

На правах рукописи



АБАЕВА ЕЛЕНА ИВАНОВНА

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ОРГАНОВ
ГОМЕОСТАТИЧЕСКОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ
ЦИПРОФЛОКСАЦИНА И АМПРОЛИУМА
ПРИ КРИПТОСПОРИДИОЗЕ
(экспериментальные исследования)

16.00.02 – патология, онкология и морфология животных

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Саранск – 2006

Работа выполнена на кафедре патанатомии, инфекционных и инвазионных болезней животных ГОУВПО «Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева»

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук профессор
Васильева Валентина Алексеевна

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук профессор

Селезнев Сергей Борисович (РУДН)

доктор ветеринарных наук профессор
Архипов Иван Алексеевич (ВИГИС)

Ведущая организация: Казанская государственная академия
ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана

Защита состоится «12» декабря 2006 г. в 10⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета К 212.117.05 при Мордовском государственном университете им. Н. П. Огарева (430000, г. Саранск, ул. Большевистская, 68).

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке им. М. М. Бахтина Мордовского государственного университета им. Н. П. Огарева

Автореферат разослан «11» ноября 2006 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Т. А. Романова

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. На современном этапе развития науки биологическое моделирование болезней становится важнейшим методом научного познания. Это обуславливает необходимость создания на лабораторных животных таких экспериментальных моделей, которые наиболее адекватно отражали бы механизм возникновения и развития заболеваний или отдельные их патогенетические звенья, а также механизмы выздоровления (Давыдовский, 1962; Саркисов, 1990). Большинство исследователей (Шибалова, 1968, 1969; Алиев, 1993; Бочкарев, 1996; Ямпольский, 1997; Васильева, Небайкина, 1997, 2000; Васильева, 2002; Fayer, 1997, и др.) в качестве такой модели использовали культуры клеток, что сопряжено с определенными трудностями.

Известно, что впервые криптоспоридии были обнаружены у мышей (Tuzzer, 1907), следовательно, белые лабораторные мыши могут быть использованы для воспроизведения криптоспоридиоза. Вопрос лишь в том, как подобрать оптимальную дозу криптоспоридий, получаемых от поросят, телят, и в каком возрасте наиболее ярко проявляется заболевание, вызываемое простейшими класса Sporozoasida, отряда Eucoccidiorida, и в частности криптоспоридиями (Шибалова, 1987; Никитин, Павлasek, 1988, 1989; Тайчинов, 2000; Landverk, 1987; Castro-Hernida, Freire, Oteiza, 2000; Lindsay Woods Upton et al., 2000, и др.).

Для уточнения деталей развития болезни, а также апробации новых терапевтических средств нами была разработана экспериментальная модель криптоспоридиоза на белых мышах и проведено тщательное патоморфологическое исследование органов гомеостаза, так как разработка и внедрение новых лекарственных препаратов, ускоряющих восстановительные процессы в поврежденных органах и тканях, является актуальной задачей ветеринарной науки (Бейер, Пашкин, Рахманова, 1987; Шибалова, 1997; Васильева, 2004, 2005, и др.).

Поскольку лечение паразитарных болезней вызывает необходимость применения специфических препаратов, то знание механизма их воздействия на органы, ответственные за гомеостаз имеет принципиальное значение.

Изменение состояния животных в результате применения химиотерапевтических средств изучено недостаточно, так как возникающий при этом побочный эффект обуславливает непосредственное фармакологическое действие препаратов на иммуногенез, а также опосредованное – через массовое поступление метаболитов или соматических антигенов паразита. В связи с этим необходимо комплексное изучение происходящих в организме изменений.

Цель работы. Целью нашей работы является сравнительная патоморфологическая и гистохимическая оценка эффективности действия ампролиума и ципрофлоксацина на органы, ответственные за гомеостаз до и после применения препаратов.

Задачи исследования. Для реализации указанных целей были поставлены следующие задачи:

1. Вывести патоморфологические изменения в печени, почках и надпочечниках мышей, экспериментально зараженных криптоспоридиями.
2. Провести сравнительный анализ препаратов ампролиума и ципрофлоксацина патоморфологическими и гистохимическими методами.
3. Определить взаимосвязь между патоморфологическими и гистохимическими изменениями до и после введения препаратов.

Научная новизна. Изучено действие препаратов из групп цефалоспоринов и кокцидиостатиков на органы, ответственные за гомеостаз лабораторных животных.

Впервые дана сравнительная патоморфологическая и гистохимическая оценка эффективности этих препаратов.

Результаты патоморфологического и гистохимического исследования изменения гликогена и липидов на различных стадиях развития болезни позволили с учетом литературных данных раскрыть ряд вопросов патогенеза криптоспоридиоза до и после применения препаратов.

Практическая ценность работы. Практическая ценность работы заключается в том, что показана необходимость при отборе химиотерапевтических препаратов для лечения животных, больных протозоозами, проводить всестороннее изучение патоморфологических и гистохимических изменений, происходящих в организме под влиянием этих препаратов. Полученные данные по патоморфологическим и гистохимическим изменениям в изученных органах при криптоспоридиозе после применения ципрофлоксацина и ампролиума могут быть использованы при изучении действия вновь синтезируемых препаратов из групп цефалоспоринов и кокцидиостатиков на организм животных.

Кроме того, полученные результаты используются при чтении лекций по паразитологии студентам специальности «Ветеринария», а также слушателям ФПК.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту.

1. Патоморфологические и гистохимические изменения в органах, ответственных за гомеостаз лабораторных животных до применения ципрофлоксацина и ампролиума.
2. Патоморфологические изменения в изученных органах лабораторных животных после применения препаратов.
3. Гистохимические изменения в изученных органах лабораторных животных после применения ципрофлоксацина и ампролиума.

