

**А. В. Смирнов, М. В. Шмидт, В. А. Глухов, А. М. Бутенко,  
В. Ф. Ларичев, Н. В. Хуторецкая**

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

## **СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ СТВОЛОВОЙ ЧАСТИ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЖИВОТНЫХ С КЛИНИЧЕСКИМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ ЭНЦЕФАЛИТА ПРИ ВНУТРИБРЮШИННОМ И ПОДКОЖНОМ ПУТИ ЗАРАЖЕНИЯ АСТРАХАНСКИМ ШТАММОМ ВИРУСА ЗАПАДНОГО НИЛА**

УДК 616.91:616.831.8-092.4

При экспериментальном воспроизведении ЛЗН, в ствольной части головного мозга наблюдаются выраженные патоморфологические изменения, независимо от пути заражения, при этом более тяжелые дегенеративные изменения отмечались на модели с внутрибрюшинным заражением экспериментальных животных. Сравнительная характеристика полученных результатов с патоморфологическими изменениями ствольной части головного мозга больных, умерших от лихорадки Западного Нила позволяет сделать косвенный вывод о более выраженном сходстве данных изменений с таковыми полученными на модели с внутрибрюшинным заражением астраханским штаммом вируса ЗН.

*Ключевые слова:* головной мозг, эксперимент, лихорадка Западного Нила, заражение.

**A. V. Smirnov, M. V. Schmidt, V. A. Glukhov, A. M. Butenko,  
V. F. Larichev, N. V. Khutoretskaya**

## **COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE BRAIN STEM OF ANIMALS WITH CLINICAL SIGNS OF ENCEPHALITIS IN THE INTRAPERITONEAL AND SUBCUTANEOUS ROUTE OF INFECTION WITH ASTRAKHAN STRAIN OF WEST NILE VIRUS**

Marked pathomorphological changes were revealed in the brain stem in experimental modeling of West Nile fever regardless of the route of infection. More severe degenerative changes were observed in the intraperitoneal route of infection. Comparative characteristics of the obtained results with pathomorphological changes in the brain stem of patients who died of West Nile fever bring us to an indirect conclusion that there is more pronounced similarity between these changes and those obtained on the model of intraperitoneal infection with the Astrakhan strain of West Nile virus.

*Key words:* pathomorphological changes, West Nile fever, brain stem.

Со времени изоляции вируса лихорадки Западного Нила (ВЗН) и первых клинико-эпидемиологических исследований (1950—1970 гг.), лихорадка Западного Нила (ЛЗН) остается одной из актуальных медицинских проблем, что обусловлено расширением ареала болезни, ростом заболеваемости среди населения в России, странах Европы, Азии, Африки, Северной Америки [1, 2, 3, 4]. В настоящее время накоплен достаточно обширный материал по различным экспериментальным моделям воспроизведения лихорадки Западного Нила [1, 6]. Однако литературные данные характеризующие «адекватность», той или иной модели часто отсутствуют или весьма противоречивы. Целью данного исследования явилась сравнительная характеристика морфологических изменений на уровне ствольной части головного мозга у мышей с клиникой энцефалита при внутрибрюшинном и подкожном пути заражения Астраханским штаммом ЛЗН. Выбор

стволовой части головного мозга был обусловлен результатами предварительных исследований, свидетельствующими о том, что данный отдел головного мозга является одним из наиболее «чувствительных» при развитии западнонильского энцефалита [1, 5].

### **МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ**

Экспериментальные исследования проводили в условиях лаборатории биологии и индикации арбовирусов НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского РАМН.

В одной опытной группе 20 мышей, беспородных самцов массой ( $10 \pm 2,0$ ) г. в возрасте 1 месяца заражали вирусом Западного Нила (штаммом Астр. 901, африканской группы, по 0,3 мл внутрибрюшинно). В другой группе экспериментальные животные (20 мышей того же веса, возраста и пола) были заражены вирусом Западного Нила (ЗН), астраханский штамм (Астр 901) подкожно 0,3 мл.

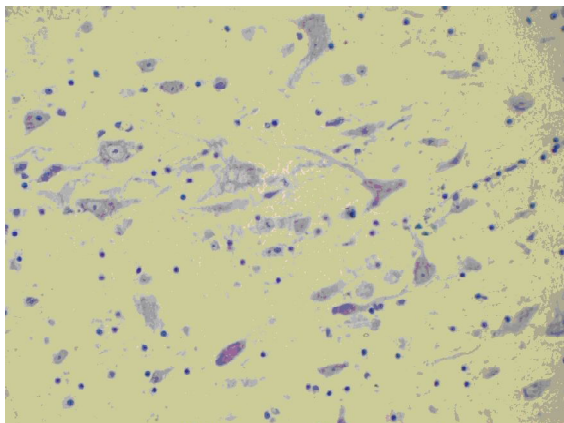
В работе использовались животные с клиникой лихорадки Западного Нила, выведенные из эксперимента на 7-е сутки (период разгара — по 5 животных).

