

19. Masalaite, L., Valantinas, J., Stanaitis, J. (2014). The role of collateral veins detected by endosonography in predicting the recurrence of esophageal varices after endoscopic treatment:

a systematic review. *Hepatology International*, 8 (3), 339–351. doi: 10.1007/s12072-014-9547-3

*Рекомендовано до публікації д-р мед. наук, професор Сиволап В.В.  
Дата надходження рукопису 10.06.2015*

**Тугушев Алий Саитович**, кандидат медичинських наук, асистент, кафедра факультетської хірургії, Запорізький державний медичний університет, ул. Седова, 3, г. Запоріжжє, Україна, 69035  
E-mail: tugushev63@mail.ru

**Михантьев Дмитрий Иванович**, заведуючий хірургічним відділенням, ГП «Отделенческая клінічна лікарня на ст. Запоріжжє-2 Придніпровської залізничної дороги», ул. Чумаченко, 21, г. Запоріжжє, Україна, 69104

**Нешта Вячеслав Васильевич**, кандидат медичинських наук, лікар-ординатор хірургічного відділення, ГП «Отделенческая клінічна лікарня на ст. Запоріжжє-2 Придніпровської залізничної дороги», ул. Чумаченко, 21, г. Запоріжжє, Україна, 69104

**Вакуленко Виталий Викторович**, кандидат медичинських наук, асистент, кафедра факультетської хірургії, Запорізький державний медичний університет, ул. Седова, 3, Запоріжжє, Україна, 69035

**Стешенко Андрей Александрович**, кандидат медичинських наук, асистент, кафедра факультетської хірургії, Запорізький державний медичний університет, ул. Седова, 3, г. Запоріжжє, Україна, 69035

**Тулупов Арнольд Анатольевич**, лікар-ендоскопіст, ендоскопічне відділення, КУ «Городская клінічна лікарня екстреної та швидкої медичинської допомоги», ул. Перемоги, 80, г. Запоріжжє, Україна, 69005

УДК 616-002.5:612.08:[616.24+616.36+616.36+616.61+616.411]-091.8  
DOI: 10.15587/2313-8416.2015.50759

## ВИБІР МОДЕЛІ ДЕСТРУКТИВНОГО ТУБЕРКУЛЬОЗУ. ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ТА ГІСТОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗМІН ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ МОРСЬКИХ СВИНОК УРАЖЕНИХ МІКОБАКТЕРІЯМИ ТУБЕРКУЛЬОЗУ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТУБЕРКУЛЬОЗУ

© Л. В. Гайова

*В роботі представлені результати морфологічних досліджень туберкульозного запалення та неспецифічних змін органів морських свинок в експериментальній моделі туберкульозу при лікуванні різними співвідношеннями ізоніазиду з піридоксин гідро хлоридом. Визначено оптимальне співвідношення доз з проявом специфічних та неспецифічних проявів запалення в легенях, печінці, нирках, селезінці*

**Ключові слова:** туберкульоз, модель, лікування, доза, побічна дія, ізоніазид, піридоксин, група, експеримент, зміни

*It was proposed a method of determining the optimum ratio of doses of the most pronounced therapeutic effect and minimal side effects.*

**The aim of the study** was to conduct morphological evaluation of lesions of internal organs (lungs, liver, kidneys, spleen) after treatment of experimental tuberculosis of guinea pigs different ratios of doses of isoniazid and pyridoxine hydro- chloride.

**Methods:** 50 guinea pigs infection dose of 1 mg Mycobacterium death porpoises from generalized tuberculosis occurs after an average of 45 days, at infection doses of 0.1–0.01 mg – after 60–70 days. Smaller doses of 0.0001 and 0.000001 mg cause chronic disease that ends in death.

**Results:** The optimal therapeutic effect is obtained by treating animals with experimental tuberculosis isoniazid at a dose of 32 mg/kg of vitamin B6 and

5 mg/kg body weight of the animal, thus completely disappeared phenomenon specific inflammation in the lungs, liver, kidneys and spleen. This phenomenon also disappeared perifocal nonspecific inflammation. Disappeared dystrophic and necrotic changes in the studied organs.

**Conclusions:** In the experiment Shuttle “INH – pyridoxine hydrochloride” 32 and 5 mg/kg respectively leads to a lack of specific and non-specific manifestations of inflammation in the lungs, liver, kidneys and spleen

**Keywords:** tuberculosis, model, treatment, dosage, side effects, isonazyd, pyridoxine, group, experiment, change

## 1. Вступ

Поширення туберкульозу в Україні за останні роки набуває характеру епідемії. Зниження рівня життя населення робить проблему протидії цій хворобі довготривалою та поширеною фактично на всі верстви суспільства.

На початку 90-х років не тільки в Україні, але й у багатьох країнах світу туберкульоз знову став проблемою. Ця хвороба змінилася і за багатьма своїми проявами відкинула нас у минуле століття [1].

Дев'яності роки 20-го століття знову привернули увагу всього світу до проблеми туберкульозу. Це пов'язано з ростом захворюваності, появою важких її форм зі смертельними наслідками в країнах Західної Європи, США, в Україні та Росії, тоді як ще не так давно туберкульоз розглядали як хворобу, яка зникає [2].

Щорічно у світі на туберкульоз захворюють 7–10 млн. чоловік, а загальна кількість хворих на земній кулі досягає 50–60 млн. чоловік. Цей факт співставимо з кількістю населення України. На думку експертів ВООЗ, якщо ситуація не зміниться, то впродовж найближчих 30 років на туберкульоз занедужають не менше ніж 90 млн. чоловік і 30 млн. помруть від цього захворювання. У даний час на туберкульоз страждають не менше ніж 9 млн. чоловік (близько 60 % припадає на країни, що розвиваються) [3]. Майже 3–4 млн. людей щорічно помирають від туберкульозу, причому серед них близько 1 млн. жінок [4].

Зважаючи на ці цифри зростання частоти специфічної патології в багатьох країнах світу за останні 10 років, збільшення смертності від цього захворювання, особливо серед працездатного населення, Всесвітня організація охорони здоров'я в 1995 р. визначила туберкульоз глобальною небезпекою. Відповідно до критеріїв ВОЗ та динаміки захворюваності туберкульозом Україна в 1995 р. ввійшла до числа країн, охоплених епідемією туберкульозу. Найбільш високу бактеріостатичну активність виявляє препарат ізоніазид, який в даний час є основним антимікобактеріальним препаратом. При проведенні хіміотерапії туберкульозу бактеріостатична дія препаратів впливає не тільки на мікобактерії туберкульозу, але й на різні органи та системи хворого. Використання оптимальної експериментальної моделі деструктивного туберкульозу дає змогу вирішити питання про оптимальне співвідношення доз ізоніазиду та В6 для попередження проявів побічної дії.

Цей підхід визначає скореговані співвідношення препаратів ізоніазиду та В6 у схемі лікування дозволить очікувати покращення результатів терапії в залежності від специфіки ураження туберкульозом організму в цілому та кожного органу зокрема.

## 2. Обґрунтування дослідження

Розвиток побічних ефектів при лікуванні хворих на туберкульоз ізоніазидом залежить від низки причин. З одного боку мають значення форма його прийому, доза та термін лікування, взаємодія з іншими лікарськими засобами. З іншого боку важливу роль відіграє вік організму хворого, функціональний стан

комплексу внутрішніх органів і систем, характер індивідуальної реактивності, алергічна налаштованість організму. Виникнення побічної дії значно ускладнює проведення антибактеріальної терапії хворих на туберкульоз, знижує її ефективність. Важливість ефективної антибактеріальної терапії не викликає сумніву, але дані літератури що стосуються цього зводяться головним чином до констатації проявів та частоти розвитку побічної дії і опису окремих випадків. [Рогинский В. А., 1998; Куликовская Н. В. и соавт., 1996; Brown A. Et. al., 1984].

