

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ
ԱԿԱԴԵՄԻԱՅԻ ՄՈԼԵԿՈՒԼԱՅԻՆ ԿԵՆՍԱԲԱՆՈՒԹՅԱՆ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ

ՄԻՍԱԿՅԱՆ ԱԼԼԱԵԴԻԿԻ

ԱՐՏԱՈՍԿՐԱԾՈՒԾԱՅԻՆ ԷՐԻԹՐՈՊՈՒԵԶԻ ԱԽՏԱԲԱՆԱԿԱՆ ԳՈՐԾԸՆԹԱՅՆԵՐԻ
ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆԸ ԽՈԶԵՐԻ ԱՖՐԻԿՅԱՆ ԺԱՆՏԱԽՏԻ ԴԵՊՔՈՒՄ

ԱՏԵՆԱԽՈՍՈՒԹՅՈՒՆ

Գ.00.03 - «Մոլեկուլային և բջջային կենսաբանություն»
մասնագիտությունը ամբ. կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի
գիտական աստիճանի հայցման համար

Գիտական ղեկավար՝
կենսաբանական գիտությունների դոկտոր՝
Ե. Մ. Կարալովա

ԵՐԵՎԱՆ – 2016

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

ՀԱՊԱՎՈՒՄՆԵՐԻ ՑԱՆԿ.....	4
ՆԵՐԱԾՈՒԹՅՈՒՆ.....	5
ԳԼՈՒԽ 1: ԳՐԱԿԱՆ ԱԿՆԱՐԿ.....	9

1.1	Խոզերի	աֆրիկյան	ժանտախտի
վիրուսը		10	
1.2	Խոզերի	աֆրիկյան	ժանտախտի
ախտածագումը		10	
1.3	Փայծաղի	ախտահարումը	սուր ԽԱԺ-ի
դեպքում		15	
1.3.1	Փայծաղի	կառուցվածքը	և Էրիթրոպոեզը
նորմայում		15	
1.3.2	Փայծաղի	մակրո- և միկրոախտահարումը	ԽԱԺ-ի
դեպքում		17	
1.4	Կարմիր	ոսկրածուծի	առաջնային կուլտուրան ԽԱԺ-ի
ազդեցությամբ		26	
1.4.1			Առաջնային
կուլտուրա		26	
1.4.2		Ոսկրածուծի	առաջնային
կուլտուրա		27	
1.4.3	Ոսկրածուծի	առաջնային կուլտուրան	ԽԱԺ վարակի
դեպքում		30	
ԳԼՈՒԽ	2:		ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ
ՄԱՍ		36	
2.1			
Կենդանիներ			
36			
2.2			Վիրուս
.....		36	
2.3		Ուսումնասիրվող	նյութի
ստացում		37	
2.4			Բջջների
մոնիթորինգ		38	
2.4.1	Փայծաղի		բջջաբանական
հետազոտություն		38	
2.4.2	Ճայրամասային արյան, ոսկրածուծի և ՈԱԿ-ի		բջջների
ծնաբանական			
վերլուծություն		39	

2.5				
Բջջասպեկ տրոֆոտոմետրիա.....	39			
2.5.1 ԴՆԹ-ի	ներկու մ	և	քանակական	
որոշում.....	40			
2.5.2	ՌՆԹ-ի	ներկու մ	և	քանակական
որոշում.....	40			
2.5.3 Սպիտակուցի ընդհանուր պարունակությամբ	հայտնաբերում			
նախքան	դեղինով		ներկման	
միջոցով.....	41			
2.6	Երկաթի	միացություններ	հայտնաբերում	
հյուսվածքներում.....	41			
2.7	Արյան,	մեզի	և	արտաթորանքի
հետազոտություն.....	42			բիոքիմիական
2.7.1	Արյան			հեմատոլոգիական
նստմանսիւրություն.....	42			
2.7.2	Մեզի			ընդհանուր
վերլուծություն.....	42			
2.7.3	Արտաթորանքում		թաքնված	արյան
վերլուծություն.....	43			
2.8				Համակարգչային
վերլուծություն.....	43			
2.9	Արդյունքների			վիճակագրական
մշակում.....	43			
ԳԼՈՒԽ	3:			ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅԱՆ
ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԸ.....	45			
3.1.Խոզերի աֆրիկյան ժանտախտի կլինիկական և ախտաանատոմիական				
դրսևորումները ԽԱԺ-ի վիրուսի միջմկանային ներարկման				
դեպքում.....	45			
3.2. Փայծաղի Էրիթրոիդ բջիջների հետազոտությունը ԽԱԺ-ի				
դեպքում.....	47			
3.3.Ոսկրածուծային և փայծաղային Էրիթրոպոեզների համեմատական				
բնութագիրը ԽԱԺ-ի սուր ձևի				
դեպքում.....	59			
3.4. ԴՆԹ-ի պարունակությամբ փոփոխությունները փայծաղի Էրիթրոիդ				

բջիջների կորիզավոր ձևերում	ԽԱԺ-ի	սուր	ձևի	
դեպքում.....				66
3.5.Երկաթի փոխանակության խանգարումը և նրա զարգացման				
մեխանիզմը			ԽԱԺ-ի	
դինամիկայում.....				74
3.6. Ոսկրածուծի	Էրիթրոբլաստային	կղզյակների		
ուսումնասիրությունը				
ԽԱԺ-ի	սուր		ձևի	
դինամիկայում.....				81
3.7. Էրիթրոպոեզը խոզերի ոսկրածուծի առաջնային չխթանված				
կուլտուրայում.....				82
ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԻ				
ՔՆՆԱՐԿՈՒՄ.....				100
ԵԶՐԱԿԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ.....				
105				
ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ				
ՑԱՆԿ.....				106

ՀԱՊԱՎՈՒՄՆԵՐԻ ՑԱՆԿ

ԱԿ	-	առաջնային կոնլտոլրա
ԴՆԹ	-	դեզօքսիռիբոնուկլեինաթթու
ԷՊՕ	-	էրիթրոպոետին
Ժվհ	-	Ժամվարական մից հետո
ԻԼ	-	ինտերլեյկին
ԽԱԺ	-	խոզերի աֆրիկյան ժանտախտ
ԽԱԺՎ	-	խոզերի աֆրիկյան ժանտախտի վիրուս
Հվօ	-	հետվարակային օր
Մկմ	-	միկրոմետր
ՈԱԿ	-	ոսկրածուծի առաջնային կոնլտոլրա
ՌՆԹ	-	ռիբոնուկլեինաթթու
ՈԻՆԳ α	-	ոլոնցքի նեկրոզի գործոն α
HADU	-	hemadsorbing unit
RPMI	-	Roswell Park Memorial Institute

ՆԵՐԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

Աշխատանքի արդիականությունը

Խոզերի աֆրիկյան ժանտախտը (ԽԱԺ) խոզերին սպառնացող վիրուսային հիվանդությունն է, որին բնորոշ են խիստ վարակելիություն, տենդ, տարածուն արյունազեղումներ, արյունահոսություններ, բորբոքային, դիստրոֆիկ և նեկրոտիկ փոփոխություններ տարբեր օրգաններում, ինչը հանգեցնում է կենդանիների զանգվածային մահացության: Այն բնական պայմաններում հանդիպում է տարվա ցանկացած եղանակին՝ անկախ խոզի ցեղատեսակից, տարիքից և սեռից: Հաճախ դրսևորվում է բնակումների ձևով, ընտանի խոզերի մոտ վարակի ընթացքում խիստ արագ ձևափոխմամբ (սկսած 100% մահացությունից մինչև քրոնիկ և առանց ախտանշանների առկայության) և անկանխագուշակելի տարածմամբ: Բուժման և արդյունավետ կանխարգելման բացակայության պատճառով հիվանդության տարածվածությունը մեծացել է, ինչը պատճառ է հանդիսանում կենդանիների մեծաքանակ անկման, մսի արտադրության, անասնաբուժության շրջանում սոցիալ-տնտեսական լուրջ խնդիրների առաջացման: Չնայած այն հանգամանքին, որ հիվանդությունը հայտնի է դեռևս 20-րդ դարի սկզբից, իսկ որպես վիրուսային ծագման առանձին նոզոլոգիական միավոր ձևակերպված 1921թ. Մոնտգոմերիի կողմից (Cox B., 1963), նրա ախտաբանությանը վերաբերող մի շարք հարցեր, օրինակ՝ արյունաստեղծման, մասնավորապես, Էրիթրոպոեզի ախտաբանական տեղաշարժերը և նրանց զարգացման մոլեկուլային մեխանիզմները հիվանդության տարբեր ձևերի դեպքում դեռևս ուսումնասիրված չեն: ԽԱԺ-ի ազդեցությամբ արյունաստեղծման գործընթացի խանգարումներին վերաբերող հետազոտություններ վերջին մի քանի տարիների ընթացքում կատարվում են բջջի կենսաբանության և վիրուսաբանության լաբորատորիայում (Karalyan Z. et al., 2012; Karalova E. et al., 2011; 2014):

Հայտնի է, որ կայուն Էրիթրոպոեզը տեղի է ունենում ոսկրածուծում և ունի հոմեոստատիկ նշանակություն: Նոր Էրիթրոցիտներն առաջանում են անընդհատ, հաստատուն արագությամբ: Որոշ ախտաբանական վիճակներում, ինչպես օրինակ

սուր սակավարյունությունների դեպքում (Lenox L. et al., 2005, Perry J. et al., 2009, Wu D-C. et al., 2010) խթանվում է արտասկրածուծային «սթրես» էրիթրոպոեզը, որի գլխավոր օրգանն է փայծաղը: Այս դեպքում փայծաղի միկրոմիջավայրը յուրահատուկ ձևով նպաստում է մասնագիտացված «սթրես» էրիթրոիդային բջիջների պրոլիֆերացմանը, ընդ որում ավելի մեծ արագությամբ և քանակությամբ էրիթրոիդ բջիջների առաջացմամբ, քան ոսկրածուծային կայուն էրիթրոպոեզի ընթացքում: ԽԱԺ-ի ազդեցությամբ փայծաղի ախտակառուցվածքանությունը բավականաչափ ուսումնասիրված է, մինչդեռ նրանում արտասկրածուծային «սթրես» էրիթրոպոեզի ախտաբանությունը գործնականում գրեթե հետազոտված չէ:

Հետաքրքրությունն է ներկայացնում նաև *ex vivo* խոզերի ոսկրածուծի չխթանված առաջնային կուլտուրայի էրիթրոիդ բջիջների վրա ԽԱԺ-ի վիրուսի անմիջական ազդեցության հետազոտությունը առանց օրգանիզմի իմունային համակարգի միջնորդավորված ազդեցության:

Ուսումնասիրելով ԽԱԺ-ի դեպքում խոզերի մոտ զարգացող կարմիր արյան ախտաբանությունը, ինչպես նաև այդ ախտաբանության զարգացման հիմնական մեխանիզմները՝ հնարավորություն կընձեռվի նոր տեսանկյունից վերլուծելու և մշակելու հիվանդության դեմ պայքարի և բուժման արդյունավետ մոտեցումներ:

Աշխատանքի նպատակը և խնդիրները

Ուսումնասիրել էրիթրոպոեզի ախտաբանական գործընթացները խոզերի աֆրիկյան ժանտախտի սուր ձևի դեպքում՝ կատարելով փայծաղի, ոսկրածուծի (*in vivo*) և ոսկրածուծի առաջնային կուլտուրայի (*in vitro*) էրիթրոիդ բջիջների համեմատական վերլուծություն, ինչպես նաև բացահայտել փոխհատուցող մեխանիզմների դերը կենդանիների կենսունակության և հիվանդության ախտանշանների զարգացման ընթացքում:

Տվյալ նպատակի իրականացման համար դրվել էին հետևյալ խնդիրները.

