

ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНАХ И ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ СТАФИЛОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ

[Ю. А. Пименова](#), [Л. Н. Захарова](#), [Т. А. Агеева](#), [А. Н. Евстропов](#)

*ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава
России (г. Новосибирск)*

Цель работы — оценить иммуноморфологические преобразования в лимфатических узлах, печени и селезенке при экспериментальной стафилококковой инфекции.

Морфометрические исследования позволили установить, что в ответ на введенный микроб в мезентериальных лимфатических узлах, селезенке и печени крыс развиваются однотипные структурно-функциональные преобразования разной степени интенсивности, свидетельствующие об активации гуморального иммунного ответа и определившие разную скорость освобождения органов от микробов.

Ключевые слова: стафилококковая инфекция, лимфатический узел, селезенка, печень, иммуноморфологические преобразования.

Пименова Юлия Александровна — кандидат медицинских наук, ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 222-68-35, e-mail: medic.81@mail.ru

Захарова Людмила Николаевна — кандидат медицинских наук, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 222-68-35, e-mail: nisngma@ngs.ru

Агеева Татьяна Августовна — доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической анатомии ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 346-00-19, e-mail: ageta@mail.ru

Евстропов Александр Николаевич — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 222-68-35, e-mail: microbio@ngs.ru

Введение. В настоящее время *S. aureus* продолжает удерживать лидирующие позиции в качестве возбудителя внебольничных и нозокомиальных инфекций различной локализации, в том числе значительной доли инфекций брюшной полости и органов малого таза [1, 2].

Известно, что вероятность возникновения и особенности течения инфекции, вызванной условно-патогенным микробом, во многом зависят от того, как функционирует иммунная система организма. В ответ на инфицирование разворачивается сложная, многокомпонентная последовательность реакций, направленных на изоляцию и уничтожение патогена, активацию репаративных процессов и восстановление гомеостаза [3, 4]. Лимфатическая система, являясь естественным барьером и компонентом иммунной системы, участвует в поддержании постоянства внутренней среды организма, выполняет лимфодетоксикацию и презентацию антигена через процессы адсорбции, фильтрации, эндо- и экзоцитоза, биотрансформацию веществ и иммунную обработку антигенного материала, что проявляется структурно-функциональными преобразованиями в лимфоидных органах [5, 6]. Печень по сравнению с другими паренхиматозными органами содержит наибольшее количество мононуклеарных фагоцитов, благодаря чему задерживает до 95 % попавших микроорганизмов, осуществляя презентацию и элиминацию инфекционного агента [7, 8].

Цель исследования: изучить иммуноморфологические преобразования в лимфатических узлах, печени и селезенке при экспериментальной стафилококковой инфекции.

Материалы и методы. Экспериментальное исследование выполнено на 160-ти половозрелых крысах (самцах) породы Wistar. Все манипуляции с лабораторными животными проводили в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986).

Животным экспериментальной группы ($n = 150$) внутрибрюшинно под эфирным наркозом вводили в объеме 1 мл 1×10^9 микробных клеток суточной культуры *S. aureus*. Животным контрольной группы ($n = 10$) внутрибрюшинно вводили 1 мл 0,9 % раствора NaCl.

Животных содержали в условиях вивария на стандартном рационе со свободным доступом к пище и воде. Через 3, 6, 12 часов и 1, 2, 3, 7, 9, 14 суток животных выводили из эксперимента путем передозировки эфира и декапитации. Для исследования забирали мезентериальные лимфатические узлы, селезенку и печень.

В органах определяли наличие и количество стафилококка, концентрацию микроба выражали в колониеобразующих единицах в 1 г материала (КОЕ/г). Для патоморфологического изучения лимфатические узлы, селезенку и печень животных фиксировали в 10 % нейтральном формалине, проводили через спирты и заливали в парафин по стандартной методике, гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Проводили обзорную светооптическую микроскопию и морфометрию структурных компонентов по методу Г. Г. Автандилова [9]. В лимфатических узлах определяли объемную плотность подкапсульных и мозговых синусов, капсулы, коркового плато, лимфоидных фолликулов, паракортикальной зоны и мякотных тяжей, вычисляли корково-мозговой индекс. В селезенке проводили подсчет численной плотности (N_v) фолликулов со светлыми центрами и без них, определяли площадь селезенки (S_v), площадь фолликулов (S_v), площадь светлых центров (S_v). В печени изучали клеточный

состав инфильтратов и вычисляли процентное содержание макрофагов, лимфоцитов, нейтрофилов, плазматических клеток, эозинофилов.

