

Морфологические и ультраструктурные изменения в организме самцов и самок крыс при экспериментальном заражении хламидиозом

В.В. Кочетов, аспирант, **Н.А. Татарникова**, д.в.н., профессор, ФГБОУ ВПО Пермская ГСХА; **О.В. Кочетова**, к.в.н., ФКОУ ВПО Пермский институт ФСИН

Различные виды хламидий вызывают заболевания, широко распространённые в популяции животных. Кроме острых процессов хламидийная инфекция ассоциирована с большим числом хронических заболеваний, сопровождающихся воспалением и фиброзом, что приводит к значительному поражению вовлечённых в инфекционный процесс органов и тканей. Зачастую при хламидиозе отсутствуют специфические клинические симптомы, поэтому методы лабораторной диагностики имеют первостепенное значение [1]. К настоящему времени проблема диагностики хронической формы хламидийной инфекции определяется несколькими факторами. Во-первых, персистирующие формы хламидий, ответственные за развитие хронических инфекций, с трудом выявляются с помощью классических методов исследований вследствие нарушения метаболизма и антигенной структуры. Во-вторых, при осложнённых формах возбудитель мало доступен для анализа [2]. Ультраструктурные исследования позволяют связать функциональные нарушения с определёнными структурными изменениями органов на уровне клетки.

При электронно-микроскопическом исследовании жизненно важных органов экспериментально заражённых крыс отмечены в основном необратимые изменения. Установлена гибель и разрушение митохондрий в клетках, тем самым доказано, что патологический процесс при экспериментальном хламидиозе влияет на обменные процессы в клетках, приводя к постепенной их гибели [3]. Подтверждением специфичности процесса является обнаружение в клетках эндотелия, гепатоцитах, невротитах, клетках специализированного эпителия семенников телец хламидий — фактора, который запускает механизм альтерации клетки с необратимым исходом.

Цель и задачи. Цель исследования — изучить ультраструктурные изменения в жизненно важных органах при экспериментальной хламидийной инфекции.

Материалы и методы исследований. Материалом для исследований служили патогенные микроорганизмы (хламидии). Опыты были проведены на крысах обоих полов. Для заражения крыс использовали возбудитель *Chl. Psittaci*, штамм «Лори», выделенный в 1957 г. от попугая [4].

Для опытов было взято 40 беспородных половозрелых крыс (36 самок и 4 самца), средняя масса самок составила 250 г, самцов — 300 г. За

две недели до эксперимента животные прошли карантин.

Инфекционный материал животным вводили внутривентриально в виде 10-процентной взвеси, очищенной дифференциальным центрифугированием овокультуры *Chl. Psittaci*, штамм «Лори». Инфекционный титр инокулянта составил 10^{-7} LD₅₀/0,5 мл для куриных эмбрионов.

Животные были разделены на две группы: I — опытная, II — контрольная, в каждой группе было 18 самок и 2 самца. Все животные I гр. подвергались заражению возбудителем, II гр. служила контролем, им вводили физиологический раствор внутривентриально.

Животных умерщвляли через 14 дней после заражения посредством передозировки эфирного наркоза. Внутренние органы извлекали и фиксировали в 2,5-процентном растворе глутарового альдегида, заливку производили в эпоксидные смолы. Срезы готовили на ультратоме ЛКБ-8800, контрастировали цитратом свинца, исследовали в электронном микроскопе ЭМБ-100 БР.

Результаты исследований. Морфологические изменения в органах животных, складывающиеся из дисциркуляторных, воспалительных, дистрофических процессов, подтверждены на ультраструктурном уровне. Данные исследования позволили более тонко проследить изменения органоидов специализированных клеток, межклеточного вещества органов и стенок сосудов, обеспечивающих целостность гистиона, входящего в состав гистогематического барьера. Известно, что разнообразные по качеству экзогенные патологические факторы воздействуют в первую очередь на наиболее чувствительные к гипоксии органоиды (ядро, митохондрии, лизосомы, эндоплазматическую сеть), вызывая там изменения необратимого характера, приводящие к гибели клетки.

