

# ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ EXPERIMENTAL RESEARCHES

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.1.9

## Патологоанатомическая картина поражения головного мозга у белых мышей при экспериментальной сибиреязвенной инфекции

Брюхова Д.Д., Дубровина В.И., Кравец Е.В., Мухтургин Г.Б., Иванова Т.А., Громова А.В., Балахонов С.В.

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора (664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Дубровина Валентина Ивановна, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru

### Резюме

**Актуальность исследования.** *Bacillus anthracis* – микроорганизм, который вызывает сибирскую язву. Это особо опасное инфекционное заболевание при нерациональной терапии приводит к системному распространению бактерий в организме через гистогематические барьеры. Бациллы проникают в головной мозг, впоследствии приводя к геморрагическому менингиту. Несмотря на интенсивную терапию антибиотиками, такой менингит трудноизлечим и поэтому высоко летален. Изучение особенностей изолятов сибиреязвенного микроба разного происхождения и генотипа является актуальным направлением исследований.

**Цель исследования:** изучение патоморфологических и гистологических изменений в отделах головного мозга экспериментальных животных при сибиреязвенной инфекции, вызванной *B. anthracis* с разным плазмидным спектром.

**Материалы и методы исследования.** Исследование проводили на 200 сертифицированных белых мышах, в качестве объектов исследования использовали штаммы: *B. anthracis* И-323 (pXO1<sup>+</sup>/pXO2<sup>-</sup>), *B. anthracis* И-275 (pXO1<sup>-</sup>/pXO2<sup>+</sup>) и *B. anthracis* И-217 (pXO1<sup>+</sup>/pXO2<sup>-</sup>). Материал (головной мозг мышей), забранный для гистологического исследования, заливался в парафин, затем с помощью микротома приготавливались срезы, окрашивались гематоксилин-эозином и толуидиновым синим по Нисслю. Оценивали степень поражения нейронов путём подсчёта полуколичественного фактора и определения средних размеров ядер нейронов, изучали численную плотность клеток в 1 мм<sup>2</sup>. Микрофотосъёмку и количественный анализ выполняли, используя пакет прикладных программ «Motic Images Plus 2.0». Статистическую обработку результатов выполняли с помощью программы «Statistica 6.0».

**Результаты исследования** показали, что головной мозг заражённых мышей имеет признаки геморрагического лептоменингита, проявления которого наблюдаются ярче у мышей, заражённых слабовирулентными плазмидными штаммами *B. anthracis* и павших мышей.

**Заключение.** Многокомпонентный экзотоксин и специализированные белки, закодированные в плазмиде патогенности микроорганизма, позволяют *B. anthracis* легко преодолевать гистогематические барьеры и вызывать тяжёлую септическую форму сибирской язвы. Полученные в ходе исследования результаты дополняют имеющиеся сведения о патогенезе сибирской язвы и указывают на необходимость дальнейших исследований в данном направлении.

**Ключевые слова:** сибирская язва, гематоэнцефалический барьер, головной мозг, менингит, мыши

**Для цитирования:** Брюхова Д.Д., Дубровина В.И., Кравец Е.В., Мухтургин Г.Б., Иванова Т.А., Громова А.В., Балахонов С.В. Патологоанатомическая картина поражения головного мозга у белых мышей при экспериментальной сибиреязвенной инфекции. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(1): 65-71. doi: 10.29413/ABS.2020-5.1.9

## Pathoanatomical Pattern of Brain Damage of White Mice Infected with Experimental Anthrax

Briukhova D.D., Dubrovina V.I., Kravets E.V., Mukhturgin G.B., Ivanova T.A., Gromova A.V., Balakhonov S.V.

Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor (ul. Trilissera 78, Irkutsk 664047, Russian Federation)

Corresponding author: Valentina I. Dubrovina, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru

### Abstract

**Background.** *Bacillus anthracis* is a microorganism that causes anthrax. Because of irrational therapy, this particularly dangerous infectious disease leads to a systemic spread of bacteria in the body through histohematological barriers. Bacilli entering the brain subsequently lead to hemorrhagic meningitis. Despite intensive antibiotic therapy, that kind of meningitis is difficult to cure and therefore highly lethal. Studying characteristics of anthrax's isolates of different origin and genotype is an actual area of research.

**The aim** of the study is searching for pathomorphological and histological changes in the brain regions of experimental animals with anthrax infection, caused by *B. anthracis* with different plasmid spectrum.