Статистическую обработку числовых данных проводили с использованием пакета прикладных программ Excel. Достоверность различий сравниваемых средних величин определяли с применением *t* — критерия Стьюдента (достоверность различий между средними величинами признаков выявляли для уровней значимости $p \leq 0,05$).

Результаты исследований. Морфометрические исследования позволили установить, что в ответ на введенный микроб в мезентериальных лимфатических узлах происходит расширение корковой зоны за счет увеличения численной и объемной плотности фолликулов с герминативными центрами (что свидетельствует об активации гуморального иммунного ответа) и без них. Однако скорость развития этих изменений и их интенсивность у животных были различными (рис. 1, 2). Так, у меньшей части животных (1-я подгруппа, $n = 50$) структурно-функциональные преобразования мезентериальных лимфатических узлов наблюдались через 24 часа и соответствовали компактному типу лимфоузла (корково-мозговой индекс равен $1,8 \pm 0,24$). Численная плотность фолликулов с герминативными центрами у животных 1-й подгруппы нарастала постепенно и достигала максимальных показателей через 1 сутки эксперимента (рис. 1).

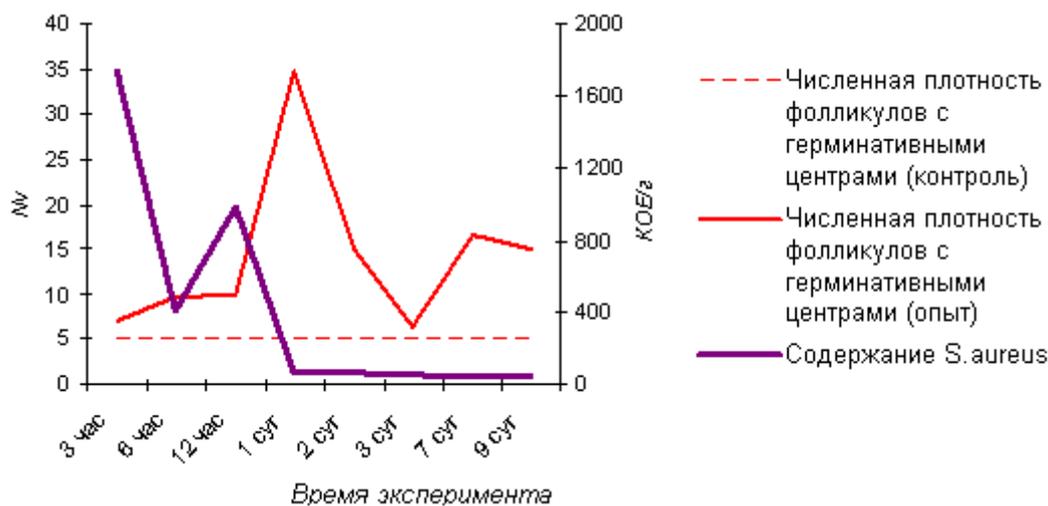


Рис. 1. Мезентериальные лимфатические узлы, 1-я подгруппа

У большей же части животных (2-я подгруппа, $n = 100$) аналогичные изменения выявлены существенно раньше. Так, корково-мозговой индекс равный $1,8 \pm 0,23$ наблюдался уже через 3 часа после инфицирования, а через 6 часов составил $3,5 \pm 0,08$. Численная плотность фолликулов с герминативными центрами у животных 2-й подгруппы в первые 6 часов была значительно выше, чем в 1-й подгруппе (рис. 2). Различия в реагировании лимфоузлов можно связать с разной интенсивностью переработки патогена фагоцитирующими клетками и индукцией бласттрансформации лимфоцитов презентированным макрофагами антигеном. В результате скорость и эффективность освобождения от микроба у животных 2-й подгруппы была выше и через сутки стафилококк из мезентериальных лимфатических узлов уже не высевался.