1. Հիվանդության կլինիկական արտահայտում՝ խոզերի աֆրիկյան ժանտախտի վիրուսի միջմկանային ներարկմամբ:
2. Փայծաղում սթրես Էրիթրոպոեզի ընթացքում առաջացող Էրիթրոիդ բջիջների ձևաբանական ուսումնասիրություն և նրանց համեմատում ոսկրածուծային Էրիթրոիդ բջիջների հետ խԱԺ-ի սուր ձևի դինամիկայում:
3. Ոսկրածուծի առաջնային կուլտուրայի Էրիթրոիդ բջիջների ձևաբանական ուսումնասիրություն ինտակտ և խԱԺ-ի վիրուսով վարակման պայմաններում:
4. Փայծաղի, ոսկրածուծի առաջնային կուլտուրայի Էրիթրոբլաստների բջջապեկտրոֆոտոմետրիկ և բջջաքիմիական հետազոտություն խԱԺ-ի վիրուսով փորձարարական վարակման պայմաններում:
5. Խոզերի արյան և հյուսվածքների կենսաքիմիական հետազոտություն խԱԺ-ի ընթացքում երկաթի փոխանակության ուսումնասիրության նպատակով:

Գիտական նորույթը

Խոզերի փայծաղում և ոսկրածուծի առաջնային կուլտուրայում ուսումնասիրվել են Էրիթրոիդ բջիջները պոպուլյացիոն, բջջային և ենթաբջջային մակարդակներով, տրվել է նրանց ֆիզիոլոգիական վիճակի գնահատականը (հեմոգլոբինով հագեցվածությունը, ԴՆԹ-ի և ՌՆԹ-ի պարունակությունը Էրիթրոիդ բջիջների կորիզավոր ձևերում և այլն): Կատարվել է ոսկրածուծի և փայծաղի Էրիթրոիդ բջիջների համեմատական վերլուծություն սուր խԱԺ-ի դինամիկայում և հիվանդության *in vitro* մոդելավորման պայմաններում: Կատարվել է փայծաղում և ոսկրածուծի առաջնային կուլտուրայում հայտնաբերվող Էրիթրոիդ բջիջների բջջամորֆոմետրիկ և բջջապեկտրոֆոտոմետրիկ հետազոտություն փայծաղում ինչպես ստուգիչ, այնպես էլ խԱԺ-ի դինամիկայում և ոսկրածուծի առաջնային կուլտուրայում կուլտիվացման 4 օրերի ընթացքում ինչպես ստուգիչ, այնպես էլ խԱԺ-ի վիրուսով վարակման պայմաններում: Իրականացվել է երկաթի փոխանակության կենսաքիմիական հետազոտություն խԱԺ-ի դինամիկայում:

Գիտակիրառական նշանակությունը

ԽԱԺ-ի դեպքում խոզերի մոտ զարգացող կարմիր արյան ախտաբանության, ինչպես նաև այդ ախտաբանությունն առաջացնող հիմնական մեխանիզմների ուսումնասիրությունն ունի ինչպես հիմնարար, այնպես էլ կիրառական նշանակություն, քանի որ, ոչ միայն ավելացնում է պատկերացումները վիրուսով պայմանավորված ախտաբանական փոփոխությունների մասին, այլև հնարավորություն է ընձեռում նոր տեսանկյունից վերլուծել ու մշակել ու հիվանդության կանխարգելման, բուժման արդյունավետ մոտեցումներ: Մասնավորապես, ստացված արդյունքները կարող են նպաստել ԽԱԺ-ի նկատմամբ արդյունավետ պատվաստանյութերի և/կամ հակավիրուսային դեղամիջոցների մշակմանը, որոնց բացակայությունը պատճառ է հանդիսանում խոզերի անկմանն ամբողջ աշխարհում, այդ թվում նաև Հայաստանում:

Հրատարակված գիտական աշխատանքները

Ատենախոսական աշխատանքի թեմայով հրատարակվել է 5 գիտական հոդված:

Ատենախոսություն ծավալը և կառուցվածքը

Աշխատանքը շարադրված է 124 էջի վրա, պարունակում է 9 աղյուսակ և 32 նկար: Գրականության ցանկը ներառում է հայերեն, անգլերեն ու ռուսերեն լեզուներով 216 անվանում: Ատենախոսությունը բաղկացած է հապավումների ցանկից, ներածությունից, գրական ակնարկից, փորձարարական մասից, հետազոտության արդյունքներից և արդյունքների քննարկումից, եզրակացություններից, գրականության ցանկից:

ԳԼՈՒԽ 1: ԳՐԱԿԱՆ ԱԿՆԱՐԿ

1.1 Խոզերի աֆրիկյան ժանտախտի վիրուսը

Խոզերի աֆրիկյան ժանտախտի վիրուսը (ԽԱԺՎ) խոշոր իկոսաեդրիկ երկշղթա ԴՆԹ վիրուս է, որը պատկանում է Asfarviridae ընտանիքի Asfivirus ցեղին (Boshoff C. et al., 2007): ԽԱԺ-ի վիրուսի վերարտադրությունը տեղի է ունենում գլխավորապես ախտահարված բջիջների ցիտոպլազմայում (Tulman E.R. et al., 2009): Այն եզակի ԴՆԹ արբովիրուս (ընդունակ է բազմանալ ու ինչպես ողնաշարավոր, այնպես էլ անողնաշարավոր տերերի մոտ) է (Sanchez-Vizcaino J.M. et al., 2009):

ԽԱԺՎ-ի ֆիզիկաքիմիական հատկությունները բնութագրվում են նրա կայունությամբ լայն ջերմաստիճանային և pH-ի պայմաններում: Այն կարող է պահպանվել հում, ծխեցված, սառեցված խոզի մսում 15 շաբաթից մինչև մի քանի ամիս, իսկ խոզի կղանքում՝ 100 օր և ավելի:

ԽԱԺՎ-ի կառուցվածքում նկարագրվում են կենտրոնական նուկլեոիդը, կորիզային պատիճը, ներքին ծածկույթը և արտաքին իկոսաեդրիկ պատիճը: Բջջից դուրս վիրուսը ներհրվելով պլազմային թաղանթի մեջ ձեռք է բերում արտաքին ծածկույթ (Dixon L.K., 1986): Վիրուսային մասնիկների կառուցվածքային սպիտակուցները կոդավորող 54 գեներից 19-ը հայտնի են և նրանցից 18-ի տեղակայումը վիրիոնում՝ բացահայտված (Salas M., 2013): Հայտնաբերված են ԽԱԺՎ-ի 22 գենոտիպեր (I-XXII), որոնք տարբերվում են ԴՆԹ-ի C-ծայրային շրջանի պատիճի հիմնական Vp72 սպիտակուցը կոդավորող B646 L գենի հաջորդականության փոփոխությամբ (Leblanc N. et al., 2012): Անտիգենկայուն Vp73-ը կազմում է վիրիոնի ամբողջ զանգվածի ավելի քան 30%-ը (Cistue C. et al., 1992):

ԽԱԺՎ-ի տարբեր իզոլյատների միջև տարբերությունները պայմանավորված են տարբեր մոլեկուլային ընտանիքներով (MGFs, 100, 110, 300, 360, 505/530) և p22 ընտանիքով (Yozawa T. et al., 1994), որոնք տեղակայված են ձախ ծայրային 40 Kbp-ում և աջ ծայրային 20 Kbp-ում (Dixon L.K. et al., 2012):

ԽԱԺ-ի վիրուսի վերարտադրությունը տեղի է ունենում մոնոցիտ/մակրոֆագային շարքի բջիջներում, որոնք հանդիսանում են հիմնական և գլխավոր թիրախներ: Վիրուսի ներթափանցումը

բջիջների մեջ իրականանում է ընկալիչի միջոցով, սակայն էնդոցիտոզի հստակ մեխանիզմը ներկայումս չի ունենում բացահայտված չէ (Netherton C.L., Wileman T.E. et al., 2013):

Վիրուսային գենոմի տրանսկրիպցիան տեղի է ունենում և՛ կորիզում, և՛ ցիտոպլազմայում տիրոջ ՌՆԹ-պոլիմերազ II-ի միջոցով: Հայտնի է, որ վիրուսային ՌՆԹ-ի տրանսկրիպցիայի և մոդիֆիկացիայի գործընթացում ընդգրկված է նրա գենոմի մոտ 20%-ը (Javier M., Rodriguez., 2013):

Վիրուսի գենոմը, բացի վիրուսային տրանսկրիպցիայի սպիտակուցներից, տեղեկատվություն է ծածկագրում նաև տրանսլյացիայի, վիրիոնի կառուցվածքային սպիտակուցների, ռեպարացիայի ֆերմենտների մասին: Վերջիններս հնարավորություն են տալիս վիրուսային վերարտադրության իրականացումը մակրոֆագերի ցիտոպլազմայի թթվածնային միջավայրում: ԽԱԺ-ի վիրուսի մյուս գեները ծածկագրում են տիրոջ պաշտպանական համակարգ ներթափանցելու և այդ համակարգի բջիջների գործունեությունն ուղղորդելու գործոններ, ինչպես նաև մուլտիգենային ընտանիքի գործոններ (Dixon L.K. et al., 2012): ԽԱԺ-ի գենոմը հայտնաբերվում է պոլիմերազային շղթայական ռեակցիայով (PCR) (Luther N.J. et al., 2007; Gallardo C. et al., 2015):

1.2 Խոզերի աֆրիկյան ժանտախտի պատճառումը

Խոզերի աֆրիկյան ժանտախտը (ԽԱԺ) (լատ. *Pestis Africana suum*) վիրուսային հեմոռագիկ հիվանդություն է՝ տարբեր կլինիկական և ախտաբանական փոփոխություններով, որոնք պայմանավորված են հարուցչի վիրուլենտությամբ, խոզերի իմունային վիճակով: Հիվանդությունն առաջին անգամ նկարագրվել է Մոնտգոմերիի կողմից Հարավային Աֆրիկայում 1921թ (Montgomery R.E., 1921): Հետագայում վիրուսը տարածվել է Եվրոպայում (Wilinkson P.J., 1984), ապա՝ Հվ. Ամերիկայում և կարիբյան երկրներում (Penrith M.L. et al., 2004): Եվրոպական միջառքեր կրկններում (Պորտուգալիա (Boinas F.S. et al., 2004), Սարդինիա (Gulenko V.M. et al., 2011)) նկարագրվել են կրկնակի բռնկումներ: Այնուհետև վիրուսը Հնդկական օվկիանոսով հասել է Մադագասկար (Gonzague M. et al., 2001) և Մաուրիտիոս (Lubisi B.A. et al., 2009): 2007թ. հիվանդությունը հայտնաբերվել է Վրաստանում (Rowlands R.J.

et. al.,2008), որտեղից ներթափանցելով՝ տարածվել է Հայաստանում, Իրանում (Rahimi

P. et al.,2010), ապա ՌԻ կրահնայում, Ռուսաստանում:

ԽԱԺ-ը խիստ հաավարակային, բնական օջախայնությամբ հիվանդությունն է, որը հանդիպում է ինչպես ընտանի, այնպես էլ վայրի խոզերի մոտ: Հարուցչի հիմնական աղբյուրը հիվանդ կենդանիները և վիրուսակիրներն են: Որոշ դեպքերում ԽԱԺ-ի համար շտեմարան և կենսաբանական վեկտորներ են հանդիսանում Ornithodoros ցեղի տզերը (Burrage T.G.,2012): Վիրուսը վարակիչ չէ մարդկանց կամ որևէ այլ կենդանատեսակի (բացի Ornithodoros տզերից) համար:

