного уровня.

При заражении на 10-ый день беременности все исследуемые показатели генотоксичности в клетках костного мозга самок достоверно не отличались от контрольных величин (таблица 2). В эмбриональных клетках длина «хвостов комет» и процент ДНК в «хвостах комет» были выше уровней контроля в 1,3 и 1,4 раза соответственно. Однако, основные показатели генотоксичности

(«момент хвоста») и цитотоксичности (число апоптотических клеток) у зараженных животных не отличались от контрольных уровней.

У контрольных животных второй серии опытов предимплантационная гибель составила 0,6%, а постимплантационная гибель – 0,2% (таблица 3).

Таблица 3 - Показатели эмбриотоксичности при трихинеллезе у белых беспородных мышей-самок на 14-й день беременности при скрещивании после заражения (M±SD)

Исследуемый показатель	Группа исследования			
	Контрольная	18-ый день инвазии <i>T. spiralis</i> , скрещивание на 4-й день инвазии (кишечная стадия)	27-ой день инвазии <i>T. spiralis</i> , скрещивание на 13-й день инвазии (миграционная стадия)	35-ый день инвазии <i>T. spiralis</i> , скрещивание на 21-й день инвазии (мышечная стадия)
Количество желтых тел	11,60±2,17	10,00±0,32	10,90±2,69	11,00±2,49
Количество мест имплантации	11,00±2,10	0,10±0,32*	0,20±0,20*	0,10±0,20*
Общее количество эмбрионов	11,30±2,11	–	–	–
Количество живых эмбрионов	11,20±2,10	–	–	–
Количество резорбций	0,10±0,32	0,10±0,32	0,20±0,31	0,10±0,23
Количество мертвых эмбрионов	0,10±0,32*	–	–	–
Средняя масса эмбрионов в помете	0,29±0,12	–	–	–
Средний краниокаудальный размер	9,80±3,71	–	–	–
Предимплантационная гибель	0,6%	99%*	98%*	99%*
Постимплантационная гибель	0,2%	–	–	–

Примечание: * – достоверное отличие от данных контрольной группы при P<0,01-0,05.

При случке мышей на 4-ый день после заражения (кишечная стадия), к 18-му дню инвазии количество желтых тел достоверно не отличалось от контрольных показателей (таблица 3). Однако эмбрионов в матках обнаружено не было. Предимплантационная гибель у зараженных животных составила 99%.

При скрещивании животных на 13-й день после заражения (миграционная стадия) к 27-му дню инвазии количество жёлтых тел не отличалось от

контрольных показателей (таблица 3). Эмбрионов в матках обнаружено не было и предимплантационная гибель составила 98%.

Оценка результатов у самок мышей, которые были случены на 21-ый день после заражения (мышечная стадия) к 35-му дню инвазии показала, что количество желтых тел не изменилось по отношению к контролю (таблица 3). Предимплантационная гибель составила 99%.

Из-за отсутствия эмбрионов у зараженных животных второй серии опытов метод «ДНК-комет» проводили только в костном мозге самок.

При случке мышей на 4-ый день после заражения (кишечная стадия) к 18-му дню инвазии в клетках костного мозга длина «хвостов комет» и процент ДНК в «хвостах комет» были выше уровней контроля в 1,29 и 1,41 раза соответственно (таблица 4).

Таблица 4 - Показатели щелочного гель-электрофореза изолированных клеток при трихинеллезе в костном мозге белых беспородных мышей-самок на 14-й беременности при заражении до оплодотворения

Группа исследования		Исследуемый показатель			
		Длина «хвостов комет» (в пикселях)	% ДНК в «хвостах комет»	«Момент хвоста комет»	% апоптотических клеток
Контрольная	Костный мозг самок	4,56±0,87	1,67±0,34	0,07±0,02	0,51±0,34
18-ый день инвазии <i>T. spiralis</i> , скрещивание на 4-й день инвазии (кишечная стадия)	Костный мозг самок	5,89±0,67*	2,36±0,67*	0,09±0,03	0,45±0,34
27-ой день инвазии <i>T. spiralis</i> , скрещивание на 13-й день инвазии (миграционная стадия)	Костный мозг самок	10,67±1,76*	7,34±1,02*	0,75±0,03*	5,62±0,91*
35-ый день инвазии <i>T. spiralis</i> , скрещивание на 21-й день инвазии (мышечная стадия)	Костный мозг самок	8,78±1,01*	5,69±1,04*	0,54±0,03*	3,65±0,95*

Примечание: *- достоверное отличие от данных контрольной группы при $P < 0,01-0,05$.

