

УДК 619:616.993.192.66:612

С.І. Похил, І.І. Торяник, О.М. Тимченко, Н.А. Чигиринська, І.А. Костира
ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМНУ»,
м. Харків

МІКРОАНАТОМІЯ СЕЛЕЗІНКИ НЕЛІНІЙНИХ МИШЕЙ У НОРМИ І ПРИ БАБЕЗІОЗНІЙ ІНФЕКЦІЇ

В експерименті на лінійних мишах показано, що бабезіозна інфекція носила генералізований характер, призводячи до виникнення гіперпластичних реакцій у лімфоїдному апараті селезінки, порушень мікроциркуляції внаслідок розвитку тромбоемболічних процесів і подальших розладів трофіки. Все зазначене сприяло виснаженню організму тварин і леталізації окремих особин, що належали до обстеженої популяції.

Ключові слова: миші, селезінка, бабезіоз.

На сьогодні провідні світові лідери з проблем вивчення трансмісивних антропоозонних інфекцій б'ють на сполох у зв'язку з підвищенням кількості захворювань на бабезіоз [1–3]. Ця небезпечна інфекція широко розповсюджена, характеризується чисельними клінічно-значущими видами, з доволі непростю палітрою біологічних властивостей [4]. Бабезіозу властиві фазність перебігу, іноді клінічна непередбаченість, складний маловивчений симптомокомплекс [5]. Спеціалісти із різних галузей сучасної інфектології відмічають виразну панорамність бабезіозу, великі перспективи його дослідження [6, 7]. Подальшому осмисленню підлягають питання щодо вірогідності контамінації бабезіями донорської крові та її компонентів, стан морбідності, процеси можливого накопичення паразитів у організмі експериментальних тварин (як прототипів екстраполятивного аналізу природного резервуара), власне перебіг бабезіозних інвазій [8]. Потребують поглибленого дослідження патогенез бабезіозу, структурно-функціональні маркери цієї інфекції, реакції імункомпетентних органів на вторгнення паразита [9]. З огляду на останнє, вивчення мікронатомії селезінки нелінійних мишей у нормі і при бабезіозній інфекції є актуальною проблемою як для сучасної клінічної медицини, так і для її превентивної галузі.

Матеріал і методи. Матеріалом започаткованого дослідження стали шматочки селезінки (5x5 мм) самиць нелінійних мишей віком від 4 до 6 тижнів, масою 11–18 г з попередньо

детектованою бабезіозною інфекцією. В групу порівняння (інтактного контролю) увійшли тварини, що за статеві-віковими та анатомічними показниками цілком відповідали експериментальним особинам. При виконанні мікроскопічного аналізу структурно-функціональних змін в органі матеріал фіксували у 12 %-вому розчині формаліну на фосфатному буфері з рН = (7,0–7,2) при температурі 18–20 °С. Далі зразки секційного матеріалу зневоднювали методом проведення через батареї етилових спиртів підвищеної концентрації від 30 % до абсолютного спирту (100 %) включно. Із отриманих блоків виготовляли серії гістологічних зрізів товщиною 10–15 мкм. Препарати різали за допомогою санної мікротомі. Зрізи забарвлювали гематоксилін-еозином, азур-еозином, за ван Гізон, Браше. Мікроскопічний аналіз матеріалу проводили із застосуванням оптичної системи мікроскопа ЛОМО, м. Санкт-Петербург (×300, ×600, ×1350). Дослідженню піддавали капсулу, субкапсулярну зону, білу і червону пульпу селезінки, періартеріальні дистальні і проксимальні муфти, лімфоїдні вузлики, мікросудини. Особливу увагу приділяли вивченню феноменів запалення, діapedезу еритроцитів, некрозу. Обов'язково звертали увагу на факти наявності чи відсутності стазу, тромбозу, змін агрегатних властивостей еритроцитів, сладжування останніх. У разі виявлення схожих морфологічних ознак аналіз останніх проводили сумарно.

