

УДК 619:616.993.1

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНАХ МЫШЕЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ КРИПТОСПОРИДИОЗЕ

Мехова О.С., Прудников В.С.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

*В статье приведены данные о персистенции гомоксенных кокцидий *Cryptosporidium parvum* у лабораторных белых мышей и патоморфологических изменениях в органах и тканях экспериментальных животных.*

*The article features the data about of persisting the homoxenous coccidia *Cryptosporidium parvum* at laboratory white mice and patomorphological changes in the bodies of experimental animals.*

Введение. Несмотря на то, что впервые ооцисты *S.parvum* были обнаружены у мышей Тиццером еще в 1910 году, данный вид не считался патогенным. Лишь в середине 70-х годов концепция криптоспоридиоза изменилась от рассмотрения его как редкой и бессимптомной инфекции до признания возбудителя этого заболевания в качестве важной причины энтероколитов и диареи у многих видов животных и человека. Широкая специфичность и трансмиссивность паразита позволили рассматривать криптоспоридиоз как типичный зооноз [1].

По чувствительности к возбудителю хозяева делятся на тех, у которых заболевание протекает бессимптомно (мышевидные грызуны), и тех, у кого выражен симптомокомплекс. Мышевидные грызуны являются компетентными хозяевами криптоспоридий [1] и между ними сложились индифферентные взаимоотношения (Никитин В.Ф., 2007). Эти млекопитающие являются «резервуаром» инвазии, а продукты их жизнедеятельности – источником заболевания для восприимчивых животных, о чем свидетельствует корреляционная связь между зараженностью криптоспоридиями крыс и молодняка сельскохозяйственных животных (Кряжев А.Л., 2005).

На современном этапе развития науки биологическое моделирование болезней становится важнейшим методом научного познания. Это обуславливает необходимость создания таких экспериментальных моделей, которые наиболее адекватно отражали бы механизм возникновения, развития заболеваний или отдельные их патогенетические звенья, а также механизм выздоровления (И.В. Давыдовский, 1962; Д.С. Саркисов, 1990). В связи с этим для уточнения деталей развития болезни и вызываемых ею морфологических изменений нами была разработана экспериментальная модель криптоспоридиоза на белых мышах. Использование лабораторных грызунов в научных исследованиях с экономической точки зрения является оправданным. Целью наших исследований является подбор оптимальной дозы возбудителя, выделенного от свиней, которая могла бы вызвать выраженные патоморфологические изменения в органах экспериментально зараженных мышей.

Материалы и методы исследования. Для изучения особенностей действия различных доз заражения на организм животных проведены опыты, в которых экспериментальной моделью криптоспоридиоза служили беспородные белые мыши в возрасте 1-2 дня, которые были разделены по принципу аналогов на 2 опытные и 1 контрольную группы по 10 животных в каждой.

Суспензия ооцист *S.parvum* была получена из фекальных масс больных криптоспоридиозом поросят методом седиментации эфиром, для чего фекалии смешивали с 10 мл 10% раствора формалина, добавляли 3 мл эфира и тщательно перемешивали, предварительно закрыв пробирку пробкой. Полученную смесь центрифугировали в течение 2 минут при 1 тыс. об/мин. Эфир, поверхностный детрит и формалин сливали. Оставшийся на дне пробирки осадок (биомассу возбудителя) подвергали флотации насыщенным раствором сахарозы. Биомассу возбудителя центрифугировали в десятикратном объеме дистиллированной воды (1,5 тыс. об/мин в течение 15 минут) с целью отмывания от флотационного раствора. Полученную биомассу хранили в 2,5% растворе бихромата калия в холодильнике.

Количество ооцист в 1 мл культуры определили путем подсчета ооцист в камере Горяева.

Заражение мышей проводили утром через рот при помощи резиновой трубки. Доза заражения составляла в первой группе 50 тыс. ооцист на голову, во второй – 100 тыс. ооцист, а третья служила контролем. Убою подвергали по 2 особи мышей из каждой группы на 4, 6, 8, 12, 16-й день после заражения.

Патогистологически от мышей исследовали участки двенадцатиперстной, тощей, подвздошной, слепой и ободочной кишок, селезенку, сердце, печень и почки. Кусочки тканей и органов фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Материал после фиксации и промывания проточной водой помещали в спирты возрастающей концентрации с целью обезвоживания. После дегидратации материал по общепринятой методике заливали в парафин, а затем на ротационном микротоме НМ 340Е получали срезы и окрашивали их гематоксилин-эозином.

Также в течение исследуемого периода проводили исследование фекалий мышей на наличие возбудителя *S.parvum* методом формалин-эфирного обогащения.