ԽԱԺ-ը բնութագրվում է վարակված խոզերի մահացության բարձր տոկոսով (մոտ 100%): Կենդանի մնացած խոզեր ընդմիջտվիրուսակիր են՝ ձևավորելով բնական օջախներ (Белянин С.А. и др.,2011): Հիվանդության կանխարգելման համար ներկայումս արդյունավետ պատվաստանյութեր չկան (Dixon L.K. et al.,2013):

ԽԱԺ-ն ընտանի խոզերի շրջանում հիմնականում տարածվում և բռնկումներ է առաջացնում՝ ներթափանցելով բերանային և քթային ճանապարհներով (Colgrove G.S. et al.,1969; Plowright W. et al.,1994): Սակայն վարակումը կարող կատարվել նաև այլ ճանապարհներով, այդ թվում՝ վնասված մաշկով, լորձաթաղանթներով, ներմաշկային, ենթամաշկային, միջմկանային, ներօրովայնամզային ներարկումներով, տրանսմիսիվ՝ տզերի խայթից (McVicar J.W.,1984; Penrith M.L.,2009a): Հիվանդության գաղտնի շրջանը տարբեր է (4-19 օր)՝ կախված ԽԱԺ-ի իզոլյատից և վարակման ուղուց (Howey E.B. et al.,2013):

Ըստ կլինիկական դասակարգման տարբերում են հիվանդության գերսուր, սուր, ենթասուր, քրոնիկ և գաղտնի ձևեր (Arias M.L. et al.,1986; Sánchez-Vizcaíno J.M.,1999): ԽԱԺ-ին բնորոշ հիմնական ախտանշաններն են տենդը, մաշկային արյունազեղումները, ցիանոզները, խիստ ընկճվածությունն, ախորժակի կորուստը, կոնյուկտիվիտներն, արյունային փորլուծությունը, շնչառական ռիթմի և անոթազարկի արագացումը, հավասարակշռության խանգարումները, հղի խոզերի վիժումները (Sánchez-Vizcaíno J.M.,2009): Սուր և ենթասուր ԽԱԺ-ի դեպքում կլինիկական ախտանշանները զարգանում են վարակումից

հետո առաջին 7 օրերի ընթացքում (Howey E.B. et al.,2013): Բնորոշ են խիստ արտահայտված հիպերթերմիան ($40,5-42^{\circ}\text{C}$), անոթային փոփոխություններն, որոնք դրսևորվում են սպիտակամաշկ խոզերի մաշկի կապտուկներով, արյունային լուծով, ներքին օրգանների (երիկամներ, ավշային հանգույցներ, փայծաղ, թոք և այլն) արյունազեղումներով, խոռոչավոր օրգաններում շճային, արյունաշճային հեղուկի կուտակմամբ, թրոմբոցիտոպենիայով, մոնոցիտոպենիայով, լիմֆոպենիայով (Blome S. et al.,2012):

ԽԱԺ հիվանդության ախտածագումնաբանության հիմքում ընկած է հիմնական թիրախ հանդիսացող մոնոնուկլեար/մակրոֆագային համակարգի, իսկ հիվանդության ուշ փուլերում նաև այլ բջիջներում տեղի ունեցող վիրուսի վերարտադրությունը և ցիտոպաթիկ ազդեցությունը (Mebus C., 1987; 1988; Fernandez A. et al.,1992; Perez J. et al.,1994; Ramiro-Ibanez F. et al.,1995; Carrasco L. et al.,1996a, 1996b; Gómez-Villamandos J.C., 2013):

Բերան-քթային և միջմկանային ճանապարհով վարակման դեպքում ԽԱԺ-ի առաջնային վերարտադրությունը գլխավորապես տեղի է ունենում նշագեղձերի, ծնոտային ավշային հանգույցների մակրոֆագային և լիմֆոիդ բջիջներում: Առաջացած վիրուսային մասնիկները դուրս են գալիս բջիջ բողբոջման միջոցով ((Siarra M. et al.,1989; Gomez-Villamandos J.,1997a,b) կամ վարակված բջիջների քայքայման հետևանքով և հայտնվում միջբջջային հյուսվածքի, արյան, ավշի մեջ: Այնուհետև վարակման 2-3-րդ օրերի ընթացքում արյան և/կամ ավշի միջոցով տարածվում են երկրորդային վերարտադրության օրգաններ՝ այն է ավշային հանգույցներ, ոսկրածուծ, փայծաղ, թոքեր, լյարդ և երիկամներ (Colgrove G. et al.,1969): Վիրուսի բարձր տիտր դիտվում է ռետիկուլոէնդոթային համակարգի օրգաններից հատկապես փայծաղում և ավշահանգույցներում: Սուր ԽԱԺ-ի միջին և վերջնական փուլերում վիրուսի վերարտադրություն դիտվում է բացի մոնոցիտ/մակրոֆագային բջիջներից նաև էպիթելային և/կամ մեզենքիմային բջիջներում:

Քանի որ նկարագրվում է վիրուսի առկայությունը նաև ոչ մոնոցիտ/մակրոֆագային բջիջներում՝ ֆիբրոբլաստներում, հարթ մկանային, ռետիկուլային բջիջներում (Alcami A. et al.,1992) ապա ենթադրվում է, որ վիրուսի ներթափանցումը կարող է կատարվել նաև

վիրուս-յուրահատուկ թաղանթային ընկալիչների միջոցով (Gomez-Villamandos J.,1997a,b): Վիրուսային մասնիկներ (ոչ վիրուսի վերարտադրություն) հայտնաբերվում են նաև լիմֆոցիտներում (Carrasco L. et al.,1996c) և թրոմբոցիտներում: Մեզակարիոցիտներում տեղի է ունենում մասնակի վերարտադրություն (Gomez-Villamandos J. et al.,1996): ԽԱԺՎ-ի վերարտադրությունը մոնոցիտ/մակրոֆագային համակարգի բջիջներում և դրա հետևանքով նրանց մասնակի մեռուկը բերում է բոլոր օրգաններում այս բջիջների պրոլիֆերացիայի, նրանց քանակի ավելացման և արտազատական ակտիվության բարձրացման: Արդյունքում ակտիվացած բջիջների կողմից ձերբագատվում են կենսաբանական ակտիվ միջնորդանյութեր (ՈՒՆԳ-α, ԻԼ-1α, ԻԼ-1β, ԻԼ-6, ԻԼ-8), (Murtaugh M. et al.,1996, Gomez del Moral M. et al.,1999), որոնք ունեն նախաբորբոքային, նախամակարդիչ, նախաապոպտոզային ազդեցություն (Chacon M. et al.,1995; Afonso C. et al.,1996; Brun A. et al.,1996; Revilla Y. et al.,1997; Nogal M. et al.,2001; Rodriguez C. et al.,2002; Zsak L. and Neilan J.,2002; Hurtado C. et al.,2004; Hernaez B. et al.,2004a, 2004b; Fernandez de Marco M. et al.,2007, Galindo I. et al.,2008; Portugal R. et al.,2009): Նրանց ազդեցությամբ առաջանում են հիվանդությանը բնորոշ ախտանշաններ՝ տենդ, անոթային, լիմֆոիդ կառույցների ախտաբանական փոփոխություններ և այլն (Salguero F. et al.,2002): Մասնավորապես, նախաբորբոքային ցիտոկինները, խթանելով սուր փուլի ռեակցիայի, բորբոքման զարգացում, Էնդոթելիային բջիջների ակտիվացում, բերում են անոթային թափանցելիության բարձրացման, անոթային Էնդոթելի մակարդիչ-հակամակարդիչ ակտիվության փոփոխության (Gomez del Moral M. et al.,1999): Արդյունքում տարբեր օրգաններում առաջանում են արյունազեղումներ, Էնդոթելի վնասման հետևանքով տեղի է ունենում թրոմբոցիտների սոսնձում: Այս ֆենոմենը, զուգակցված մակրոֆագերի քայքայման հետևանքով մակարդման համակարգի ակտիվացման հետ, պատճառ է հանդիսանում տարածուն ներանոթային մակարդման համախտանիշի զարգացման, ինչը բնորոշ է ԽԱԺ-ին:

Նախաապոպտոզային միջնորդանյութերը (ՈՒՆԳ-α, մոնոկիններ) բերում են լիմֆոիդ համակարգի ապոպոզային հյուսման, որը դրսևորվում է սուր ԽԱԺ-ին բնորոշ վաղ զարգացող լեյկոպենիայով և մոնոցիտոպենիայով: Ձերբագատված մոնոկինների ազդեցությամբ

լ էյ կոպենհայի առաջացման հավանական պատճառը համարվում է լիմֆոցիտների ապոպտոզը, քանի որ նրանցում վիրուսի վերարտադրության նկարագրված չ է (Salguero F. et al.,2005):

ԽԱԺՎ-ն կապվելով արյան կարմիր բջիջների թաղանթների (Quintero J. et al.,1986) և թրոմբոցիտների (Gomez-Villamandos J. et al.,1996) հետ՝ առաջացնում է հեմադսորբցիայի ֆենոմեն: Վարակված մոնոցիտ/մակրոֆագային բջիջները շրջապատվում են էրիթրոցիտներով, որը նպաստում է վիրուսի տարածմանը: Հեմադսորբցիան ապահովվում է հատուկ սպիտակուլներով (Galindo I. et al.,2000):

Սուր ԽԱԺ-ի ախտաբանության ուշ փուլերում դիտվող թրոմբոցիտոպենիայի ախտածնության հիմքում ընկած է ոսկրածուծի արյունաստեղծ բջիջների ախտահարումը՝ նրանցում վիրուսի վերարտադրության հետևանքով (Villeda C. et al., 1993a,b): Հիվանդության ախտածնության մեջ վիրուսի փոխազդեցությունը բջջային այլ աբուլյացիների հետ երկրորդային է (Blome S. et al.,2012):

Այսպիսով, վերոհիշյալ ախտածագումնաբանական մեխանիզմներով զարգացող սուր և ենթասուր ԽԱԺ-ին բնորոշ ախտաբանական փոփոխությունները՝ կախված վիրուսի վիրուլենտությունից և տիպից, բնութագրվում են արտահայտված հեմոռագիաներով (Gomez-Villamandos J. et al.,2003) և լիմֆոիդ հյուսվածքի ախտահարմամբ: Հիվանդության ընթացքում հիմնական ախտահարումները զարգացնում են փայծաղում, ավշահանգույցներում, երիկամներում և սրտում (Sachez Botija C., 1982): ԽԱԺ-ի սուր ձևի դեպքում զարգացող ախտանշանները կարող են դրսևորվել հետևյալ կերպ. փայծաղը կարող է լինել մեծացած, մուգ բալագույն, արյունազեղումներով, փխրուն խսաստիճանով (Carrasco L. et al.,1995,1997a; Straw B.E.,et al.,1999; Salguero F. et al.,2002; Gomez-Villamandos J. et al.,2013), ավշահանգույցները՝ արյունազեղված, այտուցված, փխրուն, երբեմն նման մուգ կարմիր հեմատոմաների (Carrasco L. et al.,1997b; Копѡаков Д.В.,2012): Երիկամների ախտահարումը բնորոշվում է հեմոռագիաներով (Gomez-Villamandos J. et al.,1995a, 1995b), կետային արյունազեղումներով (Sierra M. et al.,1989): Որոշ դեպքերում դիտվում է արտահայտված հիդրոպերիկարդիտ, որը զուգակցվում է էնդոկարդի և էպիկարդի արյունազեղումներով:

Սուր խձ-ի դեպքում կարող են դիտվել նաև այլ ախտահարումներ. այն է որովայնի, կոնքի, կրծքավանդակի խոռոչներում հեղուկի կուտակում, թոքերում արյունալեցումներ, մարսողական համակարգում այտուցներ, արյունազեղումներ, լյարդի, լեղապարկի, ուղեղաթաղանթների և ուղեղի ախտահարումներ (Aeias M. et al.,1986):

