

УДК: 616.72-002.77+616.073.24

ВПЛИВ СТАФІЛОКОКОВОЇ ІНФЕКЦІЇ НА СТРУКТУРНУ ОРГАНІЗАЦІЮ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ТА ЙОГО СУДИН У ЩУРІВ ЛІНІЇ ВІСТАР В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Торяник І.І., Казмірчук В.В.

ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І.І. Мечникова НАМН України»

Гострою проблемою сучасної медицини залишається діагностика, лікування та профілактика інфекційних захворювань. Серед них не останнє місце займає стафілококова інфекція, що постійно трансформує власний клініко-біологічний профіль, демонструє виразний поліморфізм, характеризується складним, мало передбаченим перебігом, високою резистентністю до нових антибіотичних препаратів [1]. Особливості патогенезу стафілококової інфекції, біологічних властивостей збудника забезпечили зазначеній нозологічній формі певне місце в сучасній інфектології та окреслили коло завдань, вимагаючих свого термінового розв'язання. Серед останніх: дослідження структурно-функціональних аспектів стафілококової інфекції, вивчення найбільш чітких та віддалених ефектів впливу, нейрогуморальні механізми взаємодії з організмом хазяїна. Подальший пошук та визначення її морфологічних маркерів та розширення спектру таргетних органів [5]. Із огляду на останнє, дослідження впливу стафілококової інфекції на структурну організацію головного мозку щурів лінії Вістар в експерименті видається перспективним [4,6].

Метою зазначеного дослідження було вивчити морфологічні зміни у тканинах головного мозку щурів лінії Вістар із стафілококовою інфекцією

Матеріал та методи дослідження

Постмортально досліджували шматочки головного мозку, його оболонки, судин (розміром 0,5 куб.см) контрольних та експериментальних самців щурів лінії Вістар із стафілококовою інфекцією. Секційний матеріал, взятий від тварин, обережно видаляли, відокремлювали шматочки з ділянками коркової та мозкової речовини, фрагментами магістральних судин [6]. Ретельно промивали у проточній воді. Фіксували не менше 24 годин у 12 %-му розчині формаліну на фосфатному буфері (рН=7,0-7,2), при $t^0 = 18-20^0 \text{ C}^0$ у склокерамічному посуді із щільно притертими корками. Далі зневоднювали методом проведення матеріалу через систему розчинів етилових спиртів від 30^0 до абсолютного спирту включно, заливали у смоли (парафін/целоїдин за потребами дослідження). З парафінових/целоїдинових блоків виготовляли серії гістологічних зрізів товщиною 10-15 мкм. З метою детального вивчення будови окремих мікроструктур головному мозку, його оболонки, судин препарати різали за

допомогою мікромому (МК-25, Росія) в одній із трьох взаємно перпендикулярних площин (фронтальній, горизонтальній, сагітальній). Отримані зрізи забарвлювали у залежності від задач пошуку, його стратегії, з урахуванням типу тканини (гематоксилін-еозин, імпрегнація азотно-кислим сріблом за Кахалем, залізним гематоксиліном за Рего). Гістологічне дослідження речовини головного мозку, його оболонок, судин проводили за традиційною схемою, поетапно.

Для мікроскопічного аналізу матеріалу застосовували світлооптичну систему мікроскопу Біолам П2-1, ЛОМО (Росія) та Ліеса (Німеччина) (x 100; x 200; x 300; x 400; x 600). Дослідженню піддавали коркову та мозкову речовини півкуль головного мозку, його оболонки, судини, латеральні шлуночки, пара- та гіпокампульні зони, підкоркові ядра. Співставлення контрольних зразків із клінічними проводили у порівняльному аспекті. Мікроскопічному вивченню підлягали ділянки з вогнищами запалення, крововиливів, некрозів, деструктивно-дегенеративних змін, регенерації. Конкретизації належали зміни у судинному руслі (стази, тромбози, діapedез еритроцитів, агрегатні властивості). Результати заносили до робочого журналу з морфологічних досліджень експериментального матеріалу.

Результати дослідження та їх обговорення

Оглядом-порівняльним макромікроскопічним дослідженням зразків нативних препаратів головного мозку та його оболонок (перша, третя, сьома, чотирнадцята доба спостереження) у щурів контрольної та експериментальних груп надало перші істотні результати та зорієнтувало у виборі подальшої стратегії. Детальний аналіз макроструктурних особливостей головного мозку тварин, що належали до контрольної групи, свідчив на користь відповідності останніх статеві-віковим показникам функціональної норми. Кожна із півкуль характеризувалась виразним рельєфом поверхні, який утворювався за рахунок часток і закруток великого мозку. Сіра та біла речовини залишались чітко диференційованими, без вогнищ некрозів. Випадків крововиливів, кальцинозу, поверхневих чи глибоких дефектів речовини головного мозку, його оболонок встановлено не було. Запальні явища, набряк у досліджених препаратах зареєстровані не були.

