



УДК: 599.323.4 : 618.2] : 616.993.192.1-092

ВОЗДЕЙСТВИЕ *TOXOPLASMA GONDII* НА РЕПРОДУКТИВНУЮ СПОСОБНОСТЬ САМОК КРЫС В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ДОЗЫ СРОКА РАЗВИТИЯ ТОКСОПЛАЗМ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Косова Марина Сергеевна, Пашинская Екатерина Сергеевна, Семенов Валерий Михайлович
Центр молекулярно-генетических и биотехнологических исследований Учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Витебск, Республика Беларусь

ТАЖРИБАДА ТОКСОПЛАЗМАЛАР РИВОЖЛАНИШ ВАҚТИ ДОЗАСИГА БОҒЛИК РАВИШДА ЎРҒОЧИ КАЛАМУШЛАР РЕПРДУКТИВ ҚОБИЛИЯТИГА *TOXOPLASMA GONDII*НИНГ ТАЪСИРИ

Косова Марина Сергеевна, Пашинская Екатерина Сергеевна, Семенов Валерий Михайлович
Молекуляр – генетик ва биотехнологик текшириш маркази таълим ташкилоти “Халқлар дўстлиги ордени Витебск давлат тиббиёт университети”, Витебск, Беларус Республикаси

EFFECTS OF *TOXOPLASMA GONDII* ON THE REPRODUCTIVE CAPACITY OF FEMALE RATS IN A DOSE-DEPENDENT DEVELOPMENTAL TERM *TOXOPLASMA* IN EXPERIMENT

Kosova Marina Sergeevna, Pashinskaja Ekaterina Sergeevna, Semenov Valerij Mihajlovich
Center for Molecular Genetic and Biotechnological Research of the Educational Establishment "Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University", Vitebsk, Republic of Belarus

e-mail: admin@vsmu.by

Резюме. Тажриба вазни 180-200 г бўлган 90 та урғочи Wistar каламушларда ўтказилди. Урғочи каламушлар ҳар бири 10 тадан ҳайвонлардан иборат 9 та гуруҳга бўлинган ва эркалар билан даволашган. Ҳомиладорликнинг ривожланишидан сўнг, бузилмаган гуруҳларнинг урғочи каламушларга оғиз орқали 2 мл 2% крахмал жели юборилди ва экспериментал гуруҳларнинг урғочилари 1 г танга 25 тахизоит дозасида *T. gondii* инвазив култураси билан касалланган. Вазни (ҳар бир каламушга 5000 тахизоит) ва 1 г тана вазнига 50 тахизоит (ҳар бир каламушга 10000 тахизоит). Токсоплазманинг урғочи каламушларнинг репродуктив қобилиятига таъсири ҳомиладорлик бошланганидан кейин 7, 14 ва 21-кунларда аниқланган. Тадқиқот натижаларига кўра, бузилмаган ва экспериментал гуруҳларнинг кўрсаткичларини солиштирганда, имплантациядан олдинги ўлим аниқланмаган. Шу билан бирга, худди шу гуруҳларнинг натижаларини солиштирганда, биз эмбрионларнинг имплантациядан кейинги ўлимни кўпайтиришни қайд этдик, бу тажриба давомида олинган ишончли маълумотлар билан тасдиқланади.

Калим сўзлар: каламушлар, *Toxoplasma gondii*, репродуктив қобилият, имплантациядан олдинги ва кейинги ўлим.

Abstract. The experiment was performed on 90 female Wistar rats weighing 180-200 g. Female rats were divided into 9 groups of 10 animals in each group and were incidental to males. After development of pregnancy, females of intact groups were orally injected with 2 ml of 2% starch gel, and females of experimental groups were infected with invasive *T. gondii* culture at a dose of 25 tachyzoites per 1 g body weight (5000 tachyzoites per rat) and 50 tachyzoites per 1 g body weight (10000 tachyzoites per rat). The effects of toxoplasmas on the reproductive capacity of female rats were determined on the 7th, 14th and 21st days after the onset of pregnancy. The results of the study showed that no pre-implantation deaths were detected when comparing the parameters of the intact and experimental groups. At the same time, when comparing the results of the same groups, we recorded an increase in post-implantation embryo mortality, which is confirmed by reliable data obtained during the experiment.