Питання побічної дії ізоніазиду є частиною загальної проблеми патології активної терапії. Незважаючи на великий досвід застосування антибактеріальних засобів при туберкульозі, проблема побічного впливу їх на мікроорганізм і нині залишається дуже актуальною. Дотепер заслуговують на увагу дані про частоту побічних явищ при лікуванні тим або іншим препаратом, про їх клінічну симптоматику, заходи для їх усунення і профілактики. Інтерес до цього питання дуже великий, оскільки з кожним роком збільшується число хворих, у яких проведення антибактеріальної терапії викликає значні побічні ефекти.

Отже, проблема побічної дії ксенобіотиків та протидії їх токсичним проявам залишається вкрай важливою. Проблема лікування хворих на туберкульоз має значну наукову і соціальну значимість в умовах глобальної епідемії цього захворювання в світі, і в тому числі в Україні.

У роботі розглядаються актуальні питання ефективності лікування різними дозами ізоніазиду та піридоксин гідрохлориду хворих на деструктивний туберкульоз в модельному експерименті на прикладі морських свинок, уражених штамом мікобактерій туберкульозу.

Використання експериментальної моделі деструктивного туберкульозу дає змогу вирішувати питання про оптимальне співвідношення доз ізоніазиду та піридоксину гідрохлориду для попередження проявів побічної дії.

Цей підхід визначає скореговані співвідношення доз у схемі лікування в залежності від специфіки ураження туберкульозом організму та кожного органу зокрема. Для відтворення експериментального туберкульозу можна використовувати різні види тварин: морські свинки, кролі, білі миші, пацюки, собаки, мавпи та інші. З діагностичною метою частіше використовують морські свинки, оскільки вони мають високу чутливість до мікобактерій туберкульозу людського та бичачого типу. Морські свинки є найбільш зручними об'єктами для експериментального вивчення питань імунітета та алергії при туберкульозі. За характером прояви реакцій на туберкульозну інфекцію у собак подібні до реакції людини, тому вони також є важливими об'єктами для досліджень. Пацюки та миші застосовуються як тварини, дещо резистентні до туберкульозу. Для хіміотерапії найбільш зручними тваринами є білі миші, для яких є можливість застосування препаратів в малій кількості та за короткі терміни дослідження. Для відтворення експериментально-

го туберкульозу використовують той тип мікобактерій туберкульозу, який є вірулентним для даного виду тварин [5–10] (табл. 1).

Таблиця 1  
Експериментальний туберкульоз на різних видах тварин

Вид тварин	Тип мікобактерій				
	людський	бичачий	пташиний	мишачий	холоднокровних
кролі	X	XXX	XX	X	0
морські свинки	XXX	XXX	0	X	0
білі миші	X	XXX	X	XX	0
птахи	0	0	XXX	0	0
рогата худоба	X	XXX	X	X	0
мавпи	XXX	XXX	X	–	0
холоднокровні	0	0	0	–	XXX

Примітки:

XXX – тварини дуже чутливі до мікобактерій, які при підшкірному введенні в невеликій кількості викликають гостре прогресивне захворювання;

XX – у тварин виявляють хронічний чи повільно протікаючий смертельний туберкульоз при підшкірному введенні помірних доз;

X – тварини дуже резистентні до помірних доз мікобактерій, які викликають тільки обмежену дію в ділянці підшкірного введення;

0 – тварини високорезистентні до мікобактерій, в яких генералізація туберкульозу не відбувається навіть при введенні великих доз

**Експериментальний туберкульоз білих мишей**

Білі миші є відносно резистентними до туберкульозної інфекції; при підшкірному зараженні, навіть великими дозами мікобактерій, миші залишаються живими. Після внутрішньочеревного зараження малими дозами розвиваються тяжкі ураження селезінки, які повністю виліковуються. Внутрішньочеревне і, особливо, внутрішньовенне зараження достатніми дозами мікобактерій, призводить до захворювання, яке, головним чином, локалізуються в легенях і призводить до смерті.

Внутрішньовенне (вену хвоста) зараження штамом мікобактерій людського типу (0,01 мг) середньої вірулентності призводить до смерті мишей через 15–60 днів. Менш вірулентні штами можуть викликати смерть мишей через 2–4 і більше місяці після зараження. Дози 0,001 мг і менші викликають тільки обмежене ураження, яке не призводить до смерті.

Миші більш чутливі до мікобактерій бичачого типу, ніж до людського. Ця різниця виявляється при застосуванні малих доз мікобактерій. При дозі 0,001 мг мікобактерій бичачого типу миші помирають в середньому через 66 днів, при зараженні цією ж дозою мікобактерій людського типу миші залишаються живими. Але різниця вірулентності є такою, що не дозволяє чітко диференціювати обидва типи

мікобактерій. При інтрацеребральному введенні мишам мікобактерій бичачого типу (0,4–0,04 мг) можна спричинити у них, окрім легеневих змін, церебральні ураження зі статичними порушеннями, атаксією, які починають проявлятися на 10-й день після зараження.

На розтині мишей, що померли від туберкульозу, спостерігається така картина: селезінка і печінка завжди збільшені і вільні від доступних огляду уражень, легені різко збільшені, гіперемовані, припухлі; містять вогнища, обмежені або великі, інколи – сіруваті горбки. Трахеобронхіальні лімфатичні вузли гіперплазовані. Мікроскопічно: легені містять мікобактерії у вигляді чистої культури, печінка і селезінка – в меншій кількості. При хронічному перебізі хвороби в органах виявляються мікобактерії в невеликій кількості.

При гістологічному дослідженні легені найбільш часто спостерігається екссудативний тип ураження, який характеризується дифузною запальною реакцією (сильне кровонаповнення, альвеолярна опухлість, інфільтрація стінок альвеол клітинами гістіоцитарної природи), що в цілому створює картину зливної пневмонії, інколи з ділянками некрозу в центрі. В інших випадках спостерігається вузловий тип уражень, при якому на фоні зливної пневмонії відмічається наявність тієї чи іншої кількості ізольованих або зливних клітинних інфільтрацій, переважно лімфоцитарно-гістіоцитарного походження, інколи з ділянками центрального некрозу. Ці ураження не мають типової будови пухирців: епітеліальні та гігантські клітини, як правило, в них відсутні, тільки інколи в них можна спостерігати епітеліальні клітини. Цей тип уражень переважає у мишей при зараженні мікобактеріями бичачого типу. В печінці спостерігається різного ступеня вираженості клітинна інфільтрація навколо судин та поза ними, в селезінці – дифузна та нерівномірна проліферація ретикулярних клітин з нечастими ділянками некрозу. Маловірулентні штами у великих дозах викликають у мишей утворення дуже дрібних сірих горбків, які розсіяні в легеневої тканині та містять мало бактерій.

Мікобактерії пташиного типу менш вірулентні для мишей, ніж для ссавців. Доза 0,1 мг і 0,01 мг мікобактерій вбиває мишей протягом 2 і більше місяців. Після введення великих доз (0,1 мг), якщо тварина живе більше, ніж 2–3 місяці, регулярно проявляються прозорі сірі вузлики. Тварини, які помирають раніше цього строку, мають збільшену селезінку та печінку. Мікроскопічно в цих органах виявляються більше значні ураження, ніж в легенях. Таким чином, переважання мікроскопічних уражень в печінці та селезінці характеризує дію мікобактерій пташиного типу, тоді як переважання легеневих уражень та їх швидка казеїфікація характеризує дію мікобактерій ссавців.

Свіжовиділені штами мікобактерій є більше патогенними для мишей, ніж лабораторні, які зберегли свою вірулентність для свинок і кроликів. Білі миші зберігають чутливість до фтивазидостійких і атипичних мікобактерій туберкульозу (маловірулентні для морських свинок). Тому вони є тваринами вибору для ідентифікації туберкульозної природи ряду

штамів, які виділяються останнім часом від хворих в процесі антибактеріальної терапії. Штами БЦЖ не викликають уражень у мишей. Миші дуже малочутливі до токсичної дії мікобактерій: вони не реагують на туберкулін при підшкірному і навіть при внутрішньовенному його введенні дозою 0.1–0.2 мл в розведенні 1:10. У мишей, уражених туберкульозом, не можна викликати туберкуліновий смертельний шок при внутрішньочеревному і навіть внутрішньовенному введенні 0.2 мл чистого туберкуліну. Таким чином, туберкульозна інфекція у мишей не супроводжується гіперсенсibiliзацією.

