



# Состояние эндотелия при гриппозной инфекции *in vitro*



Марченко В. А.<sup>1</sup>, Барашкова С. В.<sup>2</sup>, Зелинская И. А.<sup>2</sup>, Торопова Я. Г.<sup>2</sup>, Жилинская И. Н.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа им. А. А. Смородинцева» Минздрава

России, 197376, г. Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Минздрава  
России, 197341, г. Санкт-Петербург, Россия.

## Введение

В настоящее время, установлено, что система гемостаза и эндотелий кровеносных сосудов являются новыми мишенями для вирусных инфекций (включая COVID-19), что открывает дополнительные аспекты патогенеза этих инфекций и, соответственно, новые подходы к их лечению. Участие системы гемостаза и эндотелия при гриппе подтверждается клинической картиной в виде носовых кровотечений, геморрагий на коже и слизистых, микрогематурии, острого респираторного дистресс синдрома и синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания [1-4]. Подобная тяжелая клиническая картина отмечалась в эпидемиях гриппа последних лет. Установленным фактом для вируса гриппа является то, что он активно вмешивается в систему гемостаза хозяина и вызывает дисфункцию клеток эндотелия. Так, в НИИ гриппа были получены данные о том, что вирус гриппа репродуцируется в клетках эндотелия, вызывает изменение их морфологии, гипоксию и дисфункцию [5]. Кроме того, вирус и его белки модулируют активность компонентов системы гемостаза [6]. В связи с этим чрезвычайно актуальными являются исследования по изучению вклада вируса гриппа в развитие дисфункции эндотелия кровеносных сосудов и развитие патологий сердечно-сосудистой системы.

## Цель

Оценить состояние эндотелия при гриппозной инфекции *in vitro* (в культуре клеток эндотелия).

## Материалы и методы

Культуру клеток эндотелия человека EA.hy926 инфицировали вирусом гриппа A/H1N1(pdm09) с множественностью инфекции 0,01. В инфицированных клетках с помощью иммуноцитохимического метода определяли активность эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) в динамике (через 6ч, 12ч, 18ч, 24ч, 48ч и 72ч).

В качестве контроля использовали неинфицированные клетки на соответствующих временных интервалах.

Для количественной оценки уровня активности эндотелиального фактора, проводили морфометрические исследования, в ходе которых выполняли микрофотографирование микропрепаратов, на микроскопе Nikon Eclipse E200 с цифровой камерой Nikon DS-Fi1 и программным обеспечением Nis-Elements F3.2.

Для eNOS был эмпирически подобран порог регистрации сигнала в RGB-модели (модель цветопередачи, где любой цвет кодируется с помощью трех основных цветов: красного, зеленого и синего), который составил 78-185.

## Результаты и обсуждение

Как видно из рисунка 1, экспрессия eNOS в инфицированных вирусом гриппа клетках эндотелия была резко снижена на протяжении всего исследуемого периода по сравнению с контролем клеток.

Так, суммарная интенсивность экспрессии eNOS в инфицированных клетках снижалась до 7,9% уже через 6 ч (рисунок 1А) по сравнению с клеточным контролем (принят за 100%; рисунок 1Е). Через 12 ч уровень суммарной экспрессии снижался до 12,1% (рисунок 1Б), через 18 ч до 5,4% (рисунок 1В) и через 24 ч уровень достигал своего минимума – 2,9% (рисунок 1Г). Через 48 ч уровень суммарной интенсивности экспрессии eNOS снижался до 3,1%, а через 72 ч – до 3,3% (рисунок 1Д).