Keywords: rats, *Toxoplasma gondii*, reproductive capacity, preimplantation and postimplantation death.

Актуальность исследования. Токсоплазмоз – это заболевание паразитарной природы. Впервые *Toxoplasma gondii* была описана французами К. Николь и Л. Монсо в 1908 году. В свою очередь, в 1939 году американцы Э. Вольф, Д. Кауэн и Б. Пэйдж подтвердили трансплацентарный механизм передачи возбудителя.

Врожденный токсоплазмоз – заболевание в педиатрии и неонатологии, возникающее в результате трансплацентарного заражения плода на фоне острого токсоплазмоза у матери [1, 2, 3].

Известно, что даже на фоне лечения средний показатель смертности у детей до 5 лет может составлять до 12%, а осложнения возникают почти у 90% детей. Показано, что частота врожденной формы составляет 1,5:1000 новорожденных.

При заражении во время беременности может происходить внутриутробное инфицирование плода с самопроизвольным прерыванием беременности, мертворождением или формированием эмбрио- и фетопатий [4, 5, 6, 7].

Цель исследования – оценить воздействие *Toxoplasma gondii* на репродуктивную способ-

ность самок крыс в зависимости от дозы и срока развития токсоплазм в эксперименте.

Материалы и методы исследования. Данный эксперимент проводили на 90 самках крыс линии *Wistar* массой тела 180-200 г. Животных разделяли на 9 групп по 10 голов в каждой и случали с самцами в соотношении 2 самки – 1 самец в течение 3-х суток. Развитие беременности у самок определяли по гиперемии наружных половых органов и наличию сперматозоидов в мазке из влагалища.

После наступления беременности самкам интактных групп (1-я, 2-я, 3-я группы) перорально вводили 2 мл 2% крахмального геля. Животных экспериментальных групп (4-я, 5-я, 6-я группы) заражали инвазионной культурой *T. gondii* в дозе 25 тахизоитов на 1 г массы тела (5000 тахизоитов на крысу), а 7-ой, 8-ой, 9-ой групп – в дозе 50 тахизоитов на 1 г массы тела (10000 тахизоитов на крысу). Для заражения использовали культуру токсоплазм по разработанному нами способу [8, 9].

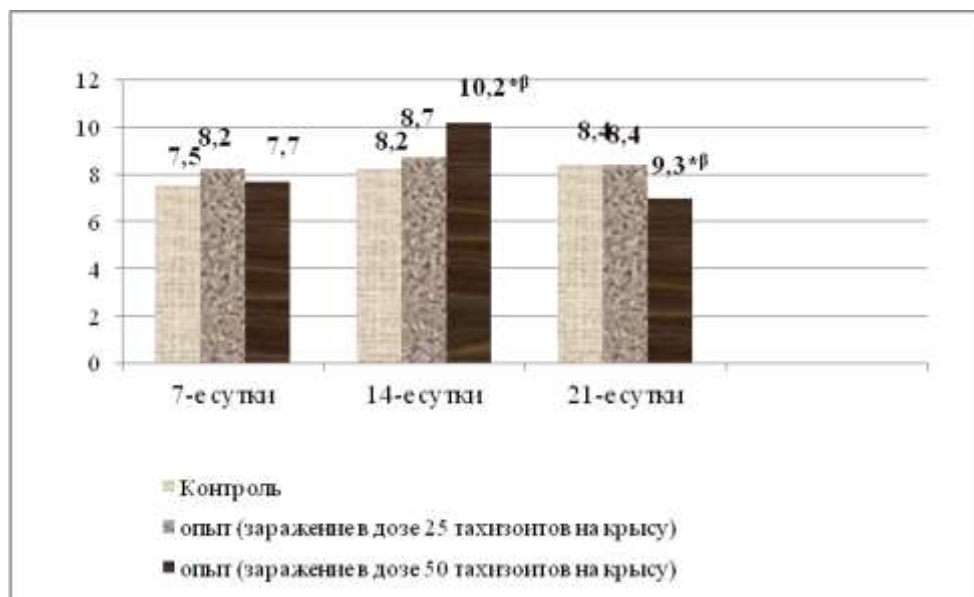
Далее проводили выведение самок из эксперимента путем дислокации шейных позвонков на 7-е (1-я, 4-я, 7-я группы), 14-е (2-я, 5-я, 8-я группы) и 21-е (3-я, 6-я, 9-я группы) сутки после наступления беременности в соответствии с мерами по реализации требований биомедицинской этики [9]. После вскрытия у самок крыс выделяли матки и яичники для оценки воздействия токсоплазм на репродуктивную способность крыс. В матках вскрывали рога и определяли количество мест имплантаций в матке, общее количество эм-