Апробация работы. Основные положения работы доложены на Всероссийской научно-практической конференции «Эффективность адаптивных технологий в животноводстве» (Ижевск, 2004); Международной научно-практической конференции «Основные итоги и приоритеты научного обес-

печения АПК Евро-Северо-Востока» (Киров, 2005); Всероссийской научно-производственной конференции «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями» (Москва, 2005); III Международном симпозиуме «Современные проблемы ветеринарной диатологии и нутрициологии» (Санкт-Петербург, 2005); XXXIV Огаревских чтениях Мордовского университета (Саранск, 2006); XI научной конференции молодых ученых, аспирантов и студентов МГУ имени Н. П. Огарева (Саранск, 2006); на расширенном заседании кафедры патанатомии, инфекционных и инвазионных болезней животных Аграрного института Мордовского университета (протокол № 10 от 8 ноября 2006 г.).

Внедрение результатов исследования. Основные положения диссертационной работы достаточно полно отражены в 4 научных статьях.

Полученные результаты внедрены на кафедре патанатомии, инфекционных и инвазионных болезней животных Мордовского государственного университета имени Н. П. Огарева; на кафедре патанатомии, анатомии и гистологии животных Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии; на кафедре инфекционных и инвазионных болезней животных Ижевской государственной сельскохозяйственной академии и в ветеринарных лабораториях Республики Мордовия.

Объем и структура диссертации. Диссертация включает общую характеристику работы, обзор литературы, анализ результатов собственных исследований, их обсуждение, выводы, практические предложения, список использованной литературы, приложение. Она изложена на 126 страницах машинописного текста, иллюстрирована 45 рисунками, в том числе 5 диаграммами. Список использованной литературы включает 190 источников, в том числе работы иностранных авторов.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы и методы исследования

Работа выполнена в период 2003 – 2006 гг. в соответствии с плановой тематикой кафедры патанатомии, инфекционных и инвазионных болезней животных (номер государственной регистрации 01200105275) Аграрного института Мордовского государственного университета имени Н. П. Огарева. Часть исследований проведена в Республиканской морфологической лаборатории онкологического диспансера (г. Саранск).

Все исследования осуществлены на 165 беспородных белых мышах обоего пола, массой 12 – 18 г. До пятидневного возраста их выращивали в лаборатории в условиях, исключающих спонтанное заражение криптоспоридиозом. Животные содержались на стандартной диете в боксированном помещении с соблюдением всех правил Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных (1997).

Мышей разделили на 6 групп: в пяти группах содержалось по 30 голов

и в одной – 15 голов.

I группа – чистый контроль (мышей не заражали и не давали препарата, а вводили физраствор в дозе 1 мл перорально при помощи резиновой трубы 2 раза в день – утром и вечером);

II группа – мышей заражали ооцистами криптоспоридий, но препарат не давали;

III группа – мышей не заражали, но давали ципрофлоксацин;

IV группа – мышей заражали ооцистами криптоспоридий и с кормом давали ципрофлоксацин;

V группа – мышей не заражали, но давали ампролиум;

VI группа – мышей заражали ооцистами криптоспоридий и с кормом давали ампролиум.

Суспензию ооцист *C. parvum* получали из фекальных масс больных криптоспоридиозом поросят методом флотации. В качестве флотационных растворов использовали среду Бреза (смесь насыщенных растворов сульфата магния, тиосульфата натрия и водопроводной воды в соотношении 3 : 3 : 1) и смесь Павласека (хлорид цинка – 220 г, хлорид натрия – 210 г, водопроводная вода – 800 мл). Их применение позволяет получить изолят ооцист (биомассу возбудителя). В последующем собранный материал центрифугировали в десятикратном объеме дистиллированной воды (1,5 тыс. об/мин в течение 15 мин) и отмывали от флотационных растворов. Полученную биомассу сохраняли с добавлением гентамицина или 2% раствора бихромата калия. Количество ооцист считали в камере Горяева. Суспензия содержала 25 тыс. зрелых ооцист *C. parvum* в 1 мл.

Мышей заражали раз 10 дозой 25 тыс. ооцист.

Ципрофлоксацин и ампролиум давали мышам 5-дневного возраста с профилактической целью вместе с кормом в соотношении 0,5 : 1000 в течение всего опыта.

За лабораторными животными вели ежедневное наблюдение, обращая внимание на их клиническое состояние. Собирали фекальные массы, из которых готовили нативные мазки и окрашивали их карбол-фуксином по Циль-Нильссену. Ооцисты криптоспоридий обычно приобретали ярко-красный цвет с различными оттенками и имели вид округлых образований диаметром до 5 мкм. Внутри некоторых из них удавалось рассмотреть удлиненные спорозоиты. Сопутствующая микрофлора окрашивалась в зеленые тона.

Для изучения гистологических и гистохимических изменений в органах гомеостаза мышей убивали на 5, 8, 10, 12, 16, 20, 24, 26, 28, 30-е сутки после заражения во 2, 3, 4, 5 и 6-й группах по 3 головы из каждой, а в первой – в начале, середине и конце опыта по 5 голов.

После тщательного патологоанатомического исследования тушек мышей у них отделяли печень, почки, надпочечники. Половинку каждого из этих органов помещали во флакон с 10% нейтральным формалином. Затем вторую половинку погружали в раствор Карнуа для дальнейшей заливки в

парафин. Готовили мазки – отпечатки и окрашивали с целью выявления ооцист *C. parvum* по Романовскому–Гимзе. Из парафиновых блоков на микротоме делали гистосрезы толщиной 6 – 7 мкм, которые затем окрашивали гематоксилином–эозином по общепринятой методике.

