

**ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ЛИНЕЙНЫХ МЫШЕЙ  
К ТОКСОПЛАЗМАМ ВИРУЛЕНТНОГО  
И МАЛОВИРУЛЕНТНОГО ШТАММОВ  
ПО ДАННЫМ ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ**

М. А. Савина

Институт эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР, Москва

Исследовалась роль генетических особенностей мышей в чувствительности их к токсоплазмам. Показаны различия в чувствительности к маловирулентным токсоплазмам у мышей 9 различных линий, проявляющиеся на всех этапах инфекционного процесса или только в острой, или только в хронической стадиях. Чувствительность мышей 6 линий к вирулентным токсоплазмам оказалась одинаково высокой.

Исследование зависимости течения и исхода инфекционных заболеваний от генетически обусловленных особенностей хозяина представляет в настоящее время большой интерес. Так, обнаружена зависимость уровня инфицированности доноров крови токсоплазмами от группы крови (Шкарин, 1973). На модели мышей различных чистых линий, зараженных маловирулентными токсоплазмами, исследовалось значение генетических различий животных в чувствительности их к токсоплазмам и в характере течения инфекционного процесса у них. Дзинтацу (1968) выявил большую резистентность к токсоплазмам маловирулентного штамма Beverley мышей линии СВА по сравнению с линиями CFJ и C57BL. Флох (Floch, 1972) отмечал низкую иммунологическую реактивность у мышей BALB/c. Гальтд (Huldt, 1973) нашла, что у мышей линии СВА через 6 недель после заражения маловирулентным штаммом токсоплазм T626/62 титры антител в РСК были более высокими, чем у мышей C57BL.

**МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА**

Вначале мы исследовали чувствительность мышей 6 линий к вирулентным токсоплазмам штамма RH при заражении подкожно или внутрибрюшинно по 1 000 паразитов: CC57BR, C3H-H-2<sup>p</sup>, C57BL/He, CC57W, C57L/j и C57BL/10-H-2<sup>d</sup>. Мыши (90 взрослых самок и самцов) были взяты из лаборатории инбредных мышей ИЭМ им. Гамалеи. Затем мы определяли чувствительность к токсоплазмам чешского маловирулентного штамма (выделен от зайца) мышей 9 чистых линий, взятых из питомников АМН СССР: CC57BR, A/He, BALB/c, DBA/2, AKR, C57BL, CC57W, C3H/He и СВА. Всего было использовано 283 линейных и 96 беспородных мышей. Партии опытных включали по 20 самцов весом 16—18 г каждой линии и 10 беспородных мышей того же веса и пола в качестве контроля. Повторно обследованы мыши 7 линий по 10—20 особей. Заражение производили внутрибрюшинно одинаковой дозой — 100 тыс. пролиферативных токсоплазм. Пролиферативные токсоплазмы получали по нашей, специально разработанной для этой цели методике.

Тестами, характеризующими чувствительность животных к маловирулентным токсоплазмам, были взяты: 1) заболеваемость и смертность

животных в период до 15 дней, 2) количество перитонеального экссудата в брюшной полости через 7 дней после заражения, 3) число токсоплазм в 1 мл экссудата, 4) интенсивность размножения в свободных клетках брюшной полости — число зараженных клеток на 5 тыс. клеток экссудата, число токсоплазм в них, размер псевдоцист (показатели чувствительности острого периода инфекции), 5) заболеваемость и смертность мышей в период с 16-го по 45-й день, 6) степень зараженности головного мозга цистами токсоплазм (показатели чувствительности хронического периода инфекции).