брионов, количество живых и мертвых эмбрионов и уровень резорбций, а в яичниках – количество желтых тел.

За единицу наблюдения принимали данные помета от одной самки. Расчет предимплантационной гибели проводили с учетом разницы между количеством желтых тел в яичниках и числом мест имплантаций в матке, а разница между количеством мест имплантаций в матке и количеством живых эмбрионов служила показателем постимплантационной смертности.

Сравнительный анализ полученных данных проводили между интактными и экспериментальными группами, а также внутри опытных выборок самок крыс в зависимости от дозы заражения и срока развития паразита. Статистическую обработку осуществляли по критерию Манна–Уитни, Краскела–Уоллиса, Вилкоксона и считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Анализ данных проводили с помощью программы Statistica 10.

Результаты исследования. По результатам исследования в контрольных группах (1-я, 2-я, 3-я группы) получено, что количество желтых тел в яичниках, количество мест имплантаций в матке и общее количество эмбрионов к 7-м суткам после наступления беременности зафиксировано на уровне 7,5 (95% ДИ: 6,2-8,7), к 14-м суткам – 8,2 (95% ДИ: 6,9-9,4), к 21-м суткам – 8,4 (95% ДИ: 7,3-9,4). Количество живых эмбрионов составило на 7-е сутки – 7,4 (95% ДИ: 6,1-8,6), на 14-е сутки 8,0 (95% ДИ: 6,6-9,3), на 21-е сутки – 8,2 (95% ДИ: 7,0-9,3).



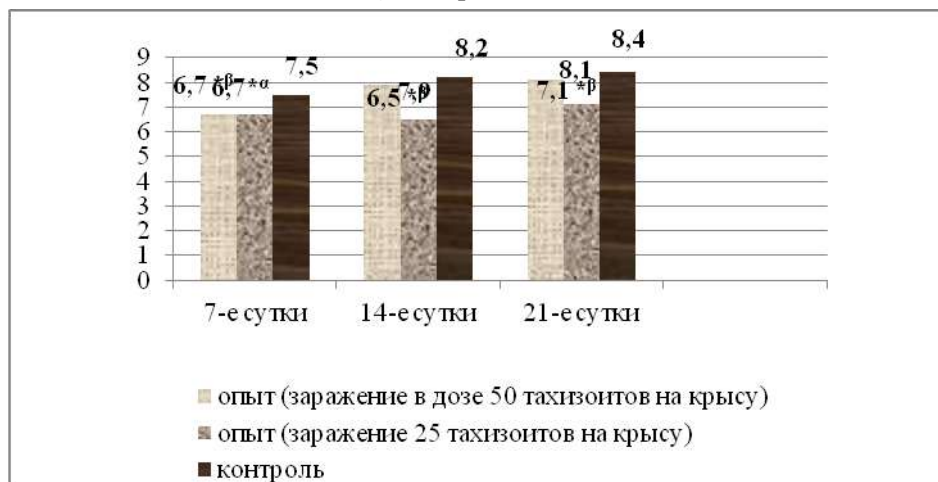
Примечание: * – достоверное отличие от данных контроля (при $p < 0,05$), α – достоверное отличие от данных самок крыс зараженными *T. gondii* в дозе 25 тахизоитов на крысу (при $p < 0,05$), β – достоверное отличие от данных самок крыс зараженными *T. gondii* в дозе 50 тахизоитов на крысу (при $p < 0,05$).