**Materials and methods:** The study was conducted on 200 certified white mice, three *B. anthracis* strains were used as research objects: *B. anthracis* I-323 (pXO1-/pXO2-), *B. anthracis* I-275 (pXO1/pXO2-), and *B. anthracis* I-217 (pXO1+/pXO2-). The material for histological examination was the brain of mice, embedded in paraffin, and then sections were prepared using a microtome and stained with hematoxylin-eosin and Nissl toluidine blue. The degree of neuronal damage was assessed by calculating the semi-quantitative factor and determining the average size of the neuron nuclei, and the numerical density of cells in 1 mm<sup>2</sup> was studied. Microphotography and quantitative analysis was performed using the Motic Images Plus 2.0 application package. Statistical processing of the results was performed using the program "Statistica 6.0". **The results** of the study showed that the brain of infected mice shows signs of hemorrhagic leptomeningitis, the manifestations of which are more pronounced in mice infected with weakly virulent plasmid strains of *B. anthracis* and fallen mice.

**Conclusion.** Multicomponent exotoxin and specialized proteins, encoded in the pathogenicity plasmid of microorganisms, allow *B. anthracis* to easily overcome histohematological barriers and cause severe septic anthrax. The results obtained during the study supplement the available information on the pathogenesis of anthrax and indicate the need for further research in this direction.

**Key words:** anthrax, blood-brain barrier, brain, meningitis, mice

**For citation:** Briukhova D.D., Dubrovina V.I., Kravets E.V., Mukhturgin G.B., Ivanova T.A., Gromova A.V., Balakhonov S.V. Pathoanatomical Pattern of Brain Damage of White Mice Infected with Experimental Anthrax. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(1): 65-71. doi: 10.29413/ABS.2020-5.1.9

Сибирская язва – особо опасное инфекционное заболевание. В зависимости от пути заражения, сибирская язва имеет три различных клинических формы: желудочно-кишечную, ингаляционную и кожную [1]. Прогрессирование заболевания в значительной степени опосредовано двумя плазмидами патогенности – pXO1 и pXO2, которые кодируют вырабатываемый бактерией экзотоксин и капсульный полисахарид соответственно. Все формы сибирской язвы могут быть смертельными, поскольку неправильное и несвоевременное лечение приводит к системному распространению этой бактерии через лимфатические и гематогенные пути [2]. Данное обстоятельство может быть связано с белками, закодированными в плазмиде патогенности pXO1 – металлопротеаза InhA, расщепляющая противобактериальные белки [3], и белок адгезии BslA [4] позволяют *B. anthracis* прикрепляться и проникать через гистогематические барьеры, нарушая межклеточные соединения эндотелиальных клеток (плотные контакты) [5, 6, 7]. Описаны клинические случаи [8, 9], повествующие о том, что бактерии проникают в головной мозг, впоследствии приводя к геморрагическому менингиту. Несмотря на интенсивную терапию антибиотиками, такой менингит трудноизлечим и поэтому высоко летален [10].

Для решения проблем эпизоотологии и эпидемиологии, диагностики, профилактики и лечения сибирской язвы, а также для разработки надёжных средств и методов индикации её возбудителя, важное значение имеют знания о биологии сибиреязвенного микроба и о патоморфологических и гистологических проявлениях, возникающих во время заболевания. Генотипические и фенотипические признаки возбудителя сибирской язвы подвержены внутривидовой и внутривидовой изменчивости, что осложняет его идентификацию и дифференциацию [2]. В связи с этим, изучение особенностей изолятов сибиреязвенного микроба разного происхождения и генотипа является актуальным направлением исследований.

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение патоморфологических и гистологических изменений в отделах головного мозга экспериментальных животных при сибиреязвенной инфекции, вызванной *B. anthracis* с разным плазмидным спектром.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на 200 сертифицированных беспородных белых мышах, стандартных по услови-

ям содержания и массе (18–20 г). В работе использовались здоровые животные, полученные из питомника ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора (РД 42-26-3...3738, НПО «Вектор», Новосибирск). В качестве объектов исследования использовались три штамма *Bacillus anthracis* с разным плазмидным спектром: *B. anthracis* И-323 (pXO1-/pXO2-), *B. anthracis* И-275 (pXO1/pXO2-), *B. anthracis* И-217 (pXO1+/pXO2-), находящиеся в коллекции музея живых культур ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора. Животных разделили на одну контрольную (20 особей) и три опытных группы (по 60 особей), инфицировали подкожно в правую лапу в объёме 0,5 мл спорами вышеперечисленных штаммов *B. anthracis* в дозе ЛД<sub>50</sub>, контрольной группе животных вводили изотонический раствор хлорида натрия (рН 7,2) в том же объёме.

Животных выводили из эксперимента под наркозом, используя пары хлороформа, в соответствии с «Правилами надлежащей лабораторной практики в Российской Федерации» (утв. Приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации № 199н от 01.04.2016 г.) и Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и других научных целях (Страсбург, 1986 г.). Учёт результатов проводили на 1-е, 3-е, 7-е, 14-е и 21-е сутки с момента заражения.

Забирался материал для гистологического исследования – головной мозг. Проводились контрольные посевы крови и головного мозга. Материал фиксировали в 12%-ном водном растворе формалина в течение 24 суток, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации, заливали в парафин. Для приготовления срезов использовали санный микротом НМ 430 фирмы «Microm» (Германия). Полутонкие парафиновые срезы (5 мкм) окрашивали гематоксилин-эозином и толуидиновым синим по Нисслю [11].

