

NEMATODŲ *TOXOCARA CANIS* AUDINIŲ POKYČIAI NITROSKANATO POVEIKYJE *IN VIVO*

Rasa Aukštikalnienė¹, Ona Kublickienė¹, Antanas Vyšniauskas²

¹Vilniaus universitetas, M. K. Čiurlionio 21/27, LT-2009, Vilnius, tel. 85-2133925,

El. paštas: rasa.butautaite@gf.vu.lt,

²Lietuvos veterinarijos institutas, Helminologijos laboratorija, Mokslininkų 12, Vilnius, LT - 2600, tel. 729727

Santrauka. Straipsnyje pateikiami šunų dehelmintizavimui plačiai vartojamo antihelminčio preparato - nitroskanato - poveikio nematodų *Toxocara canis* audiniams tyrimo rezultatai. Eksperimentui naudota vienkartinė terapinė 50 mg/kg nitroskanato dozė. *T. canis* helmintai, išsiskybę iš šeimininko žarnyno, praėjus 4-10, 11-15, 27, 48 ir 51-53 valandoms po to, kai buvo sušerta antihelminčio preparato, ištirti histologiškai ir histochemiškai. Pirmame šio eksperimento etape (4-tą valandą) mūsų nustatyti *T. canis* žarnos epitelinių ląstelių struktūros pakitimai bei glikogeno kaupimą sumažėjimas, leidžia teigti, kad nitroskanatas į šių nematodų organizmą patenka pro burną ir yra absorbuojamas parazitų žarnoje. Vėlesniuose bandymo perioduose, kutikulės bei kitų odos-raumeninio maišo audinių išbrinkimas ir ląstelių vakuolizacija parodė, kad iš dalies šis antihelminčikas yra absorbuojamas ir pro *T. canis* kutikulę. Nitroskanato poveikyje visuose tirtuose *T. canis* audiniuose nustatėme riebalinę infiltraciją.

Raktažodžiai: *Toxocara canis*, nematodų histologija, glikogenas, neutralieji lipidai, nitroskanatas.

HISTOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL CHANGES OF *TOXOCARA CANIS* NEMATODE UNDER THE ACTION OF NITROSKANATE *IN VIVO*

Summary. The micromorphological and histochemical changes in the structures of *Toxocara canis* under the action of 50 mg/kg of nitroskanate *in vivo* were studied on the 4-10th, 11-15th, 27th, 48th and 51-53rd hours post treatment. Six naturally infected puppies were treated with nitroskanate and the eliminated parasitic nematodes were collected for histological and histochemical studies.

The results show that the anthelmintic applied cause serious changes in the structure of intestinal cells, cuticle, hypodermis, muscle cells and epithelial cells of sexual tubes of *T. canis*. The changes may be described as destructive, degenerative and necrotic processes. First of all (by the 4th hour) the *T. canis* enterocytes have changed. These cells looked swelled. The blending of fibers in the apical cytoplasm of enterocytes was determined during all periods of the investigation. The disruption of microvilli layer was noticed at the 27th hour and at the 48th hour the enterocytes were totally degenerated. The wrinkles of cuticle which were established 27 hour onset the treatment were distinct by the 51-53 hour of the experiment. The nuclei of hypodermis and its cords were vesicle-like. A huge vacuole showed in the central part of nucleus (Fig. 1). The fiber sheet was degenerated and cytoplasm contained small vacuoles. Hypodermis was completely disrupted by the 48th hour under the action of nitroskanate. Cytoplasmic part of muscle cells was seriously damaged yet by the 10th hour onset the treatment. A number of basophilic granules and vacuoles were observed, their nucleus "bag" was disrupted and nucleus looked swollen. Vacuolization of epithelial cells of sexual tubes has been established by the 4th hour of the experiment (Fig. 2). Although *T. canis* tissues were completely disrupted by the 48th hour under the nitroskanate action *in vivo* we have observed very little changes in the tissues of the worms which were found in the intestines of the experimental puppies by the 96th hour onset the treatment. Hence, only the enterocytes were slightly changed as compared with controls.

As it is seen from our data, nitroskanate affected metabolism of glycogen in *T. canis* tissues. First of all, the accumulation of glycogen lowered in *T. canis* enterocytes by the 4-10th hour (Fig. 3) while in hypodermis and muscle cells by the 27th hour. However, by the 48th hour onset the treatment a negative PAS reaction in all *T. canis* tissues was observed.

Neutral lipids in hypodermis, its cords and the epithelial tissue of *T. canis* intestine were distinct 4-10 hours onset the treatment (Fig. 4). Fat dystrophy was ascertained in the all tissues of *T. canis* under the action of nitroskanate.

