

УДК 616.9-092.9

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДИОКТАЭДРИЧЕСКОГО СМЕКТИТА ПРИ КОКСАКИ А ВИРУСНОМ МИОКАРДИТЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

¹Руженцова Т.А., ¹Плоскирева А.А., ²Щербаков И.Т., ³Исаева Е.И.,
¹Бондарева А.В., ¹Горелов А.В.

¹Центральный НИИ эпидемиологии, Москва, e-mail: crie@pcr.ru;

²Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского, Москва, e-mail: info@gabrigh.com;

³НИИ вирусологии имени Д.И. Ивановского, Москва, e-mail: info@viruscollection.ru

С целью определения влияния диоктаэдрического смектита на частоту развития и степень выраженности миокардита при Коксаки А вирусной инфекции в исследование было включено 45 самцов линейных мышей BALB/c. В опытную группу вошло 40 особей, которые были заражены перорально вирусом Коксаки А в дозе LD70. Из них 20 особей получали лечение диоктаэдрическим смектитом (группа А), а в группе В (20 особей) какой-либо терапии не проводили. Контрольную группу составили 5 условно здоровых особей. Оценка состояния животных проводили визуально ежедневно. Изменения в миокарде анализировали на 3-и, 7-е, 14-е и 21-е сутки от момента заражения с помощью световой микроскопии с увеличением 280х, 400х и 630х. За время наблюдения погибло 7 особей из группы В и ни одной в группе А. При исследовании срезов миокарда отмечали нарастание признаков миокардита от 3-х к 14-м суткам. На фоне лечения диоктаэдрическим смектитом изменения были достоверно менее выражены на 7-е и 14-е сутки. На 21-е сутки у мышей в группе А лимфоцитарная инфильтрация не определялась. У особей, не получавших лечение, признаки миокардита сохранялись. Таким образом, диоктаэдрический смектит способствовал снижению выраженности и продолжительности миокардита в эксперименте.

Ключевые слова: диоктаэдрический смектит, дистрофия миокарда, Коксаки А, миокардит, энтеровирусная инфекция, энтеросорбенты

THE EFFECT OF DIOCTAHEDRAL SMECTITE ON THE COXSACKIE A VIRAL MYOCARDITIS IN EXPERIMENT

¹Ruzhentsova T.A., ¹Ploskireva A.A., ²Scherbakov I.T., ³Isaeva E.I.,
¹Bondareva A.V., ¹Gorelov A.V.

¹Central research Institute of epidemiology, Federal Supervision Service for Consumer Rights Protection and People's Welfare, Moscow, e-mail: crie@pcr.ru;

²Institute of Epidemiology and Microbiology named after G.N. Gabrichevskiy, Federal Supervision Service for Consumer Rights Protection and People's Welfare, Moscow, e-mail: info@gabrigh.com;

³Institute of Virology named after D.I. Ivanovskiy Ministry of Public Health of the Russian Federation, Moscow, e-mail: info@viruscollection.ru

We have study included 45 male mice linear Balb/c in order to determine the effect of dioctahedral smectite on the incidence and severity of myocardial damage in a laboratory model of Coxsackie A viral infection. The experimental group consisted of 40 animals that were infected with Coxsackie A virus orally at a dose of LD70. The group A (20 animals) were treated dioctahedral smectite, group B (20 individuals) had no treatment. The control group consisted of healthy individuals (5 mice). Assessment of the status of the animals was carried out visually on a daily basis. We were analyzed of changes in the myocardium on the 3rd, 7th, 14th and 21st day from the moment of infection using light microscopy with a magnification 280, 400 and 630 animals were died from group B and none in group A. We were noted increasing signs of myocarditis from 3 to 14 days. The changes were less pronounced on the 7th and 14th day by treating of dioctahedral smectite. The lymphocytic infiltration was not determined on 21 days in group A. The signs of myocarditis were preserved in mice which received no treatment. Thus, dioctahedral smectite helped reduce the severity and duration of myocarditis in the experiment.

Keywords: myocarditis, myocardial dystrophy, Coxsackie A, enterovirus infection, sorbents, dioctahedral smectite

В настоящее время большинством исследователей признан факт высокой распространенности воспалительных изменений миокарда. В некоторых группах больных на фоне тяжелого течения инфекций частота сердечно-сосудистых нарушений, по клиническому симптомам, данным электрокардиографии, эхокардиографии, повышенной активности кардиоспецифических ферментов и тропонина достигает 33–45% [6].