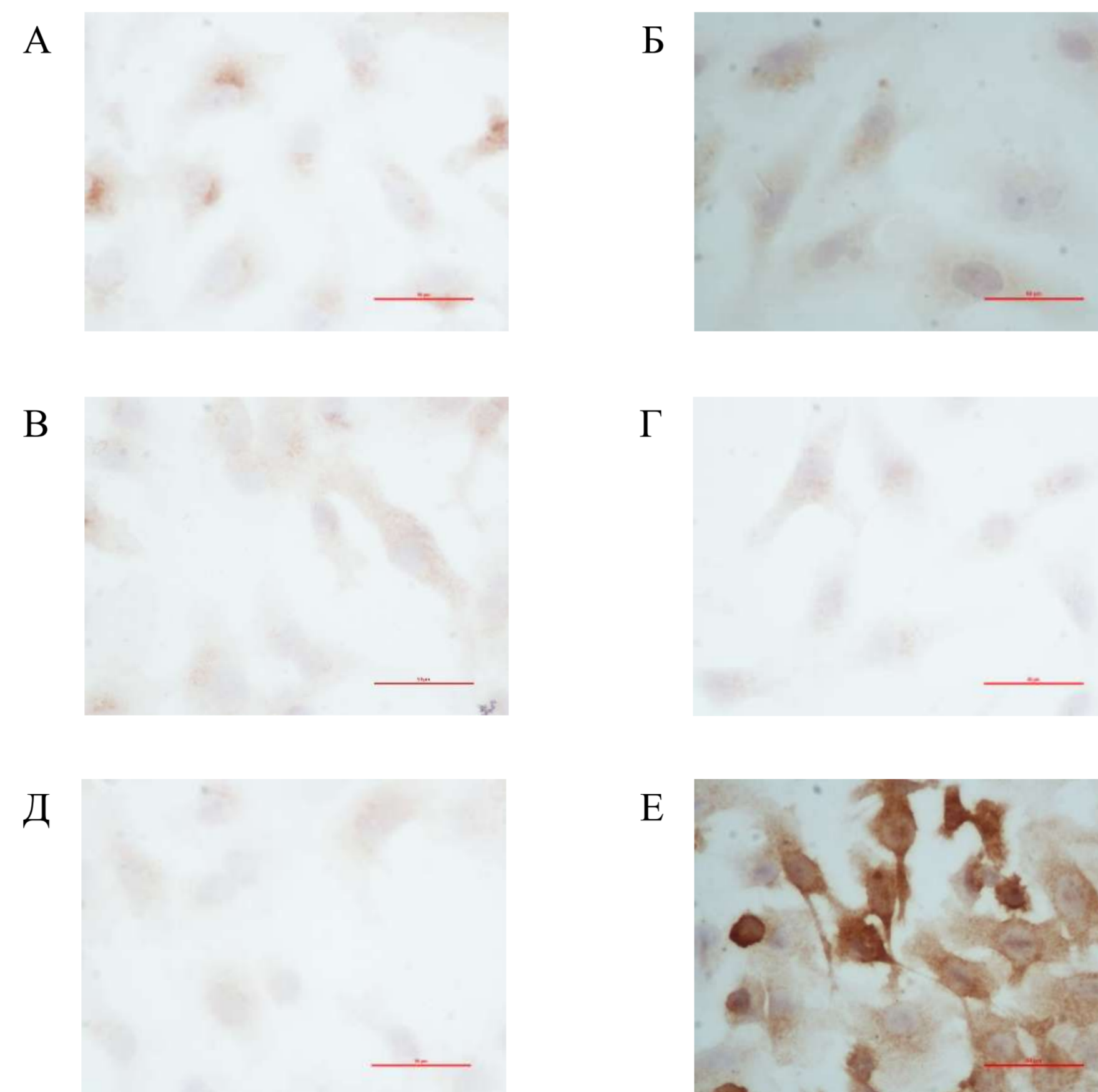


Рисунок 1. Экспрессия eNOS в клетках EA.hy926, инфицированных вирусом гриппа А.

А – экспрессия через 6 ч; Б – экспрессия через 12 ч;  
В – экспрессия через 18 ч; Г – экспрессия через 24 ч; Д – экспрессия через 48 ч; Е – контроль клеток.

## Заключение

Полученные в ходе исследования данные о резком снижении активности эндотелиального фактора eNOS (более чем в 30 раз) в культуре клеток эндотелия при инфицировании вирусом гриппа свидетельствуют о развитии эндотелиальной дисфункции.

Это согласуется с ранее полученными результатами по изучению гистопатологических изменений в легочных сосудах разного калибра, а также с изменениями в вазодилатации и вазоконстрикции кровеносных сосудов экспериментальных животных (мышей BALB/c и крыс стока Wistar), инфицированных исследуемым вирусом гриппа [7].

## Библиографический список

1. Opie E L. The pathologic anatomy of influenza // Annual review of pathology. 1928. – V. 3. – P. 499–522.
2. Lobo, S. M., Watanabe, A. S. A., Salomão et al. Excess mortality is associated with influenza A (H1N1) in patients with severe acute respiratory illness // Journal of Clinical Virology. 2019. V. 116. – P. 62–8.
3. Fukunaga, S., Ishida, C., Nakaoka, A., & Ito, T. A case of acute kidney injury and disseminated intravascular coagulation associated with influenza B viral infection // CEN case reports. 2014. V. 4, №1. – P. 95–100.
4. Watanabe, T., Yoshikawa, H., Abe, Y. Renal involvement in children with influenza A virus infection // Pediatr. Nephrol. 2003. V. 18. – P. 541–544.
5. Жилинская И.Н., Азаренок А.А., Ильинская Е.В. и др. Репродукция вируса гриппа в клетках эндотелия кровеносных сосудов человека // Вопросы вирусологии. 2012. – Т.57, №2. – С. 20–23.
6. Жилинская И.Н., Прочуханова А.Р., Фадеев А.В. и др. Фрагменты, гомологичные белкам системы гемостаза человека, в белках вирусов, вызывающих ОРЗ, или заболевания, сходные с ними по клинической симптоматике // Журнал Инфектологии. 2017. – Т.9, №3. С. 81-91.
7. Марченко В.А., Жилинская И. Н., Зелинская И. А., Торопова Я. Г., Барашкова С. В. Гистопатологические и вазомоторные изменения в кровеносных сосудах при адаптации вируса гриппа в крысах линии Wistar // Проблемы медицинской микологии. 2019. – Т. 21, №2. – С. 101.

## Контакты

Марченко Владимир Александрович  
ФГБУ «НИИ гриппа А.А. Смородинцева» Минздрава России  
Email: [vmarcenco@gmail.com](mailto:vmarcenco@gmail.com). Телефон: 89819414453