

МОРФОЛОГИЯ КАРДИОМИОЦИТОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

Д.А. Лежнин, З.М. Айдарбекова, Р.Р. Тухватшин

Кыргызская Государственная медицинская академия им. И.К. Ахунбаева

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии

Кафедра патологической физиологии

г. Бишкек, Кыргызская Республика

Резюме. Выявлено постепенное изменение структуры кардиомиоцитов при интраперитонеальном введении чистой культуры *Streptococcus pneumoniae*, вплоть до резко выраженного полнокровия сосудов, отёка стромы, местами встречается фрагментация кардиомиоцитов, гипертрофия кардиомиоцитов, а также наблюдается интерстициальный миокардит с разрастанием соединительной ткани.

Ключевые слова: пневмококк, сердце, кардиомиоциты, миокардит.

**КАРДИОМИОЦИТТЕРДИН ТҮЗҮЛҮШҮНӨ
STREPTOCOCCUS PNEUMONIA-НЫН ТААСИРИ**

Д.А. Лежнин, З.М. Айдарбекова, Р.Р. Тухватшин

И.К. Ахунбаев атындагы Кыргыз Мамлекеттик медициналык академиясы,

Гистология, цитология жана эмбриология кафедрасы

Патофизиология кафедрасы

Бишкек ш., Кыргыз Республикасы

Корутунду: *Streptococcus pneumoniae*-ны ич көңгдөйүнө эксперименталдык жол менен себелегенде, кардиомиоциттердин түзүмүнүн өзгөрүүсө байкалган, андан тышкары, кан тамырлардын канга толугу, строманын шишиги, кардиомиоциттин гипертрофиясы, кээ кээде кардиомиоциттердин фрагментациялары байкалат, интерстициалдуу миокардиттин ткандарды бириктирүүчү өсүшү байкалат.

Негизги сөздөр: пневмококк, жүрөк, кардиомиоцит, миокард.

**CARDIOMYOCYTES MORPHOLOGY UNDER INFLUENCE
OF STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE**

D. Lezhnin, Z.M. Aidarbekova, R.R. Tuhvatshin

Kyrgyz State Medical Academy named after I.K. Akhunbaev,

Department of histology, cytology and embryology

Department of pathophysiology

Bishkek, the Kyrgyz Republic

Resume. A gradual change in the structure of cardiomyocytes during the intraperitoneal administration of a pure culture of *Streptococcus pneumoniae*, up to pronounced vasodilatation, edema of the stroma, fragmentation of cardiomyocytes, cardiomyocyte hypertrophy, and interstitial myocarditis with proliferation of connective tissue are observed.

Key words: pneumococcus, heart, cardiomyocytes, myocarditis.

Введение. *Str. Pneumoniae* вызывает пневмококковые инфекции - группу широко распространённых антропонозных болезней, представляющих актуальную проблему для практического здравоохранения во всех странах мира: по мнению экспертов ВОЗ - это одна из наиболее часто возникающих бактериальных инфекций у человека. Ежегодно погибают около 1 млн. детей в возрасте до 5 лет (9% от общей детской смертности), 3 тыс. детей страдают пневмококковой бактериемией, 39 тысяч переносят пневмококковую пневмонию, 713 тыс. заболевают пневмококковыми отитами [1-7].

В 2014 году группа учёных предположила, что пневмококк (бактерия, которая несёт ответственность, в большинстве случаев, за развитие бактериальной пневмонии) способен проникать в сердце и вызывать гибель клеток сердечной мышцы [8]. Известно, что *Str. Pneumoniae* является легочным патогеном и в то же время остаётся мало изученным его влияние на морфофункциональное состояние сердца. Несмотря на применение различных антибиотиков, воспаление лёгких нередко осложняется и патологией сердца.

Цель исследования: разработка методики и изучение влияния *Str. Pneumoniae* при его интраперитонеальном введении на структуру кардиомиоцитов.

Материалы и методы исследования. Для этой цели было взято 15 крыс массой 150-200 г, они были разделены на две группы: контрольную (5) и опытную (10). Опытная была разделена в свою очередь на две подгруппы по 5 особей.

На первом этапе проводилось пересеивание культуры *Str. Pneumoniae*. Чистая культура (ЧК) бактерии предоставлена санитарно-эпидемиологической станцией г. Бишкек. Далее мы проводили пересеивание. Первая среда, состоящая из

сывороточного агара, не дала удовлетворяющий нас рост. С целью стимуляции роста *Str. Pneumoniae* среда обогащена кровью + глюкозой - результат оказался положительным: пневмококк, пересеянный за 2 дня штриховым методом на чашки Петри в среды с добавлением крови и глюкозы и помещенный в термостат с оптимальной температурой 37°-38°С, дал видимый рост, а именно:

- L-гемолиз вокруг колоний
- Мелкие, плоские, мутные, сероватого цвета колонии (рис.1).



Рис. 1. Колонии *Streptococcus Pneumoniae*.