Basing on our data we maintain that nitroskanate is absorbed in *T. canis* intestine and first of all causes degeneration of its cells microstructure also changes the glycogen accumulation and causes fat dystrophy in these cells. The distinct degenerative processes in *T. canis* body cover tissues let us presume that this anthelmintic penetrates the cuticle of this nematode too.

Keywords: *Toxocara canis*, histology of nematodes, glycogen, neutral lipids, nitroskanate.

Įvadas. Nematodai *Toxocara canis* yra pavojingi šunų žarnyno parazitai, kurie sukelia mėšėdžių gyvūnų ligą – toksokarozę. Šios ligos sukėlėjo invaziniai kiaušinėliai gali patekti ir į žmogaus organizmą, o iš jų išsiritusios lervos sukelia taip vadinamą *larva migrans* sindromą.

Ypač sunkiai serga vaikai. Šiuo požiūriu *T. canis* audinių mikroskopiniai tyrimai greta bendrabiologinės reikšmės yra svarbūs ir taikomoju aspektu, įvertinant vienų ar kitų nematocidinių preparatų veikimą į parazito organizmą bei atskirus jo audinius.

Daugelio Nematoda klasės Ascaridida būrio nematodų audiniai yra gana nuodugnai ištirti. Paminėtini fundamentalūs A. Bird ir J. Bird (Bird and Bird, 1991), J. Bogojavlensky (Богоявленский, 1973), K. Wright (Wright, 1987) ir kitų darbai, kuriuose pateikiami šio būrio nematodų audinių mikromorfologinių tyrimų rezultatai. Didžiausias dėmesys, tiriant nematodų mikrostruktūrą, buvo skiriamas *Ascaris*, *Parascaris*, *Nippostrongylus*, *Trichuris*, *Trichinella* ir kitų genčių atstovams. Tuo tarpu *Toxocara* genties nematodai buvo mažiau tyrinėti (Bruňanská 1993, 1994, 1997; Mackenstedt et al., 1993; Писарева, 1975; Рачковская, 1985). Taip pat literatūroje nėra duomenų apie nitroskanato poveikį *T. canis* audinių struktūroms, bei glikogeno – nematodų energijos šaltinio - ir neutraliųjų lipidų tarpų tyrimus *T. canis* audiniuose veikiant šiuo antihelmintiku.

Minėtų klausimų svarba paskatino mus imtis nitroskanato sukeltų pokyčių šių nematodų audiniuose dinamikos aiškinimo. Medžiaga šiems tyrimams buvo surinkta sudėtingų eksperimentų *in vivo* metu.

Darbo tikslas - atlikti *T. canis* kutikulės, hipodermos, raumeninių ląstelių ir žarnos bei lytinių latakų epitelinės dangos pokyčių dinamikos analizę nitroskanato poveikyje *in vivo*. Histocheminiais metodais ištirti glikogeno ir neutraliųjų lipidų kaupimą pokyčius *T. canis* audiniuose veikiant minėtu antihelmintiku. Remiantis *T. canis* audinių mikromorfologinių ir histocheminių tyrimų rezultatais, išaiškinti galimus mūsų naudoto antihelmintiko patekimo būdus į šių nematodų audinius.

Tyrimo objektas ir metodai. Mūsų tyrimams nematodai *T. canis* buvo gauti iš natūraliai užsikrėtusių vieno mėnesio amžiaus beveislių šuniukų. Šuniukus gavome iš Vilniaus benamių gyvūnų karantinavimo stoties. Eksperimentui buvo panaudoti septyni šuniukai. Nitroskanatu buvo dehelmintizuoti šeši šuniukai. Vienas šuniukas nebuvo dehelmintizuotas. Vienkartinė nitroskanato dozė - 50 mg/kg – buvo suduota kiekvienam šuniukui individualiai. Po antihelmintikų sudavimo, keturių parų laikotarpyje, be pertraukos, buvo renkami šuniukų išmatos. Iš jų buvo išrenkami visi nematodai *T. canis*. Pirmieji nematodai išsiskyrė 4-tą, paskutiniai – 53-čią valandą po dehelmintizavimo nitroskanatu. Per likusį stebėjimo laiką, kuris tęsėsi iki 96- tos valandos nuo antihelmintiko sudavimo, dehelmintizuotų šuniukų išmatose helmintų neberadome. Išsiskyrę su fekalijomis, gyvi (judantys arba stipriai susisukę) nematodai buvo tuojau pat nuplaunami fiziologiniu tirpalu ir fiksuojami histologiniams ir histocheminiams tyrimams. Kiekvieno eksperimento pabaigoje visi, dehelmintizuoti ir nedehelmintizuoti, šuniukai buvo numarinti, į raumenis suleidžiant ditilino (miorelaktanto), bei buvo skrodžiamas jų virškinimo traktas. Nematodai, surinkti iš nedehelmintizuotų šuniukų plonųjų žarnų, buvo panaudoti *T. canis* audinių kontroliniams histologiniams ir histocheminiams tyrimams.