#### **Експериментальний туберкульоз пацюків**

Пацюки високорезистентні до туберкульозної інфекції. При внутрішньовенному введенні 0.001–0.1 мг вірулентних мікобактерій у пацюків клінічно не відмічаються ознак захворювання. Тільки внутрішньовенне введення їм великих доз мікобактерій може викликати захворювання, навіть зі смертельним закінченням. Не дивлячись на відсутність клінічних проявів, у всіх органах пацюків відбувається розмноження мікобактерій, після чого починається процес часткового їх руйнування. Протягом першого тижня мікобактерії швидко розмножуються в легенях, печінці, селезінці, через два тижні їх кількість в печінці та селезінці різко зменшується, хоча й залишаються в великій кількості (в легенях кількість мікобактерій зростає до 3-го місяця). При гістологічному дослідженні в легенях через 2 тижні після зараження виявляється висипка маленьких сірих горбків, які потім зливаються між собою. Звертає увагу відсутність зрілих епітеліальних клітин. Мононуклеарні пінисті клітини, що містять мікобактерії, не виявляють ознак доступних зору пошкоджень та не підлягають казеїфікації. Відсутність некрозу тканин слід зв'язати зі зниженою чутливістю пацюків до туберкуліну та бацилярного протеїну. Через 6 місяців мікобактерії залишаються ще в великій кількості в легенях. Після гіпофізектомії і панкреоектомії туберкульоз у пацюків викликати легше. Одночасно знижується резистентність пацюків до отрут та інших інфекцій. Мікобактерії бичачого типу більш вірулентні для пацюків, ніж мікобактерії людського типу. Останні розмножуються переважно в селезінці пацюків.

Подібно до білих мишей, пацюки, заражені туберкульозом, дуже малочутливі до туберкуліну, вони легко сприймають підшкірне введення 0.25 мл чистого препарату. Феномен Коха не відтворюється у пацюків в такому вигляді, як у морських свинок.

Після внутрішньочеревного введення 50–150 мг живих мікобактерій у пацюків не відмічається ніяких важких ознак, тоді як свинки, попередньо заражені туберкульозом, гинуть.

#### **Експериментальний туберкульоз кролів**

Для відтворення туберкульозу кролів використовують вірулентну культуру мікобактерій бичачого типу. Кращий спосіб зараження внутрішньовенний, в крайову вену вуха. Введення 0,1–0,001 мг мікобак-

терій бичачого типу призводить тварин до смерті від дисемінованого туберкульозу через 60–70 днів після зараження. На розтині виявляються різко збільшені легені, що містять велику кількість горбків різних розмірів, багато з них – з вогнищами некрозу. В печінці та селезінці туберкульозні вогнища відсутні або знаходяться в невеликій кількості. Нирки, як правило, містять значну кількість горбків. Щоб створити у кролів модель хронічного перебігу туберкульозу (смерть через 6–12 місяців після зараження), потрібно використовувати підшкірний спосіб зараження. В цих умовах у тварини розвивається крупновогнищевий, часто кавернозний туберкульоз, який характеризується ізольованим легеневим захворюванням. Загальна гематогенна дисемінація виявляється в формі окремих горбків у печінці, селезінці і нирках, інколи – в кістках. Можна створити хронічну модель туберкульозу у кролів шляхом попередньої імунізації вакциною БЦЖ і наступного зараження. При зараженні кролів можна використовувати також інтратрахеальний спосіб за допомогою зомбій, інгаляційний – аерозолями мікобактерій в закритому просторі, а також – контактний, коли здорових кролів розміщують разом з хворими на туберкульоз. Щоб відтворити у кролів казеозну пневмонію, достатньо ввести інтратрахеально 0,25 мг вірулентного штаму мікобактерій туберкульозу бичачого типу. Ураження супроводжуються значним казеозним бронхіолітом і дуже нагадують картину, що спостерігається у людини при казеозній пневмонії.

#### **Експериментальний туберкульоз морських свинок**

Введені підшкірно мікобактерії туберкульозу людського чи бичачого типу швидко розповсюджуються лімфатичними і кровоносними шляхами та через декілька днів виявляються у внутрішніх органах та лімфатичних вузлах. В залежності від дози зараження більш чи менш швидко виявляються макроскопічні зміни в звичайній послідовності: регіональні лімфатичні вузли, селезінка, печінка і легені.

Після підшкірного зараження дозою 1 мг мікобактерій, смерть морських свинок від генералізованого туберкульозу настає в середньому через 45 днів, при зараженні дозами 0,1–0,01 мг – через 60–70 днів. Менші дози 0,0001 і 0,000001 мг викликають хронічне захворювання, яке завершується смертю. При використанні високо вірулентного штаму можна заразити свинку при введенні одиничних бактерій. Так, Бретей спостерігав розвиток туберкульозу у 5 з 9 свинок, при зараженні кожної тільки однією мікробною клітиною.

Внутрішньочеревне зараження призводить до більш швидкої генералізації інфекції і більш швидкої смерті; зараження 0,1 мг мікобактерій середньої вірулентності спричиняє загибель тварин через 16–30 днів. При внутрішньовенному зараженні смерть настає через 16–20 днів; суспензію мікобактерій вводять в яремну вену. Внутрішньосерцеве зараження проводиться шляхом введення бактерій в один із шлуночків серця.



Туберкулінові проби за наявності туберкульозного процесу стають позитивними через 1–2 місяці після зараження.

При розтині свинок, які померли від туберкульозу, спостерігається картина генералізованого туберкульозу. На місці зараження розвивається запальний інфільтрат, який містить в собі сирнисті маси; регіональні лімфатичні вузли стають казеозно – зміненими. Печінка та селезінка бувають різко збільшеними. Вони містять великі вузли сірувато-жовтого кольору, сирнисто-некротичні маси. В легенях при гострому перебігу інфекції виявляються розсіяні сірі горбки різного розміру: одні – маленькі сірі, інші – великі, розміром із шпилькову голівку, білуваті в центрі та прозорі по периферії. Навколо вогнищ легенева тканина гіперемірована, в стані опіку. При затяжному перебізі хвороби туберкульозні вогнища стають великими, зливаються між собою, часто з ділянками сирнистого некрозу, які можуть пом'якшуватись і завершитись утворенням каверн. Лімфатичні вузли (бронхіальні, паратрахеальні, аортальні та інші) бувають різко збільшені з вогнищами некрозу в центрі

### 3. Мета досліджень

Провести морфологічну оцінку ураження внутрішніх органів (легень, печінки, нирок, селезінки) після лікування експериментального туберкульозу морських свинок різними співвідношеннями доз ізоніазиду та піридоксин гідро хлориду (вітаміном В<sub>6</sub>) з метою виявлення оптимального поєднання препаратів, при лікуванні якими досягається якнайменше залишкове ураження внутрішніх органів.

### 4. Матеріали та методи

Для експерименту взяли 50 морських свинок середньою вагою 250 г. Було сформовано 9 груп тварин по 5 тварин в кожній групі з різним режимом хіміотерапії (табл. 2).

1-а група: лікування ізоніазидом в дозі 10 мг/кг маси тварини – загальноприйнята доза при лікуванні цим препаратом;

2-а група: лікування дозою, що перевищує загальноприйняту втричі, тобто 32 мг/кг;

3-я група: лікування дозою, що перевищує загальноприйняту у 10 разів, тобто 100 мг/кг;

4-а група: 10 мг/кг ізоніазиду + 5 мг/кг вітаміну В<sub>6</sub> (загальноприйняті дози);

5-а група: 10 мг/кг ізоніазиду + 50 мг/кг вітаміну В<sub>6</sub> (доза вітаміну В<sub>6</sub> в 10 разів перевищує загальноприйняту);

6-а група: 32 мг/кг ізоніазиду + 5 мг/кг вітаміну В<sub>6</sub>;

7-а група: 32 мг/кг ізоніазиду + 50 мг/кг вітаміну В<sub>6</sub>;

8-а група: 100 мг/кг ізоніазиду + 5 мг/кг вітаміну В<sub>6</sub>;

9-а група: 100 мг/кг ізоніазиду + 50 мг/кг вітаміну В<sub>6</sub>.