Для выявления гликогена в печени проводили ШИК-реакцию по Мак-Манусу (Роскин, Левинсон, 1957). Для определения содержания липидов в надпочечниках готовили срезы на замораживающем микротоме и применяли метод флюохромирования фосфином ЗР по методу Фолька и Поппера (Луппа, 1980).

Математическую обработку материала проводили на персональном компьютере с использованием критерия Стьюдента и Т-критерия Уайта.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Патоморфологические изменения в отдельных органах и тканях мышей при экспериментальном заражении ооцистами *C. parvum*

3.1.1. Патоморфологические исследования у животных контрольной группы

В сердце мышей, миокардиоциты имели хорошо выраженную продольно-поперечную исчерченность сарколеммы. Рисунок гетерохроматина ядер не изменен. Соединительная ткань интерстиция нежная, умеренно выражена, содержала небольшое количество гистиоцитарных клеток и нежные волокна. Кровеносные сосуды микроциркуляторного русла умеренно заполнены кровью, стенки их без изменений. В надпочечниках животных контрольной группы соединительнотканная капсула хорошо развита. От нее в глубь органа проникают тонкие волокна рыхлой соединительной ткани. Клубочковая зона небольшая и образована мелкими светлыми клетками с крупным округлым ядром, в центре которого находилось хорошо выраженное ядрышко. Гетерохроматин в виде крупных гранул располагался маргинально. Пучковая зона была представлена крупными клетками с большим округлым светлым ядром с небольшим количеством мелких гранул гетерохроматина. Цитоплазма клеток эозинофильная с небольшими вакуолями, сетчатая зона также небольшая. Ядра клеток несколько вытянутые, темные, с относительно равномерно расположенным гетерохроматином. Цитоплазма слабо эозинофильная, гомогенная. Периферия мозговой части железы сформирована клетками, заполненными бурым пигментом. В центре зоны находились крупные темные клетки с базофильной цитоплазмой и крупным округлым светлым ядром. Близко к поверхности органа располагались нервные ганглии, представленные крупными телами нейронов, окруженных глиальной оболочкой. В почках извитые канальцы выстланы однослойным эпителием, в просвете ряда канальцев – единичные клетки слущенного эпителия. В мозговом веществе собирательные трубки выстланы призматическим эпителием, кле-

точные границы отчетливые. В печени мышей отмечено полнокровие сосудов, хорошо выражена система балок правильного строения. Гепатоциты крупных размеров, много двуядерных. Цитоплазма несколько разрыхлена, междольковая соединительная ткань слабо развита. Легкие воздушные, малокровные, вокруг некоторых мелких бронхов имеются лимфатические узелки, составляющие пакет из двух – трех узелков. Лимфоциты представлены клетками примерно одной зрелости. Альвеолоциты лежат пристенночно, с явлениями набухания, слущивание их незаметно. В селезенке красная и белая пульпа отчетливо различимы, рельефно выступают трабекулярный остов и пульпарные артерии. Центральная часть лимфатических фолликулов состояла из крупных, более светлых лимфобластов. Фолликулы были опоясаны зоной более мелких лимфоцитов. Красная пульпа содержала ретикулярные клетки с их волокнами, в сети которых располагались лимфоциты, эритроциты, небольшое число эозинофилов. В тонком и толстом отделах кишечника со стороны как ворсинок, так и сосудов характерных изменений не выявлено.

3.1.2. Патоморфологические изменения в печени мышей, экспериментально инвазированных *C. parvum*

Печень играет важную роль с точки зрения межсистемной кооперации и является центром обмена веществ в организме, что обуславливает ее функциональное значение как основного органа, обеспечивающего поддержание гомеостаза у животных и выполняющего роль главного адаптивного органа. Всякий процесс адаптации связан с изменениями гомеостаза.

При патоморфологическом изучении печени мышей, зараженных *C. parvum*, мы учитывали тот факт, что у имматурантных животных этот орган на ранних этапах постнатального онтогенеза имеет ярко выраженные возрастные особенности.

На 5-е сутки после заражения у мышей второй опытной группы отмечали слабое венозное полнокровие ткани печени, вследствие этого дольчатость междольковой перегородки прослеживалась только в проекции печеночных триад. Ткань печени набухшая, гепатоциты очерчены слабо, их объем в средней и периферических зонах дольки увеличен. Цитоплазма гепатоцитов резко набухшая, с грубой зернистостью. При этом гепатоциты содержали округлые относительно темные ядра, гиперхроматин которых располагался дисперсно между ними в виде гранул. При этом очертания клеток и ядер были не всегда отчетливыми. В других участках преобладали признаки очаговой формы гиалиново-капельной дистрофии, а также отмечались скопления соединительнотканых клеток.

Через 8 суток клеточная реакция усиливалась, ткань с явлениями венозного полнокровия и гемостаза, дольчатость строения нарушена, междольковые перегородки прослеживаются только в проекции печеночных триад. Ткань резко набухшая, гепатоциты очерчены плохо, отмечается клеточный и ядерный полиморфизм, интенсивность их окраски и компактность хроматина

ядер различные, много двуядерных клеток. Цитоплазма гепатоцитов резко набухшая, с грубой зернистостью, множеством прозрачных вакуолей, с явлениями выраженной гидропической, вакуольно-водяночной, гиалиново-капельной дистрофии. Балочная система строения долек нарушена, просвет центральных вен расширен с явлениями гемостаза. В проекции печеночных триад определяется инфильтрация из лимфоцитов, гистиоцитов и тканевых клеток.

У мышей, убитых на 10-е сутки после инвазирования, ткань печени с явлениями выраженного венозного полнокровия и гемостаза, дольчатость строения смазана, междольковые перегородки прослеживаются в основном в проекции печеночных триад. Ткань печени резко набухшая, гепатоциты плохо различимы, отмечается клеточный и ядерный полиморфизм.