На практике миокардит диагностируется редко. Патологоанатомически воспалительные признаки в миокарде регистрируются в 4–9% случаев [1]. Основным этиологическим фактором считаются вирусы [7, 10]. Затруднения при диагностике на практике связаны в первую очередь с недостаточной изученностью возбудителя. Считается, что тяжелое течение Коксаки А вирусной инфекции с миокардитом характерно для лиц

с ослабленным иммунитетом, особенно для новорожденных детей [9]. Эффективная этиотропная терапия в настоящее время отсутствует. Снизить степень вирусемии возможно с помощью энтеросорбентов, создающих барьер на поверхности эпителия кишечника. Среди них одно из первых мест занимает диоктаэдрический смектит, внесенный в стандарты терапии инфекционных диарей [3, 4, 5, 11]. Однако действие его на внекишечные проявления инфекции не изучено.

Цель исследования – определить влияние диоктаэдрического смектита на вероятность развития миокардита, его выраженность и летальность при Коксаки А вирусной инфекции в эксперименте.

Материалы и методы исследования

В исследование было включено 45 самцов мышей BALB/c в возрасте 2 недель, массой 6–7 грамм. Животные перед включением в исследование наблюдались 7 дней. При обнаружении каких-либо отклонений от нормы особей выбраковывали. В опытную группу вошло 40 мышей, которые были заражены перорально вирусом Коксаки А № 2046 из Государственной коллекции вирусов РГБУ НИИ вирусологии имени Д.И. Ивановского в дозе LD70. Методом случайного распределения они были распределены на 2 группы. Группу А составили 20 животных, которые спустя 3 часа после заражения начали получать перорально диоктаэдрический смектит в дозе 50 мкл/мышь в сутки в течение 3 дней. В группу В вошло 20 животных, которым лечения не назначали. Контрольную группу составили 5 здоровых особей.

Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента проводили согласно требованиям «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.1977 г. № 755).

Визуально ежедневно оценивали состояние особей. Исследовали срезы миокарда желудочков и предсердий 35 мышей на 3-и, 7-е, 14-е и 21-е сутки от момента заражения. Погибшие животные (7 из опытной группы В) не подвергались морфологическому исследованию по техническим причинам. После выведения животного из эксперимента препараты промывали, фиксировали с помощью забуференного нейтрального формалина (pH = 7,0) и заливали парафином. С помощью микротома проводили срезы толщиной 5 мкм, затем окрашивали гематоксилином и эозином. Полученные препараты исследовали при помощи оптической световой микроскопии с увеличением 280х, 400х и 630х (окуляры 7х или 10х; объективы 40х и 90х).

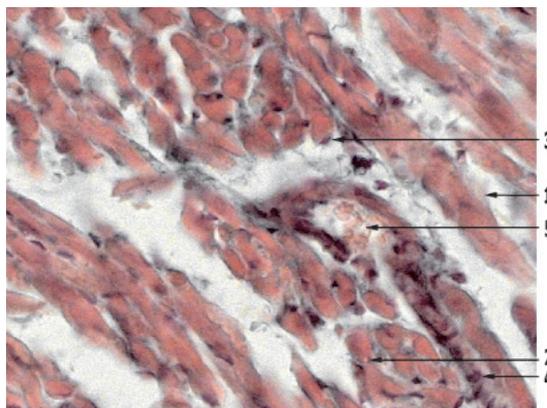
Оценку состояния миокарда и кардиомиоцитов проводили по гистологическим параметрам, отражающим состояние кардиомиоцитов, стромы и сосудов на основании имеющихся в литературе рекомендаций [2] с уточнением, по результатам собственных наблюдений. Определяли состояние мембраны, цитоплазмы и форму кардиомиоцита; форму ядер клеток; исчерченность миофибрилл; наличие инфильтрации соединительнотканной пластинки; состояние кровеносных сосудов. Полуколичественную оценку изменений проводили по предложенной нами методике [8]. За 1

принимали картину, соответствующую контрольной группе. Умеренным изменениям присваивали 2 балла, выраженным – 3.

Результаты исследования и их обсуждение

У контрольных мышей в миокарде была выявлена картина, соответствующая адаптационной норме (1 балл по всем критериям).

