孕鼠感染犬弓首线虫后对仔鼠行为及脑组织的影响*

陈 琨**，令狐克燕，李建华，李金福***
（贵阳医学院 寄生虫学教研室，贵州 贵阳 550004）

[摘 要] **目的**：孕鼠妊娠早期感染犬弓首线虫对仔鼠行为及脑组织的影响。**方法**：取犬弓首线虫子宫段虫卵培养至感染期，不同剂量感染受孕3 d的雌鼠，将仔鼠随机分6组，观察爬行能力、抓握能力等行为学情况，用切片法及稀盐酸幼虫分离法观察犬弓首线虫在仔鼠脑内分布。**结果**：从新生仔鼠脑内分离出幼虫，脑内幼虫的数量与孕期感染剂量呈正相关；各组仔鼠行为学检测结果差异具有统计学意义（$P<0.05$），与脑内分离出的幼虫数量呈负相关；仔鼠脑内有少量胶质细胞增生和脑细胞变性，虫体周围脑组织炎症反应不明显。**结论**：孕鼠妊娠早期感染犬弓首线虫会导致仔鼠行为学改变，感染剂量与仔鼠后天产生的保护性免疫记忆有相关性，脑内病理改变与直接感染一致。

[关键词] 犬弓首线虫；妊娠母鼠；仔鼠；Barnes迷宫；行为改变；病理学；稀盐酸幼虫分离法
[中图分类号] R382.5 [文献标识码] A [文章编号] 1000-2707(2013)03-0243-03

Offspring Behavioral and Brain Pathological Changes Caused by *Toxocara canis* Infection to Pregnant Mice

CHEN Kun, LINGHU Keyan, LI Jianhua, LI Jinfu
(*Department of Parasitology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China*)

[**Abstract**] **Objective**: To investigate if *Toxocara canis* infection during early pregnancy could cause behavior and brain pathological changes of mouse offspring. **Methods**: Three-day-pregnant female mice were infected with different doses of *Toxocara canis* eggs at infective phase. The offsprings were divided into six groups and their behavior (maze, grip, balance) was observed. Sectioning method and dilute hydrochlonic acid separation method were adopted to observe larval distribution in the brain tissue and brain pathological changes. **Results**: Behavioral changes of offsprings were significantly different among groups ($P<0.05$) and were positively correlated with the number of larvae isolated from brain tissue. Pathological changes were found in offspring brain. **Conclusions**: *Toxocara canis* infection during early pregnancy may affect offspring's behavior. Infection during pregnancy caused brain tissue pathological changes are accordance with that of direct infection.

[**Key words**] *Toxocara canis*; pregnant female mouse; offspring mouse; Barnes maze; behavior change; pathology; dilute hydrochloric acid separation

犬弓首线虫（Toxocara canis）是呈世界性分布的犬肠道内常见寄生虫[1]，在犬的感染率为5.5%～33.6%。调查显示，人血清中抗犬弓首线虫抗体阳性率为1.6%～37%[2]。随着人与犬的关系越来越密切，犬弓首线虫给人的健康带来很大的威胁[3-4]。犬弓首线虫的感染危害主要表现为幼虫移行症，其中以脑幼虫移行症危害最为严重，文献报道脑幼虫移行症可导致平衡能力下降、对外界反应性下降[5]。本实验通过行为学及病理学检测观察妊娠早期感染犬弓首线虫后是否会对仔鼠脑组

*[基金项目]黔科合LG字[2011]009号、黔科平台[2010]4005、[2010]筑科技合同字3-1号、黔科合sy[2010]3132号。
**贵阳医学院病原生物学专业2007级硕士研究生，现工作单位贵州省人民医院中心实验室。
***通信作者 E-mail:lijinfu72@163.com

织造成损害,同时妊娠早期的感染是否能减轻后天感染造成的脑组织损害[6]。

1 材料与方法

1.1 材料 湖南省长沙市河西宰狗厂取犬小肠采集犬弓首线虫成年雌虫 200 条分离虫卵,并培养 21 d。。昆明种二级清洁小鼠,Barnes 迷宫购自淮北正华生物仪器设备有限公司。

1.2 动物分组 昆明种二级清洁雄鼠 45 只和雌鼠 90 只,按照 1∶2比例合笼配对。检查阴栓,将明确受孕的 60 只雌鼠随机分为 A 组生理盐水灌胃、B 组 1×10^3 个虫卵灌胃、C 组 3×10^3 个虫卵灌胃。将 A、B、C 三组产下的仔鼠各分为 2 组,共 6 组,每组 20 只仔鼠。A1(阴性对照组)即 A 组产下的仔鼠生理盐水灌胃,A2 即 A 组产下的仔鼠 0.5×10^3 虫卵灌胃;B1 即 B 组产下的仔鼠生理盐水灌胃,B2 即 B 组产下的仔鼠 0.5×10^3 虫卵灌胃;C1 即 C 组产下的仔鼠生理盐水灌胃,C2 即 C 组产下的仔鼠 0.5×10^3 虫卵灌胃。