Ядра клеток с разрыхленным хроматином сетчатого характера. Цитоплазма гепатоцитов набухшая, гомогенизированная, местами зернистого характера, с явлениями гидропической и гиалиново-капельной дистрофии. Балочная система строения долек смазана. Просвет центральных вен расширен с явлениями гемостаза. В проекции печеночных триад инфильтрации из лимфоцитов, гистиоцитов и тканевых клеток.

На 12-е сутки после заражения ткань печени с выраженным явлениями венозного полнокровия и гемостаза в сосудах, дольчатость строения смазана, междольковые перегородки прослеживаются в основном в проекции печеночных триад. Ткань печени резко набухшая, гепатоциты плохо различимы, отмечается выраженный клеточный и ядерный полиморфизм. Ядра клеток с разрыхленным сетчатого вида хроматином с центральным расположением. Цитоплазма клеток резко набухшая, с грубой зернистостью, обильной вакуолизацией, выраженными явлениями гидропической и гиалиново-капельной дистрофии.

Балочная система строения долек смазана, в просвете желчных ходов и желчных капиллярах скопления желчи. Просвет большинства центральных вен расширен, с явлениями гемостаза. В проекции печеночных триад и междольковых перегородок встречаются крупные инфильтрации из лимфоцитов, гистиоцитов и плазматических клеток.

На 16-е сутки после заражения при малом увеличении печени мышей второй опытной группы установили полиморфизм гепатоцитов. Это явление характеризовалось наличием клеток разного размера с варьирующим ядерно-плазматическим отношением. Количество двуядерных клеток увеличено. Объем гепатоцитов в средней и периферических зонах долек увеличен, вследствие чего нарушено балочное строение печени.

В одних участках преобладали признаки зернистой дистрофии. При этом гепатоциты содержали округлые относительно темные ядра, гиперхроматин которых располагался дисперсно между последними в виде гранул. Цитоплазма мутная, богатая белковыми гранулами, очертания клеток и ядер не всегда четкие. В других зонах преувеличивали признаки очаговой формы жировой дистрофии. При этом балочная структура нарушалась.

У мышей, убитых на 20-е сутки после инвазирования, в печени долек печени отмечали признаки зернистой дистрофии. Центральные вены также были инъецированы кровью. Эндотелий в состоянии выраженной пролиферации. На этот срок эпителий желчных капилляров отклонений не имел, а в более поздние изменения в печени отмечались, но были более сглажены.

Таким образом, в печени диагностировали белково-жировую дистрофию гепатоцитов, узелковое скопление соединительнотканых клеток, гемостаз и венозное полнокровие.

3.1.3. Патоморфологические изменения в почках мышей, экспериментально инвазированных С. *parvum*

Почки являются одним из важнейших органов мочевыделительной системы. Они поддерживают гомеостаз в организме за счет освобождения крови от конечных продуктов обмена (мочевины, нерастворимых солей и т.д.), избытка ряда органических веществ (глюкозы, аминокислот), излишней воды и чужеродных веществ, поддерживают кислотно-щелочное равновесие и ионный баланс, кровяное давление, обмен кальция, эритропоэз, а также секреции биологически активные вещества: ренин, витамин D₃, простагландин, брадикинин, эритропоэтин (Лысов, 1977, 1983; Александровская, 1987; Шулутко, 1989; Гуков, Соколов, Гусева, 2001; Соколов, Чумасов, 2004, и др.)

Результаты наших исследований показали, что у мышей больных криптоспоридиозом, в почках наблюдаются выраженные гистологические изменения. Они были выявлены у мышат, убитых уже через 5 суток после заражения. Поверхность почек ровная, капсула гладкая, ткань слабонабухшая, малокровная. Сосудистые клубочки с явлениями полиморфизма, различной плотности, одни из них разрыхлены, другие с повышенным цитозом и гиперемией сосудистых петель. Капсула Шумлянского местами утолщена, имеет щелевидный просвет, извитые канальцы обычной формы и величины, в их просвете белковый секрет. Клетки эпителия очерчены слабо, с гомогенизированной мелко- и грубозернистой цитоплазмой, полиморфными ядрами с рыхлым сетчатым хроматином, гиалиново-капельной дистрофией. Прямые канальца обычного вида, в просвете некоторых из них встречаются гиалиновые цилиндры.

На 8-е сутки после заражения в корковом веществе почек границы клеток, формирующих извитые канальцы, выражены неясно, просвет их практически незамечен. Эпителиоциты набухшие, увеличены в объеме. Ядра различаются не во всех клетках. Цитоплазма эпителиоцитов тусклая, с зернистостью. В наиболее пораженных клетках ядра не обнаруживаются или находятся в состоянии кариолизиса. Просвет некоторых канальцев содержит мелко-зернистую массу, в нижележащих отделах – гомогенные структуры. В клубочках и строме органа изменений не обнаружено.

На 10-е сутки после заражения поверхность почек ровная, капсула

гладкая, ткань значительно набухшая, с явлениями выраженного венозного полнокровия и гемостаза. Сосудистые клубочки полиморфны, местами слабо разрыхлены, на отдельных участках гиперемированы, с повышенным цирротизмом капиллярных петель. Много атрофичных, редуцированных клубочков с полной инволюцией. Капсула Шумлянского утолщена, просвет ее резко сужен (в виде щели), в просвете белковый экссудат и много клеток слущенного эпителия. Извитые канальца местами несколько сужены, в просвете их белковый секрет. Клетки эпителия набухшие, отечные, с расплывчатой цитоплазмой, явлениями гидропической и гиалиново-капельной дистрофии. Ядра клеток полиморфны, с рыхлым сетчатым хроматином, местами с явлениями пикноза и кариолизиса. Прямые канальца без видимой патологии.