На 3-и сутки после заражения вирусом Коксаки А у животных обеих опытных групп были отмечены сходные изменения, соответствующие умеренно выраженному или выраженному миокардиту, что представлено на рис. 1.



*Рис. 1. Миокард мыши на 3-и сутки после заражения вирусом Коксаки А, окраска гематоксилином и эозином, 280х:
1 – нечеткость мембраны кардиомиоцита;
2 – вакуольная дистрофия цитоплазмы кардиомиоцита, отсутствие поперечно-полосатой исчерченности; 3 – гипохромное ядро кардиомиоцита; 4 – инфильтрация межмиокардиальной стромы лимфоцитами, фиброцитами, фибробластами;
5 – полнокровие сосуда*

Клеточная мембрана контурировалась нечетко (2); цитоплазма была в состоянии зернисто-вакуольной дистрофии (2). Кардиомиоциты были вытянутой или округлой формы (1, 2), ядра нормохромны, округлы, у особей группы А расположены беспорядочно (1, 2), а в группе В смещены центрально (2). Поперечно-полосатая исчерченность четко не визуализировалась (2). Межмиокардиальная соединительнотканная пластинка была умеренно отечна с инфильтрацией фиброцитами, фибробластами, лимфоцитами (2). Кровеносные сосуды в группе А были обычного диаметра, иногда не заполнены (1, 2), в группе В – полнокровны (2). Средняя оценка в группе А составила $1,79 \pm 0,1$ балла, а в группе В – $1,93 \pm 0,07$ балла, что не имело статистически достоверной разницы ($p > 0,05$).

На 7-е сутки после заражения у животных обеих групп выявляли нарастание изменений, что соответствовало картине выраженного миокардита. Однако на фоне лечения диоктаэдрическим смектитом отклонения были достоверно менее значительны. На срезах миокарда наблюдали нечеткость мембраны кардиомиоцитов (2); у животных, не получавших лечения, цитолемма местами отсутствовала (2, 3). Цитоплазма находилась в состоянии зернисто-вакуольной дистрофии (2). Большинство кардиомиоцитов имели овально-вытянутую форму (1, 2). Нормохромные ядра у особей группы А были чаще округлыми, располагались в центре или субламеллярно (1, 2), в группе В гиперхромные округлые ядра были смещены к центру цитоплазмы кардиомиоцитов (3). В цитоплазме животных, получавших лечение, поперечно-полосатая исчерченность была нечеткой (2), а у особей без лечения – отсутствовала (3). Соединительнотканная пластинка была отежной и инфильтрированной фиброцитами, фибробластами и единичными лимфоцитами (2). Сосуды были умеренно полнокровны и расширены (2). Средний балл в группе А составил $1,86 \pm 0,09$, а в группе В – $2,29 \pm 0,21$ ($p < 0,05$).

На 14-е сутки от момента заражения в группе А, получавшей диоктаэдрический смектит, в миокарде опытных животных выявляли картину умеренно выраженного миокардита (рис/2).

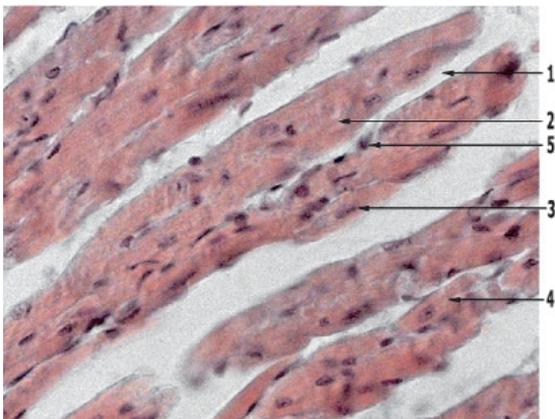


Рис. 2. Миокард мышцы на 14-е сутки после заражения вирусом Коксаки А, на фоне лечения диоктаэдрическим смектитом, окраска гематоксилином и эозином, 280х:

1 – отсутствие мембраны кардиомиоцита; 2 – вакуольная дистрофия цитоплазмы кардиомиоцита; 3 – округлое, смещенное к центру ядро кардиомиоцита; 4 – отсутствие поперечно-полосатой исчерченности; 5 – инфильтрация межмиокардиальной стромы лимфоцитами, фиброцитами, фибробластами

