



С. І. Похил, І. І. Торяник,
О. М. Тимченко,
Н. А. Чигиринська,
І. А. Костира, Т. А. Круглова

ДУ «Інститут мікробіології
та імунології ім. І.І. Мечникова
НАМН України», м. Харків

© Колектив авторів

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ У ТКАНИНАХ ПЕЧІНКИ ІМУНОКОМПРОМЕТОВАНИХ НЕЛІНІЙНИХ ЛАБОРАТОРНИХ МИШЕЙ З БАРТОНЕЛЬОЗНОЮ ІНФЕКЦІЄЮ

Резюме. У статті представлений уніфікований підхід до створення моделі бартонельозної інфекції в експерименті на самцях та самицях імунокомпрометованих нелінійних лабораторних мишей. Матеріалом дослідження стали самці та самиці лабораторних мишей (у віці 4-6 тижнів, вагою 11-18 г, у кількості 53 особини (n=53)). Мета дослідження досягалася шляхом отримання стандартних уражень від бартонельозної інфекції базових структур печінки, органів травної системи, судин, схожих із тими, що виникали у людини у разі розвитку клінічної патології. Результати оцінювали за характером виявлених морфологічних змін (деструктивно-дегенеративні зміни, некроз, лімфаденопатія, запальні (альтеративні) процеси). Резюмуючи досягнуте, відмітимо ефективність проведеного експерименту та оптимістичні перспективи застосування екстраполярих даних у якості фундаменту для подальшої апробації новаторських методів інтервенції бартонельозу.

Ключові слова: *патоморфологічні зміни, експериментальний бартонельоз, самці та самиці лабораторних мишей, печінка, лімфаденопатія, альтеративний запальний процес.*

Вступ

Бартонельоз на сьогодні залишається відносно новою та маловивченою трансмісивною бактеріальною інфекцією людини і тварин, про яку вперше заговорили на теренах сучасної інфектології наприкінці ХХ століття [2, 3, 6]. Його найпоширеніші збудники *B. henselae*, *B. quintana* характеризуються специфічним тропізмом і здатністю облігатно паразитувати в клітинах-мішенях організму хазяїна [2, 9]. Будучи убіквітарною інфекцією, бартонельоз реєструється у багатьох країнах світу та розцінюється фахівцями як загрозливе захворювання, що потребує до себе постійної уваги і системи комплексної діагностики (поліетіологічність, поліморфність, відсутність патогномічних симптомів, політипність клінічного перебігу, домінування слабковиражених і атипичних форм) [7, 15]. У зв'язку із вище зазначеним, стає зрозумілою важливість адекватного підбору діагностичних методик для сучасного бартонельозу, їхня відповідність вимогам терміновості, точності, зручності, доступності. Одним із таких залишається на тепер спектр морфологічних методів дослідження. Саме із ними спеціалісти пов'язують можливість розпізнання провідних патогенетичних аспектів бартонельозної інфекції (БІ), причини та закономірності, специфіку морфотропізму останнього [3, 10, 14]. Зважаючи на останнє, ідеєю започаткованої роботи стало дослідження у порівняльному аспекті характеру, специфіки, стратегії морфологічних змін у тканинах

печінки імунокомпрометованих нелінійних лабораторних мишей з бартонельозною інфекцією (БІ).

Метою дослідження було вивчити структурно-функціональні зміни у тканинах печінки імунокомпрометованих нелінійних лабораторних мишей з бартонельозною інфекцією (БІ).

Матеріали та методи дослідження

Об'єктом морфологічного дослідження стали шматочки печінки (5×5 мм) самців та самок нелінійних мишей, віком від чотирьох до семи тижнів, вагою 11-18 г. При виконанні мікроскопічного (гістологічного) аналізу структурно-функціональних змін в органах піддослідних лабораторних тварин матеріал фіксували у 12 % розчині формаліну на фосфатному буфері з рН = (7,0-7,2) при t = (18-20) °С у склокерамічному посуді із щільно притертими корками. Далі зразки секційного матеріалу зневоднювали методом проведення через батареї етилових спиртів підвищеної концентрації від 30 % до абсолютного спирту (100 %) включно, заливали у смоли (парафін, целоїдин за потребами завдання). Із парафінових, целоїдинових блоків виготовляли серії гістологічних зрізів, товщиною 10-15 мкм. Препарати різали за допомогою санного мікротому в одній із трьох взаємно перпендикулярних площин (фронтальній, горизонтальній, сагітальній), що надавало змогу більш ретельно вивчити будову речовини печінки, мікросудин останньої,



співвідношення окремих структур (цито-, мієлоархитектоніку, локальні вогнища клітинних популяцій). Отримані зрізи забарвлювали у відповідності до ідеї та мети експерименту, завдань та головної стратегії пошуку (гематоксилином-еозином, азур-еозином, за Ван-Гізеном, Браше, імпрегнували сріблом).

