

# МОРФОЛОГИЯ. ПАТОЛОГИЯ

УДК 616.831-002

## УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОНОВ И ЭЛЕМЕНТОВ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА ПРОДОЛГОВАТОГО МОЗГА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ВИРУСНОГО ЭНЦЕФАЛИТА

В.Б. Писарев, А.В. Смирнов, А.Я. Почепцов, М.В. Шмидт, В.А. Глухов

*Кафедра патологической анатомии ВолГМУ;  
отдел общей и экспериментальной патологии ВНИЦ РАМН  
и Администрации Волгоградской области*

За прошедшие годы накоплен значительный материал по изучению лихорадки Западного Нила (ЛЗН). Несмотря на то, что до недавнего времени данная инфекция считалась экзотической, в настоящее время ареал распространения захватил страны Европы и Северной Америки, находящиеся в умеренной климатической зоне. В социально-экономическом отношении арбовирусные инфекции являются достаточно значимыми в структуре заболеваемости и смертности от менингоэнцефалитов для Южного административного округа Российской Федерации. Значимость данной нозологической формы определяется возможностью ее широкого распространения среди населения, вовлечением трудоспособной части населения [1, 2].

При воздействии вируса на живой организм происходит повреждение центральной нервной системы, но согласно данным некоторых авторов, наиболее выраженные повреждения наблюдаются в продолговатом мозге [3, 5], где обнаруживаются признаки обратимых и необратимых изменений на светооптическом уровне. Однако характер ультраструктурных изменений нейронов и структур гематоэнцефалического барьера при ЛЗН остается малоизученным.

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Выявить ультраструктурные изменения нейронов и структур гематоэнцефалического барьера продолговатого мозга при экспериментальном воспроизведении лихорадки Западного Нила.

### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Моделирование ЛЗН воспроизводилось в лаборатории арбовирусных инфекций в НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского. В работе использовали астраханский штамм (Аст 901), тождественный вирусу ЛЗН африканской группы. Причем данный штамм

является идентичным штаммам, выделенным в США (Нью-Йорк) в 1999 г. и в Израиле в 1998 г. [4, 6, 7, 8, 9].

Белые мыши были заражены вирусом ЛЗН (штамм Астр 901) внутрибрюшинно. Животных под эфирным наркозом забивали: через 2–3-и сутки в инкубационный период (1-я группа); на 5–6-е сутки – погибших при развитии клинических симптомов (2-я группа); на 11–16-е сутки – без клинических симптомов (3-я группа). Эвтаназию проводили в соответствии с "Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных".

Фиксацию кусочков продолговатого мозга размером 1 мм<sup>3</sup> производили в течение 12 часов в 4%-м растворе параформы на 0,1М какодилатном буфере с последующей постфиксацией в течение 2 часов в 1%-м растворе тетраоксида осмия на 0,1М какодилатном буфере (рН=7,4) при температуре +4 °С [10]. После промывки в нескольких порциях раствора какодилатного буфера материал подвергали дегидратации в спиртах возрастающей концентрации и 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 2,5%-м растворе уранилацетата на 50° этаноле в течение 40 мин и 0,3%-м растворе цитрата свинца в течение 20 мин срезы изучались в электронном микроскопе Tesla BS-540 при ускоряющем напряжении 60 кВ. Фотодокументирование производили с использованием фотопластики фт-41 "Для ядерных исследований". Электронные микрофотограммы изготавливали на фотографической черно-белой бумаге "Унибром 160 БП".

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В продолговатом мозге животных 1-й группы

(инкубационный период, 2–3 сутки) отмечались явления полнокровия в сосудах микроциркуляторного русла, незначительный перичеселлюлярный отек. В эндотелии кровеносных капилляров обнаруживалось увеличение количества пиноцитозных везикул. Снаружи от базальной мембраны среди прилежащих периваскулярных отростков астроцитов встречались миелиновые нервные волокна разного калибра (рис. 1). Толщина миелиновой оболочки варьировала.

У животных 2-й группы (заболевшие, 7–8 сутки) часть нейронов вентолатеральных областей ретикулярной формации находилась в состоянии острого набухания. Отмечалось увеличение размеров, деформация и эктопия ядер и ядрышек. В части нейронов отмечалось выраженное расширение цистерн гранулярной эндоплазматической сети, вакуолизация цитоплазмы перикарионов и отростков, вспенивание цитоплазмы. В ядрах клеток подобного типа отмечалась маргинация гетерохроматина, появление деформированных и гиперхромных ядер, явления карнопикноза и кариолизиса. Подобные изменения носили очаговый характер.