Клеточная оболочка кардиомиоцитов была нечеткой (2), разрыхленной. Цитоплазма кардиомиоцитов находилась в состоянии зернисто-вакуольной и вакуольной дистрофии (2, 3); форма кардиомиоцитов была вытянутой (1) или округлой (2); нормохромные ядра были смещены периламеллярно (1). Цитоплазма кардиомиоцитов была с участками нечеткой поперечно-полосатой исчерченности (2) или её отсутствия (3). Соединительнотканная строма миокарда была умеренно отежной и инфильтрированной фибробластами, фиброцитами и единичными лимфоцитами (2). Сосуды умеренно расширены, полнокровны (2). Изменения, в среднем, составили $1,93 \pm 0,20$ балла.

На 14-е сутки Коксаки А вирусной инфекции в миокарде у животных опытной группы В были выявлены максимальные изменения, что соответствовало картине выраженного миокардита (рис. 3).

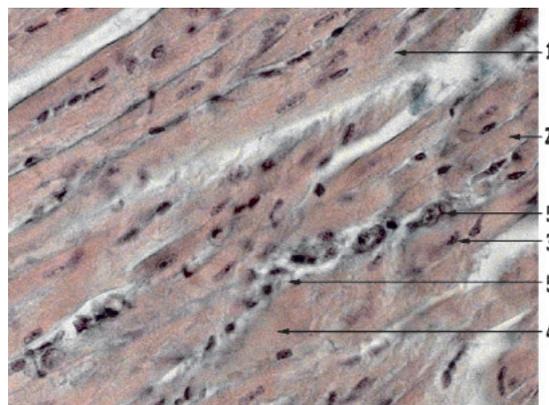


Рис. 3. Миокард мышцы на 14-е сутки после заражения вирусом Коксаки А, без лечения, окраска гематоксилином и эозином, 280х: 1 – отсутствие мембраны кардиомиоцита; 2 – вакуольная дистрофия цитоплазмы кардиомиоцита; 3 – гипохромное, смещенное к центру ядро кардиомиоцита; 4 – отсутствие поперечно-полосатой исчерченности; 5 – инфильтрация межмиокардиальной стромы лимфоцитами, фиброцитами, фибробластами

Клеточная оболочка не имела четких границ (2). Цитоплазма находилась в состоянии вакуольной дистрофии (3). Форма кардиомиоцитов чаще была овальная (1, 2). Гипохромные ядра располагались в центре цитоплазмы (3). Поперечно-полосатая исчерченность отсутствовала (3). Соединительнотканная пластинка была отежной и инфильтрированной фиброцитами, фибробластами и лимфоцитами (2, 3). Сосуды были полнокровны или неравномерного наполнения (2, 3). Средний балл составил $2,50 \pm 0,22$ ($p < 0,05$).

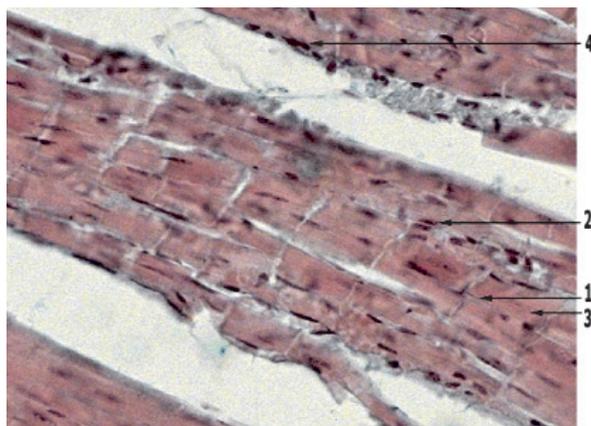


Рис. 4. Миокард мышцы на 21-е сутки после заражения вирусом Коксаки А, на фоне лечения диоктаэдрическим смектитом, окраска гематоксилином и эозином, 280х:
1 – мембрана кардиомиоцита; 2 – вытянутое смещенное субламеллярно ядро; 3 – поперечно-полосатая исчерченность; 5 – инфильтрация стромы фиброцитами и фибробластами

На 21-е сутки после заражения в группе А, получавшей диоктаэдрический смектит (рис. 4), отмечали отечность стромы без лимфоцитарной инфильтрации, что можно отнести к остаточным проявлениям миокардита. Клеточная оболочка имела четкие контуры (1). Цитоплазма была в состоянии зернистой дистрофии (1). Большинство кардиомиоцитов имели вытянутую (1) форму. Нормохромные овальные ядра располагались субламеллярно (1). Цитоплазма имела четкую поперечно-полосатую исчерченность (1). Строма была слегка отечной, инфильтрирована фиброцитами и фибробластами (1). Сосуды не были расширены, умеренно полнокровны (2). Средняя оценка изменений составила $1,14 \pm 0,14$ балла.