У мышей, убитых на 12-е сутки после инвазирования, поверхность почек ровная, капсула гладкая, ткань несколько набухшая, с явлениями венозного полнокровия и гемостаза. Сосудистые клубочки с явлениями полиморфизма, повышенным цитозом и гиперемией капиллярных петель, много атрофированных, редуцированных клубочков. Капсула Шумлянского обычного вида, просвет ее сужен, свободные извитые канальцы обычной формы и величины, в просвете их белковый секрет. Клетки эпителия набухшие, отечные, очерчены плохо, с гомогенизированной, мелко- и грубозернистой цитоплазмой, явлениями выраженной гиалиново-капельной дистрофии. Ядра клеток полиморфны, с рыхлым сетчатым хроматином, признаками пикноза и кариолизиса. Прямые канальцы обычного вида, просвет их свободен.

На 16-е сутки после заражения поверхность почек ровная, капсула гладкая, ткань несколько набухшая, малокровная. Отмечается полиморфизм сосудистых клубочков, часть из них разрыхлена, часть с гиперемией и повышенным цитозом капиллярных петель. Капсула Шумлянского местами утолщена, просвет ее сужен. Извитые канальцы обычной формы и величины, в просвете их белковый секрет. Клетки эпителия набухшие, отечные, плохо очерчены, с расплывчатой цитоплазмой, явлениями гидропической и вакуольно-водяночной дистрофии. Ядра клеток полиморфны, с рыхлым сетчатым хроматином, местами с признаками пикноза и кариолизиса. В межточной ткани между канальцевыми промежутков встречаются мелкие инфильтраты из лимфоцитов и тканевых клеток. Прямые канальца обычного вида, просвет их свободен.

При исследовании на 20-е сутки после заражения поверхность почек ровная, капсула гладкая, ткань значительно набухшая, с явлениями выраженного венозного полнокровия и гемостаза. Сосудистые клубочки разные по величине, большинство из них с разрыхленными и полнокровными капиллярными петлями. Капсула Шумлянского местами утолщена, в просвете ее единичные эритроциты и белковый выпот. Просветы извитых канальцев расширены, в отдельных из них белковый выпот и единичные клетки слущенного эпителия, клетки которого с выраженным явлениями гидропической и гиалиново-капельной дистрофии. Отмечается полиморфизм ядер с разрыхленным сетчатым хроматином. Просвет прямых канальцев свободен.

В последующем изменения имелись, но они были более сглаженными. Таким образом, при криптоспориозе в почках мышей диагностировали зернистую и гиалиново-капельную дистрофию, венозное полнокровие микроциркуляторного русла, атрофию и полиморфизм сосудистых клубочков.

3.1.4. Патоморфологические изменения в надпочечниках мышей, экспериментально инвазированных *C. parvum*

Надпочечники представляют собой орган, состоящий из двух самостоятельных желез, которые имеют общую оболочку и кровеносные сосуды. Одна из желез образует корковое, другая – мозговое вещество.

В коре надпочечников синтезируется семь гормонов, которые по характеру биологической активности делятся на три группы:

- 1) минералокортикоиды (альдостерон);
- 2) глюкокортикоиды (кортизол и кортикостерон);
- 3) андрогены (дегидроэпиандростерон, андростендон, 11β -гидроксиандростендон).

Гормоны коры надпочечников играют важную роль в резистентности организма. После удаления надпочечников сопротивляемость к различным повреждениям резко снижается, в результате чего животные погибают, так как у них данные органы вовлекаются в патологический процесс с первого дня после заражения и претерпевают глубокие функциональные изменения. Последние отражают стадии тревоги, резистентности и истощения, что характерно для развития общего адаптационного синдрома при длительном действии стрессов (Вовченко, 1981; Кириллов, 1994).

У животных второй опытной группы, убитых на 5-е сутки после инвазирования, капсула органа представлена более толстыми волокнами и фиброзитами с темными удлиненными волнистыми ядрами. В клубочковой зоне величина клубочков меньше и они разделены хорошо выраженным пучками волокон соединительной ткани. Клетки небольшие, с темными ядрами, расположены близко друг к другу. В пучковой зоне цитоплазма их сильно вакуолизирована и содержит крупные капли нейтральных жиров. Характерна дисплексация пучков эндокриноцитов вследствие разного размера клеток. В сетчатой зоне выражены явления атрофии. В мозговом веществе на фоне венозной гиперемии также отмечали атрофические явления.

У мышей на 8-е сутки после заражения надпочечники снаружи окружены жировой клетчаткой, капсула гладкая, корковое вещество малокровно, все зоны его хорошо различимы. Мозговое вещество полнокровно, с очагами кровоизлияний, клетки очерчены слабо, с явлениями гидропической и гиалиново-капельной дистрофии.

При исследовании на 10-е сутки после инвазирования было обнаружено, что корковое вещество малокровно, все его зоны хорошо различимы. Мозговое вещество отечно, полнокровное, с выраженным клеточным и

ядерным полиморфизмом, ядра клеток разрыхлены, с сетчатым хроматином, признаками пикноза и кариолизиса, цитоплазма клеток резко набухшая, гомогенизирована, местами с грубой зернистостью, явлениями выраженной гидропической и гиалиново-капельной дистрофии.

На 12-е и 16-е сутки после инвазирования мышей было установлено, что поверхность надпочечников у них ровная, капсула гладкая, ткань мало-кровна, корковое вещество несколько атрофично за счет сужения пучковой и сетчатой зоны.

