



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 3(66), 2014

ԱՎՇԱՅԻՆ ՀԱՆԳՈՒՅՑՆԵՐԻ ԱՆՏԱՀԱՐՈՄԸ ԽՈՉԵՐԻ ԱՖՐԻԿԱՆ ՍՈՒՐ ԺԱՆՏԱԽՏԻ (ԳԵՆՈՏԻՊ II) ԺԱՄԱՆԱԿ

Լ.Ն. ՍԻՄՈՆՅԱՆ

ՀՀ ԳԱԱ Մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտ
Բջջի կենսաբանության և վիրուսաբանության լաբորատորիա,
lilusimon@gmail.com

Ուսումնասիրվել է ավշային հանգույցների ախտաբանությունը խոզերի աֆրիկյան սուր ժանտախտ (ախտահարված գենոտիպ II վիրուսով) հիվանդության դինամիկայում: Հիվանդության դրսևորման առաջին օրից արյան շիճուկում նկատվում է վիրեմիա: Ավշային հանգույցներն ախտահարվում են հիվանդության վաղ փուլերից սկսած (2-3-րդ օր): Ավշային հանգույցների հիմնական ախտաբանական փոփոխություններն են արյունազեղումները, ավշային ֆոլիկուլների հիպերպլազիան, որին հաջորդում է հիպոպլազիան:

*խոզերի աֆրիկյան ժանտախտ – ավշային հանգույց – ավշային ֆոլիկուլ –
արյունազեղում – հիպերպլազիա – հիպոպլազիա*

Исследована патология лимфатических узлов при африканской чуме свиней (АЧС) (зараженных вирусом генотипа II) в динамике острой формы болезни. С первого дня болезни в сыворотке крови была обнаружена виремия. Нами показано, что при АЧС, вызываемой генотипом II, лимфатические узлы поражаются на начальных стадиях болезни (на 2-3-й день). Основными патологическими изменениями лимфатических узлов являются: кровоизлияние, гиперплазия лимфатических фолликулов, на поздних стадиях гипоплазия.

*Африканская чума свиней – лимфатический узел – лимфатический фолликул –
кровоизлияние – гиперплазия – гипоплазия*

Lymph nodes pathology of the pigs in the dynamics of acute African swine fever (infected by genotype II virus) was studied. Viremia was revealed in blood serum from the first day of disease. The lymph nodes were affected from the early stages (2-3 post infection days). The main pathological changes in lymph nodes were hemorrhages, hyperplasia of lymph follicles, which is followed by hypoplasia.

African Swine fever – lymph node – lymph follicle – hemorrhage – hyperplasia – hypoplasia

Խոզերի աֆրիկյան ժանտախտի սուր տարբերակը ծանր, մահացու ելքով վիրուսային հիվանդություն է, որը կաթնասուններից ախտահարում է միայն խոզերին: Աֆրիկյան ժանտախտի վիրուսը խոշոր, լրացուցիչ թաղանթով, երկշղթա ԴՆԹ-ով վիրուս է, որը Asfarviridae ընտանիքի միակ ներկայացուցիչն է: Խոզի օրգանիզմում վիրուսը բազմանում է հիմնականում մոնոնուկլեար ֆագոցիտային համակարգի բջիջներում, հատկապես մոնոցիտներում և մակրոֆագերում: Հիվանդության ավելի ուշ շրջանում կարող են ախտահարվել նաև այլ բջիջներ: Աֆրիկյան ժանտախտի վիրուսը միակ ԴՆԹ արբովիրուսն է, որը փոխանցվում է հողվածոտանիների միջոցով (Ornithodoros տգեր): Վիրուսի գենոմը պարունակում է մոտավորապես 150 գեն: Վիրուսի ԴՆԹ-ն կոդավորում է իր գենոմի ռեպլիկացիային և տրանսկրիպցիային անհրաժեշտ ֆերմենտներ, կառուցվածքային սպիտակուցներ և այնպիսի սպիտակուցներ, որոնք կարևոր են տիրոջ օրգանիզմում վիրուսի պահպանման և տարածման համար: Վիրուսի ԴՆԹ-ն կոդավորում է նաև ախտահարված բջիջների ապոպտոզին նպաստող սպիտակուցներ [1]:

Աֆրիկյան ժանտախտն առաջին անգամ նկարագրել է Մոնթգոմերին 1921 թվականին որպես ենթասուր կամ սուր վարակիչ հիվանդություն, որը բնութագրվում է 100% մահացությամբ, նկատելի արյունազեղումներով, այտուցով և կոագուլոպաթիայով: Մաուրերը և այլոք փաստել են, որ առաջին ախտահարումները հայտնաբերվում են լիմֆոիդ հյուսվածքներում [2,9]:

Ինչպես հայտնի է խոզերի ավշային հանգույցներում կեղևային և միջուկային նյութերը տեղակայված են հակառակ (ի տարբերություն մարդու). նախ միջուկային նյութն է, ապա՝ կեղևային [3]: Պերիֆերիան՝ ծայրամասը, պարունակում է մակրոֆագեր և պլազմոցիտներ: Ծոցերն ավելի նեղ են, փափկալարերը բացակայում են: Փոքր ավշային հանգույցները կարող են միաձուլվել և առաջացնել խոշոր հանգույց: Հանգույցի դրունքը հաճախ դժվար տեսանելի է:

Խոզերի ավշային հանգույցների ֆոլիկուլներում գերմինատիվ (*centrum germinale*) կամ բազմացման կենտրոնի լուսավոր գոտին (*light zone*) հստակ տարբերակելի չէ մուգ գոտուց (*dark zone*) ինչպես մարդու մոտ: Լուսավոր գոտին տեղակայված է գերմինատիվ կենտրոնի բևեռում՝ ավշային հանգույցի պատիճից հեռու (ունի հակառակ դասավորություն ի տարբերություն մարդու): Պսակի ձևով դասավորված լիմֆոցիտները նույնպես գտնվում են գերմինատիվ կենտրոնի խորքում՝ պատիճից հեռու: Խոզերի ավշային հանգույցներում տրաբեկուլները՝ շարակցահյուսվածքային խտրոցները, անցնում են ողջ հանգույցով, իսկ գերմինատիվ կենտրոնների լուսավոր գոտին ուղղված է դեպի տրաբեկուլները՝ հաճախ լիմֆոցիտների պսակի հետ միասին: Ինչպես ցույց են տվել Բաուլը և Գրաուն, խոզերի մոտ ավիշը հանգույց է թափանցում ոչ թե հանգույցի ուռուցիկ կողմից, այլ դրունքով և տրաբեկուլներով, իսկ դուրս գալիս՝ պերիֆերիայից [7]:

Ավշային հանգույցների հիմնական ֆունկցիան ֆիլտրումն է և ֆագոցիտոզը, ինչպես նաև լիմֆոպոեզը և իմունոլոգիական պաշտպանությունը:

Աֆրիկյան ժանտախտով վարակված խոզերի մոտ նկատվում է ջերմության բարձրացում, անորթքսիա, մաշկի ցիանոզ, սրտի զարկերի և շնչառության հաճախականության մեծացում: Հիվանդությանը բնորոշ է վիրեմիա, ներքին օրգանների համակարգային ախտահարումներ և մահ [4,10]:

Վարակված խոզերի մոտ նախկինում ուսումնասիրվել են ավշային հանգույցների ախտահարումները [2,4,10], սակայն գենոտիպ II վիրուսի դեպքում ուսումնասիրությունները կատարվում են առաջին անգամ: Մեր նպատակն է ուսումնասիրել խոզերի ավշային հանգույցների հյուսվածաբանական և ախտաանատոմիական փոփոխությունները խոզերի աֆրիկյան սուր ժանտախտի (ախտահարված գենոտիպ II վիրուսով) դինամիկայում:

Նյութ և մեթոդ: Խոզերին վարակել են կիրառելով աֆրիկյան ժանտախտի վիրուսը (գենոտիպ II): Վիրուսի տիտրը յուրաքանչյուր ներմկանային ներարկման համար կազմում էր 10^4 50% հեմադսորբցիոն դոզա (HAD50)/մլ: Վարակի ընթացքում կատարվել է վիրուսի տիտրում և ներկայացվել որպես $\log_{10}$ HAD50/մլ [5]:

Հետազոտությունների համար օգտագործվել են նույն տարիքի (3 ամսական) և 30-33 կգ բաշով 12 ամողջ խոզ (Landrace breed) [8]:

Բոլոր խոզերից մինչև ներարկումը վերցվել են արյան նմուշներ ստուգիչ արժեքների համար՝ պահպանելով հեմոլիզից և հյուսվածքների վարակումից խուսափելու պայմանները: Արյան նմուշները վերցվել են առաջնային սիներակից [11]:

10 խոզ վարակվել են ներմկանային ներարկման ճանապարհով, իսկ երկուսը, որոնց ներմկանային ներարկվել է 0,1 մլ ֆիզ. լուծույթ, օգտագործվել են որպես չվարակված ստուգիչ խումբ [6]: Կենդանիների խնամքը և էֆթանագիան կատարվել է համաձայն ամերիկյան անասնաբույժների բժշկական ասոցիացիայի էֆթանագիայի մասին ուղեցույցի և կենդանիների խնամքի ու կիրառման ուղեցույցի (ԳԱԱ Մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտի ներինստիտուտային վերահսկող խորհրդի/Էթիկայի անկախ կոմիտեի, ՆԻՎԽ0004079):

Վարակված և ստուգիչ խմբի խոզերի էֆթանագիան կատարվել է ածխածնի երկօքսիդի ինհալացիայի միջոցով (75-80% ածխածնի երկօքսիդ 20 րոպեում):

Հյուսվածաբանական հետազոտությունների համար վերցված ավշային հանգույցները ֆիքսվել են ֆորմալինի 10%-անոց չեզոք լուծույթում, ապա կարծրացվել պարաֆինով: Պատրաստվել են 4-5 մկմ հաստությամբ լայնական կտրվածքներ ռոտորային միկրոտոմով:

Պրեպարատները ներկվել են հեմատոքսիլին Էոզինով, ուսումնասիրվել են Leica DM1000 մանրադիտակով, արվել են միկրոֆոտոլուսանկարներ Leica DMA թվային ֆոտոդիսկով:

Վիճակագրական վերլուծությունը կատարվել է ըստ Student's t-test-ի:

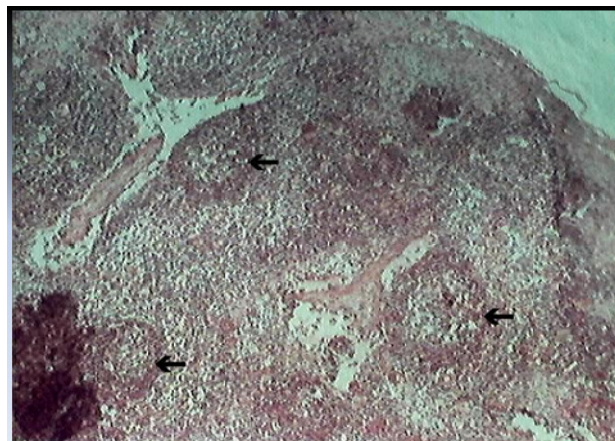
Արդյունքներ և քննարկում: Աֆրիկյան ժանտախտի վիրուսով վարակված խոզերի մոտ առաջին կլինիկական ախտանշաններն ի հայտ են գալիս վարակումից 2-3 օր հետո ախորժակի անկումով, դեպրեսիայով: 2-4-րդ օրերի ընթացքում դիտվում է հիպերթերմիա՝ մինչև 40°C: Միևնույն ժամանակ նկատվում են վարքի անկում, դժվարություն շնչառության պրոցեսում և մաշկի կարմրություն: Վարակելուց 5-6 օր հետո խոզերի մոտ նկատվում է արյունային լուծ (միայն 20% դեպքերում) և որոշ խոզերի մոտ կոմատոզ վիճակ: Բոլոր վարակված խոզերը էֆթանագիայի են ենթարկվել 6-7-րդ օրը: Եթե առաջին կլինիկական ախտանշաններն ի հայտ են գալիս միայն 2-3-րդ օրը, ապա վիրեմիան նկատվում է արդեն վարակումից հետո 1-2-րդ օրերին և հասնում է իր գագաթնակետին 5-6-րդ օրերին: Բոլոր վարակված խոզերի մոտ արյան շիժուկում վիրուսի բարձր տիտր (մինչև 104-105HAD) գրանցվել է 1-ին օրից մինչև հիվանդության տերմինալ փուլը ($p < 0,05-0,01$):