В группе В на 21-е сутки лимфоцитарная инфильтрация сохранялась, но была менее выражена, чем на 14-е сутки. Мембрана контурирована (1). Цитоплазма была в состоянии зернистой дистрофии (1). Клетки имели овальную или вытянутую форму (1, 2). Нормохромные ядра располагались в центре цитоплазмы (2). По-

перечно-полосатая исчерченность четко визуализировалась (1). Строма была умеренно отечна (1) и минимально инфильтрирована фиброцитами, фибробластами и единичными лимфоцитами (2). Сосуды были полнокровны (2). Средняя оценка составила $1,5 \pm 0,19$ балла ($p < 0,05$).

Динамика выраженности изменений схематично представлена на рисунке 5.

Во всех образцах миокарда животных, зараженных вирусом Коксаки А перорально, в дозе LD70, на сроках от 3-х до 14-х суток присутствовали признаки миокардита. Однако степень его выраженности на фоне лечения диоктаэдрическим смектитом была достоверно меньше начиная с 7-х суток. На 21-е сутки Коксаки А вирусной инфекции при применении диоктаэдрического смектита лимфоцитарная инфильтрация в миокарде отсутствовала, тогда как у животных, не получавших лечения, сохранялась. Это, наиболее вероятно, связано с барьерной функцией диоктаэдрического смектита, обеспечивающей снижение количества поступающих в кровотоки вирусов.

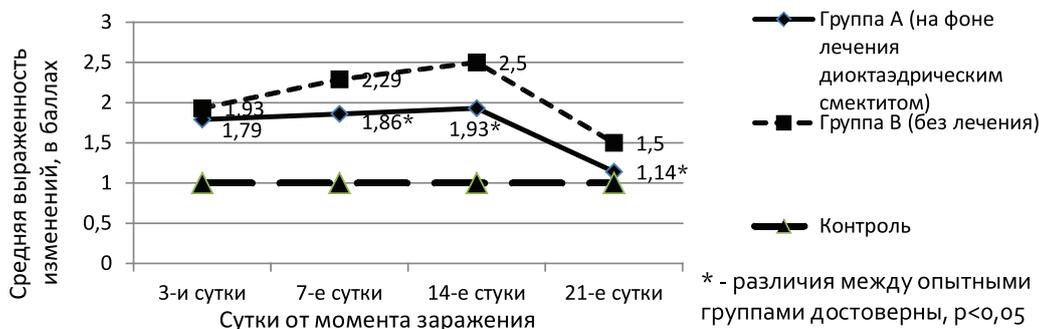


Рис. 5. Динамика выраженности (в баллах) изменений миокарда у линейных мышей, зараженных вирусом Коксаки А

Выводы

1. При пероральном заражении Коксаки А вирусной инфекцией в дозе LD 70, несмотря на лечение, у всех опытных мышей в сердце выявляется картина миокардита.

2. Степень выраженности поражения миокарда при лечении диоктаэдрическим смектитом линейных мышей, зараженных Коксаки А вирусной инфекцией в эксперименте, достоверно меньше, чем в отсутствии терапии.