При микроскопировании препаратов описывалось состояние мягкой мозговой оболочки и вещества мозга – отёк, кровенаполнение сосудов, состояние сосудистых стенок, наличие клеточной инфильтрации, наличие субарахноидальных кровоизлияний, кровоизлияний в вещество мозга, наличие очагов организации, наличие и степень выраженности отёка вещества мозга, состояние нейронов; акцент ставился на поиск признаков менингита и токсического поражения головного мозга. Детальному изучению подверглись префронтальная кора больших

полушарий головного мозга (ГМ), стриатум, передний мозг, кора мозжечка, а также продолговатый мозг [10].

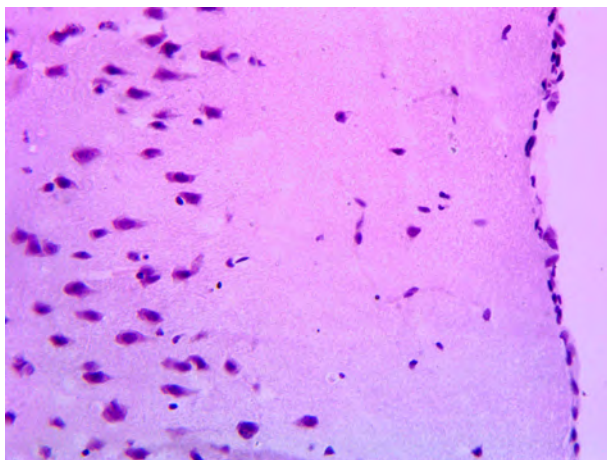
Микрофото съёмку и количественный анализ производили с использованием компьютерной системы и пакета прикладных программ «Motic Images Plus 2.0». Степень повреждения нейронов оценивали путём расчёта полуколичественного фактора по Чубинидзе и определения средних размеров ядер нейронов, изучали численную плотность клеток (количество нейронов в 1 мм<sup>2</sup>). Выраженность глиальной реакции оценивали по среднему численному соотношению глия/нейрон. Статистическую обработку результатов выполняли, используя пакет прикладных программ «Statistica 6.0».

Данные представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего. Различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

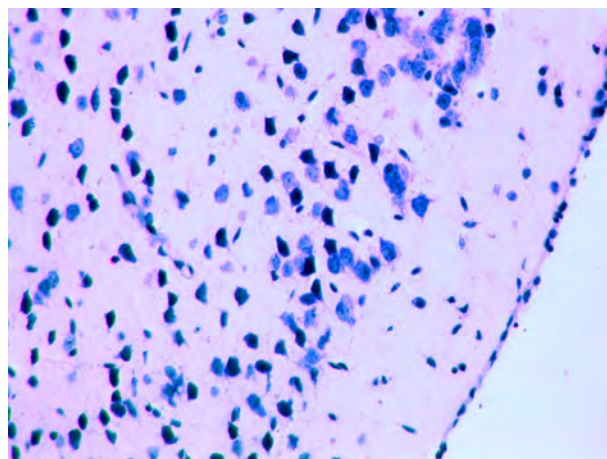
При гистологическом исследовании головного мозга наибольшие изменения в целом наблюдались в коре головного мозга, стриатуме, продолговатом мозге, более поздние и менее выраженные изменения регистрировались в мозжечке. Особенно ярко были выражены признаки повреждения мозга у животных, имевших характерную для сибирской язвы симптоматику при вскрытии: отёк в месте заражения, кровоизлияния, дряблый головной мозг, сердце, печень, почки, увеличенная селезёнка и лимфоузлы. Повсеместным был процесс пролиферации микроглии, который был тем интенсивнее, чем выше оказывалось кровоснабжение данного отдела центральной нервной системы (ЦНС).

В ходе эксперимента установлено, что на ранних сроках исследования в группе животных, заражённых *B. anthracis* И-323 (рХО1-/рХО2-), морфологические изменения в ЦНС были слабо выражены. Мягкая мозговая оболочка (ММО) не отёчна, сосуды умеренного кровенаполнения, стенки сосудов без явных выраженных изменений, кровоизлияния и клеточная инфильтрация отсутствовали, отёк вещества мозга не выражен, патологически изменённые нейроны присутствовали в незначительном количестве (рис. 1).



**Рис. 1.** Мягкая мозговая оболочка коры головного мозга мыши, инфицированной *B. anthracis* И-323. Первые сутки. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. ×400.

**Fig. 1.** The pia mater of the cerebral cortex of a mouse infected with *B. anthracis* I-323. Day 1. Hematoxylin-eosin staining. Magnification ×400.