У животных второй опытной группы на 20-е сутки после заражения цитоморфология различных зон коркового и мозгового вещества приближалась к контролю, но было отмечено расширение капилляров пучковой и сетчатой зон коркового вещества. При этом явления жировой дистрофии и атрофические изменения не обнаруживались, что свидетельствует о синтезе и выделении прежде всего альдостерона и стероидных гормонов, оптимизирующих воспалительные процессы.

Мозговое вещество полнокровно, с очагами кровоизлияний, с клеточным и ядерным полиморфизмом, ядра клеток разрыхлены, с явлениями пикноза и кариолизиса, цитоплазма клеток резко набухшая, гомогенизирована, с грубой зернистостью, выраженной гидропической и гиалиново-капельной дистрофией.

Таким образом, в надпочечниках отмечали атрофию клубочковой зоны, ответственной за выработку минералокортикоидов, обеднение фосфолипидами эндокриноцитов пучковой зоны, ответственной за синтез глюкокортикоидов, атрофию мозговой части железы. Это свидетельствует о состоянии дистресса.

3.1.5. Сравнительная патоморфологическая оценка действия препаратов ципрофлоксацина и ампролиума на органы, ответственные за гомеостаз при криптоспоридиозе мышей

Нас особенно интересовало влияние ципрофлоксацина и ампролиума на органы, ответственные за гомеостаз, так как некоторые химиотерапевтические препараты небелковой природы являются неполноценными антигенами. Такие лекарственные вещества, вступая в связь с белком крови, лимфы, клеток, становятся полноценными комплексными антигенами. Реакция между белково-лекарственным антигеном и антителом приводит к выделению гистамина, серотонина и других токсических веществ, вызывающих комплекс отрицательных симптомов.

Препараты, применяемые для лечения протозойных болезней, должны обладать максимальным паразитоцидным и минимальным органотропным действием.

У мышей, получавших ципрофлоксацин и ампролиум, в третьей и пятой опытных группах патологических изменений в исследуемых органах не установлено.

У мышей, получавших цiproфлоксацин, на 5-е сутки после дачи препарата ткань печени была с явлениями значительного венозного полнокровия и гемостаза. Дольчатость строения была слабо нарушена, гепатоциты очерчены плохо, с округлыми полиморфными центрально расположенным ядрами, с рыхлым сетчатым хроматином, встречаются двуядерные клетки. Наблюдали некроз единичных гепатоцитов со скоплением в этих участках макрофагов и лимфоцитов; прослеживаются очаги жировой дистрофии гепатоцитов, пролиферации и гипертрофии звездчатых ретикулоэндотелиоцитов.

В последующем (через 10 – 12 суток) ткань печени слабо набухшая, гепатоциты очерчены слабо, с округлыми полиморфными центрально расположенным ядрами, с рыхлым сетчатым хроматином, встречаются двуядерные клетки. Балочная система строения долек выражена слабо, просвет большинства центральных вен расширен, с явлениями слабого гемостаза.

На 16 – 20-е сутки после дачи препарата признаки венозной гиперемии выражены слабо. У некоторых животных в различных отделах долек находили мелкие скопления клеток содержащих кроме лимфоцитов и макрофагов эозинофильные лейкоциты. В мазках-отпечатках, полученных из кусочков печени животных этой группы, ооцит С. рагум не обнаружено.

На 22 – 28-е сутки дольчатость печени сохранена, междолльковые перегородки выражены. В гепатоцитах много гликогена.

На 30-е сутки изменения идентичны предыдущим, что свидетельствует об активизации защитных сил организма и его иммунологической перестройке как ответной реакции на поступление цiproфлоксацина как антигена.

У мышей, получавших амбролиум, иммуноморфологические изменения менее выражены. На 5-е сутки было выявлено, что в ткани печени явления значительного венозного полнокровия и гемостаза. Дольчатость строения нарушена, междолльковые перегородки прослеживаются только в проекции печеночных триад. Ткань печени резко набухшая, гепатоциты очерчены слабо. Отмечается клеточный и ядерный полиморфизм. Интенсивность окраски гепатоцитов и компактность хроматина различны. Цитоплазма клеток резко набухшая, с грубой зернистостью, множеством прозрачных вакуолей, с явлениями выраженной гидропической и гиалиново-капельной дистрофии.

Балочная система строения долек полностью нарушена, просвет центральных вен расширен, с явлениями гемостаза. В проекции печеночных триад и междолльковых пространств мелкие инфильтраты из лимфоцитов и тканевых клеток гистиоцитов.

На 8-е сутки отмечались выраженные признаки венозной гиперемии. У некоторых животных балки в центре были несколько истончены и отодвинуты друг от друга. Узловые скопления клеток небольшие. Отмечалось наличие зернистой дистрофии гепатоцитов.

На 10-е сутки после дачи препарата ткань печени набухшая, дольчатость строения незначительно нарушена, так как междолльковые перегородки прослеживаются в основном в проекции печеночных триад. В просвете

желчных ходов и желчных капилляров незначительное скопление желчи. Просвет большинства центральных вен расширен, с явлениями гемостаза. В мазках-отпечатках, полученных из кусочков печени животных этой группы, найдены ооцисты С. рагум.

На 12 – 16-е сутки в печени животных этой группы отмечено незначительное полнокровие сосудов, система балок правильного строения. Гепатоциты крупных размеров, много двуядерных, цитоплазма несколько разрыхлена.

В последующем, на 22 – 30-е сутки, изменения идентичны. Так как химиопрепараты при введении в организм животного стимулируют или угнетают развитие защитных сил. В нашем опыте мы установили, что под действием ампролиума подавляются защитные силы организма мышей.