На 7-й день после заражения у наркотизированных мышей прижизненно брали перитонеальный экссудат, готовили мазки, подсчитывали число токсоплазм в 1 мл экссудата и на 5 тыс. клеток мазка. Мазки окрашивали по Романовскому-Гимза. Мышей забивали через 45 дней и подсчитывали число цист токсоплазм в двух кусочках мозга объемом 3 мм<sup>3</sup>, взятых из коры лобной части правого полушария, и высчитывали среднюю цифру для одного кусочка. Кусочки мозга раздавливали под покровным стеклом.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Чувствительность линейных мышей к токсоплазмам вирулентного штамма. Чувствительность мышей 6 различных линий к вирулентным токсоплазмам штамма RH не отличается. Все обследованные подкожно или внутрибрюшинно зараженные по 1000 токсоплазм мыши линий СЗН-Н-2<sup>р</sup>, СС57BR, С57BL/He, СС57W, С57L/j и С57BL/10-Н-2<sup>д</sup> оказались восприимчивыми и высокочувствительными к токсоплазмам этого штамма. При подкожном заражении по 10 мышей каждой партии мыши 5 линий заболели на 9-й день и погибли на 10-й, мыши линии СС57W заболели и погибли на 8-й—9-й дни. При внутрибрюшинном заражении мышей этих же линий (по 5 животных) по 1000 токсоплазм заболевание отмечалось на 7-й день и гибель — 7—8-й дни. При вскрытии погибших животных различий в макроскопических изменениях во внутренних органах у мышей различных линий и беспородных не обнаружено. Перитонеальный и плевральный экссудат обнаруживался редко, и содержание токсоплазм в нем было невелико, вследствие введения небольшого количества паразитов. Зараженность внутренних органов пролиферативными формами токсоплазм, напротив, была одинаково интенсивной у мышей всех линий.

Чувствительность линейных мышей к маловирулентным токсоплазмам. Собрав данные по ряду избранных тестов, мы встретились с затруднениями в определении степени чувствительности мышей к маловирулентным токсоплазмам, поскольку нам не удалось наблюдать однотипных изменений этих тестов у мышей ряда линий. Наличие или отсутствие перитонеального экссудата не всегда коррелировало с интенсивностью размножения токсоплазм в его клетках. При введении внутрибрюшинно 100 тыс. токсоплазм заболевали мыши, оцененные по ряду других паразитологических тестов как наиболее и наименее чувствительные (СС57BR и BALB/c). Уровень зараженности цистами мозга не всегда коррелировал с интенсивностью размножения токсоплазм в клетках перитонеального экссудата в острый период инфекции. Так, низкий уровень зараженности головного мозга мышей линии DBA/2 отмечался при интенсивном размножении токсоплазм в клетках перитонеального экссудата на 7-й день после заражения, и наоборот, относительно высокая инвазированность мозга цистами у мышей линий АКР и СВА сочетались с исключительно низким уровнем размножения токсоплазм в перитонеальном экссудате. На основании этих данных мы пришли к заключению, что мыши рассмотренных линий могут отличаться по степени чувствительности к маловирулентным токсоплазмам на разных этапах инфекционного процесса, а отсюда и по характеру его течения. Учитывая это, мы выделили линии мышей, чувствительных к маловиру-

Чувствительность линейных и беспородных мышей к токсоплазмам маловирулентного штамма

Линия мышей	Число обследованных мышей	Заболеемость и смертность (в %)		Зараженность цистами головного мозга		Зараженность токсоплазмами перитонеального экссудата						
		острый период	хронический период	процент мышей с цистами	интенсивность заражения	в нативных препаратах			в окрашенных препаратах			
						процент мышей с экссудатом	количество экссудата (в мл)	процент мышей с токсоплазмами	число токсоплазм в 1 мл	процент мышей с токсоплазмами	число зараженных клеток на одну мышь	число токсоплазм в клетках
CC57BR	39	15/2.5	18/18	100.0	21.1±2.5	85.3	0.4±0.07	73.6	59.0±10.7	100.0	14.5	54.5
СЗН/He	20	10/0	—	100.0	9.1±1.5	35.0	0.04±0.01	44.5	33.6±6.4	66.6	1.3	3.6
Беспородные	96	11.5/11.5	8.1/8.1	90.0	7.8±1.2	85.0	0.07±0.003	78.1	85.0±10.1	68.0	5.9	20.3
BALB/c	41	72/0	2/2	48.8	0.4±0.03	7.3	— *	14.7	— **	71.0	3.4	11.3
DBA/2	40	—	2.5/2.5	95.5	1.4±0.2	—	—	42.5	—	100.0	15.7	64.0
CC57W	24	—	—	100.0	3.6±0.4	37.5	0.08±0.01	95.7	29.7±6.2	Не просматривались		
AKR	30	—	4/4	100.0	6.4±0.8	—	—	16.6	—	24.2	0.45	1.4
СВА	29	—	—	100.0	5.1±0.7	13.8	—	39.0	—	15.8	0.16	0.5
С57BL	30	—	—	100.0	5.8±0.8	20.0	0.04±0.01	26.7	—	Не просматривались		
A/He	30	—	—	56.5	0.21±0.07	86.5	0.21±0.03	55.0	6.3±0.7	47.3	0.79	1.6