Мікроскопічно у кожен із експериментальних строків спостерігали ідентичну для кожної із підгруп, сталу картину. Кора великого мозку чітко диференційована, її шари (молекулярний, зовнішній, внутрішній зернисті, пірамідних клітин) добре позначені. Базовий компонент коркової речовини належить тілам нейроцитів, пов'язаним із ними клітинами глії. Ядра нейронів дифузно розосереджені, контрастні. Цитоплазма нейроцитів виражена слабо, прозора, обмежена ледь помітною межею мембрани. Судини представлені у вигляді продовгуватих, овальної форми щілин. Значна кількість мікросудин

локалізувалась по периферії гістологічного зрізу, у безпосередній близькості до фрагментів оболонки головного мозку. Явищ тромбоутворення, стазів, дефектів шарів стінок, діapedезу еритроцитарних клітин у паравазальний простір виявлено впродовж усієї сесії експерименту не було. Фактів кальцинозу, розвитку запальних реакцій, набряку, проліферації гліального компоненту не зареєстровано. Мієлінові та безмієлінові волокна чітко контрастовані. Увесь термін експерименту з урахуванням кожного із запланованих строків контрольного дослідження спостереження мікроструктура головного мозку щурів лінії Вістар 3-х-місячного віку відповідала показникам статеві- вікової норми.

Результати морфологічного аналізу секційного матеріалу, взятого від особин експериментальної групи (стафілококова інфекція), продемонстрували наявність властивих для ішемії розладів. Останні носили фазний характер та залежали від строків відтермінованості дебюту процесу зараження, глибини ушкодження, величини його топографічних зон. У зв'язку із вище зазначеним спостереження проводили послідовно, з урахуванням критичних періодів розвитку ознак ішемії та її природного безмедикаментозного усунення.

Макромікроскопічне дослідження препаратів нативного головного мозку самців щурів лінії Вістар з експериментальної групи (перша доба) продемонструвало наявність структурних критеріїв запальних процесів. Останні чітко позначались на рельєфі півкуль кори великого мозку, його оболонки, судин. Реєструвались *ad oculi*. Серед них привертало до себе увагу осередки набряку, вогнищевих запалень. Речовина головного мозку у ділянках розвитку ішемії та зонах наближених до них була дрябчастою, дещо крихкотливою. Колір змінювався до палево-рудого, сіро-коричневого. Пружність тканини помітно зменшувалась. У окремих ділянках оболонки мозку склеювались, у декількох випадках (n=4) спостерігали незначні за розмірами дефекти (розриви) оболонки. Явищ кальцинозів, ознак розвитку онкопроцесів встановлено не було. У випадках передчасної смерті тварин (n=27, що становило 25% від загального числа досліджених особин) макромікроскопічний аналіз проводили у відповідності до загальної схеми експерименту. Трепанція відбувалась відразу по факту констатації загибелі. Причини ретельно аналізували.

У гістологічних препаратах, отриманих від тварин експериментальної групи, забарвлених як гематоксиліном та еозином, так і залізним гематоксиліном за Рего чи імпрегнованим азотно-кислим сріблом за Кахалем спостерігали (перша доба спостереження) ділянки некрозу, що розповсюджувались на кору півкуль великого мозку. Зони тканини, що розташовувались поруч із ушкодженими, утримували лейкоцитарні інфільтрати, видавались більш контрастними, ніж сусідні прозора забарвлені. Одними із найбільш характерних діагностичних критеріїв розвитку патологічного

процесу ставали вогнища запальних процесів, що поступово призводили до деструкції кори мозку та у подальшому-некрозу. Зони останніх утримували елементи клітинного пулу із руйнованих нейроцитів [3]. Їхні ядра характеризувались гомогенністю та гіперхромністю, схильністю до повторення форми клітини (витягнута, різка). Аналіз окремих препаратів головного мозку щурів, однак, не надав можливості, гістологічної реєстрації тотального некрозу, зон генералізації вогнищ «розм'якнення», організації повноцінного гліального рубця. Мікроскопічно на цьому тлі виявляли загибель нейроцитів кори (фаза неповного некрозу) [8].

