

УДК 619:616.98:578.825.1-092

ЦИТОПАТОГЕННЫЙ ЭФФЕКТ У МЫШЕЙ ПРИ ГЕРПЕСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Байматов В.Н., Хромова Е.В.

ФГБОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина»

Установлено, что вирус герпеса обладает патогенностью для беременных белых мышей. В зависимости от срока беременности наблюдали выкидыши, мертворожденных, нежизнеспособных мышат и с недостатками развития. У выживших мышей, рожденных от инфицированных животных, отмечали иммунологическую толерантность к гомологическому вирусу герпеса на протяжении 2 мес. жизни. В течение этого периода мыши были достаточно активны, существенных отличий между группами не наблюдали..

Ключевые слова: БМ – большой мозг, ММ – малый мозг, ПВГ – простой вирус герпеса, ФЭЧ – фибробласты эмбриона человека, АЭЧ – амнион эмбриона человека, ЦПЭ - цитопатогенный эффект.

Вступление. Вирус герпеса вызывает экспериментальную инфекцию у кроликов, морских свинок, хомяков, белых мышей, крыс, человекоподобных обезьян. Известны пути введения вируса в роговицу, мозг, внутрибрюшинно, которые обуславливают проявление инфекции [1...5]. У кроликов, при заражении в роговую оболочку глаза и интрацеребрально возникает энцефалит. После внутривенной инъекции возникает миелит и некротические очаги во внутренних органах. Внутрικοжное введение вируса приводит к локальному появлению пузырьков. Новорождённые мыши восприимчивы к вирусу герпеса и погибают на 5-6-й день после внутрибрюшинного заражения. При церебральном и внутрικοжном введении у них возникают энцефалиты и летальность. На мышах-самках путём заражения их вагинально получена экспериментальная модель генитального герпеса. Известно, что герпетическая везикулярная жидкость генитального происхождения менее вирулентна для кроликов, чем экстрагенитальная. Вирус активно размножался в плаценте, эмбрионе и в тканях плода, вызывая специфические изменения. Чувствительными культуральными клетками оказались ФЭЧ, АЭЧ, диплоидные фибробласты амниона человека и почек обезьян, а также культуры клеток почек хомяка, культуры клеток роговицы кролика. Среди различных культур, испытанных на чувствительность их к вирусу герпеса, были и культуры из клеток саркомы Рауса, в которых размножение вируса на 4-й день сопровождается развитием ЦПЭ.

Целью исследований являлось выявление цитопатогенного эффекта в органах мышей после герпесной инфекции. Для реализации были поставлены следующие задачи: 1. Изменение поведения мышей разных линий после

герпесной инфекции. 2. Цитопатогенный эффект у мышей после герпесной инфекции.

Материал и методы исследования. Настоящие исследования проведены на кафедре общей патологии на 48 линейных мышах, БМ (средняя относительная масса мозга $500,6 \pm 4,55$ мг) и ММ (масса мозга $432,97 \pm 4,76$ мг), массой тела 17...19 г [2,3,6]. Мышей заражали вирусом ПВГ-2. На мышах-самках получали экспериментальный генитальный герпес путём заражения их вагинально с помощью ватного тампона, смоченного неразведённой вирусной суспензией. Каждая группа содержала по 20 мышей, контроль-8 особей. Через 12-14 дней в опытных группах погибло не менее 80% и 75% соответственно. У погибших животных оценивали патологоанатомическими методами состояние внутренних органов. От оставшихся самок получали потомство. На 40 мышатах проводили опыты, а затем их убивали и брали кусочки внутренних органов, фиксировали в 12% - ном нейтральном формалине, а затем проводили гистологическую обработку. Полученные на микротоме срезы окрашивали гематоксилином и эозином и анализировали, фотографировали. После проведения опытов полученные данные статистически обрабатывали.