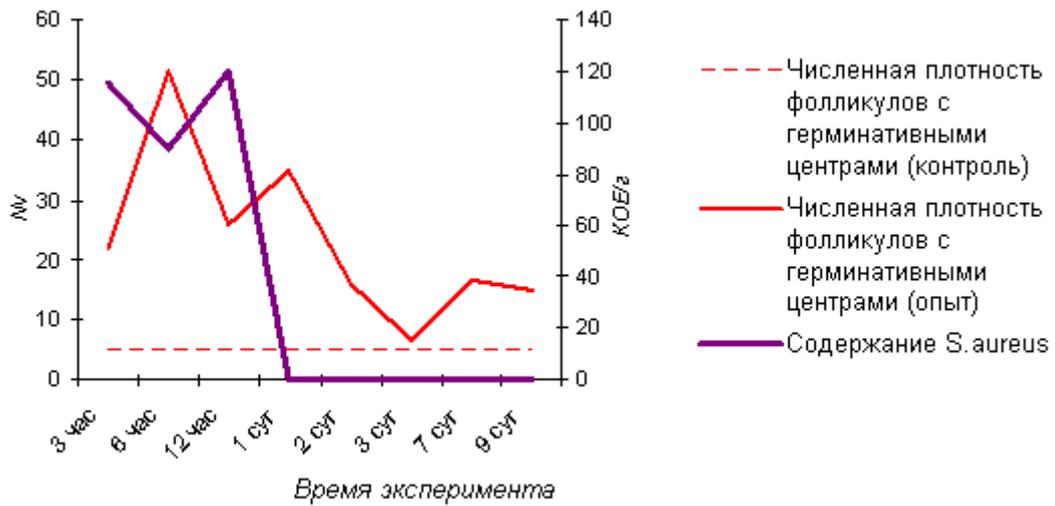


Рис. 2. Мезентериальные лимфатические узлы, 2-я подгруппа

Морфологические исследования селезенки показали, что площадь органа увеличивалась в обеих подгруппах животных в сравнении с контрольной группой. Увеличение площади селезенки происходило за счет увеличения численной плотности фолликулов без герминативных центров и фолликулов с герминативными центрами. Значительно увеличилась по сравнению с контрольной группой объемная доля белой пульпы за счет лимфоидных фолликулов с герминативными центрами и без них. Наблюдалось активное формирование фолликулов с герминативными центрами у животных обеих подгрупп: уже через 6 часов численная плотность фолликулов с реактивными центрами в 1-й подгруппе составила $4,5 \pm 0,43$, а во 2-й подгруппе — $11,2 \pm 0,49$ (рис. 3, 4).