Контрольна група: морські свинки без лікування (тест на виживання).

Експериментальний туберкульоз викликали шляхом підшкірного введення мікобактерій туберкульозу лабораторного штаму H<sub>37</sub>Rv в дозі 0,01 мг вологої ваги в об'ємі 0,5 мл фізіологічного розчину натрію хлориду.

Через 1,5 місяці одну зі свинок забивають для контролю стану туберкульозного процесу, викликаного інокуляцією мікобактерій. Для моделі деструктивного туберкульозу є характерними такі ознаки: у забитої свинки - гнійний абсцес на ділянці зараження та гнійне ураження регіонарних лімфовузлів. Селезінка – збільшена з чисельними осередками уражень. Печінка – збільшена, рихла, в крупних, дифузно розташованих, жовтих вогнищах. Легені – з множиною крупних та дрібних туберкульозних горбків.

Ураження оцінюють в умовних індексах ураженості (за Р. О. Драбкіної), за якими максимально виражені макроскопічні ураження приймають за 100 умовних одиниць. Для забитої контрольної свинки цей індекс лежить у межах 90–100 умовних одиниць (у.о.).

Таблиця 2

Результати лікування експериментального туберкульозу морських свинок ізоніазидом та вітаміном В<sub>6</sub> (ізоніазид per os, піридоксин гідрохлорид підшкірно)

№ групи	Дози засобів, мг/кг		Індекси ураженості органів кожної свинки, у.о.					Середній індекс ураженості, у.о.
	Ізоніазид	Вітамін В <sub>6</sub>	1	2	3	4	5	
1	10	0	25	29	22	25	35	27,2
2	32	0	25	38	27	31	36	31,4
3	100	0	35	39	34	36	33	35,4
4	10	5	22	19	24	35	19	23,8
5	10	50	23	17	10	7	19	15,2
6	32	5	7	16	9	13	17	12,4
7	32	50	32	20	22	26	22	24,4
8	100	5	17	7	24	19	11	15,6
9	100	50	38	16	7	20	7	17,6
10 Контроль	0	0	90	100	100	100	100	98,0

Для гістологічного дослідження у кожній свинки беруть регіонарні до місця ураження лімфовузли, шматочки селезінки, печінки, легень, а також по одній нирці і їх розташовують у формаліні.

Проліковані свинки забивають за допомогою етилового ефіру. Здійснюють розтин тварин, оцінюють макроскопічні туберкульозні ураження в у.о. для кожної окремо взятої свинки. Для гістологічного дослідження у кожній свинки беруть регіонарні до місця зараження лімфовузли, шматочки селезінки, печінки, легень, а також по одній нирці та поміщають їх у 10 % розчин формаліну.

### Забарвлення гістологічних зрізів на ядерні білки

Приклені на препаративне скло зрізи де парафінують, для чого їх занурюють в дві ємності

з толуолом по черзі в кожен порцію, витримують 5 хв., промокують фільтром. Потім гістологічний зріз опускають у спирт (концентрація якого 96 %) на 5 хв., промокують фільтром. Гістологічний зріз швидко переносять в дистильовану воду, повністю занурюючи його. На гістологічний наливають кілька крапель профільтрованого галунового гематоксиліну і забарвлюють упродовж 1–3–5 хв. Гематоксилін зливають і зріз промивають дистильованою водою впродовж 3–5 хв. Ретельно змивають гематоксилін 1 % розчином еозину залишають гістологічні зрізи до їх посиніння у воді. На предметне скло наливають кілька крапель 1 % еозину і забарвлюють упродовж 1–2–3 хв. Зливають еозин і промивають зріз у проточній воді. Промивають гістологічні зрізи в 2-х порціях спирту, очищують марлевым тампоном і промокують фільтром. Занурюють гістологічний зріз у ксилол упродовж 1–2 хв. до його просвітління. Кладуть краплю бальзаму і накривають покривним склом.

**5. Результати дослідження**

Приклади узагальнених результатів гістопатологічного дослідження

**Модель деструктивного туберкульозу.** При відтворенні туберкульозу у морських свинок у легенях, печінці, нирках та селезінці розвивається значний специфічний запальний процес з формуванням епітеліоїдноклітинних гранулом, які включають багатоядерні клітини, крім того спостерігаються казеозно-некротичні та дистрофічні зміни (рис. 1–4, контрольна група).

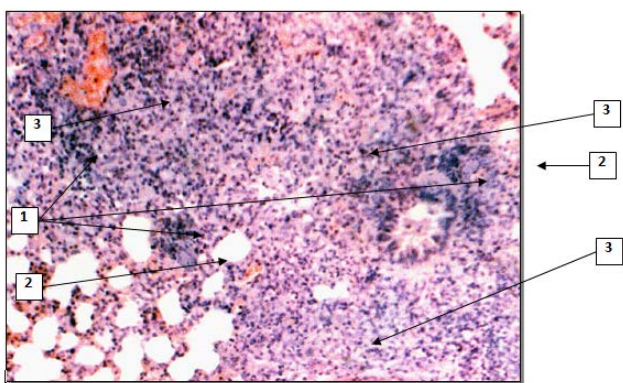


Рис. 1. Запальні зміни у легенях тварин контрольної групи з експериментальним туберкульозом ×125  
Контрольна група

Вогнища специфічного запалення (1) складаються переважно з епітеліоїдних та лімфоїдних клітин, серед яких визначаються поодинокі гігантські багатоядерні клітини типу Пирогова-Ланхганса (2). Крім того, зустрічаються гістіоцити та плазматичні клітини з ексцентрично розташованими ядрами, зустрічаються поодинокі одноядерні макрофаги (3).

У препаратах печінки дистрофічні зміни гепатоцитів (1), вогнища специфічного запалення з казеозним некрозом (2), по периферії яких визначаються лімфоїдно- та епітеліоїдноклітинна інфільтрати (3) та гігантські багатоядерні макрофаги (4).

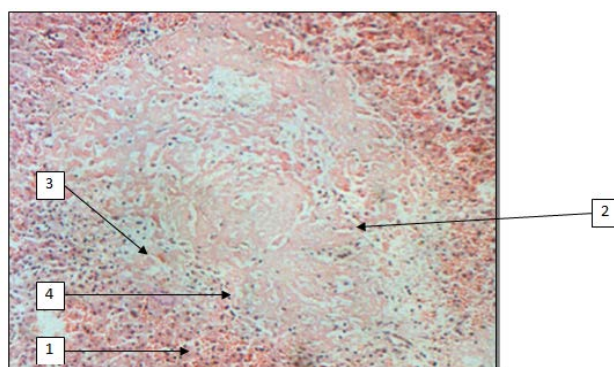


Рис. 2. Зміни у тканинах печінки тварин контрольної групи з експериментальним туберкульозом ×125

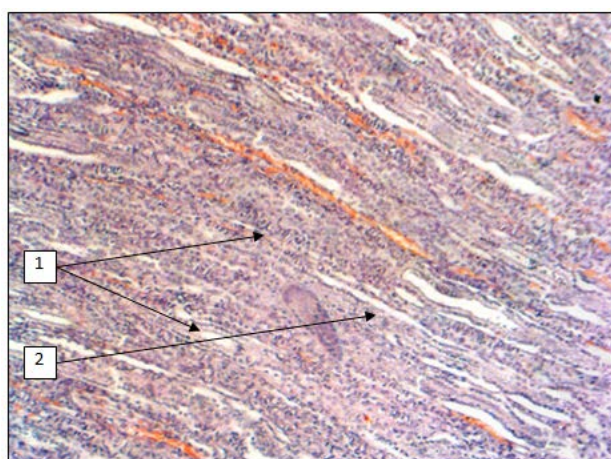


Рис. 3. Зміни у тканинах нирок тварин контрольної групи з експериментальним туберкульозом ×125

Виразені дистрофічні зміни епітелію прямих каналців (1). В зоні прямих каналців визначаються гігантські багатоядерні клітини типу Пирогова-Ланхганса (2), що свідчить про значні туберкульозні зміни у нирках.