Результаты исследования. Установлено, что вирус герпеса обладает патогенностью для беременных белых мышей и их потомства. Существует трансплацентарная передача вируса эмбриону и плоду. Вирус активно размножается в плаценте, эмбрионе и в тканях плода, вызывая специфические изменения. В зависимости от срока беременности наблюдали выкидыши, мертворождённых, нежизнеспособных мышат и с недостатками развития. У выживших мышей, рождённых от инфицированных животных, отмечали иммунологическую толерантность к гомологическому вирусу герпеса. В течение периода наблюдений мыши были достаточно активны, существенных отличий между группами не наблюдали. В тоже время при изучении стартл - реакции на звук и пищевой раздражитель выявили отличия. Животные с хорошо развитой центральной нервной системой (линия БМ) быстрее адаптировались к звуку и меньше беспокоились. В тоже время мыши с меньшей её массовой долей (линия ММ) испытывали страх или чувство тревоги от звукового раздражителя. У каждого из опытных животных страх имеет отчетливые, легко распознаваемые проявления при действии звукового раздражителя. Он представляет собой универсальную инстинктивную и необходимую для выживания реакцию, а громкий звук может быть реальной угрозой жизни, поэтому и требуются приспособительные реакции. Мыши, имеющие большую по величине мозг уже через 10 минут собирают информацию о новой обстановке, в которую их поместили. Уровень исследовательской активности у них выше, а обстановка теста быстро теряет для них новизну. Мыши линии БМ обучаются находить цель, хорошо ориентируются в пространстве. Мыши линии БМ и ММ по разному формируют навыки разной сложности. При помощи используемого нами лабиринта можно стимулировать познавательные и когнитивные способности мышей. Это согласуется с данными литературы [3...5]. Нами проведены

гистологические исследования печени, почек, легких, селезенки и миокарда. ПВГ – 2 вызывает глубокие морфологические изменения в исследованных органах цитолитического порядка. Прежде всего, это проявляется в деструктивно-дегенеративных изменениях гепатоцитов, нефроцитов, пневмоцитов и миокардиоцитов. Во всех исследованных органах наблюдали признаки воспалительного процесса. Вслед за фазой альтерации, характеризующейся повреждением тканей и выделением медиаторов воспаления следует изменения микроциркуляторного русла с гиперемией и массовой миграцией лейкоцитов за пределы сосудистого русла. Это ответная реакция иммунокомпетентных клеток на деструкцию тканей. В то же время повсеместно возникает нарушение микроциркуляции. Венозный застой, диapedез эритроцитов в соединительную ткань. Значительно изменяется микроциркуляция, с появлением лимфоидных инфильтратов по ходу кардиомиоцитов. Следовательно, у мышей при герпесе продолжают многие признаки деструктивно- дегенеративного и воспалительного процесса. Это проявляется реакцией кровеносных сосудов, признаками воспалительного процесса, а также реакцией иммунокомпетентных клеток. В литературе имеются описания цитопатогенного эффекта при заражении вирусом герпеса. Вначале обнаруживаются изменения в виде появления небольшого количества многоядерных и гигантских клеток. В последующем цитопатогенный эффект (ЦПЭ) сопровождается образованием внутриядерных включений в гигантских клетках и их деструкцией. На микрофотографиях хорошо виден цитопатогенный эффект в печени мышей. В области центральной вены гепатоциты с ЦПЭ составляют до 30...40% от всего количества в дольке. Причем, у мышей линии БМ их на 10...15 процентов больше, чем у линии ММ. Полученные данные свидетельствуют о выраженности морфологических изменений при ПВГ-2, вероятно детерминированных необходимостью повышения функций гепатоцитов для обеспечения жизнеспособности в условиях патогенного воздействия. В легких у мышей обеих групп выражены экссудативные признаки с эмиграцией клеток крови. Вокруг бронхов активируются пролиферативные процессы, появляются клетки соединительной ткани и коллагеновые волокна. Изменения в почках носят повсеместный характер: видна атрофия клубочкового аппарата, изменяются нефроциты, а часть их подвержена деструкции. В полости канальцев часто находится детрит. Естественно, что организм реагирует на это лимфоидно-клеточной реакцией, что и видно на микрофотографиях. При герпесе мышей гистологические изменения больше всего определяется в миокарде (рисунок 3.51.). При этом отмечается довольно обширная инфильтрация лимфоцитов между кардиомиоцитами. Встречают участки миокарда с плотным расположением лимфоидной ткани (рисунок 3.52.) и диффузная инфильтрация лимфоцитами и макрофагами пространства между кардиомиоцитами. Литературные и собственные данные позволили нам составить интегральную схему изменений при ПВГ-2. Аналогичные данные нами найдены у других авторов, которые использовали вирус простого герпеса 1 типа (ВПГ-1) с множественным заражением - 0,01 ТНД з/кл. Через 48 часов в зараженной