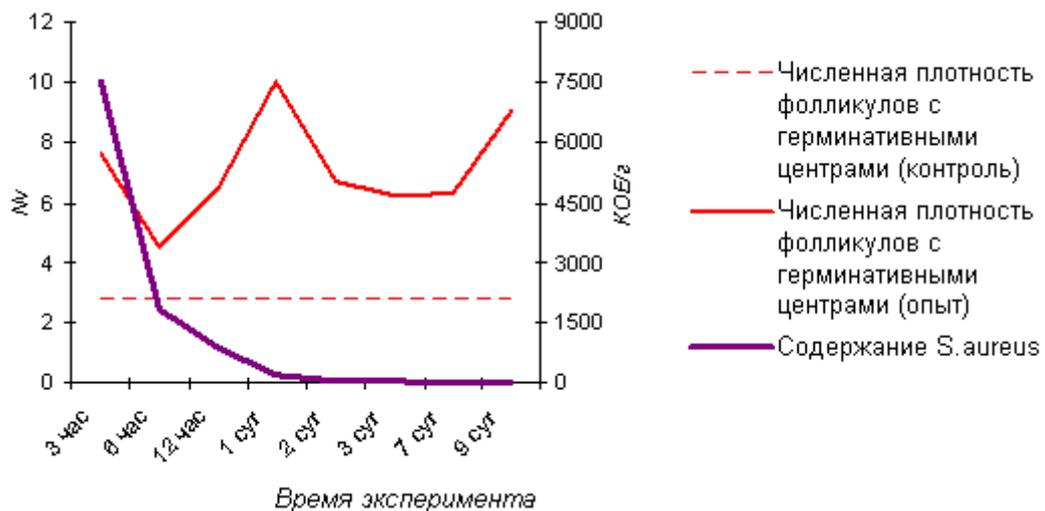


Рис. 3. Селезенка, 1-я подгруппа

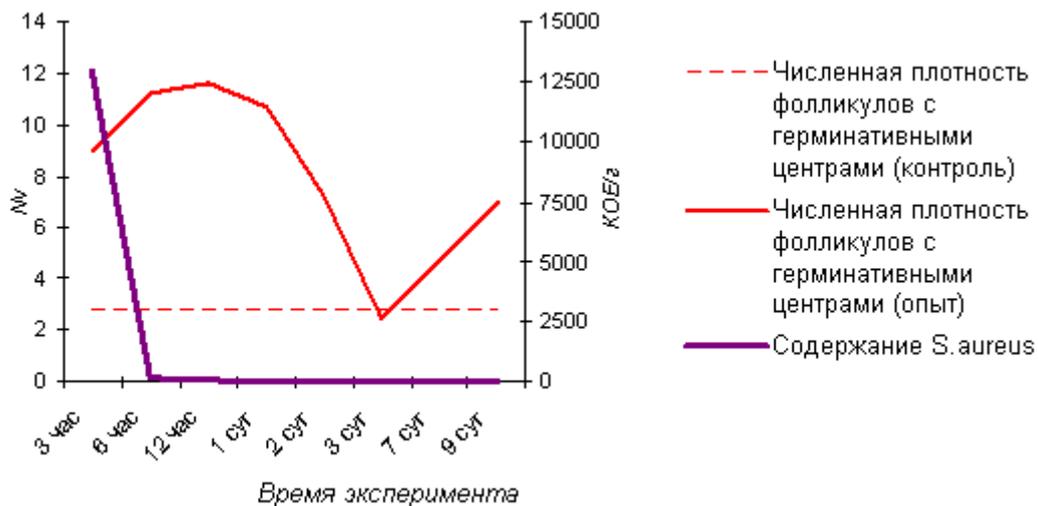


Рис. 4. Селезенка, 2-я подгруппа

Менее интенсивный процесс фагоцитоза, вероятно, обусловил более длительное нахождение тест-микроба в селезенке крыс 1-й подгруппы (микроб был элиминирован только через 7 суток) и привел к менее выраженным структурно-функциональным преобразованиям в фолликулах. Из селезенки животных 2-й подгруппы уже через 1 сутки микроб не высевался, а морфологические изменения были более интенсивными.

Необходимо отметить, что *S. aureus* высевался из печени всех инфицированных животных в меньших количествах, чем из селезенки и лимфатических узлов. Однако на протяжении всего эксперимента в печени животных обеих подгрупп наблюдалась воспалительная реакция разной степени интенсивности. Внутридольковые воспалительно-клеточные инфильтраты, формировавшиеся уже к 3 часам эксперимента, в основном были представлены макрофагами, лимфоцитами, нейтрофилами и плазматическими клетками. Так, у животных 1-й подгруппы макрофаги составили $36,4 \pm 3,49$ %, у животных 2-й подгруппы — $31,3 \pm 2,51$ %, при этом в инфильтратах печени обеих подгрупп нарастало содержание нейтрофилов, лимфоцитов и плазматических клеток (максимальные показатели были через 12 часов в 1-й подгруппе и через 6 часов во 2-й подгруппе). Наиболее динамично на введение инфекта реагировали нейтрофилы, доля которых в печени у животных 1-й подгруппы уже через 6 часов после введения микроба составила $5,6 \pm 1,51$ %, обеспечив эффективный процесс элиминации — за 3 часа количество высеянного микроба уменьшилось более, чем в 10 раз (рис. 5).