Eksperimento pabaigoje išskrodę dehelmintizuotus šuniukus, jų plonosiose žarnose radome 7 gyvus *T. canis* nematodus. Iš viso buvo surinkti 345 *T. canis* egzemplioriai. *T. canis* audinių pokyčių dinamikai

nitroskanato poveikyje *in vivo* nustatyti histologiškai ir histochemiškai ištyrėme 150 nematodų, išsiskyrusių 4-10, 11-15, 27, 48 ir 51-53-čią valandą po šio preparato sudavimo. Taip pat ištyrėme skrodimo metu, 96-tą bandymo valandą, iš šuniukų žarnyno surinktus nematodus.

Fiksuoti formaline *T. canis* gabaliukai 24 valandas buvo plaunami tekančiu vandeniu, dehidratuojami didėjančios koncentracijos spiritu, skaidrinami ksilole ir užliejami parafinu naudojantis bendrai priimtomis histologinėmis metodikomis. Mikromorfologiniams *T. canis* audinių tyrimams 10 µm storio šių helmintų pjūviai buvo klijuojami ant objektinių stiklelių, deparafinuojami ir standartiškai dažomi hematoksilinu–eozinu (Kublickienė, 1978). Histologinių preparatų dažymui naudojome Erlichio hematoksiliną ir spirite tirpų eoziną.

Glikogeno sancaupoms *T. canis* audiniuose nustatyti šie nematodai buvo užfiksuoti Karnua mišiniu. Po 12 valandų fiksacijos, iš Karnua mišinio helmintai buvo perkelti į 70° spiritą. Vėliau *T. canis* gabaliukai buvo dehidratuojami didėjančios koncentracijos spiritu, skaidrinami ksilole ir užliejami parafinu, naudojantis bendrai priimtomis metodikomis [10]. 12 µm storio helmintų pjūviai buvo klijuojami ant objektinių stiklelių ir deparafinuojami. Glikogenui *T. canis* audiniuose išryškinti naudojome PAS (Šifo reagento ir perjodo rūgšties) reakciją pagal Šabadašą. PAS reakcijos kontrolei *T. canis* audiniuose buvo naudota seilių amilazė.

Neutraliesiems lipidams *T. canis* audiniuose išryškinti 10 % neutraliu formalinu fiksuoti *T. canis* gabaliukai 24 valandas buvo plaunami tekančiu vandeniu ir pjaustomi šaldomuoju mikrotomu. Audinių pjūviai buvo merkami į distiliuotą vandenį tiesiai ant objektinių stiklelių, džiovinami ir dažomi sudano III–IV mišiniu (Kublickienė, 1978).

Rezultatai. Pirmiausia mes ištyrėme *T. canis*, surinktų iš nedehelmintizuotų šuniukų, histologinę ir histocheminę struktūrą. *T. canis* audinių mikromorfologinių tyrimų rezultatai parodė, kad šiems helmintams yra būdinga bendra Ascaridida būrio nematodams audinių mikrostruktūra. Tačiau yra kai kurių skirtumų. Mūsų tyrimų duomenimis *T. canis* hipodermos šoniniai voleliai yra platūs, tuo jie skiriasi nuo *Toxascaris leonina* šoninių hipodermos volelių, kurie J. Bogojavlensky (Богоявленский, 1973) duomenimis yra siauri ir giliai įsiterpia į šių nematodų kūno ertmę. Mes, kaip ir M. Bruňanská (Bruňanská 1993, 1994, 1997), *T. canis* gimdoje nenustatėme raumeninio sluoksnio, tuo tarpu J. Bogojavlensky ir kt. (Богоявленский и др., 1975) duomenimis kitai *Toxocara* genties rūšiai - *Toxocara mystax* yra būdingas gimdos raumeninis sluoksnis.

Teigiamą PAS reakciją ir tankiai išsidėsčiusius glikogeno intarpus mes nustatėme *T. canis* hipodermoje, jos voleliuose, raumeninėse ląstelėse, žarnos ir lytinių latakų epitelinėje dangoje bei kiaušinėliuose. Šių, kaip ir kitų rūšių, nematodų kutikulėje glikogeno sancaupų nenustatėme. Palyginus mūsų gautus glikogeno išsidėstymo *T. canis* audiniuose tyrimų rezultatus su kitų autorių (Bruňanská, 1994; Lee, 1965) tyrimų duomenimis, matyti, kad glikogeno intarpų išsidėstymas

ir nusidažymo intensyvumas *T. canis* ir kitų rūšių nematodų, pavyzdžiui *Ascaris suum*, audiniuose yra panašus.