Չերձման արդյունքում ավշային հանգույցներում հայտնաբերվել են մասնակի արյունազեղումներ, սկսած հիվանդության 3-րդ օրից, իսկ հիվանդության ավելի ուշ շրջանում ախտահարված էին ավշային հանգույցների մեծ մասը: Ախտահարված ավշային հանգույցներն ունեն մուգ կապույտ գույն, իսկ լայնական կտրվածքում նկատելի են մասնակի կամ միախառնված արյունազեղումներ (նկ. 1): Սոմատիկ և վիսցերալ ավշային հանգույցների ախտաանատոմիական հետազոտություններում հայտնաբերված փոփոխությունները սկզբում բնութագրվում են սերոզ, ապա սերոզ-հեմորագիկ և հեմորագիկ լիմֆադենիտով:



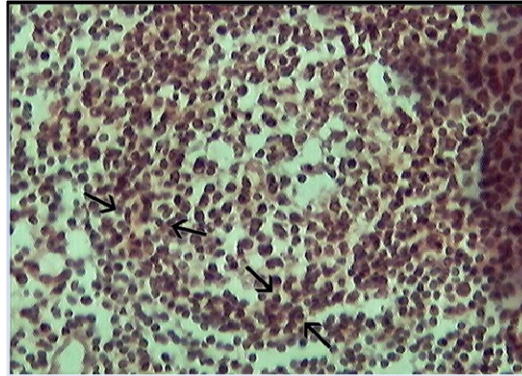
Նկ. 1. Ախտահարված ավշային հանգույց զանգվածային արյունազեղումներով

Ավշային հանգույցների հյուսվածաբանական հետազոտություններում լավ տեսանելի են ավշային ֆոլիկուլները բազմացման կենտրոններով (նկ. 2):



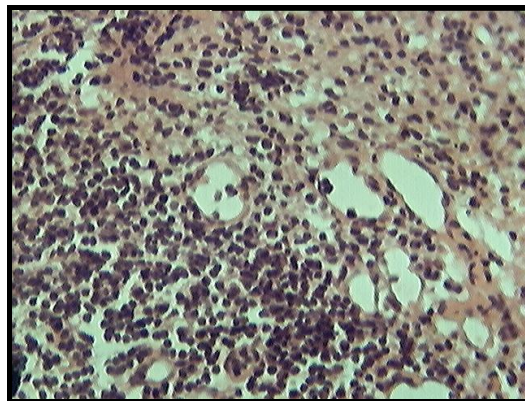
Նկ. 2. Ավշային ֆոլիկուլ բազմացման կենտրոնով, օր x 4, օկ. x 10 (ավշային ֆոլիկուլների բազմացման կենտրոնները նշված են սլաքներով)

Վարակման 3-րդ օրից սկսած ավշային հանգույցներում մանրադիտակային հետազոտությունների արդյունքում հայտնաբերվում են ախտաբանական փոփոխություններ: Առաջնային ախտաբանական փոփոխությունները բնութագրվում են էրիթրոցիտների ներթափանցման և պարենխիմային բջիջների նվազման պատկերով (նկ. 3):



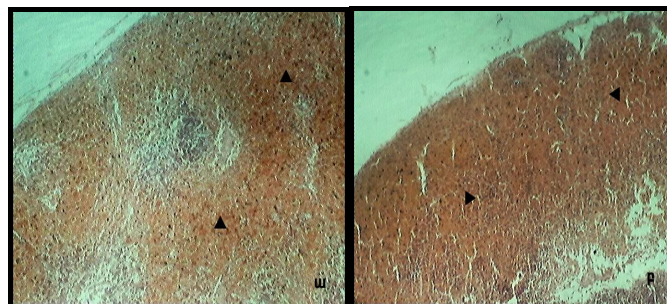
Նկ. 3. Ախտահարված ավշային հանգույցը հիվանդության 3-րդ օրը, օր x 25, օկ. x 10 (էրիթրոցիտների ներթափանցումը նշված է սլաքներով)

Պարենխիմայում շատանում են ախտահարված և քայքայված բջիջների թիվը (նկ. 4):



Նկ. 4. Ախտահարված բջիջներն ավշային հանգույցում, օր x 25, օկ. x 10

Հիվանդության ավելի ուշ փուլերում ավշային հանգույցներում հայտնաբերվում է հեմորագիկ լիմֆադենիտ (նկ. 5ա, բ):