контрольної культурі спостерігали повне пошкодження кліток (вірусне цитопатогенне діяння, ЦПД), яке починало частково проявлятися після 10 годин інфекції. Спеціально досліджували інфекційний титр ВПГ-1 в головному мозку у двох груп тварин. З цією метою заражали мишей ВПГ-1 внутрішньо і на 8-й день тварин убивали. У них стерильно вилучали головний мозок і гомогенізували в фосфатному буфері рН 7,0. Величина інфекційного титру вірусу в головному мозку тварин складала 3,75; 4,84; 4,42; 4,26; 3,92 lg ТЦД. В умовах виварного утримання мишей ознаки відновлення функціональної активності органів відзначаються впродовж місяця.

Висновки: Проведені нами дослідження обумовлених вірусом простого герпеса 2 типу, дозволили отримати дані про ступінь вираженості морфологічних змін в органах мишей різних ліній. Це дозволяє планувати заходи по стимулюванню органу до інфекційного впливу, в даному випадку слід зосередити зусилля на енергозабезпеченні печінки, для посилення її детоксикаційних функцій. ЦПД в печінці є маркером ефективності рекомендованих препаратів для лікування.

Список літератури.

1. Баринський І.Ф., Експериментальне вивчення протівовірусної активності імунomodulatory «Гепон» при інфекціях, обумовлених вірусами простого герпеса 1 і 2 типів // Баринський І.Ф., Алімбаєва Л.М., Лазаренко А.А., Атауллаханов Р.І. - Проблеми вірусології, 2003, №5.- 30-33.
2. Маркіна Н.В., Перепелкіна О.В., Полетаєва І.І. Асиметрія в поведінці мишей, селектованих на вагу мозку. Сб. ХІІІ з'їзду фізіологічного товариства ім. І.П. Павлова. Тезиси доповідей. Казань. 2001 С. 151.
3. Маркіна Н.В., Перепелкіна О.В., Плеханова І.Л., Маркова Е.Г., Ревіцин А.В., Полетаєва І.І. Асиметрія поведінки і морфології мозку у мишей, селектованих на великий і малий вагу мозку. Актуальні питання функц. міжпівкульової асиметрії. Всерос. конф., Москва, 2003, тез. докл. С. 170
4. Perepelkina O., Pinigina E., Markina N., Poletaeva I. Environmental enrichment behavioural effects in mice, selected for large and small brain weight. 7th Annual meeting of IBANGS, Sitges, Spain, June 9-12, 2005. P.27.
5. Salimov R.M., Markina N.V., Perepelkina O.V., Poletaeva I.I. Exploratory behavior of F2 crosses of mouse lines selected for different brain weight: a multivariate analysis. Progr. In Neuro-Psychopharm. Biol. Psychiatry 2004, v.28, p.583-589.

ЦИТОПАТОГЕННИЙ ЕФЕКТ У МИШЕЙ ЗА ГЕРПЕСНОЇ ІНФЕКЦІЇ

Байматов В.Н., Хромова Є.В.

Встановлено, що вірус герпесу має патогенність для вагітних білих мишей. Залежно від терміну вагітності спостерігали викидні, мертворождених, нежиттєздатних мишенят і з недоліками розвитку. У тих, що вижили мишей, народжених від інфікованих тварин, відзначали імунологічну толерантність до гомологічного вірусу герпесу протягом 2 міс. життя. Протягом цього періоду миші були досить активні, істотних відмінностей між групами не спостерігали.

Ключові слова: *БМ - великий мозок, ММ - малий мозок, ПВГ - простий вірус герпесу, ФЕЧ - фібробласти ембріона людини, АЕЧ - амніон ембріона людини, ЦПЕ - цитопатогенності ефект.*

CYTOPATHIC EFFECT IN MICE OF HERPES INFECTION

Baymatov V.N, Chromova E.V.

It is established that the herpes virus has pathogenicity for pregnant white mice. Depending on the duration of pregnancy it was observed miscarriages, stillbirths, nonviable pups and with developmental disabilities. It was noted immunological tolerance to the homologous herpes virus during 2 months of life in the surviving mice that were borned of infected animals.

Key words: *BM - big brain, MM - small brain, PVG - of a simple herpes virus, EPP - a human embryo fibroblasts, AECH - amnion human embryonic, CPE - cytopathic effect.*