Результаты исследования. Выявление возбудителя *S.parvum* в фекалиях подопытных мышат происходило на 4-7 сутки после заражения и в последующие дни. При световой микроскопии по морфологии ооцисты, полученные от лабораторных животных, не отличались от ооцист, полученных от поросят. Пик выделения ооцист приходился на 10 сутки после заражения.

Основные патоморфологические изменения у мышей 1-й опытной группы, зараженных 50 тыс. ооцист на голову, мы обнаруживали в тонком отделе кишечника. При этом в тощей и подвздошной кишках они были выражены сильнее и выявлялись раньше, чем в двенадцатиперстной.

В двенадцатиперстной кишке слизистая оболочка была складчатая, утолщенная, покрасневшая. Волокна мышечной оболочки были дезориентированы в зигзагоподобные складки, местами фрагментированы,

отечны, цитоплазма содержала белковую зернистость. Межмышечная соединительная ткань была инфильтрирована нейтрофилами, лимфоцитами, моноцитами и эозинофилами. Собственная пластинка слизистой оболочки была также инфильтрирована лимфоидно-макрофагальными пролифератами. Подслизистая основа разрыхлена, с крупными очагами скопления однотипных округлых дуоденальных желез с артериальными и венозными сосудами и лимфатическими щелями, мелкими клеточными инфильтратами из лимфоцитов, гистиоцитов и плазматических клеток. Клетки дуоденальных желез были в состоянии гидропической дистрофии. Отмечалась деформация некоторых ворсинок и их полиморфизм. В области щеточной каемки эпителиоцитов выявлялись участки, содержащие эндогенные стадии развития *S. parvum*.

В мышечной оболочке *тощей кишки* отмечались аналогичные изменения. Мышечная пластинка слизистой оболочки была истончена, местами плохо прослеживалась. Подслизистая основа была разрыхлена, а собственная пластинка слизистой оболочки отечна. В них наблюдались скопления лимфоцитов, эозинофилов, моноцитов и других макрофагов. Ворсинки утолщены и укорочены, были покрыты призматическим эпителием с примесью бокаловидных клеток с вакуолизированной цитоплазмой, в их просвете выявлялись скопления ооцист *S. parvum* (рис.1). Просветы кишечных крипт были расширены, в них имелись следы слизи, единичные клетки слущенного эпителия, лимфоциты, гистиоциты, единичные плазматические клетки.

В *подвздошной кишке* мышечная и серозная оболочки были несколько истончены, с очагами клеточной инфильтрации. Межмышечная соединительная ткань была отечна, местами инфильтрирована единичными моноцитами, нейтрофилами. Мышечная пластинка слизистой оболочки была тонкая, местами разрыхлена, несколько отечна и содержала лимфоциты и гистиоциты. Собственная пластинка слизистой оболочки также была отечна, инфильтрирована лимфоидно-гистиоцитарными клетками. Полиморфные, местами деформированные ворсинки в апикальной части эпителиоцитов содержали эндогенные стадии развития криптоспоридий (рис.2). Апикальная часть ворсинок изредка была десквамирована, а микроворсинки атрофированы. Эпителиоциты находились в состоянии зернистой и гидропической дистрофии. В просвете кишечных крипт обнаруживались следы слизи и единичные клетки слущенного эпителия.

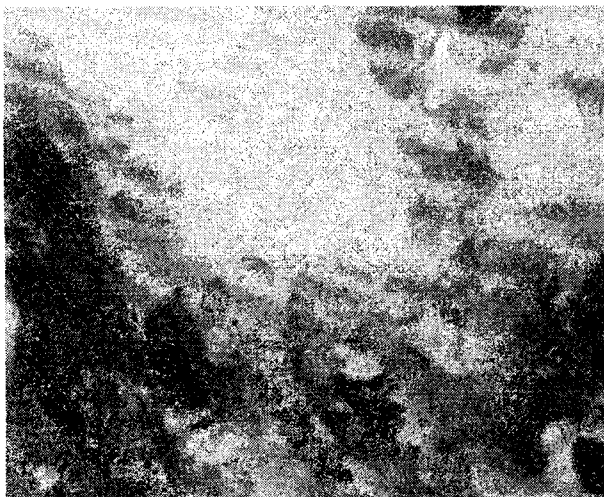


Рисунок 1 – Тощая кишка мыши.
Эндогенные стадии развития *S. parvum*
Окраска гематоксилин-эозином
(x900).