Исходя из этого, нами прослежены изменения клеточных структур на уровне сосудистой стенки и специализированных клеток паренхиматозных органов. Наиболее тяжёлые изменения зарегистрированы в головном мозге — органе, наиболее чувствительном к недостаточному снабжению кислородом и питательными веществами.

При исследовании головного мозга крысёнка женского пола обнаружены скопления глиальных клеток. Границы между клетками нечёткие. Органеллы визуализируются плохо. Канальцы эндоплазматической сети равномерны, местами видны пузырьковидные образования и участки вакуолизации (рис. 1). Мембраны митохондрий нечёткие, двухконтурность не просматривается. Кристы видны не во всех митохондриях. В не-

которых митохондриях сохранены единичные кристы, а в некоторых отмечается их полная деструкция с просветлением митохондриального матрикса. Ядра занимают практически всю цитоплазму. Они округлой формы. Ядерные мембраны чёткие, осmioфильные. Двухконтурность просматривается (рис. 1), но при увеличении отмечается, что она сохранена частично. Хроматин разрежен с опустошением кариоплазмы. Просматриваются осmioфильные глыбки конденсированного хроматина, локализованные вблизи ядерной мембраны. Хламидии в ткани головного мозга не обнаружены.

Исследуемый материал головного мозга самца представлен участком мозговой оболочки с выраженными признаками деструкции и очагом кровоизлияния. В очаге кровоизлияния прослеживается обилие бесструктурных масс, видны фрагменты разрушенных клеток. Цитоплазма их гомогенного вида, органеллы не визуализируются. В очагах деструкции обнаруживаются ретикулярные тельца хламидий (рис. 2, 3).

В образце продолговатого головного мозга самки выявлены миелиновые нервные волокна. Клеточные элементы не обнаружены (рис. 4). Миелин осmioфильный. В цитоплазме отростков нервных клеток видны локальные отёки и очаги деструкции. Митохондрии набухшие. Мембраны истончены. Отмечается деструкция крист и просветление митохондриального матрикса. Сосуды полнокровны. На поперечном срезе сосуда в его просвете видны сладжированные эритроциты. Эндотелий набухший, просвет сосудов сужен. Цитоплазма эндотелиоцитов просветлена чёткими вакуолями. Хламидии не обнаружены.

Печёночная долька образована резко полнокровным сосудом и гепатоцитами с признаками деструкции разной степени выраженности (рис. 5). Обнаруживаются как относительно сохраненные клетки, так и гепатоциты с выраженными признаками деструкции, причём последние преобладают. В сохраненных гепатоцитах отмечается разрежение цитоплазмы и незначительная вакуолизация её. Отмечается обеднение цитоплазмы гранулами гликогена. Митохондрии расположены диффузно в цитоплазме, но имеют тенденцию к образованию небольших скоплений. Ядро округлой формы. Ядерная мембрана нечёткая, разрыхлена. Хроматин незначительно разрежен. Эндоплазматическая сеть обширна, локализована в перинуклеарной зоне. При увеличении видно, что каналцы эндоплазматической сети равномерны. Митохондрии несколько набухшие. Митохондриальные мембраны нечёткие. Митохондриальный матрикс гомогенного вида, просматриваются единичные кристы. В большинстве гепатоцитов определяются признаки выраженной деструкции. Цитоплазма разрежена, отсутствуют зерна гликогена, виден выраженный внутриклеточный перинуклеарный отёк. Органеллы

оттеснены к периферии клетки. Ядро неправильной формы, деформировано за счёт распространённого отёка. Ядерная мембрана нечёткая. Хроматин гомогенного вида. Канальцы эндоплазматической сети равномерны. Митохондрии частично разрушены, мембраны не просматриваются. Митохондриальный матрикс гомогенного вида, видны единичные кристы или их фрагменты. Ядерная мембрана разрыхлена, двухконтурность её не просматривается. Отмечается резкое полнокровие сосудов, сладжирование эритроцитов. Эндотелий набухший, выступает в просвет сосуда. Цитоплазма эндотелиоцитов просветлена, в ней просматриваются зернистые массы. В ядрах эндотелиоцитов отмечается разрежение хроматина с просветлением кариоплазмы. Органеллы не визуализируются. В цитоплазме эндотелиоцитов видны ретикулярные тельца хламидий.