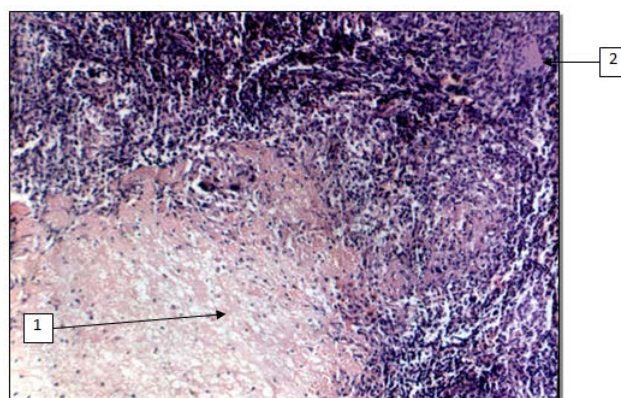


Рис. 4. Зміни у тканинах селезінки тварин контрольної групи з експериментальним туберкульозом ×125

Тканина селезінки містить багаточисельні вогнища туберкульозного запалення у вигляді зон казеозного некрозу (1). По периферії вогнищ зустрічаються великі багатоядерні макрофаги типу клітин Пирого-



ва-Ланханса (2), що свідчить про виражене специфічне запалення.

Лікування ізоніазидом в дозі 10 мг/кг ваги тварини значно зменшило інтенсивність туберкульозного ураження, але повністю його не ліквідувало, що підтверджувалося наявністю невеликих вогнищ туберкульозного ураження в легенях (рис. 5, група № 1).

В печінці специфічні запальні зміни характерні для повнокров'я кровопостачальних капілярів, набряк тканин, гідропічна дистрофія гепатоцитів (рис. 6).

Порівняно з контролем визначено зникнення специфічних для туберкульозу змін, однак зберігається повнокров'я кровопостачальних капілярів та набряк тканин нирок (рис. 7).

У тканинах селезінки виражених ознак туберкульозу не визначалось. Визначалось виражене повнокров'я тканин (рис. 8).

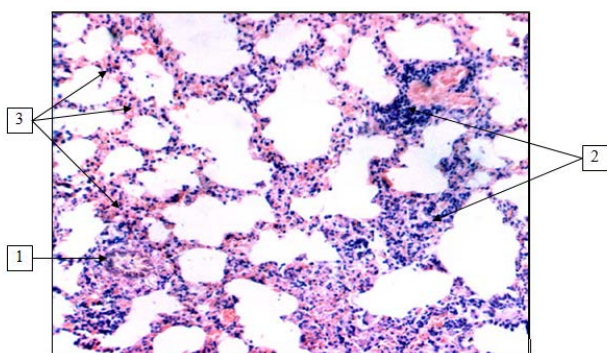


Рис. 5. Зміни у тканинах **легень** тварин 1 групи з експериментальним туберкульозом, лікованих ізоніазидом в дозі 10 мг/кг маси тіла  $\times 125$

У тканинах легень дифузний неспецифічний запальний процес. Залишковий десквамативний бронхіт(1). Вогнища запалення складаються з лімфоїдних клітин (2). У зоні запалення спостерігаються багаточисельні кровопостачальні капіляри (3). Специфічних для туберкульозу ознак не спостерігається.

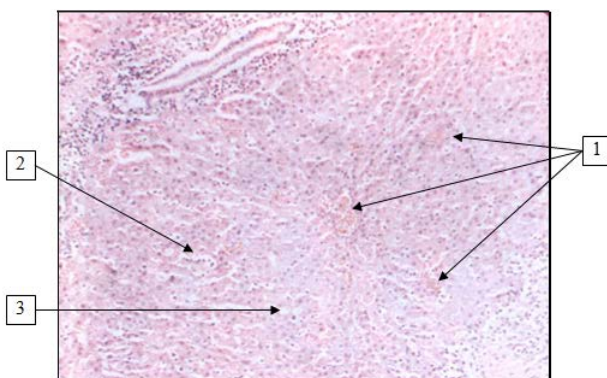


Рис. 6. Зміни у тканинах **печінки** тварин 1 групи з експериментальним туберкульозом, лікованих ізоніазидом в дозі 10 мг/кг маси тіла  $\times 125$

Повнокров'я кровопостачальних судин печінки (1). Набряк власної тканини (2). Туберкульозних запальних змін не визначено. Гідропічна дистрофія

гепатоцитів (3), у цитоплазмі визначаються великі порожнини, лакуни.

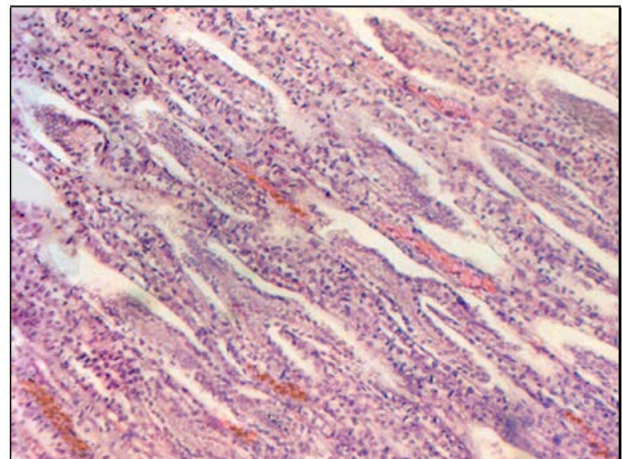


Рис. 7. Зміни у тканинах **нирок** тварин 1 групи з експериментальним туберкульозом, лікованих ізоніазидом в дозі 10 мг/кг маси тіла  $\times 165$

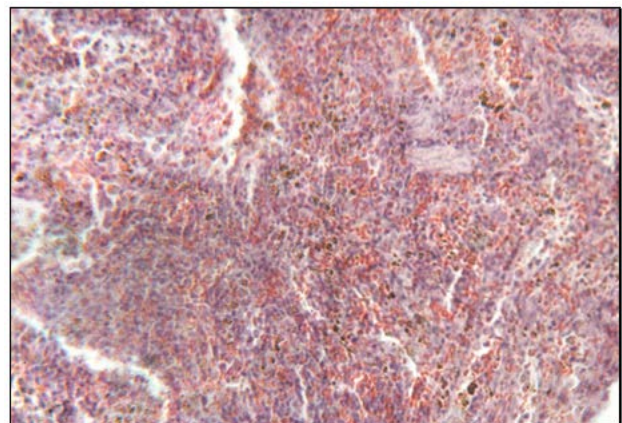


Рис. 8. Зміни у тканинах **селезінки** тварин 1 групи з експериментальним туберкульозом, лікованих ізоніазидом в дозі 10 мг/кг маси тіла  $\times 165$

Виразене повнокров'я тканин селезінки. Некротичних змін не визначено. Відсутні морфологічні ознаки туберкульозу.

Лікування туберкульозу в дозі 32 мг/кг ваги тварини спостерігалось повне виліковування специфічного запального процесу, але при цьому мала місце гідропічна дистрофія паренхіматозних органів (печінка, нирки).

Лікування туберкульозу в дозі 100 мг/кг ваги тварини супроводжувалося повним виліковуванням специфічного запального процесу, але поряд з цим зростали дистрофічні зміни паренхіматозних органів, крім гідропічної дистрофії виникали явища зернистої (білкової) дистрофії в нирках і печінці та посилювалася набряк селезінки.

При лікуванні туберкульозного запалення ізоніазидом в дозі 10 мг/кг та вітаміном В<sub>6</sub> в дозі 5 мг/кг ваги тварини призводило до послаблення інтенсивності туберкульозного процесу та з'являлась тенденція до зменшення інтенсивності дистрофічних змін у паренхіматозних органах (рис. 9–12).