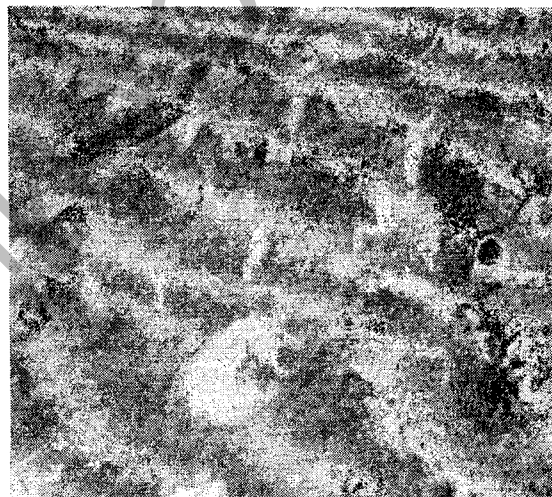


Рисунок 2 – Подвздошная кишка мыши.
Эндогенные стадии развития *S. parvum*
Окраска гематоксилин-эозином
(x900).

В *слепой и ободочной кишках* состояние мышечной оболочки и подслизистой основы характеризовалось небольшой отечностью, очаговой инфильтрацией лимфоидно-гистиоцитарными клетками, гиперплазией бокаловидных клеток крипт.

Сосуды слизистой оболочки всех исследованных кишок были в состоянии венозной гиперемии, гемостаза, а местами наблюдали выход и скопление эритроцитов за пределами стенок сосудов.

Гистологически эндогенные стадии развития криптоспоридий выглядели как мелкие (3-5 мкм), одноклеточные округлые тельца, которые кажутся прилепленными к поверхности щеточной каемки. Они были неравномерно разбросаны по ворсинкам и в просвете крипт.

В *сердце* патоморфологических изменений не отмечалось, исчерченность волокон была сохранена. Выявлялась лишь белковая зернистость в цитоплазме волокон.

В *печени* центральные вены и межбалочные капилляры печеночных долек были заполнены эритроцитами. При гистоисследовании гепатоциты находились в состоянии зернистой дистрофии, пространства Диссе были расширены, выявлялись очаговые лимфоидно-макрофагальные пролифераты в интерстиции. Синусоидные капилляры были переполнены эритроцитами.

В *почках* эпителиоциты извитых канальцев были увеличены, плазмолемма их местами была разорвана, просвет канальцев сужен, цитоплазма содержала белковую зернистость, выявлялись также единичные участки в состоянии жировой дистрофии. В клубочках отмечали изменения, характерные для серозного гломерулита.

В *легких* межальвеолярные стенки были утолщены, бронхиолы сдавлены, стенки отдельных сосудов находились в состоянии мукоидного набухания.

При гистологическом исследовании органов мышей второй группы нами была выявлена следующая патоморфологическая картина.

Слизистая оболочка *тонкого отдела кишечника* была представлена эпителиоцитами, содержащими белковую зернистость. Апикальная поверхность была усеяна округлыми тельцами размером 2-4 мкм, которые являются эндогенными стадиями развития *S. parvum*. Также имело место набухание, недоразвитие, атрофия и некроз ворсинок. В пораженных ворсинках отсутствовала часть бокаловидных клеток. Отмечалось слипание ворсинок между собой. Бокаловидные клетки были гиперплазированы, с пенистой цитоплазмой. Наблюдалось обильное скопление десквамированных эпителиоцитов, эритроцитов, лейкоцитов в состоянии аутолиза. Многие клетки дуоденальных желез были вакуолизированы и содержали белковые гранулы. Собственная пластинка слизистой оболочки была отечна, интенсивно инфильтрирована макрофагами, нейтрофилами и эозинофилами. В ней выявлялась масса мононуклеарных клеток. Кровеносные сосуды были расширены, а лимфоидные узелки гиперплазированы. Мышечная оболочка была отечна и разрыхлена.

В *толстом отделе* кишечника каемчатые эпителиоциты находились в состоянии зернистой дистрофии. Бокаловидные клетки были переполнены слизью. В просвете крипт находились десквамированные эпителиоциты, лейкоциты, слизь, на их апикальной поверхности были выявлены меронты и ооцисты криптоспоридий. Рыхлая волокнистая соединительная ткань крипт была инфильтрирована клетками лимфоидно-гистиоцитарного происхождения. Сосуды подслизистой основы были расширены. В их просвете выявлялось скопление эритроцитов и лейкоцитов, периваскулярные пространства были расширены также скоплением эритроцитов, лейкоцитов и тканевых пролифератов. Также выявлялась гипертрофия и гиперплазия солитарных узелков. Мышечная пластинка слизистой оболочки была истончена, разволокнена.

В *печени* основная часть гепатоцитов содержала белковую зернистость, цитоплазма отдельных клеток была представлена крупными каплями жира, вследствие чего ядра смещались на периферию (жировая инфильтрация). Отмечалась выраженная дисконплектация балочного строения, ядра некоторых клеток находились в состоянии кариорексиса и кариолизиса. Центральные вены и межбалочные синусы отдельных долек были переполнены эритроцитами, печеночные балки долек были сдавлены, интерстициальная ткань очагово инфильтрирована гистиоцитами, лимфоцитами, плазматическими клетками и фибробластами.