Рис. 1. Количество желтых тел в яичниках самок крыс на различных сроках беременности при инвазии *T. gondii* разными дозами



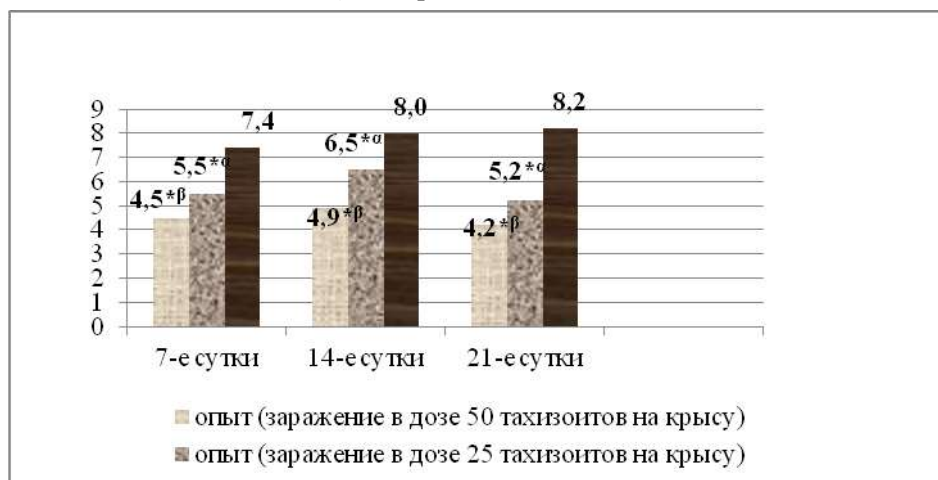
Примечание: * – достоверное отличие от данных контроля (при $p < 0,05$), α – достоверное отличие от данных самок крыс зараженными *T. gondii* в дозе 25 тахизоитов на крысу (при $p < 0,05$), β – достоверное отличие от данных самок крыс зараженными *T. gondii* в дозе 50 тахизоитов на крысу (при $p < 0,05$).

Рис. 2. Количество мест имплантаций в матке самок крыс на различных сроках беременности при инвазии *T. gondii* разными дозами



Примечание: * – достоверное отличие от данных контроля (при $p < 0,05$), α – достоверное отличие от данных самок крыс зараженными *T. gondii* в дозе 25 тахизоитов на крысу (при $p < 0,05$), β – достоверное отличие от данных самок крыс зараженными *T. gondii* в дозе 50 тахизоитов на крысу (при $p < 0,05$).

Рис. 3. – Общее количество эмбрионов самок крыс на различных сроках беременности при инвазии *T. gondii* разными дозами



Примечание: * – достоверное отличие от данных контроля (при $p < 0,05$), α – достоверное отличие от данных самок крыс зараженными *T. gondii* в дозе 25 тахизоитов на крысу (при $p < 0,05$), β – достоверное отличие от данных самок крыс зараженными *T. gondii* в дозе 50 тахизоитов на крысу (при $p < 0,05$).

Рис. 4. Количество живых эмбрионов самок крыс на различных сроках беременности при инвазии *T. gondii* разными дозами



Примечание: * – достоверное отличие от данных контроля (при $p < 0,05$), α – достоверное отличие от данных самок крыс зараженными *T. gondii* в дозе 25 тахизоитов на крысу (при $p < 0,05$), β – достоверное отличие от данных самок крыс зараженными *T. gondii* в дозе 50 тахизоитов на крысу (при $p < 0,05$).