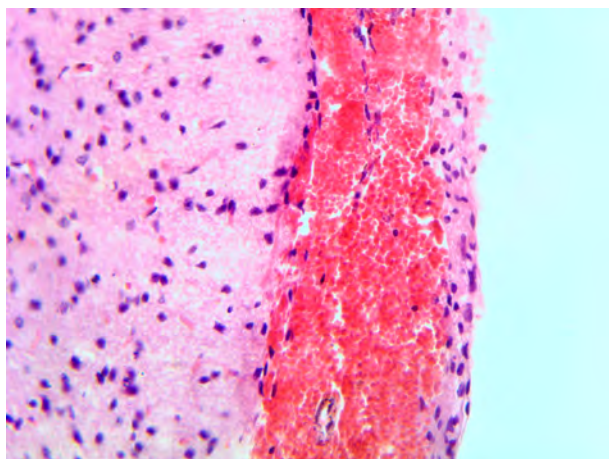
**Рис. 2.** Кора головного мозга мыши (контрольная группа). Окраска толуидиновым синим. Ув. ×400

**Fig. 2.** Cerebral cortex of a mouse (control group). Toluidine blue staining. Magnification ×400

Подсчёт полуколичественного фактора по Чубинидзе для нейронов головного мозга мышей, заражённых *B. anthracis* И-323 (рХО1-/рХО2-), установил, что содержание патологически изменённых нейронов в первые сутки наблюдения составляло 0,9–2,1 %, что может быть сравнимо с результатами наблюдений в контрольной группе животных (рис. 2, табл. 1). Тем не менее, у мышей опытной группы на 21-е сутки наблюдения отмечено повышение содержания повреждённых нейронов до 3,2–5,2 %, что в среднем в 3 раза больше результатов контрольной группы, а также было зарегистрировано повышение соотношения глиальных клеток к нейронам, которое составляло от 3,2 до 3,4. Рост этих показателей к 21-м суткам у штамма *B. anthracis* И-323 может быть обусловлен тем, что организмом был выработан иммунный ответ на различные белковые структуры микроорганизма, параллельно с развитием инфекционно-токсического шока. Так, у экспериментальных животных, инфицированных *B. anthracis* И-323, на 21-е сутки заражения в головном мозге имеет место отёк и расслоение ММО, отёк стенки сосудов, застой крови, кровоизлияния и нейтрофильная инфильтрация в вещество мозга (рис. 3). В веществе мозга выраженный периваскулярный и периваскулярный отёк, сосуды различного кровенаполнения, с внутрисосудистыми агрегатами, краевым стоянием, в сосудистой стенке – плазматическое пропитывание, умеренные плазморрагии, диапедезные микрогеморрагии. Желудочки мозга расширены, наполнены кровью. В коре головного мозга, стриатуме и продолговатом мозге имеются нейроны неправильной, зазубренной формы со смещённым ядром и частичным тигролизом – «тающие» нейроны, а также клетки-«тени» с бледно окрашенной гомогенной цитоплазмой, в которой не контурируется ядерная мембрана и иногда очень слабо намечается бледно окрашенное ядрышко.

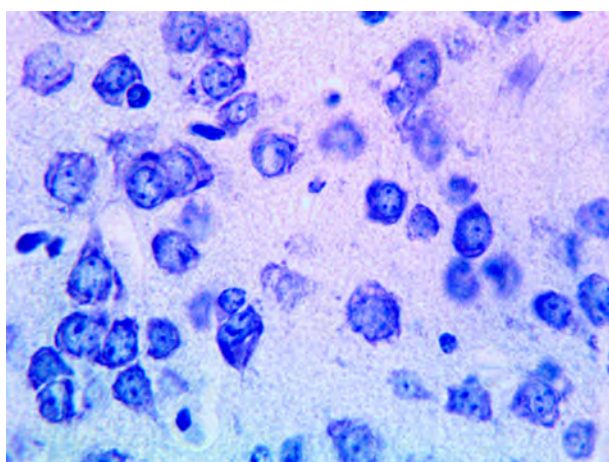
В группе животных, заражённых *B. anthracis* И-275 (рХО1-/рХО2-), морфологические изменения в ЦНС на ранних сроках заражения были чуть более выражены: мягкая мозговая оболочка (ММО) незначительно утолщена, не расслоена, сосуды ММО полнокровны, сосудистая стенка со слабо выраженным плазматическим пропитыванием, кровоизлияния отсутствуют, в веществе мозга сосуды без видимых изменений. В более поздние сроки наблюдения пало четверо животных, заражённых *B. anthracis* И-275: по

одной особи на 3-и, 6-е, 12-е и 14-е сутки. Так, в головном мозге павшего на 14-е сутки животного были выявлены следующие изменения: ММО утолщена, отёчна, сосуды неравномерного кровенаполнения, сосудистая стенка с выраженным плазматическим пропитыванием, разрывами, а также выходом в ММО эритроцитов в большом количестве, клеточная инфильтрация. В веществе мозга сосуды умеренного кровенаполнения, с незначительно отёчными стенками, наблюдается выход лейкоцитов в ткань мозга, неравномерный перичеллюлярный отёк, а также присутствуют патологически изменённые нейроны (рис. 4). Одновременно с воспалительной реакцией развивается глиальный ответ. Установлено, что содержание патологически изменённых нейронов на ранних сроках наблюдения составляло 1,9–3,0 %, что в 1,7 раза больше по сравнению с интактными животными. На поздних сроках (21-е сутки) было зарегистрировано повышение показателя в среднем в 4,5 раза по сравнению с контролем (4,6–7,1 %). Соотношение глиальных клеток к нейронам составляло от 3,3 на ранних сроках до 4,4 клеток/нейрон на поздних сроках наблюдения (табл. 1).