Նկ.5. Հեմորագիկ լիմֆադենիտ (ավշային հանգույցի բորբոքում) հիվանդության 4-րդ (ա) և 6-րդ (բ) օրը, օր x 4, օկ. x 10 (նշված է սլաքներով)

Արյունագեղումների ինտենսիվությունը մեծանում է և հիվանդության տերմինալ փուլում տարբեր աստիճանով ախտահարված են լինում ավշային հանգույցների 60 %-ից ավելին: Որոշ ավշային հանգույցներում հանդիպում է նաև հիպերպլազիա, որը, հավանաբար, հանդիսանում է կոմպենսատոր ռեակցիա: Որոշ դեպքերում հիպերպլազիան ավշային ֆոլիկուլների դատարկման հետևանքով փոխարինվում է հիպոպլազիայով: Ավշային ֆոլիկուլներում նկատվում են արյունագեղումներ:

Այսպիսով, մեր կողմից կատարված աշխատանքում ցույց է տրված, որ խոզերի աֆրիկյան սուր ժանտախտ հիվանդության ամենավաղ փուլերից սկսած (2-3-րդ օր) առաջանում են ավշային հանգույցների ախտահարումներ՝ մասնակի, իսկ հետագայում զանգվածային արյունագեղումների տեսքով: Նկարագրվել է նաև ավշային ֆոլիկուլների հիպերպլազիա, որն ավելի ուշ փուլերում լիմֆատիկ բջիջների արտամղման հետևանքով փոխվում է հիպոպլազիայի:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Макаров В.В.* Африканская чума свиней, Российский университет дружбы народов, М., 2011.
2. *Anderson E.C.* African swine fever: Current concepts on its pathogenesis and immunology. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 5, 2, 477-486, 1986.
3. *Bims R.M. and Hall J.G.* The Paucity of lymphocytes in the lymph of unanaesthetised pigs. The British Journal of Experimental Pathology, 47, 3, 275-280, 1966.
4. *Carrasco L., Chacón-M de Lara F., Martín de Las Mulas J., Gómez-Villamandos J.C., Sierra M.A., Villeda C.J., Wilkinson P.J.* Ultrastructural changes related to the lymph node haemorrhages in acute African swine fever. Res Vet Sci., 62, 3, 199-204, 1997.
5. *Enjuanes L., Carrascosa A.L., Moreno M.A., Viñuela E.* Titration of African swine fever (ASF) virus. J Gen Virol. 32, 471-477, 1976.
6. *Howey E.B., O'Donnell V., de Carvalho Ferreira H.C., Borca M.V., Arzt J.* Pathogenesis of highly virulent African swine fever virus in domestic pigs exposed via intraoropharyngeal, intranasopharyngeal, and intramuscular inoculation, and by direct contact with infected pigs. Virus Res. 2013 Dec 26;178(2):328-39. doi: 10.1016/j.virusres.2013.09.024. Epub 2013 Sep 26.
7. *Hunt A.C.* Micro-anatomy of the lymph nodes of the pig. British Journal of Experimental Pathology, XLIX, 4, 338-339, 1968.
8. *Karalyan Z., Zakaryan H., Arzumanyan H., Sargsyan K., Voskanyan H., Hakobyan L., Abroyan L., Avetisyan A., Karalova E.* Pathology of porcine peripheral white blood cells during infection with African swine fever virus. BMC Vet Res. 28;8:18. doi: 10.1186/1746-6148-8-18, 2012 Feb.
9. *Maurer F.D., Griesmer R.A. and Jones T.C.* The pathology of African swine fever – a comparison with hog cholera. Am. J. vet. Res., 19, 517-593, 1958.
10. *Rodríguez F, Fernández A, Martín de las Mulas JP, Sierra MA, Jover A.* African swine fever: morphopathology of a viral haemorrhagic disease. Vet Rec., 139, 11, 249-54, 1996.
11. *Zhang W.R., Ku P.K., Miller E.R. and Ullrey D.E.* Stability of glutathione peroxidase in swine plasma samples under various storage conditions. Can. J. Vet. Res., 50, 390-392, 1986.

Ստացվել է 24.03.2014