Мікроскопічний аналіз матеріалу проводили із застосуванням оптичної системи мікроскопу ЛОМО ($\times 300$; $\times 600$; $\times 1350$). Дослідженню піддавали печінкові триади, субкапсулярну зону, мікросудини та їхні сплетіння. У порівняльному аспекті характеризували контрольні зразки (від інтактних та імунокомпрометованих, не заражених біологічним матеріалом тварин) із експериментальними, де особливої уваги надавали вивченню феноменів інфільтрації, діapedезу еритроцитів, розм'якнення тканини, набряків, некрозів. Конкретизації належали зміни у вісцеральному мікросудинному руслі. Обов'язковій констатації піддавали факти наявності чи відсутності стазу, тромбозу, змін агрегатних властивостей еритроцитів, сладжування останніх [1, 11]. У разі виявлення схожих морфологічних ознак статистичну оцінку останніх проводили сумарно [4]. Узагальнені результати зводили до уніфікованої схеми, за порівняльним аналізом яких будували висновки.

Результати досліджень та їх обговорення

Морфологічному дослідженню підлягав секційний матеріал (основних органів-мішеней, у тому числі, печінки, які потенційно найбільш уражаються збудниками БІ), відібраний від 53 білих нелінійних лабораторних мишей, що складала три різні групи: група 1 включала п'ять інтактних тварин, яким інтраперитонеально було введено стерильну дистильовану воду; група 2 включала сім імунокомпрометованих тварин [8], яким теж інтраперитонеально було введено стерильну дистильовану воду; група 3 включала 41 імунокомпрометовану тварину, яким інтраперитонеально було введено зразки біологічного матеріалу різного походження, що потенційно могли містити бактерії роду *Bartonella*. Характеристику стану морбідності у вказаних групах піддослідних лабораторних тварин досліджували обов'язково та представляли у окремій формі звітності. У подальшому, більш детальному, мікроскопічному вивченню підлягали зразки секційного матеріалу (печінка), вибірково відібрані від дев'яти піддослідних тварин, у тому числі, від трьох тварин із кожної групи – 1, 2 і 3. Проте, остаточному аналізу піддавали зразки печінки саме від тих тварин групи 3, у яких методом ПЛР була верифікована БІ [6].

Мікроскопічний аналіз препаратів печінки інтактних мишей контрольної групи 1 не ви-

кликав жодної підозри на користь наявності патологічних змін. Макромікроскопічно нативні органи залишались без ознак порушення цілісності капсули, оболонки, стромального та паренхіматозного компонентів, шарів стінок, судинного русла. Колір, щільність, пружність у разі первинного та повторного натисень, тургор відповідали нормометричним показникам. Наявність крововиливів, кальцинозу, запалень не виявлено. Об'єм печінки залишався у межах норми, розміри відповідали статеві-віковим показникам для задіяної лінії лабораторних тварин. Вагові дані не відрізнялись від середньостатистичних морфометричних величин, що обчислені для мишей застосованої лінії.

Макроскопічне дослідження печінки інтактних мишей контрольної групи 1 підтверджували сподівання щодо нормоанатомічних показників. Орган класично розташовувався у черевній порожнині особин праворуч та донизу, займаючи майже одну чверть нижньолатеральної позиції. Топографічні координати відповідали нормі. Орган вилучали після розтину без особливих зусиль. Пальпаторно: печінки пружні, гладкі, слизькі на дотик; темно-вишневого, червоно-коричневого кольору. Частки добре диференційовані, визначені. Мікроскопічно виявлялись: капсульний компонент; паренхіма, що характеризувалась розвинутою балковою структурою. Печінкові триади відповідно окреслені, містили отвори судин артеріального, венозного типу та жовчних проток. Стінки судин диференційовані, шари відокремлені, чіткі, без ознак ушкоджень, стазів, тромбоемболічних явищ. Отвори вільні від включень, лише подекуди, на повздовжніх зрізах спостерігали скучення нечисельних еритроцитів. Паренхіма залишалась цілісною. Ознак дистрофії, некрозу не виявлено. Ультрамікроскопічно: змін у структурі гепатоцитів не відмічено. Цитоплазма без ознак вакуолізації, детермінована на виконання синтетичних функцій; утримувала досить багатий та добре помітний на електронних мікрофото набір органелл. Ядро цілісне, містить конденсований та неконденсований (менша кількість) хроматин.