Список литературы

1. Гиляревский С.П. Миокардиты: современные подходы к диагностике и лечению. – М.: Медиа Сфера, 2008. – 324 с.
2. Гистология (введение в патологию) / под ред. Э.Г. Улумбекова, Ю.А. Челышева. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 1997. – 960 с.
3. Горелов А.В., Плоскирева А.А., Руженцова Т.А. Острые кишечные инфекции в таблицах и схемах. – М.: Архив внутренней медицины, 2014. – 37 с.
4. Горелов А.В., Плоскирева А.А., Усенко Д.В. Современные подходы к патогенетической терапии острых кишечных инфекций у детей // Инфекционные болезни. – 2013. – Т. 11. – № 1. – С. 87–92.
5. Захарова И.Н., Есипов А.В., Дорошина Е.А., Ловердо Р.Г., Дмитриева Ю.А. Тактика педиатра при лечении острых гастроэнтеритов у детей: что нового? // Вопросы современной педиатрии. – 2013. – Т. 12. – № 4. – С. 120–125.
6. Овсянникова Е.М. Состояние сердечно-сосудистой системы при бронхиальной обструкции у детей: дис. ... д-ра мед. наук. – М., 2010. – 266 с.
7. Руженцова Т.А. Инфекционные поражения миокарда // Руководство по медицинской микробиологии; под ред. А.С. Лабинской, Е.Г. Волиной, Е.П. Ковалевой. – М.: Бином, 2014. – Кн. 3. – Т. 2. – С. 315–321.
8. Руженцова Т.А., Плоскирева А.А., Щербаков И.Т., Исаева Е.И., Бондарева А.В., Горелов А.В. Поражения миокарда при Коксаки А вирусной инфекции // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 1. – Ч. 5. – С. 1033–1037.
9. Учайкин В.Ф. Руководство по инфекционным болезням у детей. – М.: Гэотар-Мед, 2004. – 808 с.
10. Dennert R., Crijns H.L., Heymans S. Acute viral myocarditis // Eur. Heart J. – 2008. – Vol. 29. – P. 2073–2082.

11. ESPGHAN Report / J. Pediatric Gastroenter. Nutr. – 2008. – Vol. 46. – S. 2. – P. 81–122.

References

1. Giljarevskij S.R. Miokardity: sovremennye podhody k diagnostike i lecheniju. M.: Media Sfera, 2008. 324 p.
2. Gistologija (vvedenie v patologiju) / pod red. Je.G. Ulumbekova, Ju.A. Chelysheva. M.: GJeOTAR-Media, 1997. 960 p.
3. Gorelov A.V., Ploskireva A.A., Ruzhencova T.A. Ostrye kishechnye infekcii v tablicah i shemah. M.: Arhiv vnutrennej mediciny, 2014. 37 p.
4. Gorelov A.V., Ploskireva A.A., Usenko D.V. Sovremennye podhody k patogeneticheskoj terapii ostryh kishechnyh infekcij u detej // Infekcionnye bolezni. 2013. T. 11. no. 1. pp. 87–92.
5. Zaharova I.N., Esipov A.V., Doroshina E.A., Lovardo R.G., Dmitrieva Ju.A. Taktika pediatra pri lechenii ostryh gastroenteritov u detej: chto novogo? // Voprosy sovremennoj pediatrii. 2013. T. 12. no. 4. pp. 120–125.
6. Ovsjannikova E.M. Sostojanie serdechno-sosudistoj sistemy pri bronhialnoj obstrukcii u detej: dis. ... d-ra med. nauk. M., 2010. 266 p.
7. Ruzhencova T.A. Infekcionnye porazhenija miokarda // Rukovodstvo po medicinskoj mikrobiologii; pod red. A.S. Labinskoj, E.G. Volinoj, E.P. Kovalevoj. M.: Binom, 2014. Kn. 3. T. 2. pp. 315–321.
8. Ruzhencova T.A., Ploskireva A.A., Shherbakov I.T., Isaeva E.I., Bondareva A.V., Gorelov A.V. Porazhenija miokarda pri Koksaki A virusnoj infekcii // Fundamentalnye issledovanija. 2015. no. 1. Ch. 5. pp. 1033–1037.
9. Uchajkin V.F. Rukovodstvo po infekcionnym boleznyam u detej. M.: Gjeotar-Med, 2004. 808 p.
10. Dennert R., Crijns H.L., Heymans S. Acute viral myocarditis // Eur. Heart J. 2008. Vol. 29. pp. 2073–2082.
11. ESPGHAN Report / J. Pediatric Gastroenter. Nutr. 2008. Vol. 46. pp. 2. P. 81–122.

Рецензенты:

Макашова В.В., д.м.н., ведущий научный сотрудник клинического отдела инфекционной патологии, Центральный НИИ эпидемиологии, г. Москва;

Усенко Д.В., д.м.н., ведущий научный сотрудник клинического отдела инфекционной патологии, Центральный НИИ эпидемиологии, г. Москва.