Խձ-ին բնորոշ հյուսվածաբանական փոփոխությունները դրսևորվում են գլխավորապես լիմֆոիդ հյուսվածքի ախտահարմամբ, նրա զանգվածային կարիոռեքսիսով: Անոթների պատերում՝ առավելապես լիմֆոիդ հյուսվածքի, էնդոթելի մեռուկի և բորբոքային ցիտոկինների ձերբազատման հետևանքով առաջանում են ֆիբրինոիդ փոփոխություններ: Մյուս փոփոխություններն են ինտերստիցիալ թոքաբորբը՝ ֆիբրինի և մակրոֆագերի ներդրմամբ, երիկամային խողովակներում հիալինային ապաճը, լյարդի դճերակային համակարգի ներսփռումը մակրոֆագերով, և լիմֆոցիտային մենինգոէնցեֆալիտը (Penrith M.L. et al.,2009b):

Խձ-ի դեպքում իմունիտետը ապահովվում է հակա-Խձ-ի հակամարմիններով, որոնք շիճուկում հայտնաբերվում է կլինիկական ախտանշանների ի հայտ գալուց 7-12 օր հետո և պահպանվում են երկար ժամանակ: Թեև հակամարմինները լիովին չեն պաշտպանում վարակից, այնուամենայնիվ որոշակի իմունիտետ են ապահովում վիրուսի նմանատիպ սերոտիպերի նկատմամբ: Ներկայումս Խձ-ի դեմ արդյունավետ պատվաստանյութեր չկան (Penrith M.L. et al.,2009b):

Խձ-ի ախտորոշման և տարբերակման (խոզերի դասական ժանտախտից, Էրիսիպելասից) համար կիրառվում են ուղղակի իմունոֆլյուրեսցենցիայի (Bool P. et al., 1969), հեմադսորբցիայի (Malmquist W.A. & Hay D.,1960; Enjuanes L., 1976) թեստերը և պոլիմերազային շղթայական ռեակցիայի մեթոդը (Aguero M. et al.,2003, 2004; King D. et al., 2003):

1.3 Փայծաղի ախտահարումը սուր Խձ-ի դեպքում

1.3.1 Փայծաղի կառուցվածքը և էրիթրոսրեզը փայծաղում

Փայծաղը լինելով իմունային համակարգի և արյան ֆիլտրացիայի գլխավոր օրգան, ունի իմունոլոգիական (անտիգենային

ռեկոգնիցիա) և արյունաստեղծ (գլխավորապես Էրիթրոցիտների, թրոմբոցիտների արտադրություն, պահեստավորում) նշանակություն:

Խոզերի փայծաղը տեղակայված է որովայնի ձախ կրանիալ հատվածում, ունի երկարավուն ձև, մուգ կարմիր գույն: Արտաքինից պատված է նուրբ ֆիբրոէլաստիկ պատիճով, որը մխրճվելով պարենխիմի մեջ առաջացնում է խորոցներ: Ռետիկուլային թելերի վրա հենված պարենխիմը բաղկացած է սպիտակ և կարմիր կակղաններից: Սպիտակ կակղանը լիմֆոիդ հյուսվածք է, որը զարկերակների և զարկերակիկների շուրջն առաջացնում է ավշային հանգույցներ (\$ոլիկուլներ)` շուրջզարկերակային ավշային գոտիներով: Ընդ որում խոզերի մոտ զարկերակը տեղակայվում է ավշահանգույցի կենտրոնում: Ավշային հանգույցները բաղկացած են գլխավորապես B-լիմֆոցիտներից, պլազմատիկ բջիջներից, մակրոֆագերից և դենդրիտիկ բջիջներից: Շուրջզարկերակային ավշային գոտիներում հիմնականում առկա են T-լիմֆոցիտներ, ինչպես նաև` որոշ B-լիմֆոցիտներ: Խոզերին բնորոշ առանձնահատկություններից է նաև CD₄⁺ լիմֆոցիտների քանակի գերակշռումը CD₈⁺ լիմֆոցիտների համեմատությամբ:

Կարմիր կակղանը կազմված է փայծաղային ձգաններից, երակային ծոցերից և մազանոթներից: Փայծաղային ձգանները ձևավորվում են մկանաթելերի ցանցից, որոնք հենարանի դեր են կատարում մեծաքանակ մակրոֆագերի, Էրիթրոցիտների, թրոմբոցիտների համար: Խոզերի երակային ծոցերը լայն են, չեն հաղորդակցվում բերանակցումներով, ինչը դյուրին է դարձնում մակրոֆագերի կողմից ֆագոցիտային գործառնության իրականացումը (Spleen Anatomy & Physiology. 2014):

Խոզերի փայծաղի անոթավորումը կատարվում է փայծաղային զարկերակով, որը կանոնավոր ձևով բաժանվում է զարկերակիկների, մազանոթների: Վերջիններս կարող են հաղորդակցվել երակային ծոցերի հետ (արյան փակ շրջանառություն) կամ բաց կերպով ավարտվել փայծաղային ձգաններում (արյան բաց շրջանառություն): Ծոցերից և ձգաններից արյունն անցնում է խորոցային երակների, այնտեղից էլ փայծաղային երակի, ապա` դռներակի մեջ (Spleen Anatomy & Physiology. 2014):

Նյարդավորումը սիմպաթիկ է, և նյարդաթելերը ընթանում են փայծաղային զարկերակների հետ (Spleen Anatomy & Physiology. 2014):

Հետաադմնային շրջանում խոզերի փայծաղը համարվում է արտաոսկրածուծային էրիթրոպոեզի գլխավոր օրգան, քանի որ, ինչպես կարմիր ոսկրածուծում, այստեղ ևս, որոշ ախտաբանությունների դեպքում տեղի է ունենում արյան կարմիր բջիջների տարբերակում և հասունացում:

Ֆիզիոլոգիական էրիթրոցիտոպոեզի ընթացքում տարբերում են բջջային վեց կարգեր: Արյան կարմիր բջիջների ձևավորումը տեղի է ունենում ցողունային ալյուրիպոտենտ հեմոցիտոբլաստներից, որոնք վերածվում են մուլտիպոտենտ, ապա ունիպոտենտ ցողունային բջիջների, որոնցից սկիզբ են առնում պրոնոբլաստներ (հաճախ անվանում են նաև պրոէրիթոբլաստներ կամ ռուբրիբլաստներ): Վերջիններս վերափոխվում են բազոֆիլային կամ վաղ նոբոբլաստների (հաճախ կոչվում են նաև էրիթրոբլաստներ), ապա՝ պոլիքրոմատոֆիլային կամ միջանկյալ նոբոբլաստների, որից հետո՝ օրթոքրոմային էրիթրոբլաստների կամ ուշ նոբոբլաստների: Այս փուլում կորիզներն անհետանում են և բջիջները կոչվում են ռետիկուլոցիտներ, որոնցից էլ առաջանում են կարմիր արյան հասուն բջիջները՝ էրիթրոցիտները (Sherwood L. et al., 2005):

Էրիթրոպոեզի ընթացքում էրիթրոցիտների նախորդ բջիջների փոփոխությունները բնութագրվում են բջիջների չափերի փոքրացմամբ, ցիտոպլազմայի քանակի մեծացմամբ: Բջիջների ներկումը երկնագույնից (բազոֆիլ) փոխվում է վարդագույնի, ապա՝ կարմիրի, որը պայմանավորված է նրանցում ՌՆԹ-ի, ԴՆԹ-ի պարունակության նվազմամբ և հեմոգլոբինի կուտակմամբ: Տեղի է ունենում բջջակորիզի չափերի փոքրացում, հասունացման վերջնական փուլերում նաև կնճռոտում, այնուհետև դուրս մղում բջիջներից՝ սկսած ռետիկուլոցիտային փուլից: Էրիթրոիդ շարքի ոչ հասուն բջիջների կորիզները պարունակում են բաց գույնի փխրուն քրոմատին, որը հասունացման ընթացքում ձեռք է բերում ավելի ամուր խտաստիճան (Jain A. K., 2006-2007):

1.3.2. Փայծաղի մակրո- և միկրոախտահարումը ԻԱԺ-ի դեպքում

Փայծաղի ախտահարումը հԱԺ-ի դեպքում կարող է դրսևորվել տարբեր ձևերով՝ կախված հԱԺ-ի տարատեսակից, վիրուլենտությունից (Carrasco L. et al.,1995): Ախտաբանական փոփոխությունների զարգացումը կախված է նաև հիվանդության ձևից: Այսպես՝ գրականության մեջ նկարագրված դեպքերում սուր հԱԺ-ի ժամանակ փայծաղի մակրոսկոպիկ ախտահարումը կարող է արտահայտվել նրաչափերի մեծացմամբ (սորմայից 6 անգամ և ավելի) կամ առանց դրա (Ganowaik J.,2012), եզրերի կլորացմամբ, գույնի մգեցմամբ (մուգ բալագույնից մինչև սև), արյունալեցումներով, արյունազեղումների, մեռուկների առաջացմամբ, խտաստիճանի փափկեցմամբ (Gomez-Villamandos J.et al.,2013; Salguero F.et al.,2002): Երբեմն ախտահարումը դրսևորվում է ծավալուն մեռուկացմամբ, որն ուղեկցվում է փայծաղի ենթապատիճային արյունազեղումներով (Sanches Botija C.,1982): Ենթասուր հԱԺ-ի դեպքում փայծաղի ախտահարումը համեմատաբար մեղմ է արտահայտված և մակրոսկոպիկ դրսևորվում

է օրգանի մեծացմամբ, արյունազեղումներով (Straw B.E. et al.,1999):

Փայծաղում, ինչպես մյուս լիմֆոիդ օրգաններում, հԱԺ-ի ազդեցությամբ զարգացող հյուսվածաբանական ախտահարումների պատճառը վիրուսի վերարտադրությունն է: Դրա հետևանքով տեղի է ունենում մակրոֆագային բջիջների պրոլիֆերացիա, ապա նրանց մեռուկացում: Ձերբազատվող միջնորդանյութերի ազդեցությամբ, ինչպես նաև անմիջականորեն վիրուսային վերարտադրության պատճառով տեղի է ունենում անոթային էնդոթելի վնասում, մակարոֆիչ-հակամակարոֆիչ համակարգի հավասարակշռության խանգարում, լիմֆոիդ բջիջների ապոպոզ: Ախտահարման սկզբնական շրջանում մակրոֆագերի պրոլիֆերացիան և նրանց կողմից ձերբազատված ցիտոկինները (ՌԵՆԳ- α , ԻԼ-1 α , ԻԼ-1 β , ԻԼ-6, ԻԼ-8) բերում են անոթային էնդոթելի վնասման, անոթային թափանցելիության բարձրացման, որի հետևանքով փայծաղի կարմիր կակղանը լցվում է մեծ քանակությամբ էրիթրոցիտներով, ֆիբրինային ներառուկներով և քայքայված բջջային մնացորդներով: Սա դրսևորվում է հեմոռագիկ սալենիտով և սալենոմեգալիայով, սափտակ կակղանի ավշահանգույցների պրոլիֆերացիայով, փայծաղի միկրոկառուցվածքի ձևախախտմամբ (Salguero F.J.,2002): ԽԱԺ-ի ժամանակ վիրուսային վարակի արդյունքում անոթային էնդոթելի բջիջների

առաջնային և երկրորդային ախտահարման հետևանքով մակարդման գործոնների ձերբագատումը պատճառ է դառնում օրգանում միկրոմակարդուկների, արյունազեղումների առաջացման, մահացած էպիթելային բջիջների կուտակման (Straw B.E et al.,1999):