Tirdami neutralių lipidų išsidėstymą *T. canis* audiniuose, mes nustatėme, kad lipidų tarpų juose yra nedaug. Šių nematodų hipodermoje, raumeninėse, žarnos ir lytinių latakų epitelinėse ląstelėse neutralieji lipidai buvo išsidėstę difūziškai ir dažėsi silpnai. Tik oocituose ir kiaušinėliuose riebaliniai intarpai buvo gausūs ir dažėsi intensyviai. Kaip parodė mūsų tyrimų rezultatai, *T. canis* kutikulėje riebalinių tarpų nėra. Šie mūsų tyrimų rezultatai sutampa su duomenimis autorių (Богоявленский, 1973; Шульц и Гвоздев, 1972) tyrusių neutraliuosius lipidus kitų *Ascaridida* būrio atstovų audiniuose.

4-10-tą valandą po nitroskanato sudavimo šuniukams eliminuotų *T. canis* žarnos enterocitų citoplazmoje filamentai buvo susilieję ir sudarė ryškią eozinofiliską masę jų apikaliniame poliuje. Žarnos epitelinės dangos pamatinė membrana buvo ryškiai išbrinkusi. Enterocitų citoplazmoje buvo matyti gausios, bet smulkios vakuolės, išsidėsčiusios pamatiniame poliuje. Ląstelių sienelės buvo raukšlėtos, o branduoliai - piknoziški. Panašius žarnos epitelinės dangos pakitimus nustatėme ir vėlesniame tyrimo etape (11-15-tą valandą). 27-tą valandą *T. canis* enterocitų citoplazma hematoksilinu-eozinu dažėsi tamsiai, ji buvo smulkiai grūdėta. Vietomis ląstelių citoplazmoje buvo matyti platūs plyšiai. Enterocitų branduoliai buvo išbrinkę, o chromatinas išsidėstęs periferijoje. Tarp žarnos epitelinių ląstelių apikalinio poliaus ir jų mikrogaurelių sluoksnio buvo matyti ryški bazofiliską linija. Mikrogaurelių sluoksnis vietomis buvo suiręs. Žarnos spindyje buvo suirusių ląstelių fragmentų.

Kutikulės sluoksniai buvo išbrinkę 10-tą eksperimento valandą. Tarp jų bei tarp kutikulės ir hipodermos buvo matyti smulkių, ryškių pūslelių eilės. Hipodermos šoninių volelių pamatinės vakuolės buvo neryškios, o medialinių volelių pakraščiuose buvo matyti pavienės smulkios

vakuolės. Panašius pokyčius šiuose audiniuose nustatėme 11-15-tą eksperimento valandą. Ryškių hipodermos medialinių volelių išbrinkimą nustatėme 13-tą valandą. Jie buvo netaisyklingos formos, su gausiomis vakuolėmis.

27-tą eksperimento valandą *T. canis* kutikulėje buvo matyti gilios raukšlės, dažniausiai išsidėsčiusios ties hipodermos šoniniais voleliais. Hipodermos bei jos šoninių volelių branduoliai buvo pūslelės formos. Chromatinas buvo išsidėstęs jų periferijoje, o centrinę branduolio dalį užėmė stambi vakuolė. Šoninių volelių tinkliška struktūra buvo suirusi, o volelių citoplazmoje buvo gausu smulkių vakuolių (1 pav.).

Raumeninių ląstelių citoplazmoje 10-tą eksperimento valandą buvo matyti tankiai išsidėsčiusios netaisyklingos formos, stambios vakuolės. Tarpląstelinuose tarpuose aiškiai buvo matyti susikaupęs eozinofiliskas eksudatas. 27-tą tyrimo valandą raumeninių ląstelių branduoliai buvo pūslelės pavidalo, o chromatinas buvo išsidėstęs jų periferijoje.

Kiaušintakių distalinės dalies kubinio epitelio ląstelėse 4-10-tą eksperimento valandą buvo matyti ryškios stambios vakuolės, išsidėsčiusios apie ląstelių branduolius (2 pav.).

48-tą, 51-53-čią tyrimo valandą visuose mūsų tirtuose šių nematodų audiniuose dominavo degeneraciniai procesai, pasireiškė intensyvi struktūrų bazofilija.