Примечание. \* Следы экссудата или его совершенно нет; \*\* токсоплазмы не найдены, или число их менее 1 тыс. в 1 мл.

лентным токсоплазмам на протяжении всего периода зараженности (С57BR и СЗН/He), линии мышей, резистентных на протяжении всего периода инфекции (А/He), а также линии мышей с неодинаковой чувствительностью на разных этапах инфекционного процесса: чувствительные в острый период инфекции и резистентные — в хронический (BALB/c — наиболее характерная линия для этой группы, менее характерные С57W и DBA/2); группа животных, резистентных в острый период и относительно чувствительных — в хронический (AKR, CBA, C57BL, см. таблицу).

Следует отметить условность принятого нами деления, так как если некоторые линии имеют четкие признаки той или иной группы, то другие имеют менее четкие показатели и условно отнесены к этим группам.

### ХАРАКТЕРИСТИКА ГРУПП МЫШЕЙ

Мыши, чувствительные на всех этапах инфекционного процесса. У мышей линии С57BR, в отличие от всех прочих, все показатели указывают на высокую чувствительность к маловирулентным токсоплазмам: они заболели в острый и хронический период инфекции (соответственно 15 и 18%) и часть из них погибала (2.5 и 18%). У всех животных имелся перитонеальный экссудат на 7-й день в количестве  $0.4 \pm 0.07$  мл — наибольшем по сравнению с мышами других линий, у 73.6% животных обнаружены токсоплазмы в нативном экссудате и у 100% — в окрашенном (54.5 токсоплазм в 14.5 зараженных клетках на 5 тыс. клетках перитонеального экссудата). В перитонеальных макрофагах этих животных на 7-й день обнаруживались псевдоцисты, содержащие до 20—30 токсоплазм. Наиболее характерная особенность мышей этой линии — чрезвычайно высокая инвазированность цистами головного мозга —  $21.1 \pm 2.5$  в одном кусочке.

В эту же группу можно отнести мышей линии СЗН/He, чувствительность которых, однако, значительно ниже предыдущей линии. Мыши этой линии болели только в острый период инфекции. Свободного перитонеального экссудата практически не образовывалось. В пристеночном экссудате токсоплазмы найдены у 66.6%, но степень его инвазированности невысока. Инвазированность головного мозга, напротив, довольно высокая —  $9.1 \pm 1.5$  цист у 100% животных. К этой же группе животных следует отнести беспородных мышей. Клинические проявления заболевания у них отмечались в острой и хронической стадии инфекции (11.5 и 8.1). Довольно регулярно обнаруживается перитонеальный экссудат с относительно большим числом паразитов — 5.9 зараженных клеток с 20.3 токсоплазмами в них. Зараженность головного мозга также ниже, чем у мышей С57BR —  $7.8 \pm 1.2$ .

Мыши, резистентные к токсоплазмам на всех стадиях инфекционного процесса. К этой группе отнесены мыши линии А/He. Животные не заболели и не погибли на протяжении всего периода наблюдений. В острой стадии инфекции отмечено образование небольшого количества перитонеального экссудата ( $0.21 \pm 0.07$  мл) с очень низкой инвазированностью клеток экссудата (в окрашенных мазках 0.79 зараженных клеток с 1.6 токсоплазм). Токсоплазмы в окрашенных мазках найдены только у 47.3% мышей. Псевдоцисты в макрофагах содержали не более 2—4 токсоплазм. Чрезвычайно низка инвазированность мозга мышей цистами токсоплазм —  $0.21 \pm 0.07$ , и цисты были найдены только у 56.5% мышей.