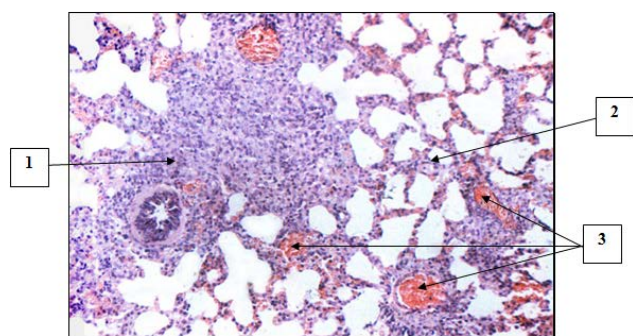


Рис. 9. Зміни у тканинах **легень** тварин 4 групи з експериментальним туберкульозом, лікованих ізоніазидом в дозі 10 мг/кг та вітаміном В<sub>6</sub> 5 мг/кг маси тіла ×125

Перибронхіально визначаються неспецифічні запальні інфільтрати, що складаються головним чином з лімфоїдних клітин з невеликою кількістю епітеліоїдних клітин (1). Місцями зустрічаються запалення між альвеолярних перетинок (2). Відмінною особливістю цих ділянок є повнокров'я кровопостачальних капілярів (3). Виразене повнокров'я кровососних капілярів. Виразена макрофагальна реакція.

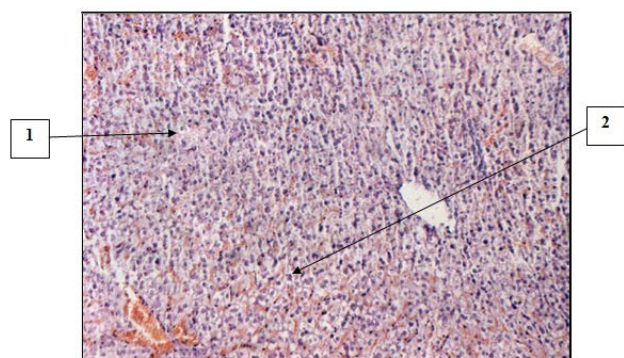


Рис. 10. Зміни у тканинах **печінки** тварин 4 групи з експериментальним туберкульозом, лікованих ізоніазидом в дозі 10 мг/кг та вітаміном В<sub>6</sub> 5 мг/кг маси тіла ×125

Визначаються дистрофічні зміни та набряк гепатоцитів (1) Зустрічається повнокров'я кровопостачальних капілярів (2).

Помірно виразене повнокров'я кровососних капілярів (1). Виразений набряк цитоплазми ниркового епітелію звивистих каналців (2). Морфологічних ознак туберкульозу не визначено.

Структура селезінки збережена. Морфологічних ознак туберкульозу не визначено. Місцями зустрічається виразена макрофагальна реакція (1). Набряк тканин селезінки (2).

Лікування туберкульозного запалення ізоніазидом в дозі 10 мг/кг та вітаміном В<sub>6</sub> в дозі 50 мг/кг ваги тварини: спостерігались зміни, подібні до лікування в дозі 10 мг/кг та вітаміном В<sub>6</sub> в дозі 5 мг/кг ваги тварини, але при цьому значно зростав набряк та повнокров'я у всіх досліджених органах. Переважали явища

неспецифічного запального процесу в перифокальній зоні (рис. 13–17).

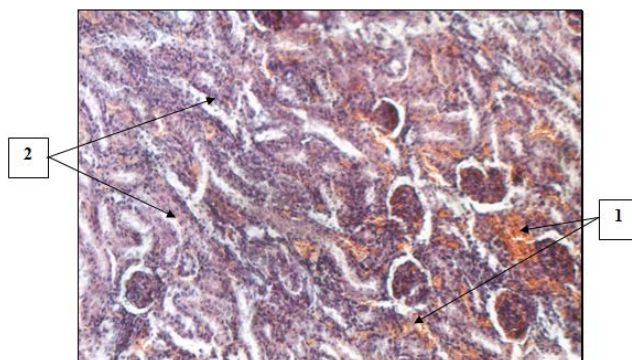


Рис. 11. Зміни у тканинах **нирок** тварин 4 групи з експериментальним туберкульозом, лікованих ізоніазидом в дозі 10 мг/кг та вітаміном В<sub>6</sub> 5 мг/кг маси тіла ×125

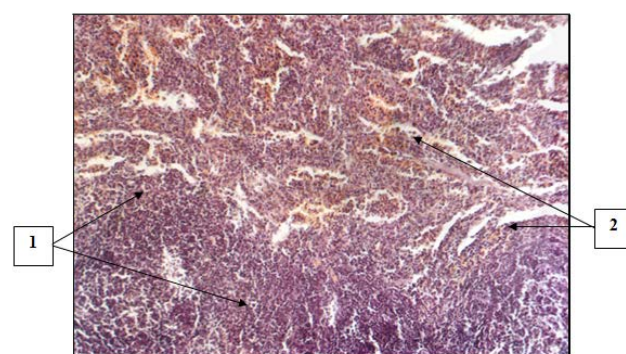


Рис. 12. Зміни у тканинах **селезінки** тварин 4 групи з експериментальним туберкульозом, лікованих ізоніазидом в дозі 10 мг/кг та вітаміном В<sub>6</sub> 5 мг/кг маси тіла ×125

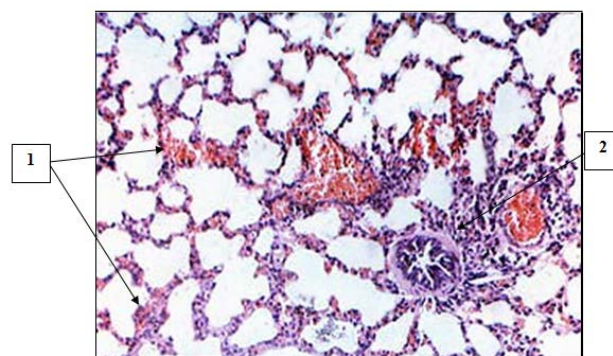


Рис. 13. Зміни у легенях тварин п'ятої групи, лікованих ізоніазидом у дозі 10 мг/кг маси тіла з вітаміном В<sub>6</sub> у дозі 50 мг/кг ×165

У тканинах переважає помірно визначена дифузна неспецифічна запальна реакція. В міжальвеолярних перетинках помірно виразене кровонаповнення кровопостачальних капілярів (1). Зустрічаються невеликі скупчення лімфоцитів, ці ділянки діаметром не більше 50 мкм. Зони запалення, в основному, визначаються перибронхіально та периваскулярно (2).



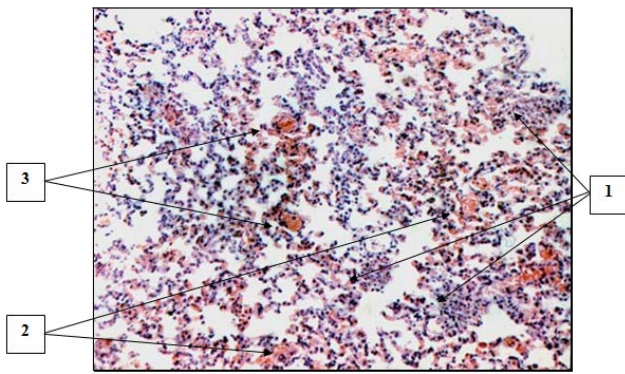


Рис. 14. Зміни у легенях тварин п'ятої групи, лікованих ізоніазидом у дозі 10 мг/кг маси тіла з вітаміном В<sub>6</sub> у дозі 50 мг/кг ×125

Помірно визначена дифузна неспецифічна запальна реакція в міжальвеолярних перетинках, зустрічаються невеликі скупчення лімфоцитів (1), дифузна гіперемія паренхіми легені, обумовлена переповненням кров'ю капілярів міжальвеолярних перетинок (2). Також кровонаповненні більш крупні кровопостачальні судини (3).