Skrodžiant eksperimentinius šuniukus 96-tą valandą po antihelmintiko sudavimo, paaiškėjo, kad dalis nematodų liko jų plonosiose žarnose ir buvo gyvi. Šių toksokarų audiniai buvo nežymiai pakitę, lyginant su kontrole. Tik enterocitų citoplazmos apikaliniame poliuje filamentai buvo susilieję ir sudarė ryškią, gana plačią juostą, o enterocitų sienelės buvo raukšlėtos.

Glikogeno tarpų pokyčių dinamika *T. canis* audiniuose pateikta 1 lentelėje. Neutralių lipidų išsidėstymo audiniuose pokyčių dinamika pateikta 2 lentelėje.

1 lentelė. Glikogeno tarpų pokyčiai *T. canis* audiniuose nitroskanato poveikyje *in vivo*

<i>T. canis</i> audiniai	Kontrolė	Po nitroskanato sudavimo					
		4-10 valandą	11-15 valandą	27 valandą	48 valandą	51-53 valandą	96 valandą
Hipoderma	teigiama PAS reakcija	kaip kontrolėje	kaip kontrolėje	neigiama PAS reakcija hipodermoje; voleliuose - glikogeno pėdsakai	neigiama PAS reakcija	neigiama PAS reakcija	kaip kontrolėje
Raumenys	teigiama PAS reakcija	kaip kontrolėje	kaip kontrolėje	reti, pavieniai glikogeno dribsniai	neigiama PAS reakcija	neigiama PAS reakcija	kaip kontrolėje
Žarnos epitelis	teigiama PAS reakcija	apikaliniame poliuje neigiama PAS reakcija (3 pav.)	silpnai teigiama PAS reakcija centrinėje ląstelės citoplazmoje	glikogeno pėdsakai virš branduolių	neigiama PAS reakcija	neigiama PAS reakcija	reti glikogeno intarpai virš branduo- lių
Lytiniai lataakai	teigiama PAS reakcija	kaip kontrolėje	kaip kontrolėje	kaip kontrolėje	neigiama PAS reakcija epitelyje; teigiama - oocituose ir kiaušinėliuose	neigiama PAS reakcija epitelyje; teigiama - oocituose ir kiaušinėliuose	kaip kontrolėje

2 lentelė. Neutraliųjų lipidų pokyčiai *T. canis* audiniuose nitroskanato poveikyje *in vivo*

<i>T. canis</i> audiniai	Kontrolė	Po nitroskanato sušėrimo					
		4-10 valandą	11-15 valandą	27 valandą	48 valandą	51-53 valandą	96 valandą
Hipoderma	riebaliniai intarpai smulkiais lašeliais išsidėstę difuziškai	stambūs riebaliniai lašeliai	stambūs riebaliniai lašeliai	stambūs riebaliniai lašeliai	stambūs riebaliniai lašeliai	stambūs riebaliniai lašeliai	kaip kontrolėje
Raumenys	riebaliniai intarpai smulkiais lašeliais išsidėstę difuziškai	kaip kontrolėje	stambūs riebaliniai lašeliai	stambūs riebaliniai lašeliai	stambūs riebaliniai lašeliai	stambūs riebaliniai lašeliai	kaip kontrolėje
Žarnos epitelis	riebaliniai intarpai smulkiais lašeliais išsidėstę difuziškai	įvairios formos riebaliniai lašeliai apie branduolius ir tarpląstelinuose tarpuose (4 pav.)	visa citoplazma užpildyta stambiais riebaliniais lašeliais	riebalinė distrofija	riebalinė distrofija	riebalinė distrofija	riebalinė infiltracija aplink branduolius
Lytiniai latakai	epitelyje riebaliniai intarpai smulkiais lašeliais išsidėstę difuziškai; kiaušinėliuose - itin tankiai	kaip kontrolėje	kaip kontrolėje	kaip kontrolėje	kaip kontrolėje	kaip kontrolėje	kaip kontrolėje

Rezultatų apibendrinimas. Nitroskanatas yra plataus veikimo spektro antihelminitikas, kuris naudojamas tik šunų helmintozių gydymui. Lyginant jį su kitais antihelminতিকais, jo poveikis yra išskirtinis, kadangi tai vienintelis monopreparatas, kuris yra efektyvus prieš nematodus *T. canis*, *Toxascaris leonina*, *Ancylostoma caninum* ir *Echinococcus granulosus* (Boray et al., 1979; Craig et al., 1991; Dorchie et al., 1981; Richards and Sommerville, 1980). Šio antihelminτικο tyrimai yra siejami su jo efektyvumu vienos ar kitos parazitozės atveju. Tačiau literatūroje nėra duomenų apie *T. canis* audinių mikrostruktūrą bei angliavandenių ir neutraliųjų lipidų apykaitos pokyčius nitroskanato poveikyje *in vivo* ar *in vitro* tyrimuose.