Հիվանդության առաջադիմությանը զուգընթաց վիրուսային վերարտադրության հետևանքով ավելանում է փայծաղային ֆիբրոսած մակրոֆագերի մեռուկացումը (Carrasco L.et al.,1997a): Ապրապոզային ցիտոկինների ազդեցությամբ փայծաղի սպիտակ կակաղանի T-լիմֆոցիտների ծրագրավորված մահվան պատճառով նվազում է վերոհիշյալ բջիջների քանակը (Oura C.A. et al.,1998a,b; Carrasco L.et al.,1996d), որը դրսևորվում է ավշահանգույցների ապառով (ռեդուկցիայով), լիմֆոցիտների կարիոափկնոգով և կարիոռեքսիսով: Արյունալեցված օրգանի պարենխիմում էրիթրոցիտների քայքայման հետևանքով տեղի է ունենում հեմոսիդերինի կուտակում արյունազեղման օջախներում:

Այսպիսով՝ սուր հԱԺ-ի դեպքում փայծաղի հյուսվածաբանական ախտահարումը

դրսևորվում է սկզբնական շրջանում ավշահանգույցների հիպերալազիայով, ապա՝ նրանց ռեդուկցիայով, լիմֆոցիտների կարիոափկնոգով և կարիոռեքսիսով, ինչպես նաև տարածուն արյունազեղումներով և հեմոսիդերինի կուտակումներով:

հԱԺ-ի ազդեցությամբ փայծաղում զարգացող ձևաբանական և հյուսվածաբանական փոփոխությունները և նրանց ախտածագումն ուսումնասիրելու նպատակով կատարվել են բազմաթիվ հետազոտություններ (Konno S. et al.,1972; Carrasco L.,1997a; Childerstone A., Takamatsu H., et al.,1998; Oura C.A. et al.,1998a,b; Salguero F.J.,2002; Ganowiak J.,2012): Այսպես՝ փորձարարական նպատակով հԱԺ-ի վիրուսով վարակված 38 խոզերի մոտ ուսումնասիրվել է փայծաղի ախտահարման համեմատական բնութագիրը հիվանդության սուր, ենթասուր և քրոնիկ ընթացքների դեպքում (Konno S.et al.,1972): Սուր հԱԺ-ին բնորոշ ախտաբանական փոփոխություններն են ավշային հյուսվածքի տարածուն դեգեներացիան (ձևախախտումը), կակղանի խիստ հիմպերեմիան, հեմոռագիան, որոնք ուղեկցվում են անոթների պատերի դեգեներացիայով: Առկա է սալ ենոմեգալիա: Ենթասուր ձևին բնորոշ է փայծաղի կակղանում ավշային հյուսվածքի ատրոֆիան և միելոիդ բջիջների բազմաթիվ օջախների ձևավորումը: Քրոնիկ ձևի

դեպքում ավշային հյուսվածքի դեգեներացիան և ատրոֆիան պակաս են արտահայտված, քան ենթասուր ձևի դեպքում: Հիվանդության 3 ձևերի ընթացքում էլ նկատվում է ռետիկուլոէնդոթելային և բազոֆիլային բջիջների արոլիֆերացիա:

Փայծաղի մակրոսկոպիկ հետազոտությունը փորձարական պայմաններում խԱԺՎ-ի խիստ վիրուլենտ Spain-70 շտամով մոդելավորված խԱԺ-ի սուր ձևի դեպքում ցույց է տվել խԱԺ-ին բնորոշ հեմոռագիկ սպլենոմեգալիա վարակումից 2 օր անց: Այն առաջադիմում է հիվանդության զարգացմանը գուգընթաց: Փայծաղի կարմիր կակղանը լցվում է էրիթրոցիտներով, ֆիբրինային ներառուկներով և քայքայված բջջային մնացորդներով: Սկսած վարակման երրորդ օրվանից փայծաղային ավշակծիկներում (\$ոլիկուլներում) խիստ պակասում են լիմֆոցիտները: Վարակման երկրորդ օրվանից եզրային գոտում, կարմիր կակղանում և ավշային հանգույցներում ավելանում է մակրոֆագերի քանակը (Salguero F.J., 2002):

Բնական պայմաններում Ուգանդայի երկու տարբեր աշխարհագրական շրջաններում`

Միտյանայում և Գուլույում, բռնկված խԱԺ-ի սուր և քրոնիկ ձևերով վարակված

երեքական խոզերի հետազոտության արդյունքում պարզվել է, որ հիվանդության բռնկման պատճառը գենոտիպ IX վիրուսն է, որը կարող է առաջացնել ինչպես սուր, այնպես էլ քրոնիկ խԱԺ: Մակրոսկոպիկ և միկրոսկոպիկ եղանակով համեմատելով տվյալ գենոտիպով վարակված խոզերի մոտ զարգացող ախտաբանական փոփոխությունները հիվանդության սուր և քրոնիկ ձևերի, ինչպես նաև խոզերի դասական ժանտախտի դեպքում զարգացող ախտանշանների հետ, եզրակացրել են, որ հիվանդության սուր ձևը Միտյանայի բոլոր խոզերի մոտ նկարագրվել է բնորոշ ախտանշաններով: Հյուսվածաբանորեն փայծաղը արյունալեցված է, սակայն մակրոսկոպիկ միայն մեկ խոզի մոտ է եղել մեծացած: Մանրազննմամբ փայծաղի կարմիր և սպիտակ կակղաններում նկարագրվել են արյունահոսական (հեմոռագիկ) մեռուկներ` ավշային հյուսվածքի խիստ հյուծմամբ և լիմֆոցիտների քայքայմամբ (Ganowiak J., 2012):

ԽԱԺՎ-ի նկատմամբ խոզի բջիջների տրոպիզմի և տարբեր օրգաններում առաջացող ախտաբանական փոփոխությունների

համեմատական ուսումնասիրության համար կատարվել է ԽԱԺ-ի վիրուսի լետալ (Malawi) և սուբլետալ (Malta) իզոլյատներով վարակում (Oura C.A. et al., 1998a): Փորձարարական վարակումից հետո վիրուսի երկու իզոլյատներն էլ գերազանցապես տեղակայվել են մոնոնուկլեար ֆագոցիտային համակարգի բջիջներում և չեն հայտնաբերվել ավշային հյուսվածքում, Էնդոթելային բջիջներում: Վիրուսը ենտ Malawi իզոլյատով վարակված խոզերի մոտի տարբերությունն պակաս վիրուս ենտ Malta իզոլյատով վարակված խոզերի՝ ավշային հյուսվածքում խիստ արտահայտված են եղել մեծ քանակությամբ մակրոֆագերի ախտահարմամբ պայմանավորված քայքայման գործընթացները, բջջային տարերի անհետացումը: Նկարագրվել է լիմֆոցիտների համընդհանուր քայքայում: Փայծաղում վարակման 3-րդ օրվանից դիտվել է սպիտակ և կարմիր կակաղանների B- և T- լիմֆոցիտների ապոպոզ: Սակայն շուրջ զարկերակային ավշային գոտու T-բջիջները գենետիկորեն ծրագրավորված մահվան են ենթարկվել ավելի ուշ՝ վարակումից հետո 5-7-րդ օրերերի ընթացքում: Ավշային հանգույցներում T-լիմֆոցիտների ապոպոզը նկատվել է վարակման 4-րդ օրվանից վաղ, իսկ B-լիմֆոցիտներով փոխարինումը՝ ավելի ուշ: Malta իզոլյատով վարակված կենդանիների մոտ վիրուսի պերսիստենցիա հայտնաբերվել է ավշահանգույցներում և նշագեղձերում վարակումից 48 ժամ անց: Այն տեղակայված է եղել ավշահանգույցների կեղևային մասում վարակումից 32 օր հետո (Oura C.A. et al., 1998b): Հետաքրքրական են սույն աշխատանքում փայծաղի մորֆոմետրիկ վերլուծության արդյունքները, որտեղ ախտահարված բջիջների քանակը ներկայացվում է հիվանդության դինամիկայում ըստ օրերի (2-7-րդ օրեր):

Փորձարարական վարակման (Malawi և Malta իզոլյատներով) դեպքում ախտահարված բջիջների քանակը պայմանականորեն արտացոլվում է +/- նշաններով (առավելագույնը՝ +++) հյուսվածքի 30մմ² կտրվածքում, վարակման 4-րդ և 7-րդ օրերին: Փայծաղի կարմիր կակաղանի մակրոֆագերի ախտահարումը առավելագույնի է հասնում Malawi -ի դեպքում 4-րդ օրը (++++), ապա քիչ նվազում է 7-րդ օրը (+++): Սպիտակ կակաղանի մակրոֆագերի ախտահարումը 4-րդ օրը + է, 7-րդ օրը՝ ++: Malta-ի դեպքում կարմիր կակաղանում 4-րդ և 7-րդ օրերին ++ է, իսկ

սպիտակ կակղանում՝ բացակայում են (-): ԽԱԺ-ի վիրուսի Malawi'83 շտամով մեկ այլ փորձարարական վարակման պայմաններում (Carrasco L.,1997a) դարձյալ ուսումնասիրվել են փայծաղի ձգաններում ախտաբանական փոփոխությունները հիվանդության դինամիկայում: Փորձարարական վարակման ենթարկվել են 8 խոզեր, իսկ ստուգիչ նպատակով օգտագործվել 2 չվարակված խոզեր: Վարակումից հետո 1, 3, 5 և 7-րդ օրերին սպանդի են ենթարկվել 2-ական խոզեր, որոնցից վերցվել է հետազոտության նյութ: Վարակված խոզերի փայծաղային ձգանների մանրազննությամբ հայտնաբերվել են մկանային բջիջներին հաված վիրուսային վերարտադրությամբ բազմաթիվ մակրոֆագեր: Վիրուսի ցիտոպաթիկ ազդեցությունը դիտվել է վարակումից 3 օր հետո: Վարակման 5-րդ օրվանից փայծաղային ձգանները պարունակել են մեծ քանակությամբ էրիթրոցիտներ, որոնք միացած են եղել ֆիբրինային ներառուկների հետ: Էրիթրոցիտները գլխավորապես շրջապատել են մկանային բջիջները, որտեղից մակրոֆագերն անհետացել են: Փայծաղային ձգանների մակրոֆագերում տեղի ունեցող վիրուսի վերարտադրությունը բերել է ցիտոպաթիկ ազդեցության, որն էլ պատճառ է հանդիսանալ ֆիբրինի ներդրման:

Վիրուսի տարբեր իզոլյատներով (Malawi և Malta) հարուցված ԽԱԺ-ի դեպքում կատարվել են փայծաղի ուսումնասիրություններ՝ օրգանի հյուսվածքային կտրվածքներում ախտաբանական փոփոխությունների, ապոպոզի և VP73-ի տեղակայման համեմատական նկարագիրը տալու համար (Oura C.A. et al.,1998a,b): Փայծաղի կտրվածքներում ուսումնասիրելով ԽԱԺ-ի վիրուսի վիրուսային պրոտեին VP73-ը՝ ցույց է տրվել, որ ԽԱԺ-ի E-75 շտամով փորձարարական վարակման և բնական ճանապարհով վարակված խոզերի մոտ հիվանդության զարգացմանը բնորոշ են սուր, ենթասուր և քրոնիկ ձևերին համապատասխան ախտանիշերի առաջացումը: Կիրառելով ավիդին-բիոտին-ափրօքսիդազ և ալկալին-ֆոսֆատազ համակցված բիոտին ստրեպտավիդին իմունոհիստոքիմիական մեթոդները և մոնոկլոնային հակամարմիններ՝ VP73-ը ուսումնասիրվել է նաև անախտանիշ շճադրական խոզերի մոտ վարակումից հետո 7-րդ, 10-րդ և 12-րդ օրերին: Հետազոտվել են փայծաղի կարմիր և սպիտակ կակղանների մակրոֆագերում,