**Рис. 3.** Мягкая мозговая оболочка коры головного мозга мыши, инфицированной *B. anthracis* I-323. 21-е сутки. Окрашивание гематоксилин-эозином. Ув. ×400.

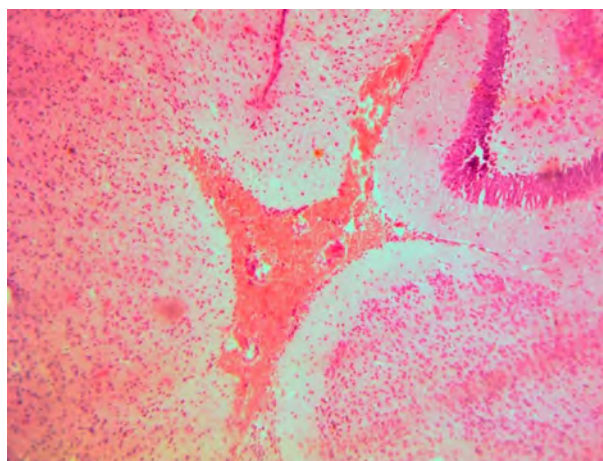
**Fig. 3.** The pia mater of the cerebral cortex of a mouse infected with *B. anthracis* I-323. Day 21. Hematoxylin-eosin staining. Magnification ×400.



**Рис. 4.** Нейроны коры головного мозга мыши, инфицированной *B. anthracis* I-275. 21-е сутки. Окрашивание толуидиновым синим. Ув. ×1000.

**Fig. 4.** Neurons of the cerebral cortex of a mouse infected with *B. anthracis* I-275. Day 21. Toluidine blue staining. Magnification ×1000.

В головном мозге группы экспериментальных животных, заражённых *B. anthracis* I-217 (рХО1<sup>+</sup>/рХО2<sup>-</sup>), сосуды ММО полнокровны, в сосудистой стенке выражено плазматическое пропитывание, выход форменных элементов в толщу ММО, вследствие чего она утолщена. В веществе мозга регистрируется отёк в стенке сосудов, у отдельных сосудов отмечаются разрывы стенки. Третий желудочек, латеральный желудочек заполнены форменными элементами крови (рис. 5). Установлено наличие очагового отёка различной степени выраженности в веществе мозга, периваскулярный отёк, нейтрофильная инфильтрация. В разных отделах головного мозга экспериментальных животных выявлено большое количество патологически изменённых нейронов.



**Рис. 5.** Третий желудочек головного мозга мыши, инфицированной *B. anthracis* I-217, заполненный кровью. Окрашивание гематоксилин-эозином. Ув. ×100.

**Fig. 5.** The third ventricle of the brain of a mouse infected with *B. anthracis* I-217, filled with blood. Hematoxylin-eosin staining. Magnification ×100.

Оценка повреждения нейронов головного мозга мышей, заражённых *B. anthracis* I-217, показывает, что высокая степень патологического изменения нейронов, выраженная в процентном показателе, уменьшение средних размеров ядер нейроцитов от 46,5 до 33,3 мкм<sup>2</sup>, а также повышение глиальной реакции в динамике от 3,2 до 4,7 клеток/нейрон присутствовали во всех отделах головного мозга (табл. 1).

Подсчёт полуколичественного фактора повреждения нейронов головного мозга выявил, что уже на ранних сроках показатель процентного содержания поражённых нейронов составил 5,8–9,6 % (что в среднем в 5,6 раза превышает показатели интактных животных) и имел выраженную тенденцию к увеличению к 21-м суткам до 6,4–24,0 %, что в среднем в 11,8 раза выше результатов контрольной группы.

При экспериментальной инфекции, вызванной сибирской язвой, в различных отделах головного мозга мышей выявлены нейроны не только в состоянии повреждения и атрофии, но также большое количество клеток с сохранной структурой, находящихся в состоянии повышенной функциональной активности.