После были проведены тесты в санитарно-эпидемиологической станции с оптохином и желчью.

На втором этапе проводилось заражение 10 лабораторных крыс. 10 опытных крыс разделили на две группы (по 5 особей):

- первую группу заразили за одни сутки до взятия сердца на гистологическое исследование,

- вторую группу заразили за 10 дней до взятия сердца на гистологическое исследование,

- третья группа - контрольная (в кол-ве 5-ти особей) – здоровые животные, служившие для сравнения микростроения сердца с сердцем животных опытной группе.



Рис. 2. Заражение.



Рис. 3. Материал.

Метод заражения *Str. Pneumoniae* - интраперитонеальный (внутрибрюшинный). Помощник держал животное вниз головой (в этом положении кишечник смещался в сторону диафрагмы, что в значительной мере уменьшало возможность его повреждения в момент прокола). В нижней трети живота, несколько отступя от средней линии, делали скальпелем надсечку кожи длиной 2-5 мм, и через неё вводил иглу, держа шприц перпендикулярно к брюшной стенке. Преодолевая сопротивление, очень осторожно, буравящим движением иглу продвигали вглубь. Чув-

ство «провала» - исчезновения ощущения сопротивления на пути говорило о проникновении иглы в брюшную полость, после этого переводили иглу в вертикальное положение и вводили содержащуюся в шприце культуру бактерии, разведённую в 3 мл физиологического р-ра NaCl 0,9% (рис. 2-3).

На третьем этапе проводили гистологическое исследование сердца. Животное из эксперимента выводили путём декапитации, далее производили забор материала (рис. 4).



Рис. 4. Взятие материала на гистологическое исследование.

Гистологическое исследование проводилось у крыс, следующим образом.

1 этап: фиксация ткани сердца в 10-15% р-ре формалина 10 дней при комнатной температуре (рис. 5а).

2 этап: проводка (1 день - помещение материала в ряд спиртов от 70 до 96 градусного спирта; 2 день - помещение материала в смеси спирта с ксилолом и выдержка в термостате), а после заливка в парафиновые блоки (рис. 5б, рис. 6 а-б).

3 этап: приготовление срезов на микротоме (рис.7), размером 4-5 мкм, далее мы расправляли срез в тёплой воде и в этой же воде помещали срез на предметное стекло, стекло было предварительно обработано смесью яичного белка с глицерином, затем промокалось фильтровальной бумагой. Далее помещали в термостат для сушки.

4 этап: окрашивание (гематоксилином-эозином) (рис. 8).



а



б

Рис. 5. а) Фиксация материала 15% раствором формалина
б) Проводка по спиртам.

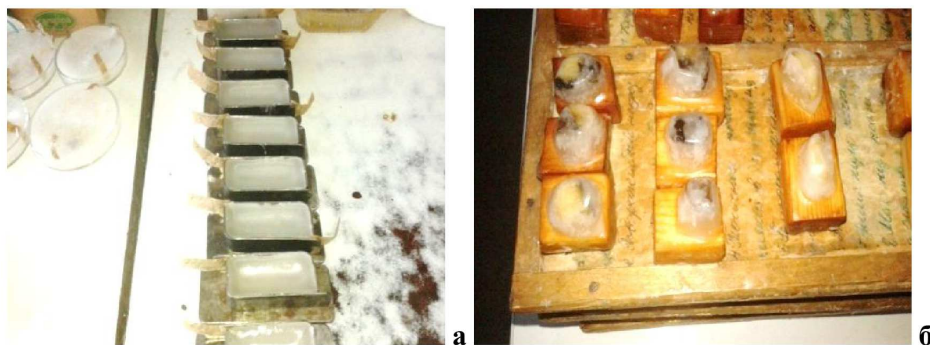


Рис.6. а) Заливка в парафиновые блоки
б) Фиксация парафиновых кусочков для микротом.



Рис. 7.3 этап - Приготовление срезов.



Рис. 8.4 этап - Окрашивание.

После помещения стекол в ряд жидкостей таких как: ксилол, спирт, и водопроводную воду, опускали в гематоксилин на 5 мин., а затем, предварительно опустив ещё раз в воду, фиксировали в эозин на 2 мин. и в конце накрывали покровным стеклом, капнув каплю канадского бальзама, для фиксации покровного стекла.

Результаты исследования и обсуждение. Контрольная группа: в микропрепарате сердца видна поперечно-полосатая сердечная мышечная ткань, кардиомиоциты вытянутой формы, упорядоченные миофибриллы по периферии, изменений нет (рис. 9).



Рис. 9. Микрофото препарата сердца крысы контрольной группы (ув. х4000, окраска гематоксилином-эозином).

На микропрепарате миокард крысы, заражённой за сутки до взятия материала, наблюдается (рис. 10):

- умеренная дистрофия кардиомиоцитов, небольшая зернистость кардиомиоцитов,
- сосуды микроциркуляторного русла полнокровны.