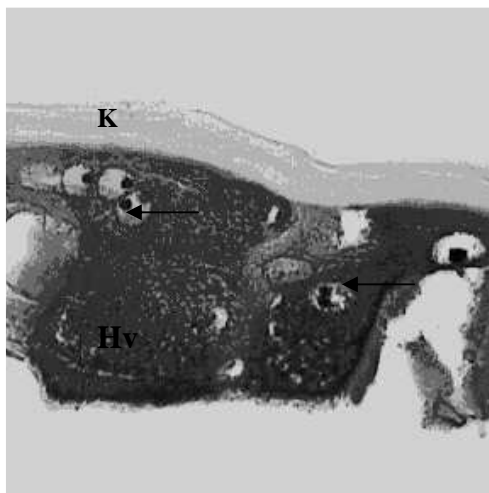
Mes *T. canis* odos-raumeninio maišo ir enterocitų pažeidimus nustatėme jau pirmomis (4-10-tą) eksperimento valandomis. Šie pažeidimai pasireiškė enterocitų citoplazmos vakuolizacija, jų branduolių piknoze bei epitelinio sluoksnio pamatinės membranos pabrinkimu. Odos-raumeninio maišo audiniai taip pat buvo pabrinkę, juose atsirado gausios vakuolės. Vėlesniuose tyrimo etapuose šie pokyčiai taip pat buvo ryškūs, o 51-53-čią tyrimo valandą eliminuotuose *T. canis* dominavo audinių suirimas ir jų degeneracija.

Remiantis negausiais literatūriniais duomenimis apie nitroskanato poveikį į parazitinių kirmėlių organizmą, galima manyti, kad *T. canis* eliminacija, 4-tą valandą po nitroskanato sudavimo šuniukams, galėjo sukelti energetinių išteklių mažėjimas šių nematodų audiniuose, susijęs su ATP sintezės inhibicija antihelminτικο poveikyje. Nes kaip nurodo W. Campbel su R. Rew (Campbel and Rew, 1986), nitroskanatas *Litomosoides carinii* ir *Brugia pahangi* nematodų audiniuose inhibuoja ATP sintezę bei šio antihelminτικο poveikyje juose sutrinka gliukozės įsisavinimas iš terpės ir jos skaidymas. Atsižvelgdami į tai, manome, kad energijos apykaitos pokyčiai audiniuose ir susilpnino *T. canis* pasipriešinimą šeimininko žarnų peristaltikai.

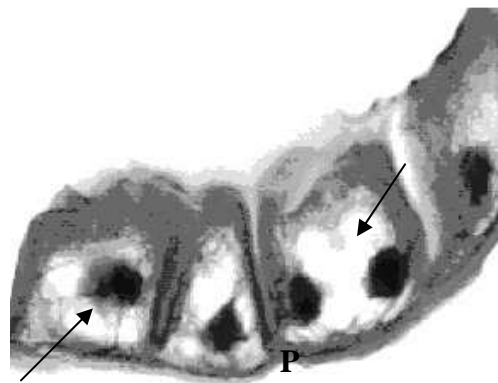
Nors pirmame tyrimo etape (4-10-tą valandą) glikogeno sandaupos išnykimą nustatėme tik *T. canis* enterocitų apikaliniuose poliuose, 27-tą bandymo valandą neigiama PAS reakcija buvo ne tik žarnos epitelinėse ląstelėse, bet ir hipodermoje. *T. canis* odos-raumeninio maišo audiniuose, žarnos ir lytinių latakų epitelinėse ląstelėse glikogeno sandaupos buvo visiškai išnykusios 48-tą valandą po nitroskanato sudavimo eksperimentiniams šuniukams. Vadinasi, *T. canis*, kaip ir *L. carinii* bei *B. pahangi* audiniuose buvo inhibuotas gliukozės paėmimas iš terpės ir sustabdyta tolesnė jos apykaita. Todėl energetinėms organizmo reikmėms buvo naudojamas kirmėlių audiniuose sukauptas glikogenas.

Kaip yra žinoma (Barrett, 1983; Шульц и Гвоздев, 1972), parazitinių kirmėlių, gyvenančių anaerobinėse sąlygose, audiniuose neutralieji lipidai susidaro intensyvios glikolizės pasekoje. Mūsų eksperimente gauti rezultatai parodė, kad *T. canis* odos-raumeniniame maiše bei enterocituose, sunykus glikogeno sandaupoms (neigiama PAS reakcija 48-tą eksperimento valandą) atsirado gausūs neutraliųjų lipidų intarpai. Lytinių latakų epitelijoje glikogeno sandaupos taip pat išnyko, tačiau riebalinių intarpų reakcija šiose ląstelėse buvo panaši kaip kontrolėje.