Мыши, чувствительные к токсоплазмам на стадии острой инфекции. Для мышей этой группы характерным было появление на 7-й день относительно большого количества токсоплазм в пристеночном экссудате (при отсутствии свободного) — 3.4—15.7 зараженных клеток с 11.3—64 токсоплазмами на 5 тыс. клеток и чрезвычайно низкая зараженность головного мозга цистами токсоплазм (0.4—3.6) при экстенсивности инвазии 48.8 — 100%. Наиболее

характерная для этой группы линия мышей BaLB/c. Мыши этой линии (72%) заболевали в острый период инфекции. Инвазированность клеток пристеночного экссудата относительно высока, в макрофагах экссудата встречались псевдоцисты, содержащие до 24 токсоплазм. Очень низка зараженность головного мозга цистами токсоплазм —  $0.4 \pm 0.03$ , причем цисты найдены менее чем у половины животных.

Интересно, что у самок мышей линии BALB/c в отличие от самцов интенсивность заражения головного мозга значительно выше —  $2.3 \pm 0.28$ . Различия уровня зараженности самок и самцов статистически достоверны,  $t=6.75$ ,  $p < 0.999$ . Самки этой линии также переболевают при заражении 100 тыс. токсоплазм.

К этой же группе следует отнести мышей линии DBA/2. Мыши этой линии не имели признаков заболевания в острой стадии, заболеваемости и смертность в хронической стадии невысоки. Свободного перитонеального экссудата у мышей абсолютно не было. В мазках окрашенного пристеночного экссудата токсоплазмы найдены у всех животных. Зараженность клеток экссудата так же высока, как и у наиболее чувствительных животных линии CC57BR. Псевдоцисты в макрофагах содержат до 30 токсоплазм. Напротив, зараженность головного мозга цистами низка —  $1.4 \pm 0.2$ , хотя экстенсивность инвазии достигает 95.5%.

К этой же группе мы относим мышей линии CC57W. Мыши этой линии отличаются от предыдущих наличием небольшого количества перитонеального экссудата у 1/3 мышей и более высоким уровнем зараженности головного мозга цистами —  $3.6 \pm 0.4$ . Как и у предыдущих двух линий, в экссудате регулярно обнаруживались токсоплазмы.

Мыши, чувствительные к токсоплазмам в хронической стадии инфекции. Характерная особенность мышей этой группы — очень низкая инвазированность перитонеального пристеночного экссудата (при отсутствии свободного) —  $0.16-0.45$  зараженных клеток с  $0.5-1.4$  токсоплазмами на 5 тыс. клеток перитонеального экссудата и относительно высокая зараженность цистами головного мозга: интенсивность инвазии  $5.1-6.4$  цист, экстенсивность — 100%. Наиболее характерная линия мышей этой группы — АКР. Мыши заболевали и погибали только в хронический период инфекции. Токсоплазмы обнаруживались в мазках лишь у 1/4 части животных. Низкий уровень размножения токсоплазм здесь подтверждается размером псевдоцист, содержащих не более 4 паразитов. Тем не менее уровень инфицированности головного мозга относительно высок —  $6.4 \pm 0.8$  и цисты обнаружены у всех животных.

В эту же группу мы отнесли мышей линий CBA и C57BL. В отличие от предыдущей линии эти мыши не болели, а по остальным показателям были близки к ней.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В наших предварительных исследованиях (Савина, 1971а, 1971б) мы оценивали чувствительность мышей чистых линий к маловирулентным токсоплазмам по степени инвазированности ими перитонеального экссудата и головного мозга в нативных препаратах и, исходя из полученных данных, без затруднений разделили мышей на 3 группы. После просмотра окрашенных мазков перитонеального экссудата у нас оказались неоднотипные показатели чувствительности для животных одной и той же линии, в связи с чем появились сомнения в правильности их оценки. Полученные данные указывали на то, что чувствительность животных разных линий к токсоплазмам может быть различной на разных стадиях инфекционного процесса. Так, у мышей линии DBA/2 показатели инфицированности клеток экссудата оказались не ниже, чем у наиболее чувствительных мышей линии CC57BR, тогда как инфицированность мозга в 15 раз ниже.