Іпсілатеральна півкуля характеризувалась дифузним розповсюдженням нейронів кори, що реєструвались у різноманітних зонах та полях останньої. Контрлатеральна півкуля утримувала поодинокі, мало чисельні розруйновані нервові клітини. По мірі віддаленості від осередків ішемії, чисельність ушкоджених клітин значно зменшувалась, однак, характерні ознаки руйнації, гіперхроматозу залишались.

Звертали на себе увагу зміни ендотелію судин, що були пов'язані із гетерогенністю останнього та його спроможністю до десквамації за умов постнатального онтогенезу. Згадані феномени провокували у подальшому інтенсивну міграцію лейкоцитів, «розплавлення» некротизованої тканини, «розм'якнення» структур в ушкоджених ділянках. Ці процеси додавали свого внеску у патогенез ішемічного розладу, що розвивався на тлі масштабної емболії. На гістологічних зрізах фіксували емболи у вигляді тубул з чисельними еритроцитарними тромбами, котрі щільно контактували з внутрішнім шаром судин. З часом у досліджених зонах розвивались дефекти шарів стінки, запалення, набряк. Останнє, у подальшому, можливо, сприяло тканьовій ізоляції судин та майбутнього розвитку тканьової гіпоксії. Зазначені факти сприяли появі додаткових причин щодо посилення структурних змін у судинній стінці. Останнє, безперечно, підсилювало розвиток ішемії.

Третя доба експерименту позначалась посиленням інфільтрації різними клітинними елементами, головним чином, лімфоцитами, невеликою кількістю макрофагів та еозинофілів. Некротичні вогнища були повністю сформовані, носили розповсюджений характер. Мікроскопічно тканина на місці формування некротичних видалася порохнявою, крихкою, дірчастою, із блідим, майже прозорим забарвленням (гематоксиліном-еозином). Вони відрізнялись схильністю до генералізацій та формування великих ділянок вогнищ. У згаданих вище ділянках діагностували діapedез еритроцитарних клітин у паравазальний простір, набряк, некробіотичні зміни гліальних компонентів, ішемію [2]. На межі із зоною ушкодження спостерігали чисельні гіперхромні нейроцити. У зв'язку із тим, що судини зазначеної області характеризувались підвищеною проникливістю стінок, навколо них з'являлись скупчення клітинних

елементів. Вони долучали лейкоцити, плазматичні клітини, подекуди-еозинофіли та загалом формували периваскулярні муфти.

Ендотеліальні клітини характеризувались ознаками гіперхромності ядра, зсувом останнього у напрямку одного із полюсів клітини, появою гетерохроматину. На відміну від препаратів контрольної групи, контакти між клітинами в судинах секцій від тварин експериментальної групи, були ослаблені, у поверхневому шарі формувалися щілини. Переваскулярний набряк, який виникав у результаті підвищеної проникливості, призводив до певної ізоляції окремих судин від оточуючих тканин з наступним розвитком тканинної гіпоксії. Таким чином, утворювались додаткові причини, що погіршували будову судинної стінки [2, 7].

Іншою особливістю ендотеліальних клітин (на цей період) стали ознаки посилення гідратації, пов'язані із ними поступове зростання внутрішньоклітинного набряку, вщерть до розплавлення ламінарного краю цитоплазматичних мембран, яке вказувало на підхід рідини із субендотеліального простору. Не виключено, що саме цей фактор призводив до масивного викиду гістаміна. У зв'язку із чим відмічена в певній групі препаратів мікровезикуляція ставала захисною реакцією, що була направлена на елімінацію і утилізацію надлишків рідини та розчинених у ній речовин із тканини у кров. Разом із тим, мікровезикуляція призводила до патологічного утворення пор у ендотелії, що суттєво змінювало його бар'єрні властивості, підвищувало проникливість клітинних мембран. Таким чином, вищезазначені процеси сприяли виснаженню мембранного потенціала/резерва та певним чином пригнічували захисну реакцію мікровезикуляції в ендотелії [10]. У безпосередній близькості від ушкодженої ділянки зосереджувались тромбоцитарні пластини та окремі мегакаріоцитами з ознаками секвестрації. В більш віддаленому діапазоні спостереження відмічались помітні деструктивно-дегенеративні зміни стінок судин, десквамація клітин поверхневого шару. Зміни адгезивних властивостей еритроцитів, вірогідні зміни в системі згортання крові призводили до появи мікротромбів у судинах, сприяли порушенню трофіки оточуючої тканини, розвитку мікробіотичних процесів. Можна було б припустити, що гіперагрегація еритроцитів сприяла різкому збільшенню вмісту у крові вільних еритроцитарних агрегатів-мікротромбів. На мікропрепаратах було добре помітно, що саме мікротромби у ряді випадків призводили до повної або часткової блокади кровопостачання в окремих ділянках мікроциркуляторного русла, зменшенню кількості функціонуючих капілярів та артеріоло-венулярних анастомозів, що надалі викликало склеротичні зміни у оточуючих тканинних структурах [5,9].

