
МОРФОЛОГИЯ

А. В. Смирнов*, **М. В. Шмидт**, **Л. С. Быхалов**, **А. М. Бутенко****,
В. Ф. Ларичев, **А. Я. Почепцов**, **Н. В. Хуторецкая**

Кафедра патологической анатомии, лаборатория морфологии и иммуногистохимии ВолГМУ*,
Волгоградский медицинский научный центр Администрации Волгоградской области,
Научно-исследовательский институт вирусологии РАМН им. Д. И. Ивановского**, Москва

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ ПОВРЕЖДЕНИЯ ЛЕГКИХ МЫШЕЙ НА 14-е СУТКИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ВОСПРОИЗВЕДЕНИЯ ЛИХОРАДКИ ЗАПАДНОГО НИЛА

УДК 616.91-092.9:616.24

У животных с клиникой лихорадки Западного Нила, выведенных из эксперимента на 14-е сутки, обнаруживается различная выраженность структурных изменений в респираторных отделах легких. Полученные нами данные, по-видимому, свидетельствуют о тропности используемого штамма (Астр 901) к эндотелию капилляров межальвеолярных перегородок, а также особенностях патогенного действия, заключающегося в персистенции вируса в эпителиоцитах альвеол, альвеолярных макрофагах, чем объясняется сохранение по сравнению с предыдущим сроком исследования (период разгара) морфологических признаков повреждения различных отделов аэрогематического барьера, несмотря на уменьшение неврологической симптоматики.

Ключевые слова: лихорадка Западного Нила, ультраструктура, легкие.

A. V. Smirnov, **M. V. Schmidt**, **L. S. Bykhalov**, **A. M. Butenko**,
V. F. Larichev, **A. J. Pocheptsov**, **N. V. Khutoretskaia**

MORPHOLOGICAL APPEARANCE OF LUNG ALTERATIONS IN 14-DAY EXPERIMENTAL MODEL OF WEST NILE FEVER ON MICE

Structural injuries of respiratory parts of the lungs were revealed in a 14-day experimental model West Nile fever on mice. These morphological changes are preserved despite the reduction of neurologic signs. The data obtained by us, apparently, indicate tropism of the used strain (Astr 901) to the endothelium of capillaries of interalveolar septa, and persistence of the virus in epithelial cells of alveoli and alveolar macrophages.

Key words: West Nile fever, ultrastructure, lungs.

Среди всех регионов России одними из наиболее опасных в отношении лихорадки Западного Нила (ЛЗН) и других арбовирусных инфекций являются территории юга России [3]. В Волгоградской области практически ежегодно регистрируются случаи заболевания ЛЗН, нередко с летальным исходом. По данным Петрова В. А. [4], примерно каждый четвертый случай ЛЗН протекает без поражения центральной нервной системы (ЦНС) под маской острого лихорадочного состояния с общим интоксикационным синдромом и/или респираторной вирусной инфекции. Иммуногистохимические исследования свидетельствуют о том, что антиге-

ны вируса Западного Нила (ВЗН) часто выявляются в ЦНС, легких и других внутренних органах [5].

Накопленные клинические материалы свидетельствуют о возможных различиях в морфогенезе воспалительного процесса в различных органах и об актуальности изучения повреждения органов дыхательной системы при инфицировании вирусом Западного Нила (ВЗН) [7].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Выявить морфологические особенности легких мышечей при инфицировании ВЗН.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Моделирование лихорадки Западного Нила производилось в лаборатории арбовирусных инфекций Научно-исследовательского института вирусологии РАМН им. Д. И. Ивановского. В работе использовали белых мышей-самцов массой (10 ± 2) г в возрасте 30 суток, которые были заражены ВЗН, астраханский штамм (Астр 901), подкожно в разведении 10^{-2} 0,3 мл (10 животных). Заболевших животных с клинической симптоматикой ЛЗН забивали на 14-е сутки (10 животных) под эфирным наркозом в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Контролем служили ложно-инфицированные мыши-самцы (10 животных), которым подкожно вводили 0,3 мл 0,9%-го раствора хлорида натрия.