Рис. 5. Количество мертвых эмбрионов самок крыс на различных сроках беременности при инвазии *T. gondii* разными дозами



Примечание: * – достоверное отличие от данных контроля (при $p < 0,05$), α – достоверное отличие от данных самок крыс зараженными *T. gondii* в дозе 25 тахизоитов на крысу (при $p < 0,05$), β – достоверное отличие от данных самок крыс зараженными *T. gondii* в дозе 50 тахизоитов на крысу (при $p < 0,05$).

Рис. 6. Уровень резорбций самок крыс на различных сроках беременности при инвазии *T. gondii* разными дозами

Мертвых эмбрионов в данных группах на всех сроках развития беременности не обнаружено. Выявлено, что у интактных животных количество резорбций на 7-е сутки беременности составило 1,0 (95% ДИ: 0,1-0,3), а на 14-е и 21-е сутки таковые вовсе отсутствовали. Исходя, из полученных результатов в интактных группах предимплантационной и постимплантационной гибели эмбрионов не наблюдалось.

Во всех опытных группах самок крыс на 7-е, 14-е и 21-е сутки после наступления беременности были зафиксированы следующие показатели количества желтых тел в яичниках, количества мест имплантаций в матке, общего количества эмбрионов, числа живых и мертвых эмбрионов и уровня резорбций (рисунок 1, 2, 3, 4, 5, 6).

При сравнении полученных результатов самок крыс 4-ой, 5-ой, 6-ой групп (инвазия *T. gondii*

в дозе 25 тахизоитов на животное) с показателями интактных групп показало достоверные отличия в сторону снижения количества живых эмбрионов к 7-м суткам после наступления беременности 1,34 раза ($p < 0,04$), к 14-м и 21-м суткам – в 1,2 и 15 раза ($p < 0,05$).

В данных группах зафиксирован рост количества мертвых эмбрионов на 14-е и 21-е сутки после наступления беременности в 1,2 и 6,0 раза в отличие от контрольных показателей.

Анализ уровня резорбций у животных, зараженных токсоплазмами в дозе 5000 тахизоитов, показал достоверные отличия в сторону увеличения от групп контроля на 7-е сутки после развития беременности в 2,7 раза ($p < 0,03$), на 14-е сутки в 1,1 раза ($p < 0,01$) и на 21-е сутки в 3,3 раза ($p < 0,008$).

Внутригрупповое сравнение данного показателя в зависимости от срока развития беременности у самок 4-ой, 5-ой и 6-ой групп выявило, что количество резорбций на 14-е сутки после наступления беременности было ниже, чем на 7-е сутки в 2,4 раза ($p < 0,02$), на 21-е сутки превышало данные, полученные на 7-е сутки в 1,2 раза ($p < 0,04$) и на 14-е сутки – в 3 раза ($p < 0,004$).

Расчёт показателей предимплантационной гибели (разность между количеством желтых тел в яичниках и количеством мест имплантаций в матке) достоверных отличий между интактными группами и животными, зараженными в дозе 5000 тахизоитов – 4-я, 5-я, 6-я группы, не выявил.

Сравнение результатов самок крыс 7-ой, 8-ой, 9-ой групп (инвазия *T. gondii* в дозе 50 тахизоитов на животное) с контролем показало достоверные отличия в сторону снижения количества живых эмбрионов на всех сроках развития беременности 1,6 и 1,9 раза ($p < 0,003$), а с показателями 4-ой, 5-ой и 6-ой групп – в 1,2 и 1,3 раза ($p < 0,002$).

В тоже время в данных группах (заражение в дозе 10000 тахизоитов) показатели количества мертвых эмбрионов превышали результаты контрольных групп к 14-м и 21-м суткам после развития беременности в 2,4 и 7,7 раза ($p < 0,05$). Анализ данных в сравнении с животными 4-ой, 5-ой и 6-ой групп выявил увеличение числа мертвых эмбрионов в 1,3 и 2,4 раза ($p < 0,04$).

У самок 7-ой, 8-ой, 9-ой групп на 7-е сутки после заражения уровень резорбций достоверно превышал показатели контроля в 3,3 раза ($p < 0,004$), а на 14-е и 21-е сутки был выше контрольных данных в 1,7 и 2,3 раза ($p < 0,05$).