В интерстиции почки видны поперечные срезы почечных канальцев. Межклеточные контакты между эпителиальными клетками канальца не визуализируются. Цитоплазма в состоянии выраженной деструкции, заполнена увеличенными в размерах митохондриями. В перинуклеарной зоне определяется распространённый отёк. Сосуды резко полнокровны. В просвете сосудов видны сладжированные эритроциты, эндотелий уплощён. В некоторых канальцах отмечается полная деструкция эндотелия, в просвете просматриваются остатки органелл и ядер, фрагменты цитоплазмы. При увеличении отмечается опустошение цитоплазмы в зоне отёка. Митохондрии оттеснены к периферии клетки. Ядро деформировано, неправильной формы. Ядерная мембрана нечёткая. Хроматин негомогенный. В некоторых клетках канальцевого эпителия набухшие митохондрии заполняют всю цитоплазму. Митохондрии вытянутой формы. Мембраны сохранены частично, просматриваются фрагменты крист. Митохондриальный матрикс просветлён. Митохондрии плотно прилежат друг к другу. Эндоплазматическая сеть в эпителиальных клетках канальцев не визуализируется.

В почечных клубочках отмечается выраженное полнокровие капилляров, сладжирование эритроцитов в их просвете. Эндотелий клубочковых капилляров набухший, выступает в просвет сосуда, существенно его ограничивая. В цитоплазме эндотелиоцитов видны локальные очаги деструкции. Ядра неправильной формы, ядерные мембраны нечёткие, хроматин разрежен. Отмечается резкое сдавление подоцитов полнокровными капиллярами. Ножки у большинства подоцитов не визуализируются, сдавлены, поджаты к мембранам клубочковых капилляров. Митохондрии в цитоплазме подоцитов набухшие, отмечается деструкция крист и просветление митохондриального матрикса. Мембраны клубочковых капилляров равномерны, гомогенного вида. В единичных подоцитах просматриваются тонкие сохраненные ножки, но они

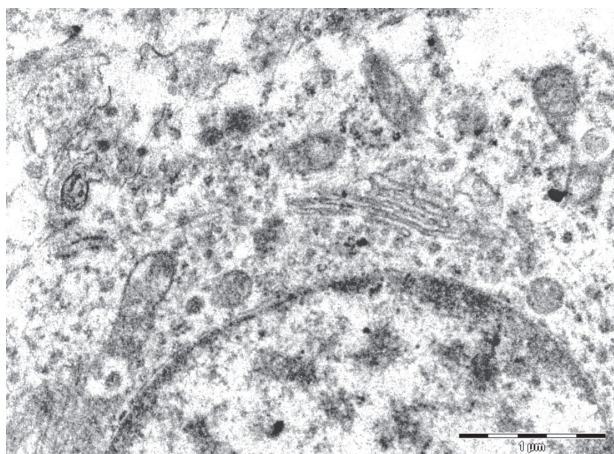


Рис. 1 – Эндоплазматическая сеть. Митохондрии с признаками деструкции. Ядра с чёткой 2-контурной мембраной (увеличение $\times 22000$)