Результати та їх обговорення. Макро-мікроскопічний аналіз препаратів селезінки

© С.І. Похил, І.І. Торяник, О.М. Тимченко та ін., 2014

мишей показав, що в контролі на поздовжньому зрізі орган має витягнуту форму. По периферії орган оточує у вигляді тонкої лінії капсула, що утворена сполучнотканинним компонентом. Її колагенові волокна забарвлені у рожевий і темно-рожевий кольори (гематоксилін-еозин). Із середини до капсули і воріт селезінки відходять чітко диференційовані трабекули, які радіально розгалужуються в товщі органа. Більшість із них утримують різні за розмірами артеріальні й венозні судини. Стінки трабекулярних артерій добре структуровані, складаються із трьох оболонок: внутрішньої, середньої та зовнішньої. Слизова внутрішньої оболонки вистелена ендотеліальними клітинами, що мають овоїдну форму, виразне ядро, напівпрозору цитоплазму та зосереджені на внутрішній еластичній мембрані. На гістологічних зрізах остання має вигляд темної волокнистої лінії. Середня оболонка сформована спірально розташованими гладкими м'язовими клітинами, окресленими темною смугою зовнішньої еластичної мембрани. Наружня оболонка доволі широка, утворена виключно еластичним компонентом, у товщі якого зосереджені чисельні *vasa vasorum*.

На контрольних препаратах добре видно, що трабекулярні артерії селезінки відрізняються помітною просторовою динамікою. Залишаючи трабекули, останні радіально розповсюджуються в товщі пульпарного компонента, тісно контактують із лейкоцитарним пулом. Саме ним утворюються структури овальної, круглої, витягнутої форм – лімфоїдні вузлики, періартеріальні лімфоїдні муфти (на препаратах завжди розташовані дистально). На зрізах, що виконані у трьох взаємно перпендикулярних площинах, чітко визначаються термінальні розгалуження пульпарних артеріол, що утримують чисельні еритроцитарні клітини. Аналогічні за складом клітинні популяції відмічаються в отворах артеріол, що перетинають пульпарні простори маргінальних зон лімфоїдних вузликів, проксимальних і дистальних лімфоїдних муфт. Зазначений факт можна розглядати як опосередковане підтвердження адекватної функціональної активності судинної системи селезінки тварин контрольної групи та, відповідно до цього, трофічних процесів у органі. У переважній більшості вузликів мишей артерії зосереджені ексцентрично чи маргінально. Можливо, ступінь їхнього зміщення

залежить у певній мірі від площі лімфоїдного вузлика, маргінальної, мантійної зон і, що не менш важливо, від характеру та сили функціонального напруження органа, котре щонайкраще ототожнюється у разі наявності чи відсутності стрес-факторів, різних за своєю природою. Маргінальна зона розташовується між морфометричною межею власне лімфоїдних вузликів, періартеріальних муфт та червоною пульпою селезінки. На препаратах відповідним чином позначається велика чисельність термінальних артерій із достатніми запасами депонованої крові, надлишки якої заповнюють об'ємні простори на межі із білою пульпою – маргінальні синуси. Маргінальні синуси відокремлюються тонкою пластиною ретикулярних волокон від основної речовини білої пульпи у вигляді так званих перинодулярних кіл (добре розрізняються у разі забарвлення за ван Гізон і Браше). У певних випадках периферійні ділянки маргінальних синусів вільно відкриваються безпосередньо в синуси червоної пульпи. Термінальні розгалуження пульпарних артеріол щільно притиснені лейкоцитарним пулом. Серед зрілих лейкоцитарних клітин нерідко спостерігаються гематопоеичні острівці, ділянки гранулопоезу, скупчення плазмоцитів. Ретикулярна сітка чітко диференційована, оточує білу пульпу з периферії. Її структурні компоненти утворюють міцний каркас органа. Венозні синусоїди мають збережену структуру, заповнені еритроцитарними клітинами, що формують цілісні еритроцитарні поля.

