

УДК 619:616.993.192.66:612

**C.I. Похил, І.І. Торяник, О.М. Тимченко, Н.А. Чигиринська, І.А. Костирия**

**ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМНУ»,  
м. Харків**

## **МІКРОАНАТОМІЯ СЕЛЕЗІНКИ НЕЛІНІЙНИХ МИШЕЙ У НОРМІ І ПРИ БАБЕЗІОЗНІЙ ІНФЕКЦІЇ**

В експерименті на лінійних мишиах 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 антропозоонозних інфекцій б'ють на сполуху з уз'язку з підвищением кількості захворювань на бабезіоз [1–3]. Ця небезпечна інфекція широко розповсюджена, характеризується чисельними клінічно-значущими видами, з доволі непростою палітою 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 поглиблленого дослідження патогенез бабезіозу, структурно-функціональні маркери цієї інфекції, реакції імуно-компетентних органів на вторгнення паразита [9]. З огляду на останнє, вивчення мікроанатомії селезінки нелінійних миший 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 миший віком від 4 до 6 тижнів, масою 11–18 г з попередньо

детектованою бабезіозною інфекцією. В групу порівняння (інтактного контролю) увійшли тварини, що за статево-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 pH = (7,0–7,2) при температурі 18–20 °C. Далі зразки секційного матеріалу зніводнювали методом проведення через батареї етилових спиртів підвищеної концентрації від 30 % до абсолютноого спирту (100 %) включно. Із отриманих блоків виготовляли серії гістологічних зрізів товщиною 10–15 мкм. Препарати різали за допомогою санної мікротоми. Зрізи забарвлювали гематоксилін-еозином, азур-еозином, за ван Гізон, Браше. Мікроскопічний аналіз матеріалу проводили із застосуванням оптичної системи мікроскопа ЛОМО, м. Санкт-Петербург ( $\times 300$ ,  $\times 600$ ,  $\times 1350$ ). Дослідженю піддавали капсулу, субкапсулярну зону, білу і червону пульпу селезінки, періартеріальні дистальні і проксимальні муфти, лімфоїдні вузлики, мікросудини. Особливу увагу приділяли вивченю феноменів запалення, діапедезу 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.** Макромікроскопічний аналіз препаратів селезінки

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

мишай 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 (гематосилін-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 мембрани. На гістологічних зразках остання має вигляд темної волокнистої лінії. Середня оболонка сформована спірально розташованими гладкими м'язовими клітинами, окресленими темною смugoю 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 контактиують із лейкоцитарним пулом. Саме ним утворюються структури овальної, круглої, витягнутої форм – лімфоїдні вузлики, періarterіальні лімфоїдні муфти (на препаратах завжди розташовані дистально). На зразках, що виконані у трьох взаємно перпендикулярних площинах, чітко визначаються термінальні розгалуження пульпарних артерій, що утримують чисельні еритроцитарні клітини. Аналогічні за складом клітинні популяції відмічаються в отворах артерій, 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 мишай артерії зосереджені ексцентрично чи маргінально. Можливо, ступінь їхнього зміщення

залежить у певній мірі від площині 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, періarterіальних 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 артерій щільно притиснені лейкоцитарним пулом. Серед зрілих лейкоцитарних клітин нерідко спостерігаються гематопоетичні острівці, ділянки гранулопоезу, скupчення 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 мікрорусла 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 визначалися механічні дефекти тубулярного скелета судин, що вели до утворення скупчень еритроцитів, тромбоцитарних пластин, окремих мегакаріоцитів з ознаками активної секвестрації ( $\times 1350$ ). Поверхня внутрішньої оболонки була з ознаками десквамації ендотеліальних клітин, що фігурували як у вигляді поодиноких клітин, так і доволі широких пластів, фрагментів, розташованих вщерть до середньої оболонки. Ушкодження мікросудинного русла призводило до утворення дефектів стінок останнього, а далі до очікуваної реакції з боку еритроцитарної ланки (діапедезу). 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 суб capsулярних 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 ( $\times 1350$ ) у венозних отворах чисельні скupчення 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 сладжі (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 ЛНУВМ ім. С.З. Гжицького. – 2007. – Т. 9, № 2 (33). – С. 46–51.

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

**МИКРОАНATOMИЯ СЕЛЕЗЕНКИ НЕЛИНЕЙНЫХ МЫШЕЙ В НОРМЕ И ПРИ БАБЕЗИОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ**

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

**Ключевые слова:** мыши, селезенка, бабезиоз.

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

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

In an experiment it is showed on linear mise, that a babeziot 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, babeziot.

Поступила 16.04.14