Результати дослідження секційного матеріалу від імунокомпрометованих тварин контрольної групи 2 помітно різнились від тих, що були отримані у попередній групі 1. Макромікроскопічний стан свідчив на користь помірно виражених дистрофічних реакцій, порушень трофіки, обміну речовин. Із-зовні: оболонка/капсула печінки – тьмяна, бліда, із сіруватим відтінком; гладка на дотик, проте не блискуча. Щільність структур помітно втрачена; пружність локальна, стосувалась, у переважній більшості випадків, крайових ділянок, сег-



ментів та полюсів. На дотик орган м'який, піддатливий, крихкотливий. У разі проведення пробного макрозрізу – на його поверхні одразу утворювалась рідина опалісцентного або бурого кольору (що підтверджувало здогадки на користь присутності геморагічного ексудату). Структурна диференціація не була втраченою, проте, навіть у нативних препаратах виявлялись поодинокі ділянки ушкоджень макротканьової архітекτονіки. Стартові структурно-функціональні порушення дегенеративного характеру відповідали розміро-ваговим змінам дослідженого органу (повздожньо-попереківі координати, об'єм, морфологічний індекс, маса).

Печінка не втрачала дольчастості, яка притаманна її будові у нелінійних лабораторних мишей, займала нормальне топографоанатомічне положення у черевній порожнині. Проте, зовнішні ознаки наявно свідчили на користь розвитку дегенеративних реакцій. Капсула органу щільна, однак нехарактерного для нативних препаратів інтактних тварин, блідого кольору. На дотик орган: м'який за консистенцією, пружність знижена, натиснення залишали сліди. На попередньому секційному зрізі помітні залишки рідини із домішками геморагічного ексудату. За умов детального огляду – вогнищеві субкапсулярні крововиливи, ділянки кальцинозу відсутні. Мікроскопічно ознаки білкової дистрофії. Печінкові триади диференційовані не чітко. Венозні судини із витонченими стінками, на попереківих зрізах подекуди сліди варікозноподібних розширень, стази, пристіночні тромби. Артерії та артеріоли мали звужені отвори, а у просвітах останніх чисельні тромби. На великому збільшенні фіксували явища мікроевезикуляції. Перивазальні простори та тканина, що їх оточувала з ознаками набряку. Жовчні шляхи утримували чисельний вміст. Стінки протоків виглядали набряклими, запаленими, проте ушкоджень цілісності, дефектів шарів та прошарків зареєстровано не було. Ультрамiкроскопічно: лімфоїдні структури органу Т-проліферативними процесами не відзначались, мононуклеарів, макрофагів визначено не було.

У разі мікроскопічних досліджень секційного матеріалу від піддослідних тварин групи 3 була встановлена наявність виражених лімфаденопатичних змін. Зазначений феномен характеризувався розвитком доброякісних проліферативних реакцій регіонального характеру [13]. Гістопатологічні зміни у паренхімі печінки характеризувались наявністю реактивної фолікулярної гіперплазії, що приймала генералізований характер. Спостерігалась добре виражена лейкоцитарна інфільтрація [14, 15]. Стінки судин видавались збільшеними, на-

бухлими, внутрішній шар крихкотливим, дряблим. Відбувалось розширення міжклітинних контактів у внутрішній оболонці, інвагінації цитоплазматичних мембран ендотеліоцитів, явища мікроевезикуляції. Паравазальний простір утримував едематичний ексудат. Ядра характеризувались наявністю просвітленого матриксу, помітним розширенням перинуклеарного простору. Спостерігалась фрагментація крист в окремих мітохондріях. Хроматин ядер мало-дисперсний та глибокий розташовувався повздож внутрішнього шару ядерної мембрани.