Животных четвертой опытной группы, которые были заражены и получали ципрофлоксацин, цитоморфология различных зон коркового и мозгового вещества приближалась к контролю, но было характерно расширение капилляров пучковой и сетчатой зон коркового вещества. При этом явления жировой дистрофии и атрофические изменения не обнаруживались, что свидетельствует о синтезе и выделении прежде всего альдостерона и стероидных гормонов, купирующих воспалительные процессы.

У зараженных мышей, получавших ампролиум, капсула надпочечников была представлена более толстыми волокнами и фиброцитами с темными удлиненными волнистыми ядрами. В клубочковой зоне величина клубочков меньше и они разделены хорошо выраженным пучками волокон соединительной ткани. Клетки небольшие, с темными ядрами, расположены близко друг к другу. В пучковой зоне клетки с темными ядрами, цитоплазма их сильно вакуолизирована, с крупными каплями нейтральных жиров. Характерна дисплексация пучков эндокриноцитов вследствие разного размера клеток. В сетчатой зоне выражены явления атрофии. В мозговом веществе на фоне венозной гиперемии также отмечали атрофические явления.

В надпочечниках отмечали признаки атрофии сетчатой зоны, мозгового вещества, которые отвечают за выработку кахетоловых аминов (адреналина и норадреналина). Это свидетельствует о состоянии дистресса. Наши данные подтверждают результаты исследований, полученные В. А. Васильевой (1998), Р. М. Таировой (2003) у других видов животных.

У мышей четвертой опытной группы извитые канальца выстланы однослоистым эпителием, в просвете ряда канальцев – единичные клетки слущенного эпителия. В проксимальных отделах нефронов мутная цитоплазма эпителия с неровными краями. Дистальный отдел имел более ясный контур. В мозговом веществе собирательные трубки выстланы призматическим эпителием, клеточные границы отчетливые. Характерная особенность структуры почек этой группы животных – ясно выраженная гиперемия микроциркуляторного русла коркового и мозгового вещества, что можно отнести за счет гиперфункции нефронов.

У значительной части животных шестой опытной группы находили

зозинофильные гранулы, которые хорошо видны даже при малом увеличении. Размер их неодинаков, но преобладают крупные. Границы отдельных клеток в большинстве канальцев не выявляются. Ядра некоторых клеток в поле зрения отсутствовали, видимые – в состоянии пикноза.

Результаты наших исследований показали, что сочетанная работа двух органов (почки и печени) надежно стабилизирует систему гомеостаза организма при чрезмерном напряжении, которую наблюдали при заражении *Cryptosporidium parvum* и даже препаратов. При этом печень выполняет роль основного адаптивного органа, в то время как почки подключаются как компенсаторный орган в критических ситуациях.

3.2. Гистохимические изменения в органах, ответственных за гомеостаз у мышей, экспериментально инвазированных ооцистами криптоспоридий, до и после применения препаратов

В последние годы стал внедряться в практику способ количественного определения гликогена в печени, разработанный М. В. Кудрявцевой и др. (1970, 1982). Важное значение наряду с этим придается применению гистохимических методов при исследовании отдельных клеточных структур, в частности определении гликогена в цитоплазме клеток. Этот метод исследования позволил дать характеристику функциональной активности отдельных клеточных структур при различных патологических процессах и изучить интимные механизмы патогенеза при инвазионных заболеваниях, в частности при криптоспоридиозе.

Гистохимические исследования показали, что гликоген в гепатоцитах печени мышей контрольной группы распределен в виде гранул равномерно по всей цитоплазме клеток. Его концентрация равна $66,57 \pm 0,37$.

Количество гликогена в гепатоцитах печени животных второй опытной группы, экспериментально зараженных ооцистами криптоспоридий, на 5-е сутки составило $47,6 \pm 1,09$ ($P < 0,001$), на 8-е – $38,26 \pm 1,02$ ($P < 0,001$), на 10-е – $38,37 \pm 1,03$ ($P < 0,001$), на 12-е – $45,38 \pm 0,89$ ($P < 0,001$), на 16-е – $48,26 \pm 0,78$ ($P < 0,001$), на 20-е – $49,05 \pm 1,03$ ($P < 0,001$) и на 30-е – $51,06 \pm 1,10$ ($P < 0,001$).

При исследовании было установлено, что в гепатоцитах печени мышей третьей опытной группы, не зараженных *C. parvum*, но получавших ципрофлоксацин в течение всего опыта, концентрация гликогена составляла $78,23 \pm 0,41$ ($P < 0,001$).

Концентрация гликогена в гепатоцитах печени у мышей четвертой опытной группы, инвазированных *C. parvum* и получавших ципрофлоксацин в течение всего опыта происходило постепенное повышение уровня гликогена. Он составлял на 5-е сутки $38,06 \pm 1,03$ ($P < 0,001$), на 8-е – $47,02 \pm 1,09$ ($P < 0,001$), на 10-е – $45,38 \pm 0,89$ ($P < 0,001$), на 12-е – $46,86 \pm 0,62$ ($P < 0,001$), на 16-е – $47,06 \pm 1,09$ ($P < 0,001$), на 20-е – $45,38 \pm 0,89$ ($P < 0,001$) и на 30-е – $56,86 \pm 0,62$ ($P < 0,001$).

Гистохимический анализ показал, что в гепатоцитах печени животных

пятой опытной группы, не инвазированных *C. parvum*, но получавших ампролиум количество гликогена уже на 5-е сутки $56 \pm 0,42$ ($P<0,001$), на 8-е – $65,06 \pm 0,37$ ($P<0,001$), на 10-е – $56,86 \pm 0,62$ ($P<0,001$), на 12-е – $61,63 \pm 1,02$ ($P<0,001$), на 16-е – $58,70 \pm 0,86$ ($P<0,001$), на 20-е – $47,60 \pm 1,09$ ($P<0,001$) и на 30-е – $49,90 \pm 1,03$ ($P<0,001$).