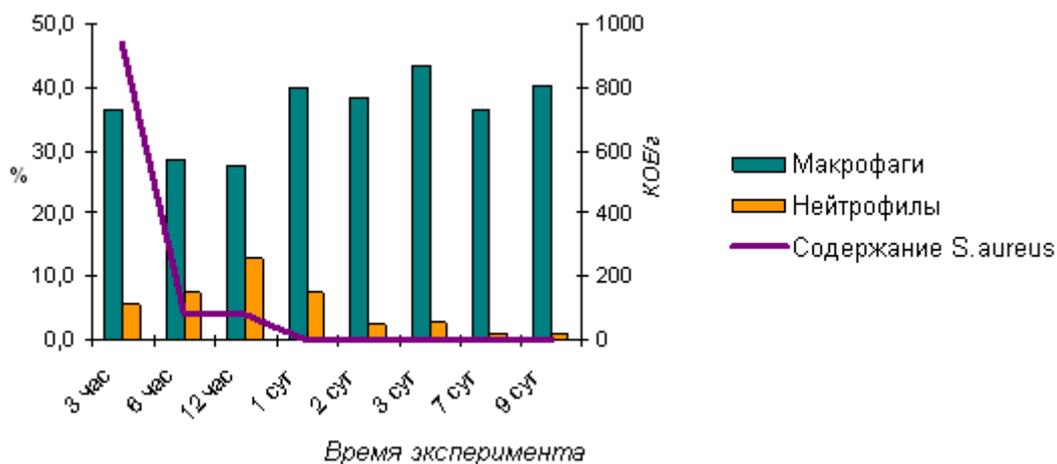


Рис. 5. Печень, 1-я подгруппа

У животных 2-й подгруппы изначально меньшее количество поступившего в печень микробного агента привлекло в инфильтраты меньшее количество нейтрофилов ($2,9 \pm 0,82 \%$), рис. 6. Отмеченная интенсивная миграция макрофагов, нейтрофилов, вероятно, обеспечила более быстрое освобождение печени от инфекционного агента по сравнению с лимфатическими узлами и селезенкой.

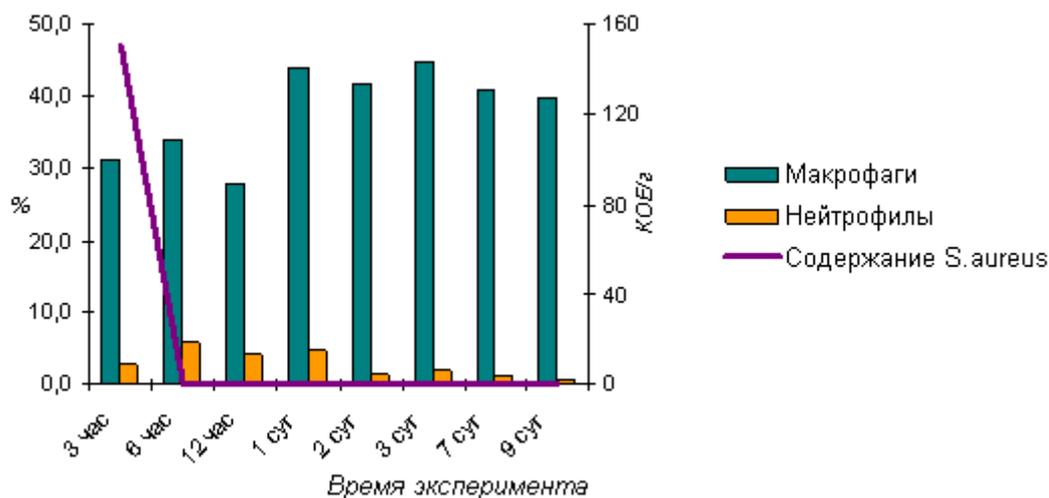


Рис. 6. Печень, 2-я подгруппа

Выводы. Проведенные морфологические исследования мезентериальных лимфатических узлов, печени и селезенки крыс, инфицированных *S. aureus*, выявили однотипные структурно-функциональные преобразования разной степени выраженности, определившие разную скорость освобождения органов от микроба.