Следует отметить, что в головном мозге лабораторных животных, инфицированных *B. anthracis* всех штаммов, взятых в эксперимент, вегетативные клетки возбудителя при бактериологическом исследовании не

Показатели повреждения нейронов головного мозга у мышей, инфицированных *B. anthracis* с разным плазмидным спектром  
 Indicators of damage of brain neurons in mice infected with *B. anthracis* with different plasmid spectra

Сроки наблюдения, сутки	Показатели						
	Тяжесть поражения по отделам головного мозга, %				Средние размеры ядер нейронов, мкм <sup>2</sup>	Количество клеток/мм <sup>2</sup>	Соотношение глия/нейроны
кора	мозжечок	стриатум	продолговатый мозг				
<b>Контроль</b>							
	1,8 ± 0,3	0,9 ± 0,3	1,1 ± 0,5	1,7 ± 0,1	38,5 ± 0,9	3874,3 ± 201,2	3,1 ± 0,2
<b><i>B. anthracis</i> И-323 (pXO1-/pXO2-)</b>							
1-е	2,1 ± 0,4*	0,9 ± 0,1*	1,3 ± 0,1	2,3 ± 0,4	37,7 ± 4,6*	3340,5 ± 279,2	3,2 ± 0,52*
3-и	1,7 ± 0,1*	1,9 ± 0,7*	2,4 ± 0,5*	2,2 ± 1,0*	43,3 ± 2,5*	3415,7 ± 206,3	3,3 ± 0,1*
7-е	3,1 ± 1,0	1,5 ± 0,3	4,1 ± 2,2*	2,1 ± 1,3*	38,9 ± 5,6	3534,6 ± 361,7	3,3 ± 1,1
14-е	4 ± 2,1	2,8 ± 0,8*	4,6 ± 1,8*	4,44 ± 0,1*	32,8 ± 2,4*	3233,7 ± 285,4	3,3 ± 0,6*
21-е	5,2 ± 1,6*	4,3 ± 0,2	4,4 ± 1,5	3,2 ± 0,6	30,1 ± 5,2*	4116,9 ± 108,3	3,4 ± 0,7*
<b><i>B. anthracis</i> И-275 (pXO1-/pXO2-)</b>							
1-е	3 ± 0,2*	2,1 ± 0,1*	1,9 ± 0,1*	2,3 ± 1,4*	37,2 ± 1,1	3220,7 ± 145,7	3,3 ± 1,4*
3-и	2,2 ± 0,2	2,4 ± 0,1*	4,1 ± 0,6*	3,7 ± 0,1	35,8 ± 1,4*	3701,3 ± 211,4	3,5 ± 2,4*
7-е	6,2 ± 1,9*	2,3 ± 0,1	5,3 ± 0,6*	4,1 ± 2,3*	36,5 ± 1,2*	3298,7 ± 134,8	3,8 ± 2,6*
14-е	5,2 ± 0,3*	3,8 ± 0,1	6,1 ± 1,8*	7,2 ± 1,9	39,6* ± 3,4	3532,5 ± 225,8	3,6 ± 2,5*
21-е	7,1 ± 0,4*	4,6 ± 0,4*	6,4 ± 0,8*	6,3 ± 0,1*	38,5 ± 1,9*	4038,0 ± 376,2	4,4 ± 3,1*
<b><i>B. anthracis</i> И-217 (pXO1+/pXO2-)</b>							
1-е	9,6 ± 1,2*	5,8 ± 0,7*	8,6 ± 0,6*	6,4 ± 0,3*	46,5 ± 2,1	3583,1 ± 237,7	3,2 ± 1,2*
3-и	12,2 ± 0,3*	5,2 ± 1,2	15,2 ± 1,5	13,3 ± 2,7*	37,5 ± 1,6*	3454,5 ± 176,4	4,5 ± 1,1*
7-е	16,7 ± 2,8	5,7 ± 2,2*	17,8 ± 1,7*	25,2 ± 3,5*	36,1 ± 3,0*	3764,4 ± 275,5	3,9 ± 0,3*
14-е	15,6 ± 0,9*	5,7 ± 0,6	16,7 ± 0,6*	18,9 ± 2,1	35,7 ± 2,9*	3846,2 ± 264,4	4,5 ± 1,2*
21-е	12,2 ± 2,8*	6,4 ± 0,1*	18,0 ± 0,8*	17,6 ± 1,0*	33,3 ± 1,8*	3736,1 ± 228,3	4,7 ± 1,4*

Примечание. \* – p < 0,05 при сравнении с показателем в контроле.

обнаружены, что говорит об отсутствии острого инфекционного процесса.

Результаты исследования особенностей патоморфологических и гистологических изменений в отделах головного мозга экспериментальных животных при сибиреязвенной инфекции, вызванной *B. anthracis* с разным плазмидным спектром, показали, что степень повреждения нейронов головного мозга у мышей, заражённых одноплазмидным (pXO1+/pXO2-) штаммом *B. anthracis*, превышают таковые в случае применения безплазмидных штаммов *B. anthracis*. Данное обстоятельство может свидетельствовать о том, что многокомпонентный экзотоксин и специализированные белки, закодированные в плазмиде патогенности микроорганизма, позволяют *B. anthracis* легко преодолевать гистогематические барьеры и вызывать тяжёлую септическую форму сибирской язвы.