մոնոցիտներում, նեյտրոֆիլներում և բջջային քայքայված մնացորդներում VP73-ը մոնոկլոնային հակամարմիններն էլ ուտիևի կիրառման պայմաններում և առանց դրա (Perez J. et al.,1994): Վիրուսային պրոտեին VP73-ը ուսումնասիրված է նաև շճադրական վայրի խոզերի փայծաղի և ավշային հանգույցների հյուսվածքային կտրվածքներում (Perez J. et al.,1998):

Փայծաղի բջիջներում վիրուսի ազդեցությամբ (չափավոր վիրուլենտ Malta իզոլյատով վարակման դիսամփկայում), բջջային տարրերի ախտահարման բնույթը բացահայտելու համար ուսումնասիրվել է օրգանի կրիոկտրվածքներում T- և B-լիմֆոցիտների տեղակայումը: Հետազոտվել է նաև խԱԺ-ի վիրուսի առկայությունը ընդհանրապես և լիմֆոիդ հյուսվածքներում (արյան, փայծաղի, ենթաձևոտային ավշային հանգույցների, նշագեղձերի), վարակումից հետո 45 օրերի ընթացքում (Oura C.A.,1998b): ԽԱԺ-ով վարակված փայծաղի և ավշային հանգույցների կտրվածքներում վիրուսով ախտահարված բջիջների հայտնաբերումը կատարվել է իմունահյուսվածաբանական մեթոդով: Հետաքրքրական է, որ անուղղակի իմունոալկալին ֆոսֆատազայի մեթոդով, օգտագործելով մոնոկլոնալ հակամարմիններ (MoAb), հայտնաբերված բջիջները ռեակտիվ են Լեյկոցիտների տարբեր տարատեսակների նկատմամբ: Ուղղակի իմունոպրոքսիդազային մեթոդով՝ օգտագործելով խոզի իմունոգլոբուլին G (IgG) հակա-ԽԱԺ անտիգեններ, T-հելփեր և T-ցիտոտոքսիկ/սուպրեսոր Լիմֆոցիտներում ԽԱԺ չի հայտնաբերվել: Մինչդեռ վիրուս հայտնաբերվել է այն հյուսվածքային մակրոֆագերում, որոնք փոխազդել են տարբեր մոնոկլոնային հակամարմինների հետ (74-22-15, C₄, A₇ և F₂): Մեծ թվով T-հելփեր Լիմֆոցիտներ, որոնք փոխազդել են MoAb 74-12-4-ի հետ, հայտնաբերվել են ախտահարված փայծաղի եզրային գոտում: Ախտահարված ավշային հանգույցներում, այսպիսի բջիջներ հայտնաբերվել են քիչ քանակությամբ: MoAb-76-2-11-ների հետ փոխազդած բջիջներն (T-ցիտոտոքսիկ/սուպրեսոր Լիմֆոցիտներ) ավելի պակաս են ներկվել ախտահարված փայծաղում և ավշային հանգույցներում, քան չախտահարված օրգաններում (Minguez I. et al.,1988):

Ուսումնասիրելով առողջ և խոզերի աֆրիկյան ժանտախտի վիրուսի խիստ վիրուլենտ Lխսբոն 60 (L60) և չափավոր վիրուլենտ Դոմենիկյան Յանրապետության (DR-II) իզոլյատներով վարակված խոզերի փայծաղի սառեցված հյուսվածքային կտրվածքները՝ բացահայտել են վիրուսային և հյուսվածքային համատեղելիության գլխավոր կոմպլեքսի (MHC) անտիգենները, ինչպես նաև T-լիմֆոցիտների, մակրոֆագերի տեղակայումը: L60 իզոլատով վարակված խոզերի փայծաղային կտրվածքներում մակրոֆագերի ներկումը պակաս է, մինչդեռ DR-II-իզոլյատով վարակված կենդանիների մոտ հայտնաբերվում է զարկերակային գոտու մակրոֆագերի ինտենսիվ ներկում: MHC I և II դասի գենների էքսպրեսիան ընկճված է երկու իզոլյատներով վարակված խոզերի փայծաղում վարակումից 3 օր հետո: L60-ով վարակված խոզերի փայծաղային կտրվածքներում եզրային գոտու լեյկոցիտային անտիգենի (SLA) ավելացում դիտվում է միայն վարակման 6-րդ օրը: Ենթադրվում է, որ ԽԱԺ-ի վիրուսով վարակման ընթացքում անտիգենի վերականգնումը կապված է փայծաղային մակրոֆագերի պահպանմամբ և վերատեղաբաշխմամբ՝ խթանելով իմուն պատասխան վիրուսի դեմ (Gonzalez-Juarrero M. et al., 1992):

Պարզվել է, որ խոզերի աֆրիկյան ժանտախտի վիրուսով (վիրուլենտ E-75) վարակմամբ դեպքում առաջանում է միտոգենների նկատմամբ սալենոցիտների պատասխան տալու հնարավորության կորուստ կամ նկատելի ընկճում: Այս հետազոտությամբ ներկայացված է CD₄⁺ և CD₈⁺ T-լիմֆոցիտների միտոգեններով խթանված պրոլիֆերատիվ հնարավորությունը: Յամանման ձևով, ինչպես անտիգեն ներայացնող բջիջները, մոնոցիտներն, որոնք ուղղակիորեն վարակվում են վիրուսով, կորցնում են իրենց բնականոն գործառնությունը, երբ ավելացնում են միտոգենով խթանված նորմալ T-բջիջներ: Յետաքրքրական է, որ որոշ T-բջիջներ, որոնք թույլ են արձագանքել միտոգենների ազդեցությանը, կարող են ակտիվանալ CD₃ ընկալիչների ակտիվացմամբ: Ի տարբերություն T-բջիջների աղավաղված միտոգենային պատասխանի, B-բջիջների գործառնությամբ՝ միջնորդավորված CD40 լիգանդով, *in vitro* մնում է անփոփոխ: ԽԱԺ-ի վիրուսով վարակված կենդանիների մոտ վարակման 1-5-րդ օրերի ընթացքում փայծաղում T- և B-լիմֆոցիտների

ապրապոզի մասին ապացույցներ չկան: Այնինչ հիվանդության առաջադիմությանը զուգընթաց ախտահարված փայծաղում նկատվում է լեյկոցիտների քանակի կտրուկ նվազում: Որոշ բջջային ֆենոտիպերի համամասնությունը մնում է հաստատուն: ԽԱԺՎ-ով վարակված կենդանիների լիմֆոիդ հյուսվածքում լիմֆոցիտների ակտիվության ընկճումը բացատրվում է մոնոցիտների ուղղակի ախտահարմամբ (Childerstone A., Takamatsu H. et al.,1998):

Կատարվել է նաև հղի խոզերի փորձարարական վարակում ԽԱԺՎ-ի գենոտիպ II (Վրաստանում 2007 թ.-ին հայտնաբերված) իզոլյատի բարձր դոզայով ($10^{4.3}$ TCID₅₀ մ/մ): Փորձի արդյունքում 3 կենդանիներից 2-ը մահացել են մինչ կլինիկական ախտանշանների առաջացումը: Բոլոր կենդանիների մոտոդիտվել է արյան մեջ և լիմֆոիդ օրգաններում վիրուսի բարձր քանակություն, ավշային հյուսվածքի հյուսվածում: Աշխատանքում եզրակացնում են նաև, որ հիվանդության ընթացքում հնարավոր է վերտիկալ փոխանցում, սակայն ոչ արտահայտված (Louise L. et al.,2014):

Հայտնի է, որ միշտաբ վարակներին բնորոշ է օրգանիզմի կողմից համակարգային բորբոքային պատասխանի համախտանիշի զարգացումը (Bone R.C. et al.,1992): Սամի համախտանիշ է, որի ընթացքում իթիվս միշտաբ կլինիկական ախտանշանների, տեղի է ունենում նաև նախաբորբոքային ցիտոկինների (ԻԼ-1, ԻԼ-6, ՈԲԵԳ-α, և այլն) գերարտադրություն, որը գրականության մեջ հայտնի է որպես հիպերցիտոկինեմիա կամ «ցիտոկինային գրոհ»: Ինչպես խոզերի դասական ժանտախտի (Hüsser L.,2012; Summerfield A.,2006), այնպես էլ աֆրիկյան ժանտախտի դեպքում տեղի է ունենում ակտիվացված մոնոցիտ/մակրոֆագային համակարգի բջիջների կողմից ձերբագատվող կենսաբանական ակտիվ միջնորդանյութերի համակարգային գերարտադրություն՝ հիպերցիտոկինեմիան, որն ընկած է վերոհիշյալ ախտաբանությունների ախտածագման հիմքում (Choi C.,2004; Sánchez-Cordón P.J.,2005):

Սուր ԽԱԺ-ի դեպքում կենսաբանական ակտիվ միջնորդանյութերի տեղային և համակարգային արտադրության և նրանց բազմաբնույթ ախտաբանական ազդեցության ուսումնասիրման նպատակով կատարվել են հետևյալ հետազոտությունները: Խոզերի փայծաղային ձգաններում, եզրային գոտում, ավշային ֆոլիկուլներում

իմունոհիստոքիմիական մեթոդով ուսումնասիրվել են վիրուսի p73 պրոթեինի բջիջների, ինչպես նաև փայծաղի վերոհիշյալ կառույցներում ԻԼ-1 β և ՌԴԳ α պրոթեինի բանակական փոփոխությունները վարակումից հետո 1-7-րդ օրերի ընթացքում (Salguero F.L.,2002): Մեկ այլ հետազոտության ընթացքում փայծաղում, երիկամային և ստամոքսային ալշահանգույցներում հայտնաբերվել են նախաբորբոքային մոնոկլինների, միաժամանակ արյան շիճուկում ՌԴԳ α -ի և ԻԼ-1 β -ի մակարդակների բարձացում: Հայտնաբերվել է, որ ցիտոկինների քանակի ավելացումը տեղի է ունեցել վիրուսային սպիտակուց p73-ի ավելացման հետ միաժամանակ: Հայտնի է, որ մոնոնուկլեար ֆագոցիտային համակարգի բջիջների ակտիվացման արդյունքում ձերբագատված այս ցիտոկինները կարող են խթանել լիմֆոցիտների ապոպոզը և առաջացնել հեմոդինամիկ խանգարումներ: Մասնավորապես փայծաղում, լյարդում, ալշային հանգույցներում, ավելույին մակրոֆագերում, ծայրամասային արյան մոնոնուկլեար բջիջներում RT-PCR մեթոդով ՌԴԳ α -ի մ-ՌՆԹ-ի ուսումնասիրությունը ցույց է տվել, որ վերջինիս տրանսկրիպցիա փայծաղում և նշված օրգաններում դիտվում է վարակումից 2-3 օր հետո, որը համապատասխանում է այդ օրգաններում վիրուսային պրոտեիններ p30-ի և p54-ի ի հայտ գալուն (Gomez del Moral M. et al.,1999): Սուր ԽԱԺ-ի դեպքում փայծաղի կարմիր կակղանում ՌԴԳ α -ի բարձր մակարդակն ուղեկցվում է շուրջ զարկերակային ալշային գոտիներում լիմֆոցիտների ինտենսիվ ապոպոզով (Nagata S.,1997):