Образцы головного мозга фиксировали в нейтральном забуференном 10%-м формалине с дальнейшим обезвоживанием в батарее спиртов и изготовлением парафиновых срезов толщиной 4—6 мкм, которые окрашивали по стандартным методикам гематоксилином и эозином, тионином по методу Ниссля.

Электронно-микроскопическое исследование производилось по общепринятым методикам с помощью электронного микроскопа Tesla BS-540 при ускоряющем напряжении 60 кВ (10, 11).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У мышей с внутрибрюшинным заражением выраженные патоморфологические изменения отмечаются во всех отделах ствола головного мозга. В дорсальных (субэпендимальных) отделах продолговатого мозга фиксируются дистрофические изменения, носящие очаговый характер. Часть нейронов находится в состоянии острого набухания с явлениями хроматолиза различной выраженности, вплоть до тотального. Отмечается увеличение размеров, деформация и эктопия ядер и ядрышек, нечеткость контуров ядра. Кроме того, наблюдаются различные стадии тяжелых изменений нейронов: крупноячеистая вакуолизация тел и отростков, деформация и гиперхромия ядер. В ряде нейронов имеются признаки конечной стадии подобных изменений в виде вспенивания цитоплазмы, кариопикноза и карицитоза (рис. 1).



**Рис. 1.** Гистологическое строение ствола головного мозга мыши при внутрибрюшинном заражении ВЗН. Выраженные гидропические изменения и перичеселлюлярный отек нейронов на 7-е сутки эксперимента при лихорадке Западного Нила. Окраска по методу Ниссля. Ув. × 400

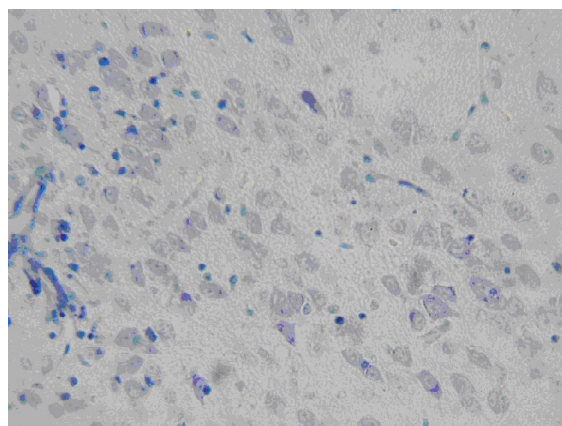
В некоторых случаях, преимущественно в области дна IV желудочка, обнаруживались крупные очаги клеточного опустошения, состоящего из хорошо видимых клеток-теней. По характеру и степени выраженности, патологические изменения со стороны нервных кле-

ток ядерных образований (ядра ретикулярной формации) вентральной области продолговатого мозга, носят такой же характер, как и в дорсальной. Однако достоверно больше, выявляется нейронов с признаками тяжелых и крайне тяжелых дистрофических изменений. Изменения со стороны микроциркуляторного русла были однотипными во всех отделах ствола головного мозга и выражались: в умеренном полнокровии сосудов преимущественно венозного типа, выраженном отеке вокруг отдельных сосудов мелкого калибра (прекапилляры, капилляры). В нейропиле наблюдались достаточно выраженные спонгиозные изменения.

Проведенное электронно-микроскопическое исследование позволило существенно дополнить данные, полученные на светооптическом уровне.

В целом выраженность изменений нервных клеток напрямую коррелирует с состоянием сосудов МЦР. Наиболее серьезное повреждение сосудов наблюдается в продолговатом мозге, преимущественно, в вентральных отделах и выражается разволокнением и надрывом БМ, либо её утолщением и гомогенизацией; набуханием эндотелиальных клеток, их вакуолизацией и значительными изменениями ультраструктур цитоплазмы; отеком периваскулярных ножек астроцитов и других элементов нейропила.

Исследование, проводимое на модели с подкожным инфицированием, выявило следующие изменения. Дистрофические изменения проявлялись появлением в ядрах многих нейронов интенсивно базофильных включений, располагавшихся свободно или ассоциированных с ядрышком. В отдельных нейронах отмечались явления кариопикноза и кариорексиса. Обнаруживались выраженные нарушения кровообращения в сосудах микроциркуляторного русла, явления периваскулярного отека, серозного экссудата в белом и сером веществе, очаги плазматического пропитывания (рис. 2).