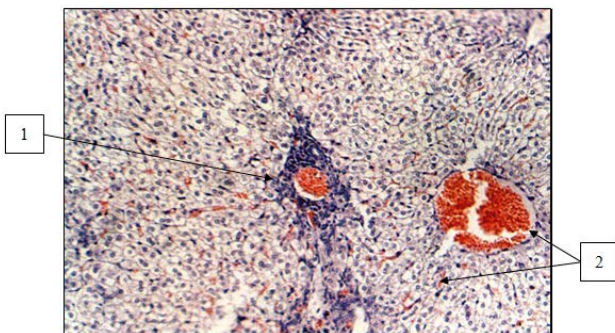


Рис. 15. Зміни у тканинах печінки тварин п'ятої групи, лікованих ізоніазидом у дозі 10 мг/кг маси тіла з вітаміном В<sub>6</sub> у дозі 50 мг/кг ×125

Структура гепатоцитів збережена. Визначається помірна дистрофія гепатоцитів, залишкові запальні явища – помірна лімфоїдноклітинна інфільтрація у міжбалковому просторі (1). Кровонаповнення печінкових вен та капілярів від незначного до помірного (2). Морфологічних ознак туберкульозного запалення не виявлено.

Повнокров'я та набряк тканин нирки. Порожнини капсул ниркових тілець розширені на 1/3 їх діаметра (1). Кровопостачальні капіляри перевантажені кров'ю (2). Запальні та некротичні зміни відсутні. Туберкульозних запальних змін не визначено.

Структура селезінки збережена. Помірне кровонаповнення тканини селезінки. Запальні та некротичні зміни відсутні.

Оптимальний терапевтичний ефект отриманий при лікуванні тварин з експериментальним туберкульозом в дозі ізоніазиду 32 мг/кг та вітаміну В<sub>6</sub> в дозі 5 мг/кг ваги тварини, при цьому повністю зникли явища специфічного запалення в легенях, печінці,

нирках та селезінці. При цьому також зникали явища перифокального неспецифічного запального процесу. Зникали дистрофічні та некротичні зміни в досліджених органах (рис. 18–21).

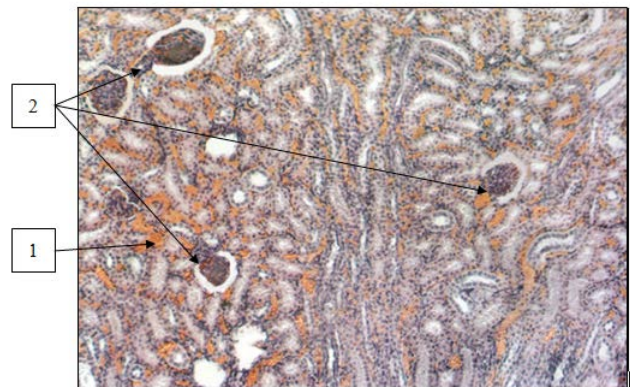


Рис. 16. Зміни у нирках тварин п'ятої групи, лікованих ізоніазидом у дозі 10 мг/кг маси тіла з вітаміном В<sub>6</sub> у дозі 50 мг/кг ×125

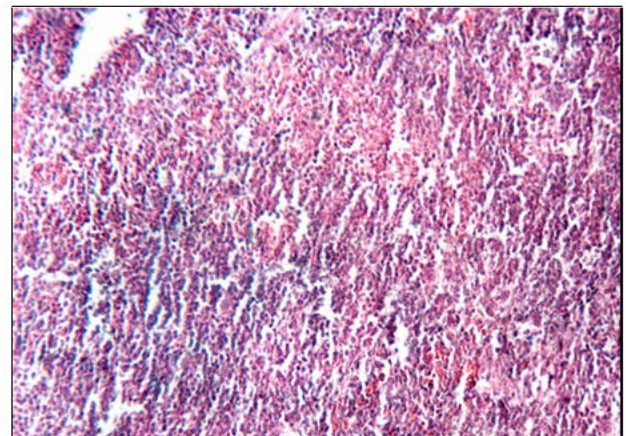


Рис. 17. Зміни у тканинах селезінки тварин п'ятої групи, лікованих ізоніазидом у дозі 10 мг/кг маси тіла з вітаміном В<sub>6</sub> у дозі 50 мг/кг ×125

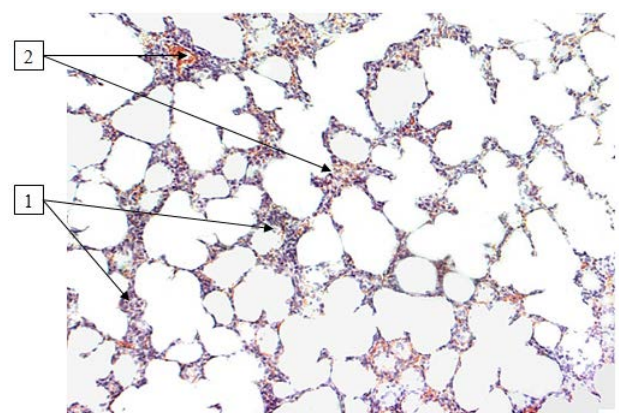


Рис. 18. Зміни у тканинах легень тварин шостої групи, лікованих ізоніазидом у дозі 32 мг/кг маси тіла з вітаміном В<sub>6</sub> у дозі 5 мг/кг ×125

Дуже незначні зміни тканин легень: визначаються невеликі ділянки лімфоїдноклітинної інфіль-



трації (1). Специфічна запальна реакція відсутня. Кровонаповнення кровосносних капілярів міжальвеолярних перетинок помірне (2).

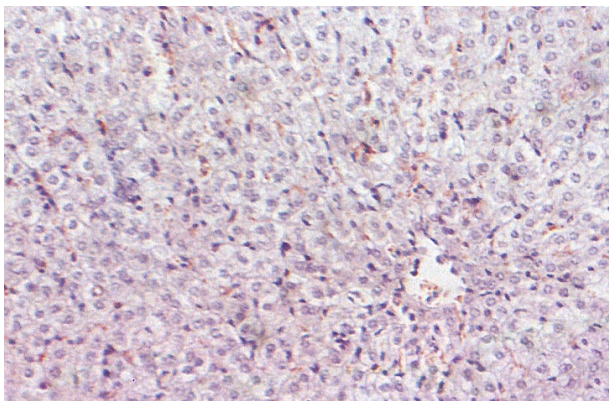


Рис. 19. Зміни у тканинах печінки тварин шостої групи, лікованих ізоніазидом у дозі 32 мг/кг маси тіла з вітаміном В<sub>6</sub> у дозі 5 мг/кг ×165

Структура печінки збережена. Дистрофічних змін не виявлено. Запальні та некротичні зміни відсутні.

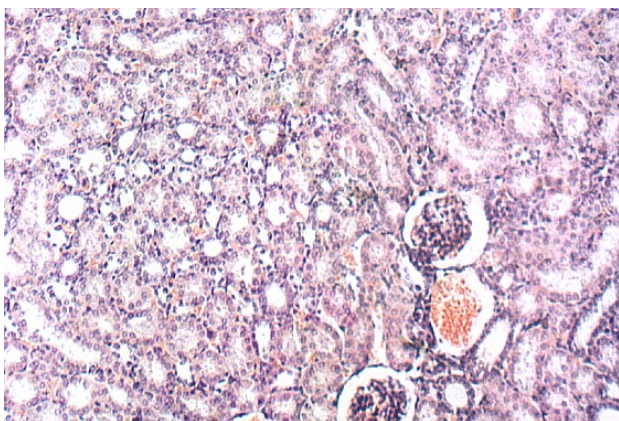


Рис. 20. Зміни у тканинах нирок тварин шостої групи, лікованих ізоніазидом у дозі 32 мг/кг маси тіла з вітаміном В<sub>6</sub> у дозі 5 мг/кг ×165

Структура нирки без суттєвих змін. Помірне кровонаповнення тканин нирки. Порожнини капсул ниркових тілець не розширені. Запальні та некротичні зміни відсутні.

Структура селезінки збережена. Помірне кровонаповнення тканини селезінки. Запальні та некротичні зміни відсутні.

При лікуванні туберкульозного запалення в дозі ізоніазиду 32 мг/кг та вітаміном В<sub>6</sub> в дозі 50 мг/кг ваги у експериментальних тварини, призводило до вилікування специфічного запального процесу в легенях, нирках та печінці, але спостерігалось вогнище специфічного запалення в селезінці. Тобто проявлялась інгібуюча дія вітаміну В<sub>6</sub>. У великій дозі на лікувальний ефект ізоніазиду, як протитуберкульозного препарату.