В периваскулярных отростках астроцитов обнаруживались резко выраженные изменения по типу внутриклеточного отека с образованием вакуолей с низкой электронной плотностью (рис. 2). В митохондриях периваскулярных отростков астроцитов отмечались явления набухания и лизиса крист. В миелиновых нервных волокнах обнаруживались участки разволокнения ламелл с очаговой деструкцией. Электронная плотность аксоплазмы была снижена, в отдельных осевых цилиндрах отмечалось образование крупных вакуолей с содержимым низкой и умеренной электронной плотности.

Отмечались значительные изменения базальной мембраны (БМ). Она имела неравномерную толщину по ходу сосудов с участками резкого истончения. Лишь на ограниченных участках имелись четкие контуры и равномерная фибриллярная структура. На остальных участках происходило разволокнение БМ с очаговыми надрывами.

При исследовании головного мозга мышей 3-й группы (зараженные, но без проявления клинической симптоматики, 16-е сутки), обнаруживались явления слабо выраженного периваскулярного и перичеселлюлярного отека. В цитоплазме нейронов обнаруживались ультраструктурные изменения в виде набухания митохондрий и очагового лизиса крист.

В периваскулярных отростках астроцитов обнаруживались явления умеренного отека, в некоторых митохондриях признаки набухания. В отдельных профилях миелиновых волокон – очаговая деструкция ламелл с очаговым усилением осмиофилии (рис. 3).

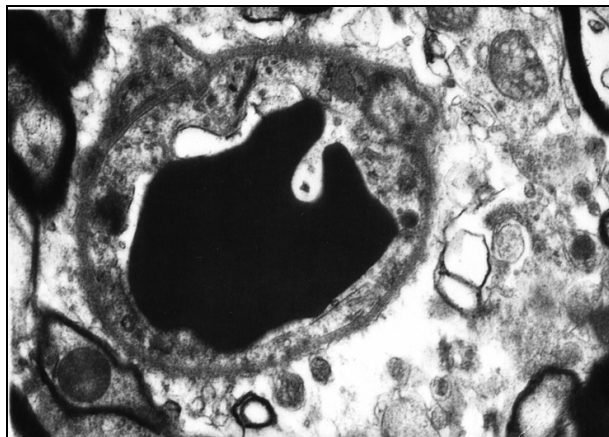


Рис. 1. Ультраструктура кровеносного капилляра продолговатого мозга мыши при моделировании энцефалита, вызванного внутрибрюшинным введением вируса ЛЗН. 1-я группа (инкубационный период, 2–3-е сут.). Электронная микрофотограмма. Ув.  $\times 10000$



Рис. 2. Ультраструктура кровеносного капилляра продолговатого мозга мыши при моделировании энцефалита, вызванного внутрибрюшинным введением вируса ЛЗН. 2-я группа (заболевшие, 7-8-е сут.). Электронная микрофотограмма. Ув.  $\times 10000$

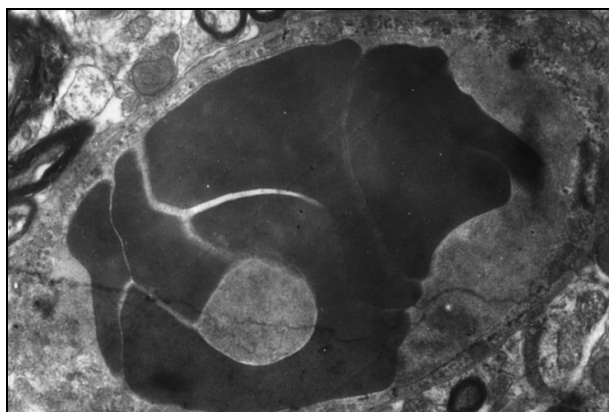


Рис. 3. Ультраструктура кровеносного капилляра продолговатого мозга мыши при моделировании энцефалита, вызванного внутрибрюшинным введением вируса ЛЗН. 3-я группа (зараженные, но без клинической симптоматики).

ки, 16-е сут.). Электронная микрофотограмма. Ув. ×15000

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты нашего исследования свидетельствуют о наличии выраженных ультраструктурных изменений в нейронах, астроцитах и других элементах гематоэнцефалического барьера продолговатого мозга при экспериментальном моделировании ЛЗН.