В *почках* была зернистая дистрофия эпителиоцитов. В корковой зоне между канальцами и вокруг почечных клубочков наблюдалась очаговая лимфоидно-гистиоцитарная инфильтрация. Капсула Шумлянско-Боумена содержала серозный экссудат.

В *селезенке* узелки белой пульпы были гиперплазированы, содержали значительное количество бластовидных клеток с выраженным митозом. В красной пульпе разрыхление и разрежение клеточных элементов.

В *легких* межальвеолярные стенки были местами утолщены, отечны, а бронхиолы сдавлены. Перибронхиальная лимфоидная ткань также была гиперемирована.

Миокардиоциты находились в состоянии зернистой дистрофии.

Яркая картина патоморфологических изменений в кишечнике была выявлена у экспериментально зараженных криптоспоридиозом мышей, убитых на 8 и 9 день после инвазирования. При этом степень поражения кишок не одинакова. Более тяжелые изменения развиваются в тонком кишечнике. В процессе эндогенного развития криптоспоридии инвазируют эпителий тонких кишок диффузно, вызывают атрофию ворсинок, дистрофию бокаловидных клеток, гипертрофию крипт и инфильтрацию собственной пластинки слизистой оболочки и подслизистого слоя плазматическими клетками, полиморфноядерными лейкоцитами и лимфоцитами. При этом инвазированные эпителиоциты утрачивают микроворсинки.

Патоморфологические изменения в кишечнике зависят от дозы заражения, при этом высокая степень инвазии приводит к воспалению слизистой оболочки тонкого кишечника с развитием очагов поверхностного некроза. Одновременно развивается гиперплазия лимфоидной ткани селезенки, зернистая дистрофия миокарда, печени и почек, перигепатит, очаговый гломерулонефрит и отек легких.

По данным некоторых ученых [1,4,5] атрофия ворсинок кишечника, исчезновение щеточной каемки при криптоспоридиозе приводит к снижению выработки ферментов, активности лактазы, нарушению всасывательной способности тонкой кишки с развитием синдрома мальабсорбции. Также в этих условиях повышается бактериальная ферментация углеводов и жирных кислот, появляются плохо всасываемые ингредиенты. Кроме того, криптоспоридии способны нарушать ионный транспорт в стенке тонкой кишки. В работах других авторов продемонстрировано наличие у *S. parvum* гена, ответственного за продукцию белка, обладающего гемолитической активностью и сходного с таковым у хорошо известного энтеропатогена *Escherichia coli* O157 H7 [3].

Аналогичные данные были получены В.А. Васильевой, 1997; Е.Н. Сковородиным, В.А. Васильевой, Е.В. Колмыковой, 1999. Таким образом, паразитирование криптоспоридий, выделенных от поросят, вызывало у мышей выраженные патоморфологические изменения [2]. Следовательно, мыши могут быть криптоспоридиозоносителями и служить лабораторными животными при изучении криптоспоридиоза.

Заключение. В слизистой оболочке кишечника при экспериментальном криптоспоридиозе отмечается катаральное воспаление с некрозом слизистой оболочки и инфильтрация ее лейкоцитами и макрофагами. Экспериментальной моделью для изучения диагностики криптоспоридиоза могут служить беспородные белые мыши.

Литература. 1. Бейер, Т.В. Клеточная биология споровиков – возбудителей протозойных болезней животных и человека / Т.В. Бейер. – Ленинград : «Наука», 1989. – С.130-141. 2. Васильева, В.А. Криптоспоридиоз и эзофагостомоз свиней при моноинвазиях и паразитицинозе : автореф. дис. ... канд. ветеринарных наук : 03.00.19 / В.А. Васильева – Москва, 1998. – 41 с. 3. Клинические и микробиологические аспекты криптоспоридиоза // Раздел: Инфекционные болезни [Электронный ресурс]. – 2006. – Режим доступа: <http://medinfo.ru/article/15/115953/> – Дата доступа: 13.02.2006. 4. Тюрина, Т.В. Патоморфологические исследования влияния некоторых препаратов при экспериментальном криптоспоридиозе : автореф. дис. ... канд. ветеринарных наук : 16.00.02 / Т.В. Тюрина – Саранск, 2002. – 16 с. 5. Tzipori S. Cryptosporidiosis in hospital patient with gastroenteritis / S.Tzipori, M.Smith, C.Birch. // Amer. J. Trop. Med. Hyg. 1983. Vol. 32. P.931-934.