

**А. В. Смирнов, А. М. Бутенко, Г. Л. Снигур, Л. С. Быхалов,  
Н. В. Хуторецкая, В. Ф. Ларичев**

Волгоградский государственный медицинский университет,  
Волгоградский медицинский научный центр

## **ЭКСПРЕССИЯ АНТИГЕНА ВЗН В ЛЕГКИХ МЫШЕЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ ЛИХОРАДКИ ЗАПАДНОГО НИЛА**

УДК 616.91-092.9:616.24

При проведении иммуногистохимического исследования с использованием моноклональных антител к вирусу Западного Нила отмечена ядерная и цитоплазматическая экспрессия антигенов, которая была наиболее выражена в альвеолярных макрофагах и эндотелии кровеносных капилляров межальвеолярных перегородок легких в группе животных с клиническими проявлениями лихорадки Западного Нила на 7 сутки от момента инфицирования.

*Ключевые слова:* лихорадка, иммуногистохимия, антиген, экспрессия, альвеолярные макрофаги.

**A. V. Smirnov, A. M. Butenko, G. L. Snigur, L. S. Bykhalov,  
N. V. Khutoretskaya, V. F. Larichev**

## **WNV ANTIGEN EXPRESSION IN THE LUNGS OF MICE IN EXPERIMENTAL MODELING OF WEST NILE FEVER**

An immunohistochemical study using monoclonal antibodies to West Nile virus showed nuclear and cytoplasmic expression of antigens, which was most pronounced in alveolar macrophages and the endothelium of blood capillaries in the pulmonary interalveolar septa group of animals with clinical signs of West Nile fever on the 7th day from the moment of infection.

*Key words:* monoclonal antibodies, alveolar macrophages, antigen, fever.

Появление многочисленных случаев ЛЗН, начиная с 1999 года, в Западном полушарии резко актуализировали обозначенную проблему [Бутенко А. М., 2007; Petersen L. R., Hayes E. B., 2008; Bataille A., et al., 2009; Levi M.E., et al., 2010]. Антигены вируса Западного Нила (ВЗН) с регулярным постоянством обнаруживаются в пробах комаров и клещей на территории Волгоградской области [Фёдорова М. В., 2007; Львов Д. К. с соавт., 2008].

В работах отечественных ученых показано наличие вируса в тканях легких умерших от ЛЗН пациентов [Писарев В. Б. с соавт., 2004; Григорьева Н. В., 2005], однако особенности экспрессии антигена в легких в зависимости от стадии заболевания остаются мало изученными.

### **ЦЕЛЬ РАБОТЫ**

Выявить особенности экспрессии антигена вируса Западного Нила в легких в различные периоды инфекционного процесса при экспериментальном моделировании лихорадки Западного Нила.

### **МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ**

Имуногистохимическое исследование с целью определения экспрессии антигенов вируса Западного Нила проводили с использованием моноклональ-

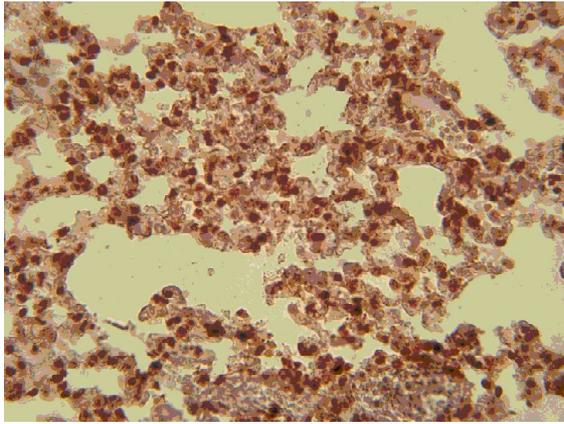
ных антител предоставленных лабораторией биологии и индикации арбовирусов НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского РАМН. Визуализацию проводили с помощью непрямого иммунопероксидазного метода с высокотемпературной демаскировкой антигенов на базе лаборатории морфологии и иммуногистохимии Волгоградского медицинского научного центра [Григорьева Н. В., 2005; Белик Т. А., 2006].

### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

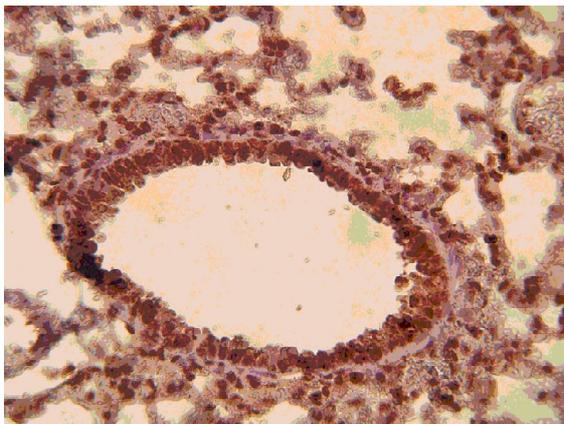
На пятые-шестые сутки эксперимента у большинства животных наблюдалось появление парезов и параличей, то есть обнаруживались клинические проявления западнонильского энцефалита, которые связаны с обратимыми и необратимыми повреждениями нейронов различных отделов ЦНС (Глухов В. А., 2009), поэтому седьмые сутки эксперимента у заболевших животных рассматривались нами как период разгара заболевания.

При иммуногистохимическом исследовании легких заболевших животных определялась выраженная экспрессия антигенов вируса ЗН по наличию иммунореактивного материала в ядрах и цитоплазме эндотелиоцитов кровеносных капилляров межальвеолярных перегородок, альвеолярных макрофагов, ядерная экспрессия

в больших и респираторных эпителиоцитах (рис. 1). При исследовании бронхиального дерева отмечено наличие иммунореактивного материала в ядрах и цитоплазме реснитчатых эпителиоцитов многорядного реснитчатого эпителия мелких бронхов и бронхиол, а также ядерная экспрессия в эндотелии капилляров, отдельных соединительнотканых и гладкомышечных клетках мышечной и адвентициальной оболочек бронхиол (рис. 2).



**Рис. 1.** Наличие иммунореактивного материала в ядрах клеток респираторных отделов легкого мыши, инфицированной ВЗН с клинической симптоматикой ЛЗН (7-е сутки заболевания). Иммунопероксидазный метод с использованием двойных антител с докраской гематоксилином. Ув.  $\times 400$

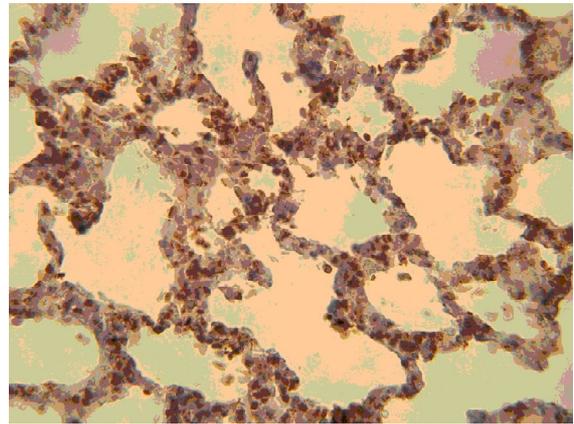


**Рис. 2.** Наличие иммунореактивного материала в ядрах и цитоплазме клеток многорядного реснитчатого эпителия бронхиолы мыши, инфицированной ВЗН с клинической симптоматикой ЛЗН (7-е сутки заболевания). Иммунопероксидазный метод с использованием двойных антител с докраской гематоксилином. Ув.  $\times 400$

При исследовании мышей с клиническими проявлениями ЛЗН, выведенных из эксперимента на 14-е сутки (период реконвалесценции) у животных отмечается значительное уменьшение неврологической симптоматики по сравнению с предыдущим сроком эксперимента.

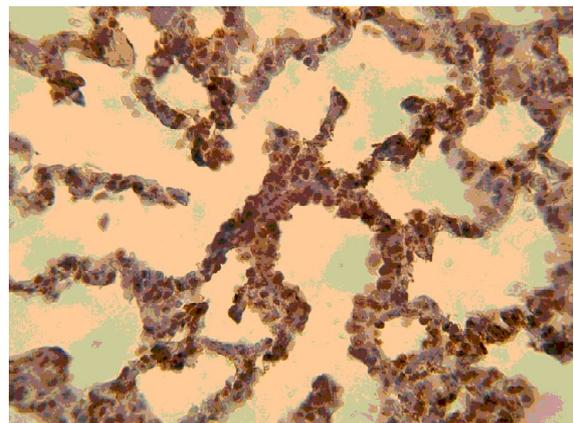
При иммуногистохимическом исследовании срезов легких животных, инфицированных ВЗН с клинической симптоматикой ЛЗН (14-е сутки заболевания)