Однако, основные показатели генотоксичности («момент хвоста») и цитотоксичности (число апоптотических клеток) у зараженных животных не отличались от контрольных уровней.

При исследовании костного мозга животных, которых скрещивали на 13-й день после заражения (миграционная стадия), к 27-му дню инвазии было установлено увеличение длины «хвостов комет» в 2,3 раза, процента ДНК в «хвостах комет» в 4,3 раза, «момента хвоста комет» в 10,7 раза и процента апоптотических клеток в 11 раз по сравнению с контролем (таблица 4).

В клетках костного мозга самок мышей, которые были случены на 21-ый день после заражения (мышечная стадия) к 35-му дню инвазии длина «хвостов комет» превысила контрольный показатель в 1,9 раза (таблица 4). Процент ДНК в «хвостах комет» и «момент хвоста комет» достоверно увеличились в 3,4 и 7,7 раз соответственно по сравнению с контролем. Процент апоптотических клеток в 7 раз был выше, чем в костном мозге интактных животных.

Обсуждение

В результате проведенных исследований можно констатировать, что инвазия трихинеллами сопровождается эмбриотоксическим эффектом к 14-му дню беременности, который характеризуется ростом предимплантационной гибели до 98-99 % при скрещивании на 4-ый (кишечная стадия), 10-ый (миграционная стадия) и 21-ый (мышечная стадия) дни после заражения. Эмбриотоксический эффект также наблюдается при заражении самок после скрещивания. Так, при заражении мышей инвазионными личинками трихинелл на 1-ый и 10-ый дни беременности, повышается предимплантационная и постимплантационная гибель в 6-12 и 5-5,6 раз соответственно на 14-ый (миграционная стадия) и 4-ый (кишечная стадия) дни инвазии.

При заражении до или после наступления беременности предимплантационная гибель увеличивалась за счет уменьшения количества мест имплантаций и общего числа эмбрионов. Возрастание постимплантационной гибели при заражении трихинеллами на 1-ый и 10-ый дни беременности происходило за счет увеличения числа мертвых эмбрионов в 2,6-4 раза и числа резорбций в 6-11 раз. Эмбриотоксический эффект трихинелл также характеризовался уменьшением средней массы эмбрионов и

краниокаудального размера в 1,07-1,60 раза по отношению к контрольным показателям.

При моделировании трихинеллеза с 1-го дня беременности наблюдается генотоксические и цитотоксические изменения как в клетках костного мозга хозяина, так и в клетках эмбрионов на 14-ый день инвазии. Синхронно отмечается повышение длины «хвостов комет» и процента ДНК в «хвостах комет» в клетках костного мозга беременных самок и их эмбрионов в 4,2-5,9 раза по сравнению с показателем контроля. «Момент хвоста комет» в клетках костного мозга самок и эмбрионов в 9,5 и 11,3 раз соответственно превышали контрольные величины. В клетках костного мозга самок и их эмбрионов синхронно возрастал показатель цитотоксичности за счет роста апоптотических клеток в 5,8-9,9 раз. Эти результаты согласуются с полученными нами ранее данными у мышей-самцов при трихинеллезе с применением метода «ДНК-комет» [1].

При дозах заражения в 5, 20 и 40 личинок на 1 г массы тела было установлено, что секреторно-экскреторные продукты личинок трихинелл вызывают дозозависимый рост одноцепочечных разрывов, щелочно-лабильных сайтов ядерной молекулы ДНК и числа апоптотических клеток в костном мозге и семенниках инвазированных животных [1].

При заражении животных личинками трихинелл с 10-го дня беременности не наблюдается генотоксических и цитотоксических изменений как в клетках костного мозга хозяина, так и в клетках эмбрионов на 4-ый день инвазии. Полученные данные согласуются с проведенными нами ранее исследованиями при моделировании трихинеллеза у мышей-самцов с применением метода «ДНК-комет» [1].

Во время проведения опытов при скрещивании самок после заражения предимплантационная гибель достигала практически 100 % и из-за отсутствия эмбрионов метод «ДНК – комет» в эмбриональных клетках не проводился. Генотоксический эффект в костном мозге инвазированных самок при оплодотворении на 4-й день после заражения к 18-му дню инвазии

сопровождался только превышением длины «хвостов комет» в 1,3 раза и увеличением показателя процента ДНК в «хвостах комет» в 1,4 раза без изменения «момента хвоста комет» и числа апоптотических клеток.