Список литературы

1. Tang Y. W. Staphylococcus aureus : An old pathogen with new weapons / Y. W. Yang, C. W. Stratton // Clin. Lab. Med. — 2010. — Vol. 30, N 1. — P. 179-208.
2. Kennedy A. D. Epidemiology and virulence of community Associated MRSA / A. D. Kennedy, F. R. DeLeo // Clin. Microbiol. Newsletter. — 2009. — Vol. 31, N 20. — P. 153-160.
3. Иммуитет и инфекция : механизмы взаимодействия иммунной системы и возбудителя инфекции / Л. М. Киселева [и др.] // Ульяновский медико-биологический журн. — 2011. — № 2. — С. 80-85.
4. Bellanti J. A. Immunology IV : Clinical Application in Health and Disease / J. A. Bellanti. — Washington, — 2012. — P. 1063.
5. Лимфоузел как маркер экологического воздействия / Ю. И. Бородин [и др.] // Тез. докл. II съезда лимфологов России. — СПб., 2005. — С. 39-41.
6. Bröker B. M. Immune control of Staphylococcus aureus — Regulation and counter-regulation of the adaptive immune response / B. M. Bröker, S. Holtfreter, I. B. Ding // International journal of medical microbiology. — 2014. — Vol. 304, N 2, — P. 204-214.
7. Маянский Д. Н. Лекции по клинической патологии / Д. Н. Маянский. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. — 462 с.
8. Структурно-временная организация печени лимфатической, иммунной, эндокринной систем при нарушении светового режима и введении мелатонина / Ю. И. Бородин [и др.]. — Н. : Изд-во Манускрипт, 2012. — С. 13-23.
9. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия / Г. Г. Автандилов. — М. : Медицина, 1990. — 383 с.

IMMUNOMORPHOLOGICAL CHANGES IN LYMPHOID ORGANS AND LIVER AT EXPERIMENTAL STAPHYLOCOCCAL INFECTION

Y. A. Pimenova, L. N. Zakharova, T. A. Ageeva, A. N. Evstropov

SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health» (Novosibirsk)

The research objective is to estimate immunomorphological transformations in lymph nodes, liver and spleen at an experimental staphylococcal infection. Morphometric researches allowed to establish that in response to the entered microbe in the mesenteric lymph nodes, spleen and liver of rats the same structurally functional transformations of different degree of intensity develop and which are testifying to activation of the humoral immune answer and defined different rate of remission of organs of microbes.

Keywords: staphylococcal infection, lymph node, spleen, liver, immunomorphological transformations.

About authors:

Pimenova Julia Aleksandrovna — candidate of medical science, assistant of microbiology chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 222-68-35, e-mail: medic.81@mail.ru

Zakharova Lyudmila Nikolaevna — candidate of medical science, assistant professor of microbiology, virology and immunology chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 222-68-35, e-mail: nisngma@ngs.ru

Ageeva Tatyana Avgustovna — doctor of medical science, professor of pathological anatomy chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 346-00-19, e-mail: ageta@mail.ru

Evstropov Alexander Nikolaevich — doctor of medical science, professor, head of microbiology, virology and immunology chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 222-68-35, e-mail: microbio@ngs.ru

List of the Literature:

1. Tang Y. W. Staphylococcus aureus : An old pathogen with new weapons / Y. W. Yang, C. W. Stratton // Clin. Lab. Med. — 2010. — Vol. 30, N 1. — P. 179-208.
2. Kennedy A. D. Epidemiology and virulence of community Associated MRSA / A. D. Kennedy, F. R. DeLeo // Clin. Microbiol. Newsletter. — 2009. — Vol. 31, N 20. — River 153-160.
3. Immunity and infection : mechanisms of interaction of immune system and contagium / L. M. Kiselyova [et al.] // Ulyanovsk medicobiological journal. — 2011. — N 2. — P. 80-85.
4. Bellanti J. A. Immunology IV: Clinical Application in Health and Disease / J. A. Bellanti. — Washington, — 2012. — P. 1063.

5. Lymphonodus as marker of ecological influence / Yu. I. Borodin [et al.] // Theses of II congress of lymphologists of Russia. — SPb., 2005. — P. 39-41.
6. Bröker B. M. Immune control of Staphylococcus aureus — Regulation and counter-regulation of the adaptive immune response / B. M. Bröker, S. Holtfreter, I. B. Ding // International journal of medical microbiology. — 2014. — Vol. 304, N 2. — P. 204-214.
7. Mayansky D. N. Lectures on clinical pathology / D. N. Mayansky. — M. : GEOTAR-media, 2008. — 462 p.
8. The structural and time organization of a liver of lymphatic, immune, endocrine systems at disturbance of a light regimen and introduction of melatonin / Y. I. Borodin [et al.]. — N. : Publishing house Manuscript, 2012. — P. 13-23.
9. Avtandilov G. G. Medical morphometry / G. G. Avtandilov. — M. : Medicine, 1990. — 383 p.