1.3 行为学检查 仔鼠 15 周龄时各组随机取 10 只小鼠(雌雄各半),观察小鼠在光滑的、水平竹竿(长 50 cm、直径 0.5 cm)上爬行情况和抓握能力,在匀速转动(6 r/min)竹竿上鼠尾对平衡的协调能力;鼠尾对热刺激的反应,用 5mL 注射器针头在酒精灯上灼烧后刺激鼠尾,观察躲避情况;观察各组小鼠出入 Barnes 迷宫时间。

1.4 脑内幼虫数量及病理学检查 处死参与行为学检测仔鼠,稀盐酸幼虫分离法分离幼虫[6]。仔鼠 8 周龄时,各组随机选取 5 只小鼠处死后,取脑组织,常规石蜡切片,HE 染色。

1.5 统计学方法 用 SPSS 11.5 建立数据库并处理,计量资料用($\bar{x}\pm s$)表示,先进行正态性检验及方差齐性检验,正态分布时行方差分析,两两比较采用 LSD 法;偏态分布时采用非参数检验。

2 结果

2.1 行为学检测 A2、B1、B2、C1、C2 组行为能力值均低于阴性对照 A1 组($P<0.05$);在 A2、B2、C2 组中 B2 成绩最好, B1 成绩好于 C1 组。行为学检测能力由好到差排序为:A1、B1、C1、B2、A2、B2(见表 1)。分离参与行为学检测仔鼠脑组织幼虫(见图 1),各组脑组织幼虫数量存在明显差异,具有统计学意义($P<0.05$),幼虫数量与行为检测结果呈负相关。

表 1 仔鼠行为学检测结果与脑内幼虫数

Tab.1 Test results of offspring's behavior and number of larvae found in brain of corresponding offsprings

组别	n	迷宫(s)	旋转握持(s)	对热刺激(平均秩)	鼠尾平衡(平均秩)	脑组织内幼虫数量(条)
A1	20	$122.30\pm27.13^{(1)}$	$36.30\pm3.234^{(1)}$	$8^{(1)}$	$12^{(1)}$	$0^{(1)}$
A2	20	$255.70\pm30.24^{(2)}$	$15.70\pm2.751^{(2)}$	$38^{(2)}$	$42^{(2)}$	$38.8\pm4.1^{(2)}$
B1	20	$207.80\pm21.56^{(1)}$	$29.10\pm2.424^{(1)}$	$29^{(1)}$	$18^{(1)}$	$24.0\pm4.4^{(1)}$
B2	20	$236.60\pm23.82^{(2)}$	$19.00\pm2.000^{(2)}$	$38^{(2)}$	$39^{(2)}$	$35.0\pm2.4^{(2)}$
C1	20	$223.30\pm30.64^{(1)}$	$24.40\pm2.914^{(1)}$	$32^{(1)}$	$30^{(1)}$	$32.0\pm5.6^{(1)}$
C2	20	$311.60\pm21.99^{(2)}$	$12.80\pm2.201^{(2)}$	$38^{(2)}$	$42^{(2)}$	$40.0\pm6.2^{(2)}$

注:$^{(1)}$A1、B1、C1 相比, $P<0.05$;$^{(2)}$A2、B2、C2 相比,$P<0.05$

2.2 病理学检查 观察到幼虫断面,幼虫与周围脑组织有间隙,虫体周围的脑细胞受压变扁,有少量胶质细胞增生和脑细胞变性,但虫体周围脑组织炎症反应不明显,见图 2。

3 讨论

本实验在新生仔鼠脑内分离出幼虫,说明妊娠早期感染可导致新生仔鼠感染。犬弓首线虫病一直作为幼虫移行症的典型研究对象,国内外均有关于幼虫在小鼠体内的移行研究[7],实验证明感染 9 d 以后可以在小鼠脑内查到幼虫。幼虫对脑组织会造成机械损伤,幼虫数量的多少直接会影响小鼠行为能力。本研究同时用不同剂量犬弓首线虫虫卵感染小鼠,小鼠脑内幼虫的数量与感染剂量呈正相关,小鼠对新鲜事物的探索能力、学习能力、挖掘能力减弱。在一些妊娠母鼠感染的研究中,发现仔鼠体内也感染有幼虫。本实验选用的是妊娠早期感染犬弓首线虫的 15 周龄仔鼠,此时小鼠处于壮年期,行为学检测稳定,从抓握能力、鼠尾平衡能