Визначення особливостей прояву місцевого імунітету у відповідних ділянках селезінки із використанням арсеналу засобів мікроскопічного аналізу, безперечно, сприяло об'єктивізації започаткованого дослідження та цілковитому осмисленню структурно-функціональних змін, що відбувались у її стромальному і пульпарному компонентах на тлі перебігу експериментальної бабезіозної інфекції. Результати гістологічних досліджень продемонстрували наявність гіпертрофічних змін пульпарного компонента, виразних судинних реакцій, з розвитком характерних запальних процесів, що хрестоматійно супроводжувались інфільтрацією та проліферативними феноменами [1, 2]. Субкапсульна зона диференційована, структура колагенових волокон капсули та радіально розгалужених трабекул помітно змінена на користь дисоціативних розладів,

у окремих ділянках з вогнищами набухання, розм'якнення стромальних компонентів. В окремих ділянках спостерігалось формування просторів, порожнин із слідами накопичення геморагічного ексудату чи скупчень еритроцитарних клітин. В окремих випадках капсульний компонент виглядав витонченим, містив дефекти шарів, вогнища деструктивних процесів, прояви некротичних змін, зони явного склерозу. На межі із фрагментами тканини білої та червоної пульпи реєстрували чисельні випадки крововиливів, виразний параваскулярний набряк. Ушкоджені судини містили ознаки локальних порушень кровообігу на тлі стазу, тромбозу, що діагностували в окремих ділянках мікроруслу та яким передували виразні ушкодження ендотеліальних оболонок зазначених структур. Будова шарів стінок у представлених препаратах порушена, черговість розташування змінена, деякі шари встановити не уявлялося можливим. Факти розволокнення останніх були достатньо виразними, зустрічались майже в кожному третьому випадку спостережень. В окремих некропсіях визначались механічні дефекти тубулярного скелета судин, що вели до утворення скупчень еритроцитів, тромбоцитарних пластин, окремих мегакаріоцитів з ознаками активної секвестрації (x1350). Поверхня внутрішньої оболонки була з ознаками десквамації ендотеліальних клітин, що фігурували як у вигляді поодиноких клітин, так і доволі широких пластів, фрагментів, розташованих щерть до середньої оболонки. Ушкодження мікросудинного русла призводило до утворення дефектів стінок останнього, а далі до очікуваної реакції з боку еритроцитарної ланки (діapedезу). Вказані мікроанатомічні зміни ставали об'єктивним підґрунтям для розвитку трофічних змін в організмі експериментальних тварин та їх подальшого виснаження [3, 7].

Біла пульпа селезінки містила ознаки мікро- та макрофолікулярної гіперплазії, що стосувалась у переважній більшості структур лімфатичних вузликів, маргінальних зон про-

ксимальних і дистальних періартеріальних муфт. Гіперпластичні процеси призводили до дезорганізації будови лімфоїдного апарату селезінки, його деструкції, дегенерації. Вогнища запальних процесів («феномен шахівниці») чергувались із зонами некрозу і ділянками з проявами фагоцитарної активності. Саме ці фрагменти лімфоїдних вузликів і муфт нараховували чисельні макрофаги, уламки лімфоцитів, плазмоцитарних клітин. У разі тяжкого виснаження мікроскопічно було діагностовано щедрий клітинний детрит, у субкапсулярних зонах – склеротичні зміни. Синуси та синусоїди червоної пульпи помітно розширені. На горизонтальних зрізах відзначалися витончені, спалі стінки, ледь помітні вапняні перегородки, крихкі трабекулярні каркаси; при великому збільшенні (x1350) у венозних отворах чисельні скупчення зрілих еритроцитарних клітин у вигляді подвійно вигнутих дисків, мікро- і макрокульок, овоїдів. У цитоплазмі окремих включення овоїдної форми, ексцентричного розташування. Популяція циркулюючих еритроцитів поліморфна. Цитологічний спектр представлений ехіно-, стомато-, дегматоцитами. Як структурно-функціонально спроможні клітини, так і ушкоджені форми еритроцитарних клітин утворювали чисельні складжі (феномен «монетних стовпчиків»). У межових ділянках пульпарного компонента відмічали інфільтрацію, що носила виразний лімфогістіоцитарний характер. Загальний цитологічний дизайн доповнювався появою моноцитів, еозинофільних гранулоцитів, подекуди плазмоцитарних клітин.