Зазначений період дослідження знаменувався початком процесів активного формування колагенових волокон (сьома доба експерименту).

Активація процесів перекисного окислення ліпідів, зменшення вмісту холестерина, різке зростання рівня вільних жирних кислот у мембранах ендотеліоцитів, еритроцитів, зміни внутрішньоклітинної концентрації гемоглобіну в еритроцитах призводили до ушкодження структури білкового цитоскелету.

На чотирнадцяту добу спостереження утилізація клітинного детриту в тканинах головного мозку спостерігалось на усій площі ушкодженої області. В цей період ще спостерігались ознаки запальних реакцій (інфільтрація у переважній більшості нейтрофілами та макрофагами). На місті вогнищ колишніх некрозів формувались повноцінні кисти та псевдо кисти. Окремі ділянки останніх мали оболонки, що відокремлювали порожнини від сусідніх з ушкодженими зон. Інші знаходились лише на первинних етапах формування останніх. Структурно згадані структури утворювались гліальними клітинами. В окремих зразках матеріалу спостерігали маловиразну, обережну мієлінізацію нервових волокон, навіть, синапсогенез [11].

У разі розвитку об'ємних ділянок некрозів, коли патологічний процес стосувався не лише кори півкуль головного мозку, але й субкортикальних структур, на межі ушкодження спостерігалась поява значної кількості капілярів, клітин сполученої тканини, гліальних клітин. У сусідніх із ішемізованою зоною, як і у випадках, що реєстрували на ранніх етапах, спостерігали малочисельні, дифузно розосереджені ушкоджені нейрони [12,13]. У розташованих поруч із ділянками некрозу зонах визначали порушення структури кори, у окремих випадках відсутність першого та другого шарів. Ділянки з ознаками клітинної проліферації виявлені не були.

Структурна організація судин на цей період дослідження залишалась збереженою. На зрізах отвори мікросудин- виразні, чіткі, контрастні. Шари стінок без ознак ушкоджень. Випадків діapedезу еритроцитів не встановлено, паравасальні крововиливи відсутні.

Висновки

Зміни у тканинах головного мозку щурів носили послідовний фазний характер; за своєю структурно-функціональною сутністю були поліморфічними, виявляли чітку залежність від доби спостереження та відтермінованості строків дебюту захворювання, полягали у розвитку запального процесу (інфільтрати, проліферативні явища), подальшої деструкції, дегенерації (вогнища гіозу) та некрозу життєво важливих для тварин ділянок кори.

References

1. Antonov P.V. Modern state of chronic and slow neuroinfections / P.V. Antonov, V.A. Tchinzlerling //Archiv patologii.- 2001. - V. 63. - P. 47-51. Russian.