Через сутки в сердце опытных крыс, в исследуемых кардиомиоцитах специфических изменений не видно, так как срок от момента заражения достаточно мал.

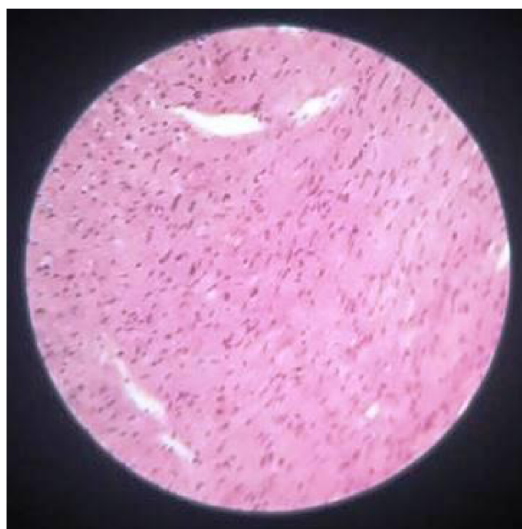


Рис. 10. Микрофото препарата сердца крысы первой основной группы (через 1 сутки с момента заражения) (ув. x4000, окраска гематоксилином-эозином).

Через 10 суток после заражения выявлено резко выраженное полнокровие сосудов, местами

фрагментация кардиомиоцитов, отек стромы, гипертрофия кардиомиоцитов, некоторые кардиомиоциты поделены пополам (рис. 11).

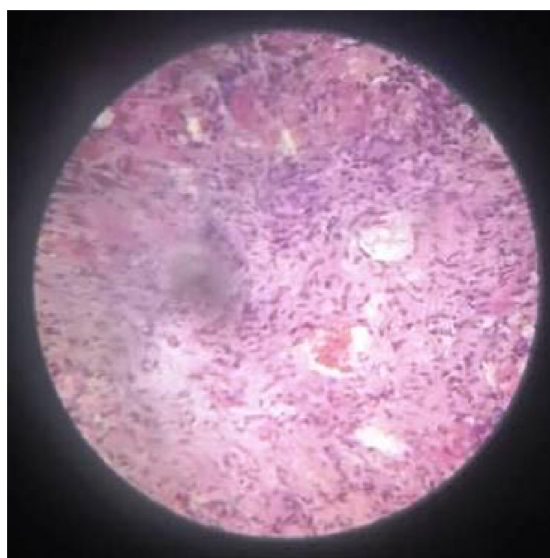


Рис. 11. Микрофото препарата сердца крысы второй основной группы (через 10 суток с момента заражения) (ув. x4000, окраска гематоксилином-эозином).

Идет нагрузка на сердце, усиливается дистрофия, видна поперечная исчерченность.

Str. Pneumoniae воздействуя на организм, вызывает интоксикацию, а это увеличивает нагрузку на сердце, что вызывает гипоксию и легочно-дыхательную недостаточность.

В результате воздействия в сердце крыс наблюдается интерстициальный миокардит с началом формирования рубцовой гранулярной ткани.

На микропрепарате миокарда крысы, заражённой за 10 дней до умерщвления, наблюдались:

- резко выраженное полнокровие сосудов микроциркуляторного русла;
- отёк стромы;
- в некоторых местах фрагментация кардиомиоцитов;
- гипертрофия кардиомиоцитов;
- интерстициальный миокардит с разрастанием соединительной ткани.

Вывод. В результате воздействия *Str. Pneumoniae* выявлено постепенное изменение структуры кардиомиоцитов, вплоть до резко выраженного полнокровия сосудов, отёк стромы, местами фрагментация кардиомиоцитов, гипертрофия кардиомиоцитов, интерстициальный миокардит с разрастанием соединительной ткани.

Литература:

1. Сапин М.Р., Никитюк Д.Б., Ревазов В.С. *Анатомия*. - 2001. - 2 т. - 632 с.
2. *Гистология, эмбриология, цитология* / под редакцией проф. Афанасьева Ю.И., проф. Юриной Н.А. шестое издание. - М.: Гэотар-медиа, 2016. - 800 с.
3. Воробьев А.А. *Медицинская микробиология, вирусология и иммунология*. - М., 2004. - 691 с.
4. Руксин В.В. *Основы неотложной кардиологии*. - М., 1994. - 285 с.
5. Розендорф К. *Основы кардиологии. Принципы и практика: 2-е изд.* - Львов: Медицина свиту, 2007. - 1060 с.
6. Литвицкий П.Ф. *Патофизиология, в 2-х т.* - М.: Гэотар-медиа, 2003. - Т. 2. - 808 с.
7. Борисова Л.Б. *Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии*. - М., 1979. - 286 с.
8. Armand O. Brown et al. *Streptococcus pneumoniae Translocates into the Myocardium and Forms Unique Microlesions That Disrupt Cardiac Function* [Электронный ресурс] // *PLOS Pathogens*. - 2014. - September, 18. - Ссылка доступна на 01.05.2017: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004383>