Висновки

Експериментальний бабезіоз у нелінійних мишей носив генералізований характер, призводячи до виникнення гіперпластичних реакцій у лімфоїдному апараті селезінки, порушень мікроциркуляції внаслідок розвитку тромбоемболічних процесів і подальших розладів трофіки. Все зазначене сприяло виснаженню організму тварин і леталізації окремих особин, що належали до обстеженої популяції.

Література

1. Abrams Y. Complications of confection with Babesia and Lyme disease after splenectomy [Electronic resource] / Y. Abrams // JABFM – 2008. – Vol. 27, № 1. – P. 75–77. – Mode of access : <http://www.jabfm.org>
2. First report of human Babesiosis in Australia / S.N. Senanayake, A. Paparini, M. Latimer [et al.] / Med. J. Aust. – 2012. – Vol. 196, № 5. – P. 350–352.

3. *Yabsley M.* Natural history of zoonotic babesia: role of wildlife reservoirs / M.J. Yabsley, B.C. Shock // Intern. J. Parasitol. : Parasites and Wildlife. – 2013. – Vol. 2. – P. 18–31.
4. *Ano H.* Detection of Babesia species from infected dog blood by polymerase chain reaction / H. Ano // J. Vet. Med. Sci. – 2010. – Vol. 63, № 1. – P. 111–113.
5. Transfusion-transmitted Babesia microti identified through hemovigilance / L. Tonnetti, A.F. Eder, B. Dy [et al.] // Transfusion. – 2009. – Vol. 49. – P. 2557–2563.
6. *Clenluch S.* The first detection of Babesia EU1 and Babesia canis in Ixodes ricinus ticks (Acari, Ixodidae) collected urban and in northern Poland / S. Clenluch, J. Stanzaka, A. Ruczaj // Polish J. Microbiol. – 2009. – Vol. 58, № 3. – P. 231–236.
7. *Gray J.* Zoonotic babesiosis: overview of the disease and novel aspects of pathogen identity / J. Gray, A. Zintl, A. Hildebrandt, [et al.] // Ticks and Tick-borne Diseases. – 2010. – Vol. 1. – P. 3–10.
8. *Bonnet S.* Experimental in vitro transmission of Babesia sp. (EU1) by Ixodes ricinus / S. Bonnet, N. Brisseau, A. Hermouet, [et al.] // Vet. Res. – 2009. – Vol. 40. – P. 1–8.
9. *Дубова О.А.* Патогістологічні характеристики синдрому дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові (ДВЗ) за бабезіозу собак / О.А. Дубова // Науковий вісник ЛНАВМ ім. С.З. Гжицького. – 2007. – Т. 9, № 2 (33). – С. 46–51.

С.И. Похил, И.И. Торяник, О.М. Тимченко, Н.А. Чигиринская, И.А. Костыря

МИКРОАТОМИЯ СЕЛЕЗЕНКИ НЕЛИНЕЙНЫХ МЫШЕЙ В НОРМЕ И ПРИ БАБЕЗИОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

В эксперименте на линейных мышцах показано, что бабезиозная инфекция носила генерализованный характер, приводя к возникновению гиперпластических реакций в лимфоидном аппарате селезенки, нарушений микроциркуляции вследствие развития тромбоземболических процессов и дальнейших расстройств трофики. Все указанное способствовало истощению организма животных и летализации отдельных особей, принадлежавших к исследуемой популяции.

Ключевые слова: *мышцы, селезенка, бабезиоз.*

S.I. Pokhil, I.I. Toryanik, O.M. Timchenko, N.A. Chigirinska, I.A. Kostiryia

MICROANATOMY OF SPLEEN OF NONLINEAR MISE IN NORM AND AT BABEZIOZ OF INFECTION

In an experiment it is showed on linear mise, that a babeziroz infection carried generalized character, resulting in the origin of hyperplastic reactions in the limfoid apparatus of spleen, violations of microcirculation, as a result of development of tromboembolic processes subsequent disorders of trophism. All the marked was instrumental in exhaustion of organism of zones and letaltation of separate individuals which belonged to inspected population.

Key words: *mises, spleen, babeziroz.*

Поступила 16.04.14