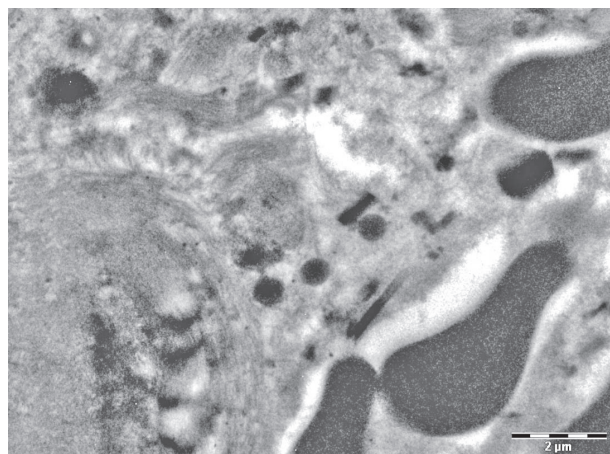


Рис. 2 – Ретикулярные тельца хламидий в очаге деструкции мозговой оболочки (увеличение $\times 7100$)

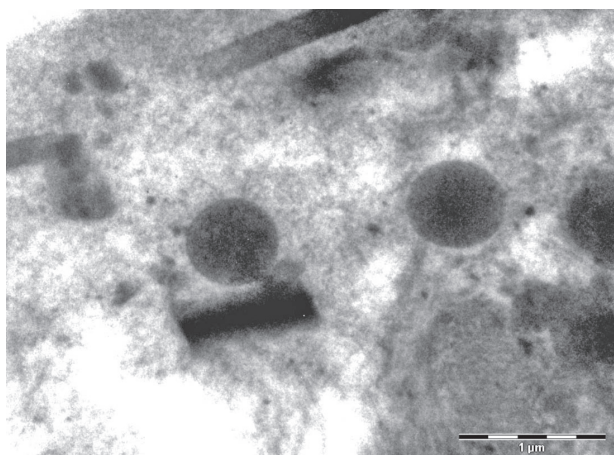


Рис. 3 – Ретикулярные тельца хламидий в очаге деструкции мозговой оболочки (увеличение $\times 22000$)

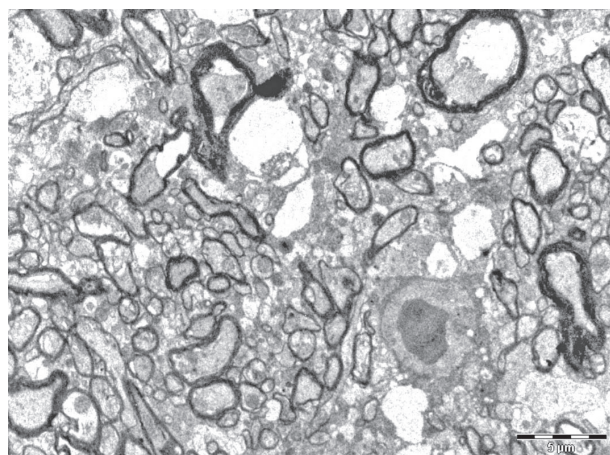


Рис. 4 – Миелиновые нервные волокна. Сосуд (увеличение $\times 2800$)

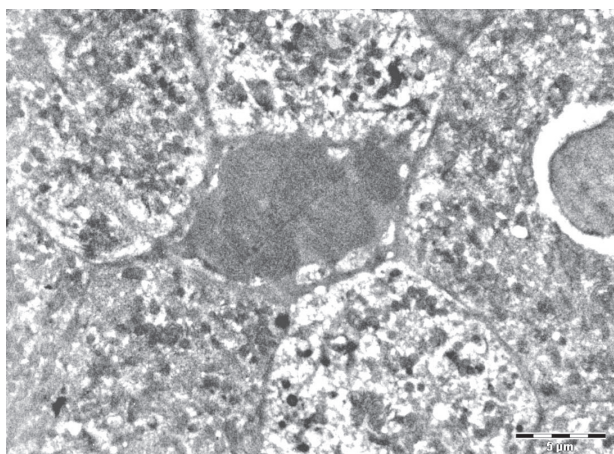


Рис. 5 – Печёночная долька. Полнокровный сосуд. Гепатоциты с признаками деструкции разной степени выраженности ($\times 2800$)