Сравнительный гистохимический анализ показал, что ампролиум действует более угнетающе, чем ципрофлоксацин на выработку гликогена в гепатоцитах печени.

В печени мышей шестой опытной группы количество гликогена в гепатоцитах печени было выше, чем в пятой. Общее состояние животных было лучше. На 30-е сутки концентрация гликогена приблизилась к контрольному уровню, составив $53,86 \pm 0,62$ ($P<0,001$).

Выявление концентрации липидов в надпочечниках проводили по методу Фолька и Поппера с флюорохромированием фосфином и последующим применением люминесцентной микроскопии. Исследования показали, что количество липидов в клетках контрольных животных значительно, при этом не все клетки дают интенсивное свечение.

При заражении мышей ооцистами *C. parvum* (вторая опытная группа) на 5-е и 8-е сутки число светящихся клеток и интенсивность свечения в надпочечниках значительно снижены, что свидетельствует о низком уровне липидов.

На 10-е и 12-е сутки после заражения также отмечалась их низкая концентрация. В последующем количество липидов постепенно увеличивалось, и на 30-е сутки их уровень приходил в норму.

Таким образом, результаты гистохимических исследований показывают, что при криптоспоридиозе происходит максимальное уменьшение количества липидов в надпочечниках. Эти данные согласуются с показателями, полученными для других видов животных, которые приводят в своих исследованиях В. А. Васильева и Р. М. Таирова (2003).

ВЫВОДЫ

1. При криптоспоридиозе, вызванном *Cryptosporidium parvum*, у мышей происходят нарушения в органах, ответственных за гомеостаз (печени, почках, надпочечниках), характеризующиеся выраженной клеточной реакцией, которая свидетельствует об защитной перестройке организма. Глубина нарушений зависит от времени с момента заражения.

2. В первый период (первые сутки после заражения) в паренхиматозных органах происходят дистрофические, некробиотические изменения, нарушение кровообращения и воспалительные процессы, связанные с токсическим влиянием возбудителя криптоспоридиоза.

3. Во второй период (8–10-е сутки после заражения) резко снижается содержание гликогена в гепатоцитах печени (до 28,2 % по сравнению с контролем), липидов в надпочечниках. В дни максимального снижения наблю-

далась жировая дистрофия в печени, почках и надпочечниках. Это по времени совпадает с патентным периодом и соответствует максимуму выделения ооцист с фекалиями.

4. В третий период (12–16-е сутки после заражения) происходит резкое последовательное увеличение уровня гликогена в гепатоцитах печени, липидов в надпочечниках, приближаясь к показателю у незараженных мышей. Следовательно, этот период характеризуется восстановлением функций органов, ответственных за гомеостаз и сопровождается значительным уменьшением количества выделяющихся с фекалиями ооцист.

5. Под влиянием *C. parvum* в организме мышей развиваются пролиферативные и воспалительные процессы, которые приводят к снижению функции надпочечников, значительному уменьшению концентрации липидов и потере гликогена в печени по сравнению с нормой.

6. Дача ципрофлоксацина и ампролиума в профилактических дозах в течение всего эксперимента (30 суток) не оказывает отрицательного влияния на изученные органы у мышей, не зараженных криптоспоридиями. У зараженных животных эти химиопрепараты способствуют снижению отрицательного влияния паразитов на органы, ответственные за гомеостаз. Наиболее выраженным действием обладает ципрофлоксацин.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Результаты исследований используются:

1) для оценки профилактической и терапевтической эффективности химических препаратов и их безвредности в 10 ветеринарных лабораториях РМ;

2) в экспериментальной работе и при чтении лекций по теме «Криптоспоридиоз и кокцидиоз» на кафедре патанатомии, инфекционных и инвазионных болезней животных Аграрного института Мордовского университета.

Полученные результаты по патоморфологическим и гистохимическим изменениям рекомендуем использовать при переиздании учебников по паразитологии и патологической анатомии.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Васильева, В.А. Влияние криптоспоридий на органы гомеостаза по-росят / В.А. Васильева, Е.И. Абаева // Основные итоги и приоритеты научного обеспечения АПК Евро-Северо-Востока : материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 110-летию Вятской сельскохозяйственной опытной станции (Зональный НИИСХ Северо-Востока им. Н. В. Рудницкого). – Киров, 2005. – С. 372 – 373.

2. Васильева, В.А. Сравнительная патоморфологическая оценка некоторых препаратов при криптоспоридиозе (экспериментальное исследование) / В.А. Васильева, Л.А. Небайкина, Е.И. Абаева, Н.С. Малахов // Теория и

практика борьбы с паразитарными болезнями : материалы докл. науч.конф.,
25 – 27 мая 2005 г. – М., 2005. – Вып. 6. – С. 70 – 71.

3. Васильева, В.А. Гистохимические изменения при экспериментальном криптоспоридиозе / В.А. Васильева, Т.И. Решетникова, Е.И. Абаева // Современные научноемкие технологии. – М., 2005. № 2. – С. 31 – 32.

4. Абаева, Е.И. Гомеостаз и инвазионный процесс при криптоспоридиозе (экспериментальное исследование) / Е.И. Абаева // Материалы XI научной конференции молодых ученых, аспирантов и студентов МГУ имени Н.П. Огарева : в 3 ч. Ч. 2. Естественные науки. – Саранск, 2006. – С. 94 – 95.

Подписано в печать 10.11.06. Объем 1,0 п. л. Тираж 100 экз.
Заказ № 2161.

Типография Издательства Мордовского университета
430000, г. Саранск, ул. Советская, 24