При скрещивании на 13-й (миграционная стадия) и 21-й (мышечная стадия) дни после заражения (27-ой и 35-ый дни инвазии) в наследственном аппарате костного мозга самок мышей все показатели генотоксичности и цитотоксичности превышали контрольные величины. В клетках костного мозга самок наблюдалось повреждение наследственного аппарата за счет роста в 1,9-4,3 раза процента ДНК в «хвостах комет» и длины «хвостов комет», а также в 7,7-10,7 раза «момента хвоста комет». Также возрастал показатель цитотоксичности за счет роста апоптотических клеток в 7-11 раз.

Полученные нами результаты по гено-, цито- и эмбриотоксическому воздействию трихинеллезной инвазии можно объяснить наличием в секреторно-эксекреторных продуктах личинок *T. spiralis* двуцепочечной эндонуклеазной активности, которая способствует реорганизации мышечных клеток хозяина и вызывает рост двуцепочечных разрывов ДНК [13].

В секреторно-эксекреторных продуктах *T. spiralis* и *Trichinella pseudospiralis* имеется одноцепочечная внеклеточную эндонуклеаза, которая гидролизует ДНК и РНК лимфоцитов человека [14], а также ДНК-оплетающие белки, которые способны вызывать разрывы ДНК, репрессию генов, изменение экспрессии и остановку жизненного цикла клеток хозяина [15].

В ядрах клеток, лизосомах, секреторных продуктах личинок и половозрелых особей *T. spiralis* и *T. pseudospiralis* содержится дезоксирибонуклеаза II - α , в функции которой входит разрушение ДНК апоптотических и погибших клеток [12]. По мнению D.L. Lee et al. [17], трихинеллы взаимодействуют с клетками хозяина на ядерном уровне, вырабатывая вещества, которые вовлекаются в контроль транскрипции и трансляции ДНК.

Увеличение процента апоптотических клеток при экспериментальном трихинеллезе в костном мозге беременных самок и их эмбрионов может быть обусловлено проявлением защитных реакций организма на внедрение паразита, работой физиологических механизмов за счет повышения синтеза фактора некроза опухоли α , направленного на уничтожение паразитов или повышением в организме образования NO, белка теплового шока 60 (HSP 60) и предположительно цистеиновых протеаз [16].

Заключение

1. Секреторно-экскреторные продукты половозрелых трихинелл и их личинок обладают эмбриотоксическим воздействием к 14-му дню беременности самок белых беспородных мышей, которое характеризуется при заражении животных на 1-ый и 10-ый дни беременности повышением предимплантационной и постимплантационная гибель эмбрионов в 6-12 в 5-5,6 раз соответственно на 14-ый (миграционная стадия) и 4-ый (кишечная стадия) дни инвазии. Эмбриотоксический эффект трихинелл сопровождается уменьшением средней массы эмбрионов и краниокаудального размера в 1,07-1,60 раза по отношению к контрольным показателям.

2. Инвазия трихинеллами к 14-му дню беременности мышей при скрещивании на 4-ый (кишечная стадия), 10-ый (миграционная стадия) и 21-ый (мышечная стадия) дни после заражения сопровождается эмбриотоксическим эффектом в виде роста предимплантационной гибели до 98-99%.

3. При заражении трихинеллами на 1-ый день после оплодотворения к 14-му дню инвазии наблюдаются генотоксический и цитотоксический эффекты в соматических клетках костного мозга самок и их эмбрионов, которые характеризуются достоверным увеличением количества одноцепочечных разрывов и щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК в клетках костного мозга на 7% и в клетках эмбрионов на 8,24%, а также ростом числа апоптотических клеток в 5,8-9,9 раз.

4. При скрещивании на 13-й (миграционная стадия) и 21-й (мышечная стадия) дни после заражения к 27-му и 35-му дням инвазии секреторно-

экскреторные продукты трихинелл обладают генотоксическим и цитотоксическим воздействиями на клетки костного мозга самок в виде роста в 1,9-4,3 раза процента ДНК в «хвостах комет» и длины «хвостов комет», в 7,7-10,7 раза «момента хвоста комет», а также числа апоптотических клеток в 7-11 раз.