У мышей, инфицированных штаммами *B. anthracis* И-323 (pXO1-/pXO2-) и *B. anthracis* И-275 (pXO1-/pXO2-), которые отличаются по мультилокусным тандемным повторам и однонуклеотидным полиморфизмам в геноме, установлено незначительное повышение показателей повреждения нейронов головного мозга в среднем в 3,9–4,5 раза по сравнению с контролем к 21-м суткам наблюдения. А при инфекционном процессе, вызванном *B. anthracis* И-217 (pXO1+/pXO2-), этот показатель увеличился в 13,8 раза по сравнению с контролем.

Выявлено изменение показателя соотношения глиальных клеток к нейронам от 3,4 клеток/нейрон при применении *B. anthracis* И-323 (pXO1-/pXO2-) до 4,7 клеток/нейрон у животных, заражённых *B. anthracis* И-217 (pXO1+/pXO2-), а также уменьшение средних размеров ядер нейронов, что может являться индикатором реакции клеток головного мозга на инфекционно-токсическое повреждение.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение характеристики и свойств возбудителя сибирской язвы, а также анатомических и гистологических изменений головного мозга при экспериментальной инфекции показало особенности инфекционного процесса данного заболевания и какое влияние оказывают плазмиды вирулентности на проникновение через ГЭБ: высокая устойчивость, значительная контагиозность, многокомпонентный экзотоксин и специализированные белки, закодированные в плаزمиде вирулентности микроорганизма, позволяют ему легко преодолевать гистогематические барьеры макроорганизма и вызывать тяжелейшую сибиреязвенную септицемию и бактериальный менингоэнцефалит.

Таким образом, полученные в ходе исследования результаты дополняют имеющиеся сведения о патогенезе сибирской язвы и указывают на необходимость дальнейших исследований в данном направлении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Покровский В.И., Брико Н.И., Данилкин Б.К., Пак С.Г. *Инфекционные болезни и эпидемиология*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2007.
2. Витязева С.А., Старовойтова Т.П., Дубровина В.И., Балахонов С.В., Загоскина Т.Ю. *Патогенез и патологоанатомическая картина чумы, холеры и сибирской язвы: учебное пособие*. Иркутск: ИИЦХТ; 2015.
3. Mukherjee DV, Tonry JH, Kim KS, Ramarao N, Popova TG, Bailey C, et al. Bacillus anthracis protease InhA increases blood-brain barrier permeability and contributes to cerebral hemorrhages. *PLoS ONE*. 2011; 6(3): e17921. doi: 10.1371/journal.pone.0017921
4. Ebrahimi CM, Kern JW, Sheen TR, Ebrahimi-Fardooee MA, van Sorge NM, Schneewind O, et al. Penetration of the blood-brain barrier by *Bacillus anthracis* requires the pXO1-encoded BslA protein. *J Bacteriol*. 2009; 191(23): 7165-7173. doi 10.1128/JB.00903-09
5. Abbott NJ, Patabendige AA, Dolman DE, Yusof SR, Begley DJ. Structure and function of the blood-brain barrier. *Neurobiol Dis*. 2010; 37(1): 13-25. doi 10.1016/j.nbd.2009.07.030
6. Al-Obaidi MMJ, Desa MNM. Mechanisms of blood brain barrier disruption by different types of bacteria, and bacterial-host interactions facilitate the bacterial pathogen invading the brain. *Cell Mol Neurobiol*. 2018; 38(7): 1349-1368. doi 10.1007/s10571-018-0609-2
7. Inglesby TV, O'Toole T, Henderson DA, Bartlett JG, Ascher MS, Eitzen E, et al. Anthrax as a biological weapon, 2002: updated recommendations for management. *JAMA*. 2002; 287(17): 2236-2252. doi 10.1001/jama.287.17.2236
8. Попова А.Ю., Куличенко А.Н. *Опыт ликвидации вспышки сибирской язвы на Ямале в 2016 году*. Ижевск: ООО «Принт-2»; 2017.
9. Супотницкий М.В. Героиновая сибирская язва в Шотландии и Германии. *Биопрепараты*. 2011; (1): 40-44.
10. Блинов Д.В. Современные представления о роли нарушения резистентности гематоэнцефалического барьера в патогенезе заболеваний ЦНС. Часть 1: строение и формирование гематоэнцефалического барьера. *Эпилепсия и пароксизмальные состояния*. 2013; 5(3): 65-75.
11. Коржевский Д.Э., Гиляров А.В. *Основы гистологической техники*. СПб.: СпецЛит; 2010. ISBN 978-5-299-00438-0