Регіональні лімфатичні вузли характеризувались ознаками реактивної фолікулярної гіперплазії, що як і у випадку із селезінкою, приймала генералізований характер. Крайові зони лімфоїдних вузликів розширені, подекуди розпливчасті, із помітною втратою кордонів. Гермінативні центри просвітлені, в окремих ділянках у початковій стадії формування, проте незначні за своєю чисельністю. У паравазальному просторі малих артерій відмічались вогнищеві крововиливи без тенденції до злиття. Отвори судин розширені, стінки видавались набухлими, дрябкими, середня оболонка з ознаками розшарування, деструкцією. Ультрамiкроскопічно: в отворах судин мегакаріоцити з розширеними демаркаційними каналами, заповненими молодими, зрілими формами тромбоцитів, та лінійно-вогнищевим розшаруванням мембранних структур. Вихід тромбоцитарних платівок у кровоносне русло сприяло інтенсивному тромбозу, стазу та подальшому розвитку ендотеліозу, ангіоматозу, ангіопроліферації, некротичних процесів у органі.

Печінка на втручання інфекційного агенту на тлі імунокомпрометації відповідала спалахом альтеративного запалення [3, 12]. Морфологічною детермінантою останнього були слабкість або майже повна відсутність судинно-мезенхімальної реакції, дистрофія та поступовий некроз паренхіми. Органи на секції виглядали дрябкими, тьмяними, здобували нехарактерний для них вигляд відвареного м'яса. Печінкові балки містили наслідки деструктивно-дегенеративних змін. Ядра гепатоцитів у стані альтерації (мембрана розшарована, перинуклеарний простір розширений). Цитоплазма вакуолізована, мітохондрії набухли, кристи останніх фрагментовані або зазнали мієліноподібних змін. Безперечним чинником альтеративних змін, що відбувалися у печінці, стала дія токсинів бартофельозної інфекції, що, можливо у нашому випадку була проявом реакції гіперчутливості термінового типу [13, 5].

**Висновки**

Узагальнюючи все вищезазначене, можна зауважити, що розвиток БІ у тканинах печінки нелінійних мишей на тлі імунокомпрометованого стану викликає реактивну фолікулярну гіперплазію з подальшим розвитком регіо-

нарних лімфаденопатій. Водночас відбувається стимуляція деструктивно-дегенеративних змін з наступною судинно-мезенхімальною реакцією, розвитком альтеративного запалення, некрозу та склерозу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Абрамов М. Г. Гематологический атлас / М. Г. Абрамов. – М.: Медицина [3-е изд.]. – 2005. – 116 с.
2. Бартоnellы и бартоnellезы – новые и возвращающиеся. Таксономия, бактериология, патогенез и генетика / О. Ю. Медяников, Л. Я. Лихоед, Г. А. Пенкина [и др.] // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2004. – № 4. – С. 113-121.
3. Возіанова, Ж. І. Інфекційні і паразитарні хвороби / Ж. І. Возіанова. – К.: Здоров'я – 2001. – Т. 2. – С. 656.
4. Назаренко, Г. И. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований / Г. И. Назаренко, А. А. Кишкун // М.: – Медицина – 2002. – 544 с.
5. Подымова С. Д. Болезни печени / С.Д. Подымова. – М.: Медицина. – 2004. – 219 с.
6. Спосіб виявлення збудників бартоnellезної інфекції (БІ) за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) / С. І. Похил, В. М. Козько, О. М. Тимченко // Інформаційний бюлетень (Додаток до «Журналу Академії медичних наук України»). – К.: 2008. – Вип. 25. – С. 56-57.
7. Тарасевич И. В. Новые и возвращающиеся риккетсиозы и бартоnellезы / И. В. Тарасевич // Вест. рос. акад. мед. наук. – 2001. – № 11. – С. 8-11.
8. Телегин, Л. Ю. Экспериментальная фармакогенетика циклофосамида: Автореф. дис. д.-р. мед. наук: 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология: защищена 25.03.2011 г.: затв. [невідомі дані] / Леонид Юрьевич Телегин. – М.: 2010. – 46 с.
9. Chomel B. B. Bartonella spp. in pets and effect on human health / B. B. Chomel, H. J. Boulouis, // Emerging Infections Diseases. – 2006. – Vol. 12, No. 3. – P. 389-394.
10. Chomel B. B. Ecological fitness and strategies of adaptation of Bartonella species to their hosts and vectors / B. B. Chomel, H. J. Boulouis, E. B. Breitschwerdt // Vet. Res. – 2009. – Vol. 40, № 9. – P. 1-22.
11. Dati F. New Aspects of Laboratory Testing for Hemostasis Disorders / F. Dati // Journal of Laboratory and Clinic – Medicine. – 2006. – Vol. 8, № 3. – P. 9 - 11.
12. Diniz P. P. Canine bartonellosis: serological and molecular prevalence in Brazil and evidence of co-infection with *Bartonella henselae* and *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii* / P. P. Diniz, R. G. Maggi, D. S. Schwartz // Vet. Res. – 2007. – Vol. 38. – P. 697-710.
13. Kunz S. Limphadenopathy in a novel mouse model of *Bartonella*-induced cat scratch disease results from lymphocyte immigration and proliferation and is regulated by interferon- α/β / S. Kunz, K. Oberle, A. Sander // Americ. J. Pathology. – 2008. – Vol. 172, № 4. – P. 1005-1018.
14. Maggi R. G. Potential limitations of the 16S-23S rRNA Intergenic region for molecular detection of Bartonella species / R. G. Maggi, E. B. Breitschwerdt // J. Clin. Microbiol. – 2005. – Vol. 43, No. 9. – P. 4921-4922.
15. Tsukahara M. Bartonella henselae infection as a cause of fever of unknown origin [Text] / M. Tsukahara, H. Tsuneoka, H. Iino // J. Clin. Microbiol. – 2000. – Vol. 38, № 5. – P. 1990-1991.