определялась менее выраженная экспрессия антигенов вируса ЗН в ядрах клеток респираторного эпителия, выстилающего альвеолы. Иммунореактивный материал накапливался в части ядер респираторных эпителиоцитов, больших эпителиоцитов, альвеолярных макрофагов, а также в ядрах эндотелиоцитов кровеносных капилляров межальвеолярных перегородок (рис. 3). В цитоплазме вышеуказанных клеток экспрессия антигенов вируса ЗН низкая. При исследовании бронхиального дерева отмечено меньшее количество иммунореактивного материала в ядрах и цитоплазме клеток многорядного реснитчатого эпителия мелких бронхов и бронхиол по сравнению с предыдущим сроком исследования (рис. 4).



**Рис. 3.** Наличие иммунореактивного материала в ядрах и цитоплазме респираторных эпителиоцитов мыши, инфицированной ВЗН с клинической симптоматикой ЛЗН (14-е сутки заболевания).

Иммунопероксидазный метод с использованием двойных антител с докраской гематоксилином. Ув.  $\times 400$

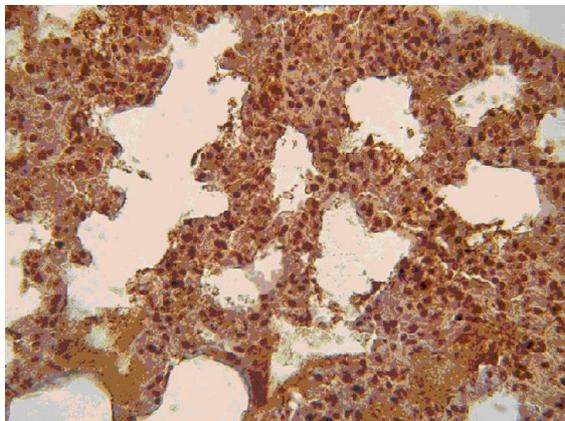


**Рис. 4.** Наличие иммунореактивного материала в ядрах и цитоплазме клеток многорядного реснитчатого эпителия бронхиолы мыши, инфицированной ВЗН с клинической симптоматикой ЛЗН (14-е сутки заболевания). Иммунопероксидазный метод с использованием двойных антител с докраской гематоксилином. Ув.  $\times 400$ .

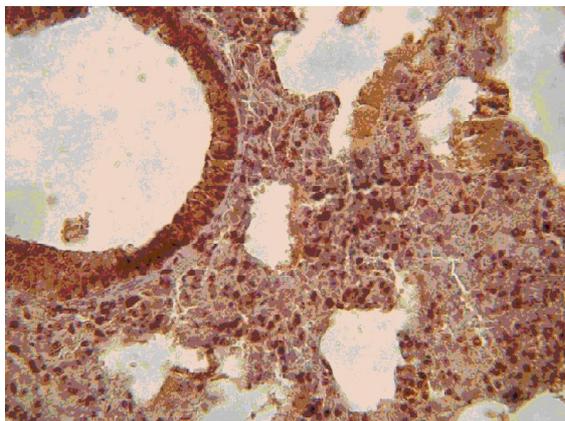
При исследовании животных (инфицированные животные с клинической симптоматикой ЛЗН, умер-

шие в ходе эксперимента) умерших на 6—9-е сутки эксперимента при нарастании неврологической симптоматики, с развитием глубокой мозговой комы.

При иммуногистохимическом исследовании легких заболевших животных определялась менее выраженная экспрессия антигенов вируса ЗН в ядрах клеток респираторного эпителия, выстилающего альвеолы. Иммунореактивный материал накапливался в части ядер респираторных эпителиоцитов, больших эпителиоцитов, альвеолярных макрофагов, а также в ядрах эндотелиоцитов кровеносных капилляров межальвеолярных перегородок (рис. 5). В цитоплазме вышеуказанных клеток экспрессия антигенов вируса ЗН низкая. При исследовании бронхиального дерева отмечено меньшее количество иммунореактивного материала в ядрах и цитоплазме клеток многорядного реснитчатого эпителия мелких бронхов и бронхиол по сравнению с предыдущим сроком исследования (рис. 6).