**Рис. 2.** Гистологическое строение ствола головного мозга мыши при подкожном заражении ВЗН. Явления периваскулярного отека на 7-е сутки эксперимента при лихорадке Западного Нила. Окраска по методу Ниссля. Ув. × 400.

В единичных случаях отмечались кровоизлияния диапедезного характера, что свидетельствует о развитии серозно-геморрагического воспаления.

При электронно-микроскопическом исследовании в нейронах отмечалась вакуолизация цитоплазмы перикарионов, более выраженная в вентро-латеральных отделах. Наблюдались признаки повреждения митохондрий в перикарионах и аксонах нейронов в виде набухания и очагового лизиса крист. В нейронах часто выявлялась гипертрофия и изменение очертания ядрышек, которые приобретали неправильную форму с преобладанием гранулярного компонента. В миелиновых нервных волокнах наблюдалась вакуолизация аксоплазмы различной степени. Встречались аксоны с многочисленными везикулами различного диаметра, ограниченные одной мембраной с содержимым низкой электронной плотности. В некоторых аксонах данные везикулы практически полностью занимали аксоплазму. Миелиновая оболочка в части волокон была разрыхлена, отмечалось увеличение расстояния между ламеллами. В безмиелиновых волокнах также отмечались явления вакуолизации аксоплазмы.

Иммуногистохимическая реакция на вирусный антиген не выявила существенных отличий между животными с подкожным и внутрибрюшинным путем заражения. Экспрессия антигенов вируса ЗН

была положительной в эндотелии капилляров и нейронах ядерных образований стволовой части головного мозга.

Таким образом, при экспериментальном воспроизведении ЛЗН, в стволовой части головного мозга наблюдаются выраженные патоморфологические изменения, независимо от пути заражения. Анализ полученных данных свидетельствует о развитии более тяжелых дегенеративных изменений на модели с внутрибрюшинным заражением экспериментальных животных. Вероятно, это обусловлено более высоким уровнем виремии и большим объемом вирионов достигающих ЦНС.

Считается, что модель подкожного инфицирования вирусом Западного Нила более приближена к природному заражению. В доступной литературе мы не обнаружили данных описывающих морфологические изменения структур головного мозга людей, в период разгара заболевания. Однако, сравнительная характеристика полученных результатов с патоморфологическими изменениями стволовой части головного мозга больных умерших от лихорадки Западного Нила [1, 8, 9] позволяет сделать косвенный вывод о более выраженном сходстве данных

изменений с таковыми полученными на модели с внутрибрюшинным заражением Астраханским штаммом вируса ЗН.

## ЛИТЕРАТУРА

1. 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.
2. Львов Д. К., Савченко С. Т., Алексеев В. В., Липницкий А. В., Пашанина Т. П. Эпидемиологическая ситуация и прогноз заболеваемости лихорадкой Западного Нила на территории Российской Федерации // Проблемы особо опасных инфекций. — 2008. — Вып. 95. — С. 10—12.
3. Венгеров Ю. Я., Фролочкина Т. И., Жуков А. Н. и др. Инфекция, вызываемая вирусом лихорадки Западного Нила, как клиническая и эпидемиологическая проблема // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2000. — № 4. — С. 27—31.
4. Петров В. А. Лихорадка западного Нила (клиника, эпидемиология, диагностика, патоморфология и лечение) // Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.- М., 2004. — 47 с.
5. Писарев В. Б., Смирнов А. В., Почепцов А. Я., Шмидт М. В., Глухов В. А. Ультраструктурная характеристика нейронов и элементов гематоэнцефалического барьера продолговатого мозга при моделировании вирусного энцефалита // Бюллетень волгоградского научного центра РАМН и Администрации Волгоградской области. — 2006, № 3. — С. 11—13.
6. 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.
7. Cantile C., Di Guardo G., Eleni C., Arispici M. Clinical and neuropathological features of West Nile virus equine encephalomyelitis in Italy // Equine Vet. — 2000, № 32. — P. 31—35.
8. Amah 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.
9. Guarner J., Shieh W. J., Hunter S., Paddock C. D., Morken T., Campbell G. L., Marfin A. A., Zaki S. R. Clinicopathologic study and laboratory diagnosis of 23 cases with West Nile virus encephalomyelitis // Hum. Pathol. — 2004, № 35. — P. 983—990.
10. Снугур Г. Л., Смирнов А. В. К вопросу стандартизации патогистологической диагностики сахарного диабета // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. — 2010. — № 3 (35). — С. 112—115.
11. 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.
12. Шмидт М. В., Писарев В. Б., Смирнов А. В., Бутенко А. М. Морфологическая реакция астроцитов различных отделов головного мозга мышей при моделировании лихорадки Западного Нила // Архив патологии. — 2006. — Т. 68, № 4. — С. 25—26.