Обнаруженная динамика ультраструктурных изменений в нейронах, эндотелиоцитах, периваскулярных отростках астроцитов соответствует стадиям инфекционного процесса и клиническим проявлениям при внутрибрюшинном способе заражения.

Наиболее выраженные ультраструктурные изменения в нейронах и элементах гематоэнцефалического барьера, свидетельствующие о появлении выраженных дистрофических изменений и признаков необратимого повреждения клетки, отмечены в группе

заболевших животных.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Григорьева Н.В. Патоморфология органов и систем при лихорадке Западного Нила (клинико-экспериментальное исследование): автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – 42 с.
2. Львов Д.К., Писарев В.Б., Петров В.А. и др. Лихорадка Западного Нила: по материалам вспышек в Волгоградской области в 1999–2002 гг. - Волгоград, 2004. – 104 с.
3. Писарев В.Б., Григорьева Н.В., Петров В.А. и др. // Архив патологии. – 2004, № 5. – С. 15–18.
4. Arnold J.C., Revivo G.A., Senac M.O., et al. // *Pediatr. Infect. Dis. J.* - 2005. – № 24, Vol. 10. – P. 932–934.
5. Cantile C., Di Guardo G., Eleni C., et al. // *Equine Vet. J.* – 2000. – № 32. – P. 31–35.
6. Del Piero F., Wilkins P.A., Dubovi E.J., et al. // *Vet. Pathol.* – 2001. – № 38. – P. 451–456.
7. Samuel M.A., Diamond M.S. // *J. Virol.* – 2005. – Vol. 79, № 21. – P. 13350–13361.
8. Paisley J.E., Hinckley A.F., O'Leary D.R., et al. // *Pediatrics.* – 2006. – Vol. 117, № 3. – P. 814–820.
9. Ventur M., Myers T.G., Wilson M.A., et al. // *Virology.* – 2005. – Vol. 342, № 1. – P. 119–40.

© Коллектив авторов, 2006

УДК 616.61:611–018.74:591.147.8

## МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ЭНДОТЕЛИИ СОСУДОВ ПОЧЕК У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ВЫЗВАННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ СЕКСУАЛЬНЫХ ГОРМОНОВ

И.Н. Тюренков, А.В. Воронков, Г.Л. Снигур

*Лаборатория фармакологии сердечно-сосудистых средств НИИ фармакологии ВолГМУ, отдел общей и экспериментальной патологии ВНЦ РАМН и Администрации Волгоградской области*

Недостаточность половых гормонов вследствие оперативного вмешательства или вызванная физиологическим старением является причиной целого ряда психофункциональных нарушений и органических изменений сердечно-сосудистой системы [1].

Одним из наиболее ранних и универсальных морфологических изменений сосудистого русла на фоне недостаточности половых гормонов является дисфункция эндотелия [2, 4]. Дисфункция эндотелия имеет значение в нарушении регуляции тонуса сосудов, развитии тромбоза, неоангиогенеза, ремоделирования сосудов, внутрисосудистой активации тромбоцитов и лейкоцитов и т. д. [2].

Определение степени и выраженности эндотелиальных нарушений является важным критерием для их коррекции.

#### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Определение влияния недостаточности половых гормонов на структуру эндотелия сосудов почек у крыс обоего пола.

#### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Для оценки влияния недостаточности половых гормонов у животных на сосудистую стенку использовалась морфологическая оценка повреждения со-

судов внутренних органов (почек). Материал для исследования забирали через 1 месяц после удаления половых желез.

Все манипуляции с животными проводили с соблюдением международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997). Животных наркотизировали введением этиаминала-натрия в дозе 40 мг/кг внутривенно.

Материал фиксировали в течение 24 ч в 10% растворе нейтрального забуференного формалина (рН=7,4), обезжизивали и заливали в парафин по общепринятой гистологической методике. На роторном микротоме изготавливали срезы толщиной 3–5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике [3].

Гистологические препараты фотографировали цифровой камерой "Canon" (5.0 мегапикселей, Япония) на базе микроскопа "Axiostar plus" (Карл Цейс, Германия) с использованием объектива ×40 и окуляра ×10. Морфометрическую оценку осуществляли на базе компьютерной системы "ВидеоТестМорфо-4" (г. Санкт-Петербург, Россия). Для оценки влияния недостаточности половых гормонов у животных на сосудистую стенку, как показателя структурного изменения эндотелия использовалась морфологическая оценка повреждения сосудов внутренних органов