Лікування великими дозами ізоніазиду (100 мг/кг) та вітаміном В<sub>6</sub> в дозі 50 мг/кг ваги тварини гальмувало в значній мірі туберкульозне запалення, але при

цьому виявлялось прогресування неспецифічного запального процесу в перифокальній зоні. А також прогресували явища дистрофічних змін у паренхіматозних органах, значний прояв дистрофії був визначений у тканинах печінки.

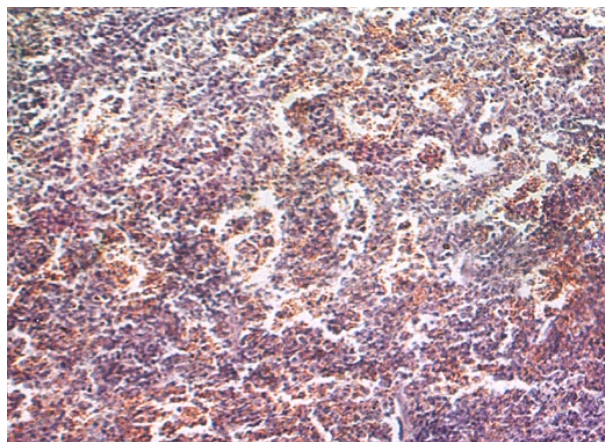


Рис. 21. Зміни у тканинах селезінки тварин шостої групи, лікованих ізоніазидом у дозі 32 мг/кг маси тіла з вітаміном В<sub>6</sub> у дозі 5 мг/кг ×125

**6. Обговорення результатів дослідження**

Наведені приклади представляють результати гістологічних досліджень ознак туберкульозного запалення та неспецифічних змін в органах морських свинок з експериментальною моделлю туберкульозу при лікуванні різними співвідношеннями доз ізоніазиду з піридоксин гідрохлоридом. В умовах експерименту сполучення «ізоніазид – піридоксин гідрохлорид» 32 та 5 мг/кг відповідно призводить до відсутності специфічних та неспецифічних проявів запалення в легенях, печінці, нирках та селезінці. Аналіз гістологічних даних дає змогу робити висновки про адекватність доз та максимальний терапевтичний ефект лікування змодельованого туберкульозу морських свинок.

**7. Висновки**

Отже, наведені приклади представляють результати гістологічних досліджень ознак туберкульозного запалення та неспецифічних змін в органах морських свинок з експериментальною моделлю туберкульозу при лікуванні різними співвідношеннями доз ізоніазиду та піридоксин хлоридом.

В умовах експерименту сполучення «ізоніазид – піридоксин гідрохлорид» 32 та 5 мг/кг відповідно призводить до відсутності специфічних та неспецифічних проявів запалення в легенях, печінці, нирках та селезінці.

**Література**

1. Корнеев, А. Л. Биологические свойства лабораторных штаммов и клинических изолятов микобактерий, полирезистентных к противотуберкулезным препаратам [Текст] / А. Л. Корнеев, В. И. Гольшевская, Э. В. Севастьянова, С. Г. Сафонова, В. А. Пузанов // Проблемы туберкулеза. – 1999. – № 2. – С. 44–47.



2. Фещенко, Ю. І. Хіміорезистентний туберкульоз [Текст] / Ю. І. Фещенко, В. М. Мельник, А. В. Коблянська. – Київ: Здоров'я, 2003. – 136 с.

3. Rusch-Gerdes S. Epidemiology of resistant tuberculosis in Europe [Text] / S. Rusch-Gerdes // Infection. – 1999. – Issue S2. – P. S17–S18. doi: 10.1007/bf02561664

4. Коровник, В. С. Факторы, влияющие на эффективность лечения больных туберкулезом легких, выделяющих лекарственноустойчивые микобактерии [Текст]: тез. докл. / В. С. Коровник, Л. В. Бондалевич, Т. М. Лесковец, И. Л. Бибик. – VI съезд фтизиатров Беларуси. – Минск, 1998. – С. 272–275.

5. Химиотерапия больных туберкулезом органов дыхания: метод. рекомендации [Текст] / под ред. А. Г. Хоменко. – Москва, 1992. – 15 с.

6. Корнеев, А. Л. Биологические свойства лабораторных штаммов и клинических изолятов микобактерий, полирезистентных к противотуберкулезным препаратам [Текст] / А. Л. Корнеев, В. И. Гольшевская, Э. В. Севастьянова, С. Г. Сафонова, В. А. Пузанов // Проблемы туберкулеза. – 1999. – № 2. – С. 44–47.

7. Лечение туберкулеза [Текст]. – Руководящие принципы для национальных программ.; 2-е изд. – Женева: ВОЗ, 1997.

8. Мороз, А. М. Туберкулез: болезнь настоящего и будущего [Текст] / А. М. Мороз // Русский мед. журнал. – 1996. – № 5. – С. 55–57.

9. Фещенко, Ю. И. Современная химиотерапия туберкулеза легких [Текст] / Ю. И. Фещенко // Лікування та діагностика. – 1996. – № 2. – С. 34–36.

10. Чернышенко, Л. Ф. Микробиологическая диагностика туберкулеза [Текст] / Л. Ф. Чернышенко, М. Т. Кищенко // Лабораторная диагностика. – 1998. – № 1. – С. 39–42.

11. Chapman, S. W. New and emerging pathogenes – multiply resistant mycobacterium tuberculosis [Text] / S. W. Chapman, H. M. Henderson // Current Opinion in Infectious Diseases. – 1994. – Vol. 7, Issue 2. – P. 231–237. doi: 10.1097/00001432-199404000-00016

## References

1. Korneev, A. L., Golyshevskaja, V. I., Sevast'janova, Je. V., Safonova, S. G., Puzanov, V. A. (1999). Biologicheskie svojstva laboratornyh shtammov i klinicheskikh izolatov mikobakterij, polirezistentnyh k protivotuberkuleznym. Problemy tuberkuleza, 2, 44–47.

2. Feshhenko, Ju. I., Mel'nyk, V. M., Kobljans'ka, A. V. (2003). Himiorezistentnyy Tuberculosis. Kyiv: Health, 136.

3. Rüsç-Gerdes, S. (1999). Epidemiology of resistant tuberculosis in Europe. Infection, 27 (S2), S17–S18. doi: 10.1007/bf02561664

4. Korovnyk, V. S., Bondalevych, L. V., Leskovec, T. M., Bybyk, Y. L. (1998). Factors influencing the effectiveness of treatment of patients with pulmonary tuberculosis, drug-resistant mycobacteria secrete. VI Congress of TB specialists in Belarus. Minsk, 272–275.

5. Khomenko, A. G. (Ed.) (1992). Chemotherapy of pulmonary tuberculosis: Method recommendations. Moscow, 15.

6. Korneev, A. L., Golyshevskaja, V. Y., Sevast'janova, E. V., Safonova, S. G., Puzanov, V. A. (1999). Biological properties of laboratory strains and clinical isolates of mycobacteria, MDR TB drug. Problems of tuberculosis, 2, 44–47.

7. Treatment of tuberculosis (1997). Guidelines for national programs. 2nd ed. Geneva: VOZ.

8. Moroz, A. M. (1996). Tuberculosis: a disease of the present and the future. Russian med. Journal, 5, 55–57.

9. Feshenko, Y. I. (1996). Modern chemotherapy of lung tuberculosis. Treatment and diagnosis, 2, 34–36.

10. Chernyshenko, L. F., Kymenko, M. T. (1998). Microbiological tuberculosis diagnostics. Laboratory diagnostics, 1, 39–42.

11. Chapman, S. W., Henderson, H. M. (1994). New and emerging pathogenes – multiply resistant Mycobacterium tuberculosis. Current Opinion in Infectious Diseases, 7 (2), 231–237. doi: 10.1097/00001432-199404000-00016

*Дата надходження рукопису 12.06.2015*

**Гайова Людмила Володимирівна**, доктор медичних наук, професор, кафедра біоорганічної та біологічної хімії, Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця, Кловський узвіз, 6, м. Київ, Україна, 10021  
E-mail: ludmilagaevaya@gmail.com