**Рис. 5.** Наличие иммунореактивного материала в ядрах и цитоплазме респираторных эпителиоцитов мыши, с клиникой ЛЗН, умершей на 7-е сутки. Иммунопероксидазный метод с использованием двойных антител с докраской гематоксилином. Ув. × 400



**Рис. 6.** Наличие иммунореактивного материала в ядрах и цитоплазме клеток многорядного реснитчатого эпителия бронхиолы мыши, с клиникой ЛЗН, умершей на 7-е сутки. Иммунопероксидазный метод с использованием двойных антител с докраской гематоксилином. Ув. × 400.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При проведении иммуногистохимического исследования с использованием моноклональных антител к вирусу Западного Нила отмечена ядерная и цитоплазматическая экспрессия антигенов, которая была наиболее выражена в альвеолярных макрофагах и эндотелии кровеносных капилляров межальвеолярных перегородок легких в группе животных с клиническими проявлениями заболевания на 7-е сутки от момента инфицирования.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Григорьева Н. В. Патоморфология органов и систем при лихорадке Западного Нила (клинико-экспериментальное исследование): Дис. ... д-ра мед. наук. — Волгоград, 2005. — 42 с.
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. Писарев В. Б., Григорьева Н. В., Петров В. А., Бутенко А. М. // Архив патологии. — 2004. — № 5. — С. 15—18.
4. Iwamoto M., Jernigan D.B., Guasch A., et al. // N. Engl. J. Med. — 2003. — № 348. — P. 2196—2203.
5. Kiberd B. A., Forward K. // Am. J. Transplant. — 2004. — № 4. — P. 1296—1301.
6. Kumar D., Drobot M. A., Wong S. J., et al. // Am. J. Transplant. — 2004. — № 4. — P. 1883—1888.
7. Pealer L. N., Marfin A. A., Petersen L. R., et al. // N. Engl. J. Med. — 2003. — № 349. — P. 1236—1245.
8. Teperman L. W., Diflo T., Fahmy A., et al. // MMWR. — 2005. — № 5. — P. 1—3.
9. Farley K. S., Wang L., Mehta S. // Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol. — 2009. — № 296 (3). — P. 480—488.
10. Armah H. B., Wang G., Omalu B. I., Tesh R. B., Gyure K. A., Chute D. J., Smith R. D., Dulai P., Vinters H. V., Kleinschmidt-DeMasters B. K., Wiley C. A. Systemic distribution of West Nile virus infection: postmortem immunohistochemical study of six cases // Brain Pathol. — 2007. — Vol. 17 (4). — P. 354—362.
11. Diamond M. S., Mehltop E., Oliphant T., Samuel M. A. The host immunologic response to West Nile encephalitis virus // Front Biosci. — 2009. — № 1; 14. — P. 3024—3034.
12. Widman D. G., Frolov I., Mason P. W. Third-generation flavivirus vaccines based on single-cycle, encapsidation-defective viruses // Adv Virus Res. 2008. — № 72. — P.77—126.
13. Saquib R., Randall H., Chandrakantan A., Spak C. W., Barri Y. M. West Nile virus encephalitis in a renal transplant recipient: the role of intravenous immunoglobulin // Am J/ Kidney Dis. — 2008. — № 52 (5). — P. 19—21.
14. Shrestha B., Zhang B., Purtha W. E., Klein R. S., Diamond M. S. Tumor necrosis factor alpha protects against lethal West Nile virus infection by promoting trafficking of mononuclear leukocytes into the central nervous system // J/ Virol. — 2008. — № 82 (18). — P. 8956—8964.
15. Jamison S. C., Michaels S. R., Ratard R., Sweet J. M., Deboisblanc B. P. A 41-year-old HIV-positive man with acute onset of quadriplegia after West Nile virus infection // South Med J. — 2007. — № 100 (10). — P. 1051—1053.
16. Hamdan A., Green P., Mendelson E., Kramer M.R., Pitlik S., Weinberger M. Possible benefit of intravenous immunoglobulin therapy in a lung transplant recipient with West Nile virus encephalitis // Transpl Infect Dis. — 2002. — № 4 (3). — P. 160—162.
17. Traineau R., Elghouzzi M. H., Bierling P. Update on infectious risks associated with blood products // Rev Prat. — 2009. — № 59 (1). — P. 86—89.
18. Murray K. O., Baraniuk S., Resnick M., Arafat R., Kilbom C., Shallenberger R., York T. L., Martinez D., Malkoff M., Elgawley N., McNeely W., Khuwaja S. A. Clinical investigation of hospitalized human cases of West Nile virus infection in Houston, Texas, 2002—2004. // Vector Borne Zoonotic Dis. — 2008. — № 8 (2). — P. 167—174.