Ткань легкого фиксировали в 10%-м нейтральном формалине, с дальнейшим обезвоживанием в батарее спиртов и изготовлением парафиновых блоков. Срезы толщиной 5—7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Фиксацию кусочков легкого для электронно-микроскопического исследования размером до 1 мм³ проводили в течение 12 часов в 4%-м растворе параформа на 0,1М какодильном буфере с последующей постфиксацией в течение 2 часов в 1%-м растворе тетраоксида осмия на 0,1М какодильном буфере (pH = 7,4) при температуре +4 °С. После промывки и дегидратации материал заливали в смесь эпона и аралдита. Ультратонкие срезы толщиной 50—90 нм получали на ультрамикротоме «LKB-8800» и монтировали на медные сетки. После контрастирования в 0,3%-м растворе цитрата свинца в течение 20 минут срезы изучались в электронном микроскопе «Tesla BS-500» при ускоряющем напряжении 60 кВ. Фотодокументирование производили с использованием фотопластинок «Для ядерных исследований». Электронные микрофотограммы изготавливали на фотографической черно-белой бумаге «Унибром 160 БП».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные нами ранние исследования [1] свидетельствуют о том, что выраженность патоморфологических изменений в легких достигает наибольшей степени на 14-е сутки эксперимента, то есть в тот период, когда отмечается постепенное снижение выраженности неврологической симптоматики.

В 70 % случаев в альвеолах обнаруживался серозно-геморрагический экссудат (рис. 1), распределенный диффузно и заполняющий 20—30 % воздушного пространства альвеол. Встречались участки ткани легкого с очаговым наличием серозного экссудата, целиком заполняющего часть альвеол. У 30 % животных определялось наличие в альвеолах небольшого количества диффузно распределенного геморрагического экссудата в просветах альвеол, альвеолярных ходов, респираторных бронхиол. В значительной части случаев наряду с запол-

нением альвеол экссудатом отмечается наличие участков очаговой центрациарной эмфиземы. Межальвеолярные перегородки значительно утолщены, в них отмечается появление единичных нейтрофильных сегментоядерных лейкоцитов. Отмечено увеличение содержания в просветах и стенках альвеол количества альвеолярных макрофагов, среди которых встречались крупные двух- и многоядерные клетки. Несмотря на сохраняющееся утолщение межальвеолярных перегородок, отмечались дистрофические изменения в респираторных эпителиоцитах.

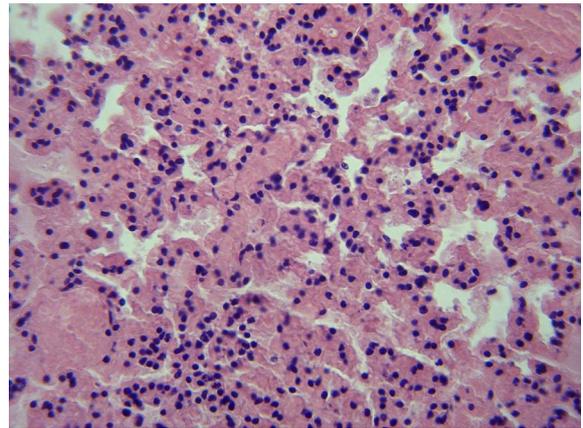


Рис. 1. Строение легкого мыши, инфицированной ВЗН с клинической симптоматикой ЛЗН (14-е сутки заболевания). Серозно-геморрагический экссудат в значительной части альвеол, полнокровие сосудов МЦР. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 400$

Обнаруживается умеренно выраженное полнокровие сосудов микроциркуляторного русла, капилляров межальвеолярных перегородок во всех наблюдениях. Выявляется краевое стояние и адгезия нейтрофильных сегментоядерных лейкоцитов в сосудах микроциркуляторного русла. В отдельных случаях отмечено нарушение целостности стенок капилляров, повреждение эндотелиальной выстилки с агрегацией тромбоцитов и образованием микротромбов.

При электронно-микроскопическом исследовании легких у животных с клинической картиной лихорадки Западного Нила на 14-е сутки эксперимента обнаруживается различная выраженность ультраструктурных изменений в респираторных отделах легких.

В пораженных отделах легких отмечается преобладание деструктивных изменений в межальвеолярных перегородках (рис. 2). Эндотелий капилляров резко отекший, цитоплазма клеток содержит многочисленные везикулы с содержимым низкой электронной плотности различных размеров. Часть эндотелиоцитов отличается повышенной электронной плотностью. В ядрах эндотелиальных клеток отмечаются признаки отека и конденсации хроматина. В структуре ядра преобладает гетерохроматин. В участках капилляров с адгезией тромбоцитов обнаруживаются признаки дегрануляции. Кроме того, встречаются адгезированные к эндотелиальным клеткам малые лимфоциты, в цитоплазме которых определяется значительное количество везикул.