Выявлено, что число резорбций у экспериментальных самок, инвазированных в дозе 10000 тахизоитов токсоплазм превышало этот же показатель животных, зараженных в дозе 5000 тахизоитов к 7-м суткам после наступления беременности в 1,2 раза ($p < 0,05$), к 14-м суткам – в 1,5 раза ($p < 0,04$), к 21-м суткам – в 1,4 раза ($p < 0,003$).

Сравнение предимплантационной смертности между 7-ой 9-ой группами, контролем (1-я, 2-я, 3-я группы) и животными, зараженными после наступления беременности в дозе 5000 тахизоитов – 4-я, 5-я, 6-я группы, достоверных отличий не выявило.

Постимплантационная гибель достоверно превышала контрольные показатели в 3,9 раза и данные животных 4-ой, 5-ой, 6-ой групп (инвазия 5000 тахизоитов) в 4,2 раза ($p < 0,003$).

Исходя, из этого можно говорить, что *T. gondii* влияет на изменение репродуктивной способности у самок крыс, о чем свидетельствует рост уровня постимплантационной гибели (разность между количеством мест имплантаций в матке и числом живых эмбрионов).

Обсуждение. Известно, что внутриутробное инфицирование плода может сопровождаться широким спектром антенатальных патологий, таких как инфекционное заболевание плода, задержка внутриутробного роста, аномалии развития, преждевременные роды и мертворождение [11, 12]. Одновременно с острой формой заболевания у плода возможно формирование латентной или медленно текущей хронической стадии инфекционного процесса [11, 12].

Показано, что степень влияния инфекционных факторов зависит от того, в каком периоде они воздействуют (имплантационный, эмбриональный, ранний фетальный, среднефетальный, поздний фетальный, интранатальный, неонатальный). Следует отметить, что тератогенный эффект в зависимости от патогена, может быть выражен в разной степени. Так, например, в предимплантационный период под воздействием инфекционного агента зигота или гибнет, или полностью регенерирует [11, 12].

Инфекционные эмбриопатии возникают в период органогенеза и плацентации и обычно приводят к формированию пороков развития или гибели эмбриона. Первый и второй триместр гестационного периода возможно формирование псевдопороков. При заражении после второго триместра плод приобретает способность к специфической реакции на внедрение возбудителя, в результате возможны внутриутробная инфекция, гибель плода, задержка роста плода и преждевременные роды [11, 12].

Полученные нами результаты говорят о том, что токсоплазмоз является заболеванием, которое оказывает негативный эффект на развитие плода. Наши результаты показывают, что паразит может влиять на изменение числа живых эмбрионов, что характеризуется увеличением числа резорбций и количества мертвых плодов. Зафиксированный эффект имеет тенденцию роста в зависимости от дозы заражения и срока развития паразитоза. Полученные данные согласуются с результатами В. В. Зориной, которая установила, что при экспериментальном аскаридозе у мышевидных грызунов наблюдается эмбриотоксический эффект, который характеризуется ростом пред- и постимплантационной гибели зародышей, уменьшением средней массы эмбрионов и их краниокаудального размера [10].

В свою очередь, А. Vargas-Villavicencio и соавт. провели исследование о влиянии токсоплазменной инвазии в первом и третьем триместре беременности у мышей *BALB*. В результате исследования получено, что инвазия токсоплазмами вызывала плацентарные кровотечения, застой и тромбоз, что приводило к гибели эмбрионов [11].

Таким образом, полученные результаты являются актуальными.

Выводы. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что *T. gondii* оказывают воздействие на репродуктивную способность самок крыс, что подтверждается ростом постимплантационной гибели эмбрионов, характеризующейся снижением количества живых эмбрионов, ростом числа мертвых эмбрионов и ростом уровня резорбций в зависимости от дозы заражения и срока развития паразита в эксперименте.