REFERENCES

1. Pokrovsky VI, Briko NI, Danilkin BK, Pak SG. *Infectious diseases and epidemiology*. Moscow: GEOTAR-Media; 2007. (In Russ.)
2. Vityazeva SA, Starovoitova TP, Dubrovina VI, Balakhonov SV, Zagoskina TY. *Pathogenesis and pathological picture of plague, cholera and anthrax: a training manual*. Irkutsk: INTSHT; 2015. (In Russ.)
3. Mukherjee DV, Tonry JH, Kim KS, Ramarao N, Popova TG, Bailey C, et al. Bacillus anthracis protease InhA increases blood-brain barrier permeability and contributes to cerebral hemorrhages. *PLoS ONE*. 2011; 6(3): e17921. doi: 10.1371/journal.pone.0017921
4. Ebrahimi CM, Kern JW, Sheen TR, Ebrahimi-Fardooee MA, van Sorge NM, Schneewind O, et al. Penetration of the blood-brain barrier by *Bacillus anthracis* requires the pXO1-encoded BslA protein. *J Bacteriol*. 2009; 191(23): 7165-7173. doi 10.1128/JB.00903-09
5. Abbott NJ, Patabendige AA, Dolman DE, Yusof SR, Begley DJ. Structure and function of the blood-brain barrier. *Neurobiol Dis*. 2010; 37(1): 13-25. doi 10.1016/j.nbd.2009.07.030
6. Al-Obaidi MMJ, Desa MNM. Mechanisms of blood brain barrier disruption by different types of bacteria, and bacterial-host interactions facilitate the bacterial pathogen invading the brain. *Cell Mol Neurobiol*. 2018; 38(7): 1349-1368. doi 10.1007/s10571-018-0609-2
7. Inglesby TV, O'Toole T, Henderson DA, Bartlett JG, Ascher MS, Eitzen E, et al. Anthrax as a biological weapon, 2002: updated recommendations for management. *JAMA*. 2002; 287(17): 2236-2252. doi 10.1001/jama.287.17.2236
8. Popova AYU, Kulichenko AN. *The experience of eliminating the outbreak of anthrax in Yamal in 2016*. Izhevsk: ООО Print-2; 2017. (In Russ.)
9. Supotnitsky MV. Heroin anthrax in Scotland and Germany. *Biopreparaty*. 2011; (1): 40-44. (In Russ.)
10. Blinov DV. Current concepts of the role of altered blood-brain barrier resistance in the pathogenesis of CNS disorders. Part I: structure and formation of the blood-brain barrier. *Epilepsiya i paroksizmal'nye sostoyaniya*. 2013; 5(3): 65-75. (In Russ.)
11. Korzhevsky DE. *Fundamentals of histological technology*. Sankt-Peterburg: SpetsLit; 2010. (In Russ.)

Сведения об авторах

**Брюхова Дарья Дмитриевна** – младший научный сотрудник, лаборатория патофизиологии, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, e-mail: darabrukhov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5589-9522>

**Дубровина Валентина Ивановна** – доктор биологических наук, заведующая лабораторией патофизиологии, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8561-6207>

**Кравец Елена Владимировна** – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории сибирской язвы отдела эпидемиологии, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7194-6413>

**Мухтургин Геннадий Борисович** – врач-бактериолог, лаборатория экспериментальных животных, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0340-8584>

**Иванова Татьяна Александровна** – заведующая лабораторией экспериментальных животных, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6017-9610>

**Громова Анастасия Владимировна** – кандидат ветеринарных наук, научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4664-3178>

**Балахонов Сергей Владимирович** – доктор медицинских наук, профессор, директор, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4201-5828>.

Information about the authors

**Daria D. Briukhova** – Junior Research Officer at the Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: darabrukhov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5589-9522>

**Valentina I. Dubrovina** – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8561-6207>

**Elena V. Kravets** – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Department of Epidemiology, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7194-6413>

**Gennadiy B. Mukhturgin** – Bacteriologist at the Laboratory of Experimental Animals, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0340-8584>

**Ivanova T. Aleksandrovna** – Head of the Laboratory of Experimental Animals, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6017-9610>

**Anastasia V. Gromova** – Cand. Sc. (Vet.), Research Officer at the Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4664-3178>

**Sergey V. Balakhonov** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director of Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4201-5828>.

**Вклад авторов**

Брюхова Д.Д. – планирование эксперимента, постановка реакций, учёт и анализ результатов, написание статьи.

Дубровина В.И. – планирование эксперимента, постановка реакций, учёт и анализ результатов, написание статьи.

Кравец Е.В. – моделирование инфекционного процесса, анализ результатов, написание статьи.

Мухтургин Г.Б. – моделирование инфекционного процесса, учёт результатов, оформление статьи.

Иванова Т.А. – моделирование инфекционного процесса, анализ результатов, написание статьи.

Громова А.В. – планирование эксперимента, постановка реакций, учёт и анализ результатов, написание статьи.

Балахонов С.В. – планирование научно-исследовательской работы, анализ полученных результатов.

Статья получена: 04.11.2019. Статья принята: 10.12.2019. Статья опубликована: 26.02.2020.

Received: 04.11.2019. Accepted: 14.01.2020. Published: 26.02.2020.