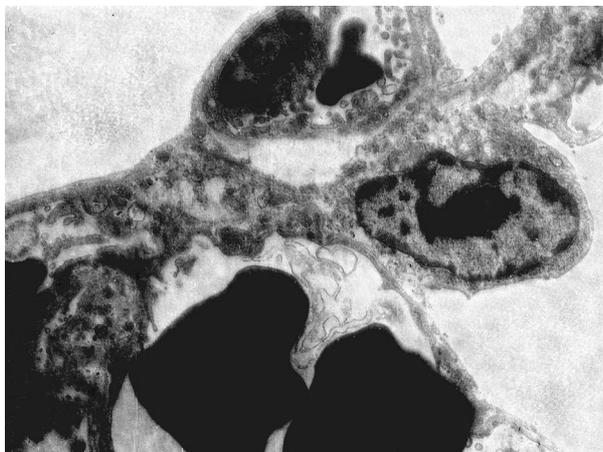


Рис. 2. Ультраструктурные изменения в легком мыши, инфицированной ВЗН с клинической симптоматикой ЛЗН (14-е сутки заболевания). Полнокровные капилляры межальвеолярных перегородок. Электронная микрофотограмма. Ув. x 48 000

Базальная мембрана капилляров представлена чередующимися участками разрыхления и фрагментации с относительно сохранными участками. Обнаруживаются очаговые скопления серозного экссудата в интерстиции межальвеолярных перегородок, что способствует отслоению респираторных эпителиоцитов от базальной мембраны.

Цитоплазма респираторных эпителиоцитов утолщена за счет участков внутриклеточного отека и большого количества везикул. Определяется значительное повреждение органелл и участков плазматической мембраны. Отмечается резко выраженное расширение канальцев и цистерн эндоплазматической сети.

Ядра респираторных эпителиоцитов располагаются в наиболее утолщенной зоне цитоплазмы, выступающей в просвет альвеол, имеют форму, близкую к округлой, содержат значительное количество гетерохроматина. Обнаруживается очаговая фрагментация наружной ядерной мембраны и расширение перинуклеарного пространства.

Большие эпителиоциты также характеризуются появлением участков внутриклеточного отека, повреждением органелл и участков плазматической мембраны, неравномерным распределением пластинчатых телец в цитоплазме, часть из которых содержит материал низкой электронной плотности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, у животных с клиникой лихорадки Западного Нила, выведенных из эксперимен-

та на 14-е сутки, обнаруживается различная выраженность структурных изменений в респираторных отделах легких. В альвеолах в большинстве случаев сохраняется серозно-геморрагический экссудат, дистрофические изменения в респираторных эпителиоцитах, умеренно выраженное полнокровие сосудов микроциркуляторного русла, утолщение межальвеолярных перегородок.

В литературе имеются клинические и экспериментальные данные, свидетельствующие о поражении бронхо-легочной системы при лихорадке Западного Нила [2]. При этом морфологические изменения, как правило, достигают максимальной степени в период разгара неврологической симптоматики (6—7-е сутки эксперимента). Однако в литературных источниках мы не обнаружили прямых данных о характере и выраженности патоморфологических изменений в легочной ткани у людей или животных, находящихся в реконвалесцентном периоде ЛЗН.

Полученные нами данные, по-видимому, свидетельствуют о тропности используемого штамма (Астр 901) к эндотелию капилляров межальвеолярных перегородок, а также особенностях патогенного действия, заключающегося в персистенции вируса в эпителиоцитах альвеол, альвеолярных макрофагах, чем объясняется сохранение по сравнению с предыдущим сроком исследования (период разгара) морфологических признаков повреждения различных отделов аэрогематического барьера, несмотря на уменьшение неврологической симптоматики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Быхалов Л. С., Смирнов А. В., Бутенко А. М. и др. // Вестник новых медицинских технологий. — 2009. — Т. XVI, № 3. — С. 208—209.
2. Львов Д. К., Писарев В. Б., Петров В. А., Григорьева Н. В. Лихорадка Западного Нила: по материалам вспышек в Волгоградской области в 1999—2002 гг. — Волгоград, 2004.
3. Львов Д. К., Савченко С. Т., Алексеев В. В., Липницкий А. В., Пашанина Т. П. // Проблемы особо опасных инфекций. — 2008. — Вып. 95. — С. 10—12.
4. Петров В. А. Лихорадка западного Нила (клиника, эпидемиология, диагностика, патоморфология и лечение): Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 2004. — 47 с.
5. Armah H. B., Wang G., Omalu B. I., et al. // Brain Pathol. — 2007. — Vol. 17 (4). — P. 354—362.
6. Diamond M. S., Mehlhop E., Oliphant T., Samuel M. A. // Front Biosci. — 2009. — № 1; 14. — P. 3024—3034.
7. Farley K. S., Wang L., Mehta S. // Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. — 2009. — № 296(3). — P. 480—488.
8. Murray K. O., Baraniuk S., Resnick M., et al. // Vector Borne Zoonotic Dis. — 2008. — № 8(2). — P. 167—174.
9. Shrestha B., Zhang B., Purtha W.E., et al. // J Virol. — 2008. — № 82 (18). — P. 8956—8964.