СТРУКТУРНО-
ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ
ИЗМЕНЕНИЯ В ТКАНЯХ
ПЕЧЕНИ ИММУНОКОМПРО-
МЕТИРОВАННЫХ
НЕЛИНЕЙНЫХ
ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ
С БАРТОНЕЛЛЕЗНОЙ
ИНФЕКЦИЕЙ

*С.И. Похил, И.И. Торяник,
Е.Н. Тимченко,
Н.А. Чигиринская,
И. А. Костыря,
Т.А. Круглова*

В статье представлен унифицированный подход к созданию модели бартонеллезной инфекции в эксперименте на самцах и самках иммуно-компрометированных нелинейных лабораторных мышей. Материалом исследования стали самцы и самки лабораторных мышей (в возрасте 4-6 недель, весом 11-18 г, в количестве 53 особей (n=53)). Цель исследования достигалась путем получения стандартных повреждений в результате бартонеллезной инфекции базовых структур печени, органов пищеварительной системы, сосудов, сходных с теми, что возникали у человека в результате клинической патологии. Результаты оценивали по характеру выявленных морфологических изменений (деструктивно-дегенеративные изменения, некроз, лимфаденопатии, воспалительные (альтеративные) процессы). Резюмируя, достигнутое отметим эффективность проведенного эксперимента и оптимистические перспективы экстраполированных данных в качестве фундамента для дальнейшей апробации новаторских методов интервенции бартонеллеза.

Ключевые слова: *патоморфологические изменения, экспериментальный бартонеллез, самцы и самки лабораторных мышей, печень, лимфаденопатия, альтернативный воспалительный процесс.*

STRUCTURAL AND
FUNCTIONAL ANLINED
LIVER TISSUAL
CHANGES IN UNLINEAR
IMMUNOCOMPROMETIVE
LABORATORY MIKE WITH
THE BARTONELLOSUS
INFECTION

*S. I. Pokhil,
I. I. Torianik,
E. N. Timchenko,
N. A. Chigirinsky,
I. A. Kostyria,
T. A. Kruglova*

The unification approach to the creation of the bartonellosus infection model in the unlinear immunocomprometive laboratory male and female mike is presented in the article. The examinational material are in the male and female mike (of the 4-th-6-th need age's (n=53), the 11-18 g by weight). The purpose of the experiment's are achieving by the seding bartonellosus infection means of the basic structures and blood vessels of the liver, digestive system damages, that similar with the such in a human in a case of the development of a traditional clinic pathology. The results are evaluated to character of the morphological changes (destructive and degenerative alterations, necrosis, lymphadenopathy, inflammatory (alterative) processes. Sum upping, of capable of the achievement, we are noting carried out experiment's efficiency and the using optimistic perspective of the extrapolative data in the capacity as a foundation for the further of the newest methods of the bartonellosis.

Key words: *pathomorphological changes, experimental barthonellosis, laboratory male and female mike, liver, lymphadenopathy, inflammatory (alterative) processes.*