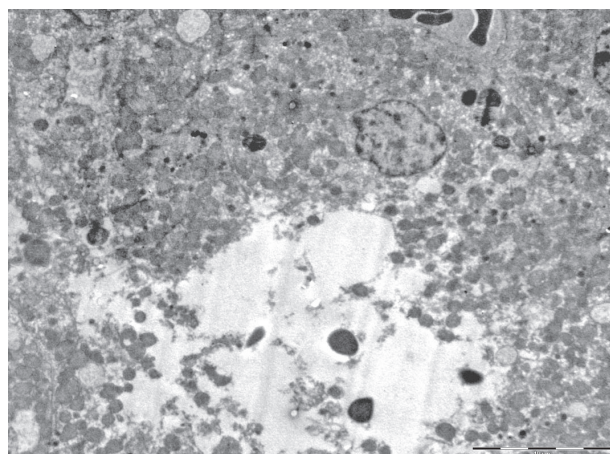


Рис. 6 – Ретикулярные тельца хламидий в просвете почечного канальца. Выраженная деструкция канальцевого эпителия ($\times 3500$)

постепенно сливаются с цитоплазмой, которая плотно прилежит к мембране капилляров. В просвете некоторых канальцев выявляются ретикулярные тельца хламидий (рис. 6). Отмечается выраженная деструкция эпителия в таких канальцах.

Выраженная деструкция ткани отмечается в семенниках с образованием бесструктурных масс. Среди бесструктурных масс просматриваются продольные и поперечные срезы основных отделов жгутиков сперматозоидов (рис. 7). В остатках

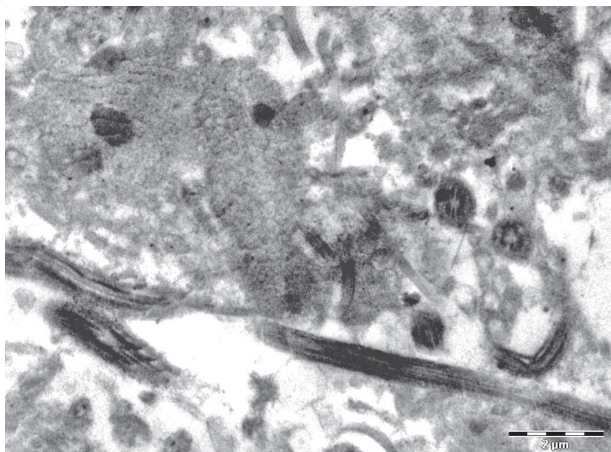


Рис. 7 – Участки жгутиков сперматозоидов ($\times 7100$)

погибшей клетки выявляются единичные ретикулярные тельца хламидий.

Вывод. При электронно-микроскопическом исследовании жизненно важных органов нами

отмечены в основном необратимые изменения. Патологический процесс, затрагивая в первую очередь сосудистое русло, влияет на обменные процессы в клетках, приводя к постепенной гибели ядер и органоидов цитоплазмы. Подтверждением специфичности процесса является обнаружение в клетках эндотелия, гепатоцитах, невροцитах, клетках специализированного эпителия семенников телец хламидий – фактора, который запускает механизм альтерации клетки с необратимым исходом.

Литература

1. Равилов А.З., Гаффаров Х.З., Равилов Р.Х. Хламидиоз животных. Монография. Казань: Изд. «Фэн», 2004. С. 368.
2. Дроздова Л.И., Татарникова Н.А. Морфология гистогематических барьеров при хламидиозе свиней: учебное пособие для студентов по специальности «Ветеринария». Пермь, ПГСХА, 2003. С. 205.
3. Кочетова О.В., Татарникова Н.А., Кочетов В.В. Деструктивные изменения в тканях головного мозга при экспериментальном хламидиозе крыс // Учёные записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2012. Т. 212. С. 63–68.
4. Каталог штаммов. Вып. 4. М., 1962.