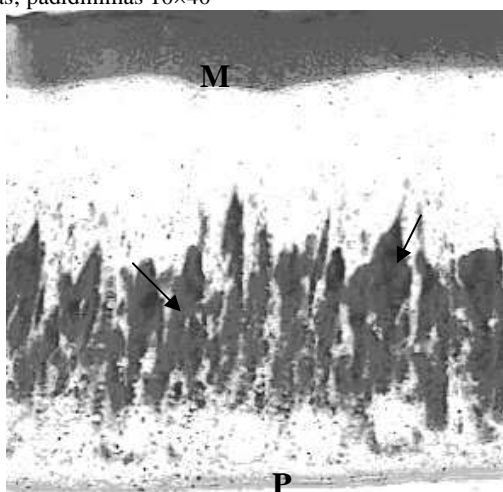
96-tą eksperimento valandą surinktų *T. canis* audinių mikromorfologinė ir histocheminė analizė parodė neryškius pakitimus jų enterocituose. Šiose ląstelėse sumažėjo glikogeno bei pagausėjo neutraliųjų lipidų, lyginant su kontrole. Glikogeno intarpai juose buvo reti, o riebalų lašeliai – gausūs ir išsidėstę panašiai kaip pirmame eksperimento etape eliminuotų *T. canis* enterocituose. Tai rodo, kad enterocituose energijos apykaita taip pat buvo sutrikusi. Remdamiesi šiais rezultatais, galime teigti, kad nematodai, išlikę šuniukų plonosiose žarnose iki 96-tos eksperimento valandos, taip pat buvo paveikti nitroskanato, nors poveikis buvo silpnas. Šis antihelminतिकas nesukėlė ryškesnių pokyčių jų audiniuose ir todėl šie nematodai ilgai išliko gyvi šeimininko žarnose.



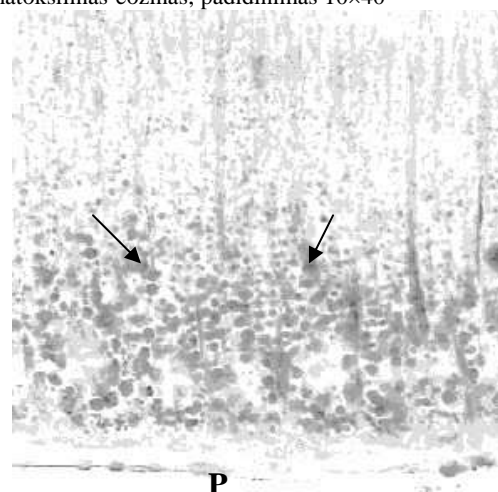
1 pav. *T. canis* šoninis hipodermos volelis 27-tą valandą po nitroskanato sudavimo: K – kutikulė, Hv – hipodermos šoninis volelis, rodyklės – volelio branduoliai. Hematoksilinas-eozinas; padidinimas 10×40



2 pav. *T. canis* kiaušintakių epitelis 4-tą valandą po nitroskanato sudavimo: P – pamatinė membrana, rodyklės – vakuolės kubiškose kiaušintakio epitelinėse ląstelėse. Hematoksilinas-eozinas; padidinimas 10×40



3 pav. Teigiama PAS reakcija *T. canis* žarnoje 4-10-tą valandą po nitroskanato sudavimo: M - mikrogaurėlių sluoksnis, P - pamatinė membrana, rodyklės ryškūs glikogeno intarpai apie ląstelių branduolius. PAS reakcija; padidinimas 10×40



4 pav. Riebalinė distrofija *T. canis* žarnoje 4-10-tą valandą po nitroskanato sudavimo: P - pamatinė membrana, rodyklės - neutraliųjų lipidų lašeliai enterocitų citoplazmoje. Sudanas III-IV; padidinimas 10×40

Ši reiškinį galima paaiškinti remiantis literatūriniais duomenimis apie tai, kad nitroskanatas nėra absorbuojamas šeimininko žarnoje (Campbel and Rew, 1986) ir jo metabolitai nėra išskiriami atgal į šeimininko virškinimo traktą, kaip tai būna naudojant probenzimidazolių (Mehlhorn et al., 1997). Kaip nurodo W. Campbel ir R. Rew (Campbel and Rew, 1986), nitroskanatas sąlyginai greitai pasišalina iš žarnyno su fekalijomis, todėl nevisiems nematodams tenka pakankamai koncentruota jo dozė.