В связи с этим мы выделили показатели чувствительности для острой и хронической стадий токсоплазма и соответственно разделили мышей (самцов) разных линий на чувствительных (СС57BR, СЗН/He и беспородные) и резистентных (А/He) на протяжении всего периода инфицирования, и на чувствительных в острой стадии инфекции и резистентных в хронической (BALB/c, DBA/2, СС57W), на резистентных в острой стадии и относительно чувствительных в хронической стадии инфекции (AKR, СВА, С57BL).

Сходные закономерности отмечены и в отношении чувствительности мышей чистых линий к лейшманиям. Бредлей (Bradley, 1973) отмечал изменяющуюся по ходу инфекционного процесса чувствительность некоторых линий мышей к *Leishmania donovani*. У мышей различных линий наблюдалась также неодинаковая динамика инфекционного процесса, вызванного *L. tropica* (Preston, 1973). Выявлен также качественно отличный характер течения кожного лейшманиоза у мышей разных линий (Келлина, 1973). Различия в чувствительности мышей разных линий к инфекционным агентам обуславливаются многими наследственными факторами (Эфромсон, 1971). Различия в чувствительности мышей разных линий к токсоплазмам на разных этапах инфекционного процесса, по-видимому, связаны с различиями во времени мобилизации и динамики иммунных процессов у них.

#### Л и т е р а т у р а

- Д з и н т а ц у С. 1968. Иммунологическое изучение *Toxoplasma gondii*. Патогенность и защитная антигенность у различных линий мышей. *Japan. J. Parasitol.*, 17 (5) : 429—435.
- К е л л и н а О. И. 1973. О различиях в чувствительности инбредных мышей разных линий к *Leishmania donovani* мажор. *Мед. паразитол. и паразитарн. болезни*, 3 : 279—285.
- С а в и н а М. А. 1971а. Чувствительность мышей чистых линий к маловирулентным токсоплазмам. *Матер. 1-го съезда Всесоюз. общ. протозоол.*, Баку : 155—156.
- С а в и н а М. А. 1971б. Мыши чистых линий как экспериментальная модель при изучении токсоплазмоза. *Краткие тезисы Всесоюз. симпозиума по токсоплазмозу*, М. : 185—187.
- Ш к а р и н В. В. 1973. Вопросы эпидемиологии токсоплазмоза и его значение в патологии человека. Автореф. докт. дисс., Тула.
- Э ф р о м с о н В. П. 1971. *Иммуногенетика*, М.
- Б р а д л е у D. J. 1973. *Visceral leishmaniasis of the mouse. Symposium on leishmaniasis*, King's College, Cambridge. 1973.
- F l o c h F., V e r n e s A. et B i g u e t J. 1972. Contribution à l'étude des phénomènes immunologiques dans la toxoplasmose expérimentale. I. Etude in vivo chez les souris Balb/c. *Ann. parasitol. hum. et comp.*, 47 (5) : 667—679.
- H u l d t G., G a r d S v e n, O l o v s o n S t i g H. 1973. Effect of *Toxoplasma gondii* on the thymus. *Nature*, 244, (5414) : 301—303.
- P r e s t o n P. M. Experimental cutaneous leishmaniasis: the mouse as a model host for infection with *Leishmania troca*. *Symposium on leishmaniasis*, King's college, Cambridge.

#### THE SUSCEPTIBILITY OF MICE TO TOXOPLASMS OF VIRULENT AND LITTLE VIRULENT STRAINS ACCORDING TO THE DATA OF PARASITOLOGICAL INVESTIGATIONS

M. A. Savina

#### S U M M A R Y

Genetic peculiarities of mice were studied in regards to their susceptibility to toxoplasms. Differences in susceptibility to little virulent toxoplasms in mice of 9 different lines are shown, which manifest at all stages of the infection process or only at acute or chronic stages. The susceptibility of 6 lines of mice to virulent toxoplasms was found to be equally high.