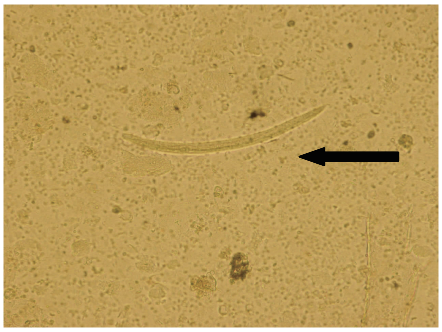

图 1　分离出的犬弓首线虫幼虫(HE, ×400)

Fig. 1　A larva from the body of the offspring

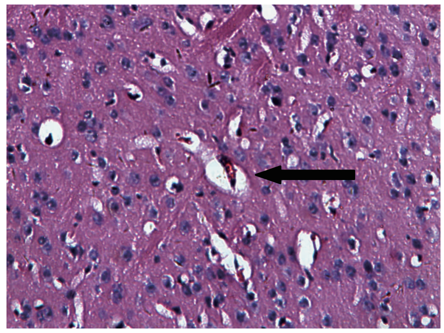

图 2　小鼠脑组织切片(HE, ×400)

Fig. 2　A section of mouse brain(HE ×400)

力、热刺激躲避能力以及出入迷宫时间等方面观察,其中 A1、B1、C1 组比较,C1 组表现最差,说明妊娠期间感染剂量越大对仔鼠后天的行为学影响越大,可能是因为高感染剂量通过传递更多的幼虫,使得仔鼠脑组织内幼虫数量增加,脑组织受到更多损伤,而严重影响其行为能力[8]。B2、A2、C2 比较,B2 组表现最好,说明妊娠期间的感染剂量与仔鼠后天加强感染产生的保护性免疫记忆有相关性,有待进一步研究。脑组织幼虫分离结果发现,幼虫数量越多,行为学表现越差。幼虫数量由多到少排序为 C2、A2、B2、C1、B1、A1,说明行为学检查结果可信。Sugane 等用组织切片观察感染小鼠脑组织,发现鼠脑内幼虫周围无明显炎性细胞,幼虫与周围脑组织之间有间隙,幼虫附近脑细胞受压变扁[9-10]。本实验使用的是妊娠早期感染仔鼠的模型,观察到的病理结果与直接感染结果一致,说明妊娠期间的感染与直接感染对脑组织的病理学影响一致。

妊娠期间感染犬弓首线虫会导致仔鼠行为学改变,脑内幼虫数量越多,行为能力越差;妊娠期间的感染剂量与仔鼠后天加强感染产生的保护性免疫记忆有相关性,有待进一步研究;妊娠期间的感染与成年后的直接感染对脑组织的病理学影响一致。随着人与犬的关系日益密切,孕妇应避免与病犬接触,及时预防和治疗犬弓首线虫感染,避免对儿童后天行为能力造成影响。

4　参考文献

[1] 冯月菊,王鸣,刘小宁,等. 广州地区 1998 - 2003 年蠕虫感染状况分析[J]. 热带医学杂志,2004(3):279 - 282.

[2] Habluetzel A,Traldi G,Ruggieri S,et al. Anestimation of Toxocara canis. Prevalence in dogs, environmental egg contamination and risk of humaninfection in the Marehe region of Italy[J]. Veterinary Parasitology,2003(3):243 - 252.

[3] Othman A A. Therapeutic battle against larval toxocariasis: are we still far behind [J]. Acta Tropica,2012(3):124.

[4] 王燕娟,徐冬梅,崔晶,等. 母源性抗旋毛虫抗体对子鼠肠道虫荷的影响[J]. 中国寄生虫与寄生虫病杂志,2008(6):446 - 449.

[5] 郭爱叶,李建华. 感染犬弓首线虫小鼠肝组织中 iNOS 和 TNF - a 的动态表达[J]. 国际医学寄生虫病杂志,2011(1):14 - 16.

[6] 程云,李建华,彭景贤,等. SD 大鼠感染犬弓首线虫后免疫功能的变化实验研究 [J]. 中华医院感染学杂志,2011(1):38 - 39.

[7] 程云,李建华,彭景贤,等. 感染犬弓首线虫 SD 大鼠血清 IL - 6 和 IL - 8 含量的变化 [J]. 中国病原生物学杂志,2010(8):601 - 603.

[8] Webster P, Kapel CM. Studies on vertical transmission of Trichinella spp. in experimentally infected ferrets (Mustela putorius furo),foxes (Vulpes vulpes), pigs, guinea pigs and mice[J]. Vet Parasitol,2005(3 - 4): 255 - 262.

[9] 王光西,罗仲金,廖琳,等. 幼虫移行症:犬弓首线虫幼虫在小鼠体内分布和组织反应[J]. 中国人兽共患病杂志,1997(6):27 - 30.

[10] Sugane K,Oshima T,Eosinophilia,et al. Granuloma formarion and migration behaviour of larva in the congentially athinic mouse infected with Toxocara cania[J]. ParasitImmunol,1982(4):307 - 318.

(2012-12-10 收稿,2013-01-23 修回)

编辑:文箐颖