Išvados. 1. Pirmame šio eksperimento etape (4-tą valandą) *T. canis* žarnos epitelinių ląstelių struktūros pakitimai bei glikogeno sankaupų sumažėjimas, leidžia teigti, kad nitroskanatas į šių nematodų organizmą patenka pro burną ir pirmiausia pažeidžia žarnos epitelinę dangą.

2. Vėlesniuose bandymo perioduose (11-27 valandą), kutikulės bei kitų odos-raumeninio maišo audinių išbrinkimas ir ryški ląstelių vakuolizacija parodė, kad iš

dalies šis antihelminitikas prasiskverbia ir pro *T. canis* kutikulę.

Literatūra

1. Barrett J. Lipid metabolism//Biology of eucestoda. 1983. N. 2. P. 391-419
2. Bird A. F. and Bird J. The structure of Nematodes. 2nd Ed. Academic Press, New York. 1991. 553
3. Boray J. C., Strong M. B., Allison J. R., Orreli M., Sarasin G. und Gfeller W. Nitroskanate, a new broad spectrum anthelmintic against nematodes and cestods of dogs and cats//Aust. Vet. J. 1979. N. 55, P. 45-53
4. Bruňanská M. 1997. *Toxocara canis* (Nematoda: Ascarididae): the fine structure of the oviduct, oviduct-uterine junction and uterus//Folia Parasitologica. 1997. N. 44. P. 55 - 61
5. Bruňanská M. *Toxocara canis* (Nematoda, Ascarididae): the fine structure of the oogonia and oocytes//Helminthologia. 1993. N. 30. P. 9-13
6. Bruňanská M. *Toxocara canis* (Nematoda, Ascarididae): ultrastructure of the rachis and the ovarian wall//Folia Parasitologica. 1994. N. 41. P. 149 - 153
7. Campbel W.C. and Rew R.S. (Ed) Chemoterapy of Parasitic diseases//Plenum Press. New York and London. 1986. P. 239-655

8. Craig T. M., Mercer S. H., Wade C. G. and Lynn R. C. Efficacy of nitroscanate against naturally acquired infection with *Ancylostoma caninum*, *Dipylidium caninum* and *Trichuris vulpis* in dogs//Am. J. Vet. Res. 1991. N. 52. P. 574-575
9. Dorchies P., Rol R., Franc M and Ducos de Lahitte M. Essais de traitement des helminthoses digestives du chien par un anthelminthique polyvalent: le nitroscanate//Rev. med. Vet. 1981. N. 132. P. 681-686
10. Kublickienė O. Histologinė technika ir praktinė histochemija. Vilnius: Mokslas, 1978. 139 p.
11. Lee D. The physiology of nematodes. Edinburgh - London, Oliver Boyd, 1965. 154 p.
12. Mackenstedt U., Smidt S., Mehlhorn H., Stoye M., Traeder W. Effects of pyrantel pamoate on adult and preadult *Toxocara canis* worms: an microscope and autoradiography study//Parasitology Research. 1993. N. 79. P. 567-578
13. Mehlhorn H., Harder A. Effects of the synergistic action of febantel and pyrantel on the nematode *Heterachis spumosa*: a light and transmission electron microscopy study//Parasitol. Res., 1997. N. 83. P. 419 - 434
14. Richards R. J. and Sommerville J. M. Field trials with nitroscanate against cestodes and nematodes in dogs//1980. N. 106. P. 332-335
15. Wright K. A. The nematode's cuticle – its surface and the epidermis: function, homology, analogy – a current consensus//Journal of Parasitology. 1987. N. 73. P. 1077-1083
16. Богоявленский Ю.К. Структура и функции покровных тканей паразитических нематод. Москва, Наука, 1973. с. 205
17. Богоявленский Ю.К., Онушко Н.В., Писарева Т.А. Микроморфология воспроизводительной системы самок нематод *Toxocara mystax* (Zeder, 1800, Stiles, 1907). В кн.: Актуальные вопросы современной паразитологии//Труды 1-го Моск. Мед. Ин-та, 1975. No. 84. с. 42-45
18. Писарева Т.А. Микроморфологическое и гистохимическое исследование тканей нематоды *Toxocara mystax* (Zeder, 1800; Stiles, 1907) в норме и при воздействии некоторых антигельминтиков. Автореф. канд. дисс. Баку. 1975
19. Рачковская И.В. Тонкая структура нематод и тканей хозяина при воздействии антигельминтиков. Автореф. докт. дисс. Москва. 1985.
20. Шульц Р.С., Гвоздев Е.В. Основы общей гельминтологии. Москва, 1972. Т. II. с. 775

2002 05 27