19. Снигур Г. Л., Смирнов А. В. К вопросу стандартизации патогистологической диагностики сахарного диабета // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. — 2010. — № 3 (35). — С. 112—115.

20. Буланов Д. В., Смирнов А. В., Загребин В. Л. Иммуногистохимические и молекулярно-биологические характеристики опухолей семейства саркомы Юинга // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. — 2011. — № 1 (37) — С. 76—80.

## А. В. Смирнов, Д. Ю. Гуров

Волгоградский государственный медицинский университет,  
кафедра патологической анатомии, Волгоградский медицинский научный центр

### НОВЫЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ ПРЕПОДАВАНИЯ ДИСЦИПЛИН МОРФОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ В ВУЗЕ

УДК 614.253:378.661

Преемственность между морфологическими дисциплинами в вузе имеет потенциал для применения новых образовательных технологий, обеспечения успешной адаптации студентов. Предложенные аспекты построения преемственных связей не исчерпывают всей проблематики непрерывного преподавания дисциплин морфологического профиля в вузе, предполагается обсуждение новых подходов и разработка методических материалов.

*Ключевые слова:* технологии, преемственность, морфологический профиль, дисциплины.

## A. V. Smirnov, D. Yu. Gurov

### NEW EDUCATIONAL APPROACHES TO TEACHING MORPHOLOGICAL DISCIPLINES AT A UNIVERSITY

The continuity between morphological disciplines at the university has a potential of using new educational technologies to ensure a successful adaptation of the students. The proposed successive aspects of building links between subjects do not exhaust the problems of continuous teaching of morphological subjects; it is expected that new approaches will be discussed.

*Key words:* morphological disciplines, education, development.

Глобальный экономический кризис высветил ряд проблем в высшем образовании, однако ряд ученых давно утверждают о существовании глобального кризиса образования и высшего профессионального образования, в частности, что заставляет вести поиск новых подходов и технологий в образовании [1]. Морфологические дисциплины преподаются в вузах на 1—3 курсах студентам медицинских и биологических направлений. Многолетний опыт преподавания патологической анатомии, морфологии, гистологии, цитологии, эмбриологии позволяет провести аналогии в образовательном процессе при преподавании дисциплин морфологического профиля в вузе [2]. Современная система непрерывного высшего профессионального образования построена как многоуровневая [3], где переход обучающихся на новую образовательную ступень, которая, с одной стороны, непосредственно связана с сохранением и осознанием полученных на предыдущем этапе знаний, а, с другой стороны, с адаптацией к условиям новой образовательной ситуации. При наличии огромного по объему потока неструктурированной учебной и научной информации особую значимость приобре-

тает не только усвоение нового материала по учебной дисциплине, но и повторение наиболее важных с точки зрения текущего обучения элементов пройденных на предыдущих этапах (дисциплинах) вопросов, тестирование студентов в интерактивной форме на выживаемость знаний.

Наличие в вузе и у участников образовательного процесса персональных компьютеров и сети интернет позволяет обеспечить достаточную наглядность учебного материала и иллюстрировать как лекции, так и практические занятия фотографиями, рисунками, схемами макро- и микроскопического строения органов и тканей в норме, а также при различных формах патологических процессов [4, 5] Самусев Р. П., Смирнов А. В., 2006). Подобная практика широко применяется за рубежом, а также в ряде ведущих российских вузов.

Введение новых образовательных стандартов, казалось бы, призвано создать «индивидуальную траекторию обучения», интегрирующую вариативные и базовые модули, построенную на основе методического единства образовательной среды, смежных ступеней системы образования [6]. Однако реали-