2. Circujation chahges in brain and spinal cord /I.V. Damulin, V.A. Parfionov, L.L. Skorometch'// Nervous system diseases: in adit. by N. L. Jachno, D. R.Shul'man. - M, 2003. - P. 231-302. Russian.
3. Neurobiological base of remielinization in CNS /V. P. Chekhonin, M.V. Davidovskaya, S.V. Lebedev et al. //Vestnik Rossiyskoy Akademii medicinskich nauk [Вестник Российской Академии медицинских наук]. - 2003. - № 8. -P. 43-52. Russian.
4. Nozdrachov A.D., Poliakov E.L.; in edit. by acad. A.D. Nozdrachov. Rat Anatomy: (laboratory animals). StP.: Lan' 2001: 464. Russian.
5. A new cerebral protective way from global ischemia /V. I. Kulinskiy, L.N. Minakina, S.S. Gavrulina // Zchurnal nevrologii i psichiatrii imeni S.S. Korsakova.- 2006. -V.17. - P. 77-86. Russian.
6. Andriessen T. M. J. C. Clinical characteristics and pathophysiological mechanisms of focal and diffuse traumatic brain injury / T. M. J. C. Andriessen, B. Jacobs, P. E. Vos // Journal of Cellular Molecular Medecine. — 2010. — Vol. 14, N 10. — P. 2381—2392.
7. Кондаков И.И. Морфологические маркеры дисфункции эндотелия при экспериментальном атеросклерозе / И.И. Кондаков // Кровообіг та гомеостаз. - 2005. - № 3-4. - С. 94-96.
8. Фалько О.В. Экспресс-диагностика морфологических особенностей эндотелия аорты кроликов при экспериментальном атеросклерозе / О.В. Фалько, В.В. Волина, О.В. Липина, О.С. Прокопюк, И.И. Кондаков // Світ медицини та біології. - 2009. - № 3. - С. 164-169.
9. Go V.L. The new world of medicine: prospecting for health / V.L. Go, M.C. Champaneria // Nippon Naika Gakkai Zasshi. - 2002. - Vol. 20. - P.159-163.
10. Focal cerebral ischemia in the rat: topography of hemodynamic and histopathological change / G. Tyson, G. Teasdale, D. Graham, J. Mc Culloch // Annales of Neurology. - 2004. - Vol. 15. - P. - 559-567.
11. Myelination in the human hippocampal formation from midgestation to adulthood / H. Abrahám, A. Vincze, I. Jewgenow [et al.] // International Journal of Neurosciences. — 2010. — Vol. 28, N 5. — P. 401—410.
12. Vascular endothelial growth factor (VEGF) isoform regulation of early forebrain development / D. C. Darland, J. T. Cain, M. A. Berosik [et al.] // Developmental Biology. — 2011. — Vol. 358. — P. 9—22.
13. Xiong Y., Mahood A., Choop M. Angiogenesis, neurogenesis and brain recovery of function following injury // Curr. Opin Investig. Drugs.-2010.-Vol.-11.-P.298-308.

УДК: 616.72-002.77+616.073.24
ВПЛИВ СТАФІЛОКОКОВОЇ ІНФЕКЦІЇ НА
СТРУКТУРНУ ОРГАНІЗАЦІЮ ГОЛОВНОГО
МОЗКУ ТА ЙОГО СУДИН У ЩУРІВ ЛІНІЇ
ВІСТАР В ЕКСПЕРИМЕНТІ
Торяник І.І., Казмирчук В.В.

У статті представлені дані щодо структурної організації головного мозку та його судин у щурів лінії Вістар із стафілококовою інфекцією в експерименті. Мета експерименту досягалась шляхом отримання характерних уражень від стафілококової інфекції певних структур головного мозку та його мікросудин, схожих із тими, що виникали у людини у разі розвитку традиційної клінічної патології. Результати оцінювали за характером виявлених морфологічних змін (деструктивно-дегенеративні ушкодження кори головного мозку, стінок мікросудин, запальні процеси).

Ключові слова: стафілококова інфекція, структурна організація, головний мозок, судини, щури лінії Вістар, експеримент.

УДК: 616.72-002.77+616.073.24
ВЛИЯНИЕ СТАФИЛОКОККОВОЙ ИФЕКЦИИ
НА СТРУКТУРНУЮ ОРГАНИЗАЦИЮ
ГОЛОВНОГО МОЗГА И ЕГО СОСУДОВ У
КРЫС ЛИНИИ ВИСТАР В ЭКСПЕРИМЕНТЕ
Торяник И.И., Казмирчук В.В

В статье представлены данные, касающиеся структурной организации головного мозга и его сосудов у крыс линии Вистар со стафилококковой инфекцией в эксперименте. Цель исследования достигалась путем получения характерных повреждений в результате развития стафилококковой ифекции в определённых структурах головного мозга и его микрососудов, сходных с такими же у человека в результате традиционной клинической патологии. Результаты оценивали по характеру выявленных морфологических изменений (деструктивно-дегенеративне повреждения коры головного мозга, стенок микрососудов, воспалительные процессы).
Ключевые слова: стафилококковая инфекция, структурная организация, головной мозг, сосуды, крысы линии Вистар, эксперимент.

UDC: 616.72-002.77+616.073.24
THE INFLUENCE OF THE STAPHYLOCOCCUS
INFECTION TO THE STRUCTURAL
ORGANIZATION OF WISTAR RATS BRAIN AND
CEREBRAL BLOOD VESSELS
Torianik Inna I., Kazmirchuk Victor V.

In this article there are a dates about the influence of the staphylococcus infection to the structural organization of Wistar rats brain and cerebral blood vessels in experiment. The purpose of the experiment's are achieving by the seding staphylococcus infection means of the characterical structures of the brain and cerebral blood 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 (brain cortex and cerebral blood vessels destructive and degenerative alterations, inflammatory processes).

Key words: staphylococcus infection, structural organization, brain, cerebral blood vessels, Wistar rats, experiment.