Литература

1. Бекиш, В. Я. Повреждения ДНК клеток костного мозга и семенников мышей при экспериментальном трихинеллезе / В. Я. Бекиш, А. Д. Дурнев // Бюллетень эксперимент. биологии и медицины. – 2004. – Т. 138, № 9. – С. 320-323.
2. Бекиш, О.-Я. Л. Экспериментальный трихинеллёз: методы воспроизведения модели / О.-Я. Л. Бекиш, И. И. Бурак, Н. Н. Острейко // Реферат в МРЖ. – 1982 – Т. 3, № 12. – Публ. 3637.
3. Бочков, Н. П. Наследственность человека и мутагены внешней среды / Н. П. Бочков, А. Н. Чеботарёв // АМН СССР. – М: Медицина, 1989. – 272 с.
4. Дурнев, А. Д. Мутагены: скрининг и фармакологическая профилактика воздействий / А. Д. Дурнев, С. Б. Середин. – М.: Медицина. – 1998. – 328 с.
5. Лазюк, Г. И. Морфологические изменения сердца у плодов с хромосомными болезнями / Г. И. Лазюк // Пренатальная диагностика. – 2004. – № 3. – С. 197-202.
6. Лазюк, Г. И. Профилактика врожденных пороков развития медико-генетической службой / Г. И. Лазюк, О. В. Прибушеня // Здоровоохранение. – 2002. – № 4. – С. 2-4.
7. Методические рекомендации по доклиническому изучению репродуктивной токсичности фармакологических веществ / Б. И. Любимов [и др.] // Ведомости Фармакологического комитета. – М., 1998. – № 1. – 20 с.
8. Применение щелочного гель-электрофореза изолированных клеток в эмбриональных тканях мышей / Е. С. Пашинская [и др.] // Достижения фундаментальной, клинической, медицины и фармации: мат. 62 науч. сессии ВГМУ. – Витебск, 2007. – С. 163-165.

9. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р. У. Хабриев [и др.]. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ОАО Изд-во «Медицина», 2005. – 832 с.

10. Andreassi, M. G. Coronary atherosclerosis and somatic mutations: an overview of the contributive factors for oxidative DNA damage / M. G. Andreassi // *Mutat. Res.* – 2003. – Vol. 543. – P. 67-86.

11. Alkaline single cell gel electrophoresis of DNA fragments in biomonitoring for genotoxicity: an introductory study on healthy human volunteers / B. Hellman [et al.] // *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* – 1997. – Vol. 69. – P. 185-192.

12. MacLea, K. S. A family history of deoxyribonuclease II: surprises from *Trichinella spiralis* and *Burkholderia pseudomallei* / K. S. MacLea, R. J. Krieser, A. Eastman // *Gene.* – 2003. – Vol. 13, N 305(1). – P. 1-12.

13. Mak, C. H. Single-stranded endonuclease activity in the excretory-secretory products of *Trichinella spiralis* and *Trichinella pseudospiralis* / C. H. Mak, Y. Y. Chung, R. C. Ko // *Parasitology.* – 2000. – Vol. 120. – Pt. 5. – P. 527-533.

14. Mak, C. H. Characterization of endonuclease activity from excretory/secretory products of a parasitic nematode, *Trichinella spiralis* / C. H. Mak, R. C. Ko // *Eur. J. Biochem.* – 1999. – Vol. 260, N 2. – P. 477-481.

15. Mak, C. H. DNA-binding activity in the excretory-secretory products of *Trichinella pseudospiralis* (Nematoda: Trichinelloidea) / C. H. Mak, R. C. Ko // *Parasitology.* – 2001. – Vol. 123. – P. 301-308.

16. Oxidative and cold shock cause enhanced induction of a 50 kDa stress protein in *Trichinella spiralis* / J. Martinez [et al.] // *Parasitol. Res.* – 2002. – Vol. 88. – P. 427-430.

17. *Trichinella spiralis*: antigenic epitopes from the stichocytes detected in the hypertrophic nuclei and cytoplasm of the parasitised muscle fibre (nurse cell) of the host / D. L. Lee [et al.] // *Parasitology.* – 1991. – Vol. 102. – P. 1117-123.

18. A Simple Technique for quantification of low levels of DNA damage in individual cells / N. Singh [et al.] // *Exp. Cell Res.* – 1988. – Vol. 5. – P. 415-418.