Литература:

1. Levine, E.M. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in mothers of infants with congenital toxoplasmosis: Implications for prenatal management and screening. / E.M. Levine // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2006. – Vol. 194-589.
2. Клинические и морфологические особенности пороков развития у детей с врожденными цитомегаловирусной и токсоплазменной инфекциями / Л. Ю. Барычева [и др.] // *Российский Вестник перинатологии и педиатрии.* – 2015. - № 3. – С. 50-57.
3. Васильев, В.В. Токсоплазмоз: современные научнопрактические подходы / В.В. Васильев // *Медицинская иммунология.* - 2000. - Т. 2, №3. - С. 299-304.
4. Грачева, Л.И. Проблема токсоплазмоза / Л.И. Грачева // *Педиатрия.* - 1999. - №4. - С. 83-86.
5. Колесникова-Тартыньских, Л.А. Значение токсоплазменной инфекции в патологии беременности и плода / Л.А. Колесникова-Тартыньских // *Акушерство и гинекология.* - 1998. - №1. - С. 45-48.
6. Лобзин, Ю.В. Токсоплазмоз у беременных: клинические проявления, терапия и медикаментозная профилактика врожденного токсоплазмоза / Ю.В. Лобзин, В.В. Васильев // *Рос. мед. журн.* - 2001. - №5. - С. 40-41.
7. Орехов, К.В. Внутриутробная инфекция и патология новорожденных / К.В. Орехов, М.В. Голубева. - Ставрополь. - 2006. - С. 170-188.
8. Методика культивации *Toxoplasma gondii* in vivo / Е.С. Пашинская [и др.] // *Студенческая медицинская наука XXI века: матер. XVIII Международной конференции, Витебск, 14–15*

ноября 2018 г. / Витебск. гос. мед. ун-т; редкол.: А.Т. Щастный [и др.]. – Витебск, 2018. – С. 597–599.

9. Методические рекомендации по доклиническому изучению репродуктивной токсичности фармакологических веществ / Б.И. Любимов [и др.] // *Ведомости фарм. комитета.* – М., 1998. – № 1. – 20 с.

10. Зорина, В. В. Генотоксические, цитотоксические и эмбриотоксические эффекты инвазий гельминтами: монография / В. В. Зорина, В. Я. Бекиш // Витебск. – 2017. – 22 с.

11. Vargas-Villavicencio, J.A. Vertical transmission and pathological findings in the mother, the placenta and the offspring, during first and last thirds of gestation in a mouse model of congenital toxoplasmosis / J.A. Vargas-Villavicencio [et al.] // *Parasitology International.* – 2022. – Vol. 91. – P. 91–102

ВОЗДЕЙСТВИЕ TOXOPLASMA GONDII НА РЕПРОДУКТИВНУЮ СПОСОБНОСТЬ САМОК КРЫС В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ДОЗЫ СРОКА РАЗВИТИЯ ТОКСОПЛАЗМ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Косова М.С., Пашинская Е.С., Семенов В.М.

Резюме. Эксперимент проводили на 90 самках крыс линии Wistar массой тела 180-200 г. Самок крыс разделяли на 9 групп по 10 голов в каждой и случали с самцами. После развития беременности самкам интактных групп перорально вводили 2 мл 2% крахмального геля, а самок экспериментальных групп заражали инвазионной культурой *T. gondii* в дозе 25 тахизоитов на 1 г массы тела (5000 тахизоитов на крысу) и 50 тахизоитов на 1 г массы тела (10000 тахизоитов на крысу). Воздействие токсоплазм на репродуктивную способность самок крыс определяли на 7-е, 14-е и 21-е сутки после наступления беременности. По результатам исследования получено, что при сравнении показателей интактных и экспериментальных групп предимплантационной гибели не выявлено. В то же время при сравнении результатов этих же групп нами зафиксирован рост постимплантационной гибели эмбрионов, что подтверждается достоверными данными, полученными в ходе эксперимента.

Ключевые слова: крысы, *Toxoplasma gondii*, репродуктивная способность, пред- и постимплантационная гибель.