Այսպիսով՝ բնական և փորձարարական վարակմամբ հարուցված ԽԱԺ-ի դեպքում ուսումնասիրվել են վիրուսի տարբեր իզոլյատների ազդեցությամբ փայծաղում զարգացող ախտաանատոմիական, ախտահյուսվածաբանական, իմունաբանական տեղաշարժերը: Հետազոտվել են օրգանի մակրո- և միկրոախտահարումների համեմատական առանձնահատկությունները հիվանդության տարբեր ձևերի (սուր, ենթասուր, քրոնիկ), ինչպես նաև խոզերի դասական ժանտախտի դեպքում: Սակայն ԽԱԺ-ի (գենոտիպ II) դեպքում զարգացող փայծաղի բջջային կազմի, մասնավորապես էրիթրոիդ բջիջների քանակական, ձևաբանական և որակական փոփոխությունները

(պրպուլյացիոն, բջջային և ենթաբջջային մակարդակներում) հիվանդության դինամիկայում, ինչպես նաև այդ փոփոխությունների զարգացման մոլեկուլային մեխանիզմները դեռևս ուսումնասիրված չեն:

1.4 Կարմիր ոսկրածուծի առաջնային կուլտուրան ԽԱԺՎ-ի ազդեցությամբ

1.4.1 Առաջնային կուլտուրա

Բջջային կուլտուրան բջիջների աճեցումն է համապատասխան արհեստական միջավայրում՝ որոշակի վերահսկվող պայմաններում: Առաջնային կուլտուրան (ԱԿ) բջջի կամ հյուսվածքի բնական աղբյուրից անմիջականորեն արհեստական միջավայր տեղափոխմամբ ստացված կուլտուրան է: ԱԿ-ի համար անհրաժեշտ բջիջներ կարելի է ստանալ դրանք ուղղակիորեն անջատելով հյուսվածքներից՝ օգտագործելով արտաբջջային հենքի քայքայման ֆերմենտային, քիմիական, մեխանիկական մեթոդներ, կամ արդեն պատրաստի բջջային գծերից: Կուլտիվացման պայմանները, արհեստական միջավայրի բաղադրությունը՝ կախված կուլտիվացվող բջիջների տեսակից, տարբեր են. պարունակում են անհրաժեշտ սննդային նյութեր (ամինաթթուներ, ածխաջրեր, վիտամիններ, հանքային աղեր), ածի գործոններ, հորմոններ, գազեր (O_2 , CO_2), միջավայրի ֆիզիկաքիմիական ցուցանիշների (pH, օսմոտիկ ճնշում, ջերմաստիճան) կարգավորիչներ (Тартаковский А.Д., 1988; Фрешни Р., 1989):

Առաջնային կուլտուրայում առաջնային բջիջները ձևաբանորեն նման են մայրական բջիջներին: Նրանց բնորոշ է որոշակի սահմանափակ թվով բաժանումը՝ պայմանավորված Յելֆիկի թվով, սննդանյութերի առկայությամբ և կուլտուրայի ֆիզիկաքիմիական պայմաններով (ATCC® Primary Cell Culture Guide, 2012): Առաջնային բջիջները որոշակի թվով բաժանումներից հետո անցնում են ոչ պրոլիֆերատիվ փուլ և ի վերջո մահանում: Կախված բջջի տարատեսակից՝ ԱԿ-ում նրանք աճում են կարծր սուբստրատի վրա կաշուի միաշերտ ձևով (ադիպոցիվ՝ Ա-բջիջներ) կամ կախույթում: Ադիպոցիվ առաջնային բջիջներն առանձնահատուկ զգայուն են հպումային արգելափակման նկատմամբ, այսինքն նրանք դադարում են աճել, երբ ամբողջովին սփռվում են կուլտիվացման տարայի

մակերեսին: Կուլտուրայում ցածր խտության դեպքում Ա-բջիջներին պահպանում են իրենց բնորոշ ֆենոտիպը (ATCC® Primary Cell Culture Guide, 2012):

Կախույթում բջիջները կարող են գոյատևել և բազմանալ առանց սուբստրատին ամրանալու: Արյունաստեղծ բջիջները (ստացված արյունից, փայծաղից, ոսկրածուծից և այլն), ինչպես նաև որոշ ձևափոխված բջջային գծերը և քաղցկեղային բջիջները կուլտիվացվում են կախույթի ձևով (ATCC® Primary Cell Culture Guide, 2012):

ԱԿ-ն կիրառվում է տարբեր բջջաբանական, իմունաբանական, վիրուսաբանական հետազոտությունների իրականացման, որոշակի բուժական (Lambrecht J.T. et al.,1996) նպատակներով:

1.4.2 Ոսկրածուծի առաջնային կուլտուրա

Կարմիր ոսկրածուծի կամ պարզապես ոսկրածուծի առաջնային կուլտուրան (ՈԱԿ) ոսկրածուծի բջիջների *in vitro* կուլտիվացումն է արհեստական միջավայրում: Այն համապատասխան մոդել է հեմո- և իմունոպոետիկ բջիջների մորֆոլոգիական, ֆիզիոլոգիական և տարբերակման առանձնահատկությունների փորձարարական ուսումնասիրությունների համար, ինչպես ֆիզիոլոգիական, այնպես էլ ախտաբանական տարաբնույթ փոփոխությունների դեպքում (Dexter T.M. et al.,1977; Diamandopoulos G.T. et al.,1994): Օգտագործելով ոսկրածուծի պրոլիֆերացիայի լայն հնարավորություններ ունեցող բլաստային բջիջների ԱԿ-ի ստացման մեթոդը՝ *in vitro* ուսումնասիրվել են մարդու արյունաստեղծման գործընթացը (Brandt J. et al.,1988), Էրիթրոիդ բջիջների ձևավորման համար անհրաժեշտ միջավայրի որոշակի պայմանների (տրասնֆերին, ալբումին, Էրիթրոպոետին) առկայությունը (Dainiak N. et al.,1985), ոսկրածուծի միկրոմիջավայրի բաղադրիչներ հանդիսացող ադիպոցիտների տարբերակումը և նրանց կողմից արտադրվող լեպտին հորմոնի ազդեցությունը արյունաստեղծման գործընթացի վրա (Laharrague P. et al.,1998) և այլն: Առնետների ոսկրածուծի ԱԿ-ի ստացման միջոցով, ուսումնասիրվել է մեխանիկական խթանման նկատմամբ կուլտուրայի բջիջների բիոքիմիական պատասխանը (Yoshikawa T. et al.,1997): Ուսումնասիրված են մեզենքիմային ցողունային բջիջների անջատման

առանձնահատկությունները մկների ոսկրածուծի ցածր խտությամբ ԱԿ-ի ստացման միջոցով (Eslaminejad M.B et al.,2006), ինչպես նաև ոսկրածուծի ԱԿ-ում հեմոպոետիկ բջիջների մորֆոլոգիական առանձնահատկությունները: Խոզերի ոսկրածուծի ԱԿ-ի ստացման միջոցով ուսումնասիրվել է խոզերի ուսկրածուծից ստացված մեզենքիմային ցողունային բջիջների բնույթը և *in vitro* օստեոբլաստային տարբերակման հնարավորությունը, որն իրականանում է յուրահատուկ գենային ակտիվությամբ կարգավորմամբ (Zou L.N.,Feng W.,2007): Հայտնի են խոզերի ադիպոցային հյուսվածքի և ոսկրածուծի մեզենքիմային ցողունային բջիջների *ex vivo* կուլտիվացման առանձնահատկությունները, ոսկրածուծի մեզենքիմային ցողունային բջիջների անջատմամբ խոնդրոգենային ռեզեներացիայի իրականացման հնարավորությունները (Peterbauer-Scherb A. et al.,2010): Ոսկրածուծի ԱԿ-ի միջոցով կարելի է ուսումնասիրել մի շարք այնպիսի վարակային պրոցեսների բջջաբանական, վիրուսաբանական և իմունաբանական տեղաշարժերը, երբ մոնոցիտմակրոֆագային համակարգի բջիջները համարվում են թիրախներ (օրինակ՝ լիստերիա, հեմոռագիկ տենդի հարուցիչ վիրուսներ (Anderson E. et al.,1987; Morahan P. et al.,1979), Էկտրոմելիա վիրուս և մի շարք այլ վիրուսներ (Martyniszyn L.E. et al.,2013):

Կարմիր ոսկրածուծի առաջնային կուլտուրայի ստացման և ուսումնասիրության առաջին աշխատանքներից մեկը պատկանում է Lajtha-ին, որտեղ մշակվել և ներկայացվել են մարդու ոսկրածուծի ԱԿ-ի *in vitro* ստացման հիմնական սկզբունքները, տեխնիկան: Նկարագրվել են ոսկրածուծի բջջային տարրերի վարքը և քանակական փոփոխությունները կուլտիվացման դինամիկայում, ինչպես նաև նորմոբլաստային և մեգալոբլաստային բջիջների փոխակերպման հնարավորությունը մեգալոբլաստային սակավարյունությամբ հիվանդների փորձարարական հետազոտության ընթացքում (Lajtha L.G.,1952): Կուլտիվացման ընթացքում արյան սպիտակ բջիջների տարատեսակները (միելոբլաստ, պրոմիելոցիտ, միելոցիտ, ժապավենաձև բջիջ, պրլիմորֆ ձև) ուսումնասիրվել են ապակե և սիլիկոնային տարաներում կուլտիվացման սկզբում և 6 ժամ անց: Արյան կարմիր

բջիջները՝ պրոնորմոբալ ստները, բազոֆիլ այ ին, պոլիթրոմատոֆիլ այ ին, օրթոթրոմայ ին նորմոբլաստները, ինչպես նաև մեգալոբլաստները (բնորոշ են միայն չարորակ սակավարյունությունը և չեն հանդիպում առողջ ոսկրածուծում), հետազոտվել են կուլտիվացման սկզբում, կուլտիվացումից 6, 24, 48 ժամ անց: Միաժամանակ ուսումնասիրվել են ոսկրածուծի բջջային տարրերի քանակական և որակական փոփոխությունները *in vivo* պայմաններում՝ *in vitro* կուլտիվացման արդյունքների հետ համեմատելու նպատակով: Արդյունքում առաջին անգամ ցույց է տրվել, որ վաղ բջջային ձևերից հասուն ձևերի առաջացումը *in vitro* կուլտիվացման ընթացքում համանման է *in vivo* հասունացմանը: Սակայն *in vivo*՝ Էրիթրոպոեզից տարբերվել է առաջին հերթին բջիջների պոլիֆերացիայի ունակության կորուստով: Ցույց է տրվել, որ կուլտիվացումից 6-8 ժամ անց բջիջների ավելացումը չի ընթանում տարբերակմամբ, որի արդյունքում տեղի է ունենում բջիջների ուշ ձևերի կուտակում: Սակարող է բացատրվել *in vitro* կուլտուրայում պոլիֆերացիայի գործոնների կտրուկ անհետացմամբ կամ վաղ բջջային ձևերի առաջացման համար պատասխանատու բջիջների բացակայությամբ: Երկրորդն այն է, որի տարբերությունն *in vivo* պայմանների, նորմալ ոսկրածուծի ԱԿ-ում նկատվում է օրթոթրոմային նորմոբլաստների կուտակում, որը վկայում է կարմիր բջիջների հասունացման որոշակի շեղումների մասին (Lajtha L.G., 1952): Այնուհանդերձ, քանի որ նորմալ ոսկրածուծի բջիջների վարքը *in vivo* և *in vitro* պայմաններում նմանատիպ է, ապա ոսկրածուծի ԱԿ-ի միջոցով կարելի է ուսումնասիրել Էրիթրոպոեզի գործընթացի վրա տարբեր գործոնների ազդեցությունը:

Հիմք ընդունելով մարդու ոսկրածուծի բջիջների ԱԿ-ի ստացման և ուսումնասիրության Lajtha-ի կողմից նկարագրված մեթոդը՝ Կարալյանի և համահեղինակների աշխատանքներում այն հարմարեցվել և կիրառվել է խոզերի մոտ ոսկրածուծի չխթանված (առանց աճի գործոնների) ԱԿ-ի ստացման և նրանում բջիջների վարքի նկարագրման համար (Karalyan et al., 2014): Նախկինում ուսումնասիրվել էին իմունո- և Էրիթրոպոեզի մեխանիզմների առանձնահատկությունները (Garderet L. et al., 2010; Giarratana M.C. et al., 2005):

Սակայն այնպիսի ցուցանիշներ, ինչպես օրինակ ԴՆԹ-ի քանակի փոփոխություններն են բջիջների տարբերակման ընթացքում կուլտիվացման պայմաններում հետազոտված չէին: Վերոհիշյալ աշխատանքում կատարվել է ԴՆԹ-ի բջջաապեկտրոֆոտոմետրիկ վերլուծություն՝ որպես ԴՆԹ-ի չափանմուշ ընդունելով խոզի չխթանված լիմֆոցիտների դիպլոիդությունը: Հետազոտության ընթացքում նկարագրվել է ոսկրածուծի ԱԿ-ում վաղ բջջային ձևերի փոփոխությունը, որը կարող է պայմանավորված լինել նրանց պակաս կայունությամբ, հասունացման և տարբերակման գործընթացներով: ԴՆԹ-ի բջջաապեկտրոֆոտոմետրիկ վերլուծությամբ առաջին անգամ ցուց է տրվել, որ խոզերի ոսկրածուծի բջիջների կուլտիվացման ընթացքում արյան ոչ հասուն սպիտակ բջիջների (լիմֆոբլաստ, մոնոբլաստ, մելոիդ բջիջ) կորզներում նվազում է ԴՆԹ-ի պարունակությունը, ինչն արտացոլվում է ԴՆԹ-ի հիստոգրամի դեպի ձախ տեղաշարժմամբ և դիպլոիդ կորիզների պարունակության ավելացմամբ: Սա արդյունք է G_2 փուլում գտնվող բջիջների ապարգելակման: Նմանատիպ փոփոխություններ նկարագրվել են նաև մարդու լեյկեմիկ բջիջների կարճաժամկետ կուլտուրայում (Weh H.J. et al., 1983): Սակայն երիթրոիդ բջիջներում դիտվում է հակառակ միտումը: Կուլտիվացման ուշ փուլերում ԴՆԹ-ի տետրապլոիդ բաղադրությամբ բջիջների թիվն աճում է, որն արդյունք է G_2 փուլի արգելափակման (Chasis J.A., 2008): Ինչպես նկարագրված է երիթրոբլաստների պրոլիֆերացիայի համար անհրաժեշտ է մակրոֆագերի անմիջական շփում, որը բացակայում է G_0/G_1 փուլի անցման ժամանակահատվածի կրճատման պատճառով (Rhodes M. et al., 2008): Միելոպոետիկ բջիջների բջջային ցիկլը չի կարգավորվում մակրոֆագերով, ուստի նրանց մոտայն ամբողջական է:

Կուլտիվացման ընթացքում հայտնաբերվել են նաև դիպլոիդ ախտաբանական բջիջներ՝ լրացուցիչ կամ հատվածավորված կորիզներով, որը հավանաբար կուլտուրայում աճի գործոնների և խթանիչների բացակայության արդյունք է:

1.4.3 Ոսկրածուծի առաջնային կուլտուրան ԽԱԺ վարակի դեպքում

Խոզերի ոսկրածուծի ախտահարումը, նրանում հեմոպոեզի գործընթացի վրա ԽԱԺ-ի ազդեցությամբ զարգացող ախտաբանական

փոփոխությունների ախտածնական մեխանիզմներն ուսումնասիրված են բավականին մանրամասնորեն: Ցույց է տրված, որ փորձարարական վարակման (Malawi 83 շտամ) պայմաններում ոսկրածուծի և նրա միկրոմիջավայրի ախտահարման ախտածագման հիմքում ընկած է վիրուսի վերարտադրությունը և ցիտոպաթիկ ազդեցությունը հիվանդության սկզբնական շրջանում մոնոցիտ/մակրոֆագային ռետիկուլային բջիջներում, ոչ հասուն նեյտրոֆիլներում և նախամոնոցիտներում, իսկ ավելի ուշ մեգակարիոցիտներում, էնդոթելային բջիջներում և պերիցիտներում: Անոթային փոփոխությունները բնութագրվում են էնդոթելային բջիջների ակտիվացմամբ, ներանոթային մակարդումներով և

միկրոմիջավայրի ու հեմոպոետիկ բջիջների միջև ֆիբրինային թելերի տարածմամբ: Բջջաբանական հետազոտությամբ արյան սպիտակ բջիջների ընդհանուր քանակության, ինչպես նաև թրոմբոցիտների և մոնոցիտների տոկոսային հարաբերության էական փոփոխություններ չեն հայտնաբերվում: Մինչդեռ հիվանդության սկզբնական շրջանում զարգանում է սուր լեյկոպենիա և նեյտրոֆիլիա: Ոսկրածուծում մակրոֆագերի ակտիվացմանը զուգընթաց խթանվում է հեմոպոեզը: Այն կարող է դրական ազդեցություն ունենալ՝ կանխելով թրոմբոցիտոպենիայի վաղաժամ զարգացումը, իսկ մյուս կողմից բացասական՝ խթանելով վիրուսի տարածումը նեյտրոֆիլների միջոցով (Gomez Villamandos J.,1997a):

Էրիթրոցիտների վրա ԽԱԺՎ-ի տարբեր իզոլյատների ազդեցությունը հետազոտելով՝ պարզվել է, որ վիրուսի յուրահատուկ անտիգենները տեղակայված են էրիթրոցիտների մակերեսին, որոնք *in vitro* և *in vivo* փորձերում հայտնաբերվել են ֆուլյորեսցենցիայի եղանակով՝ օգտագործելով ԽԱԺՎ-ի յուրահատուկ 3 մոնոկլոնային հակամարմիններ: Lisbon-60, Dominican Repyblic, Badajoz-M98, Cameroon իզոլյատներով վարակված խոզերի էրիթրոցիտներն ուսումնասիրելով տրանսմիսիոն էլեկտրոնային մանրադիտակով՝ վիրուսը հայտնաբերվել է էրիթրոցիտների թաղանթների մակերեսին և ցույց է տրվել, որ վիրեմիկ խոզերի էրիթրոցիտները փխրուն են (Quintero J.C. et al.,1986):

Հետազոտելով ԽԱԺՎ-ի վայրի շտամով վարակված ջերմոդ խոզերի վիրեմիկ արյունը, հաջողվել է Էրիթրոցիտներից անջատել վիրուսային ԴՆԹ-ն տիրոջ ԴՆԹ-ից (Wesley R.D. et al.,1984):

ԽԱԺ-ի սուր ձևի դեպքում խոզերի Էրիթրոպոեզի պատաճանությամբ վերաբերվող *in vivo* ուսումնասիրություններ կատարվել են բջջի կենսաբանությամբ և վիրուսաբանությամբ լաբորատորիայում (Nersisyan N.H. et al.,2014; Нерсисян Н.Г., 2014):

Խոզերի ոսկրածուծի ԱԿ-ն համապատասխան մոդել է ԽԱԺՎ-ի պատաճանությամբ և իմունաբանությամբ վերաբերվող մի շարք հարցերի, մասնավորապես Էրիթրոպոեզի ուսումնասիրության նպատակով, քանի որ հեմոպոեզիկ ծագման բջիջները զգայուն են վիրուսի նկատմամբ: *In vitro* վիրուսը բազմանում և սովորաբար կուլ տիվացվում է

տարբեր հյուսվածքային ծագման մոնոցիտ/մակրոֆագային բջիջներում, իսկ լիմֆոցիտներում, նեյտրոֆիլներում, Էնդոթելային բջիջներում անկախմիտոգեն խթանումից՝ բազմացում տեղի չի ունենում (Makarov B.B.,2011):

Мakarov-ի և համահեղինակների ԽԱԺ-ին վերաբերվող մեծածավալ աշխատանքներում օգտագործվել են խոզերի ոսկրածուծի ԱԿ-ն և նրա Ա-բջջային (Ա-ադիեզիվ) ֆրակցիան: Ոսկրածուծի ԱԿ-ի Ա-բջիջների (որտեղ բազմանում է վիրուսը) ձևաբանական հատկությունների, ԱԿ-ի մի շարք բիոբիմիական ցուցանիշների (ԼԴԳ, ԱԵՖ-ազա, կառալ ազա, գլյուկոզի փոխակերպման ուղիներ) փոփոխությունների ուսումնասիրությունը ցույց է տրվել, որ ոսկրածուծի եռօրյա կուլտուրայի բջիջներում հյուսվածքային ազատ և ֆիքսված մակրոֆագերը չեն տարբերվում իրենց հասուն ձևերից, որը վկայում է *in vitro* մոնոցիտոպոեզի ավարտուն լինելու մասին: Համեմատելով ոսկրածուծի թարմ և եռօրյա կուլտուրաներում վիրուսի վերարտադրվելու ունակությունը հաստատվել է, որ նրա բազմացումը կախված է մոնոցիտոպոեզի ընթացքում բջիջների տարբերակման մակարդակից, այսինքն միայն հասուն մակրոֆագերն ունեն բացառիկ զգայունություն ԽԱԺՎ-ի նկատմամբ: Բացի դրանից կուլտուրայում գլյուկոզի փոխակերպման ամպայությունը խոսում է նրանում բջիջների մետաբոլիկ ակտիվության մասին: Այս ամենը ևս հիմք է հանդիսանում ոսկրածուծի ԱԿ-ի Ա-բջիջների

օգտագործմամբ ԽԱԺՎ-ի և ռեդիկուլոէնդոթելային համակարգի բջիջերի փոխազդեցությունն ուսումնասիրելու համար (Makarov B.B., 2011): Գրականության մեջ նկարագրված են բազմաթիվ աշխատանքներ, որտեղ օգտագործելով ոսկրածուծի առաջնային կուլտուրան, ուսումնասիրվել են ԽԱԺ-ի ախտածագումնաբանությունը, վիրուսաբանությունը, իմունաբանությունը վերաբերվող առանձնահատկությունները: Ներքոհիշյալ բերվում են այդ աշխատանքները:

Փորձարական վարակման պայմաններում ուսումնասիրվել են ԽԱԺՎ-ի խիստ վիրուլենտ Kiravira և չափավոր վիրուլենտ Փ-32 շտամների ազդեցությամբ ԱԿ-ի Ա-բջիջների ձևաբանական փոփոխությունները և կուլտուրայի բիոքիմիական ցուցանիշների տեղաշարժերը (Makarov B.B.,2011):

Քանի որ վիրուսի տարբեր իզոլյատներ ունեն հեմադսորբցիայի ռեակցիայի ֆենոտիպային առանձնահատկություններ, ապա տարբեր սերոտիպերի գլիկոպրոտեիդների ամբողջական կազմի և հեմադսորբցիայի անտիգենի հայտնաբերման նպատակով վիրուսի տարբեր իզոլատներ դարձյալ աճեցրել են խոզերի ոսկրածուծի ԱԿ-ի Ա-բջիջներում (Makarov B.B.,2011):

Վիրուսի տարբեր իզոլյատներ կուլտիվացվել են խոզերի մակրոֆագերի ԱԿ-ում ուսումնասիրելու այն ենթադրությունը, որ տարբեր վիրուլենտությամբ իզոլյատներով իմունիզացման պայմաններում հնարավոր է խաչաձև իմունային պաշտպանության առաջացում այլ իզոլյատների նկատմամբ (King K. et al.,2011):

Կիրառելով ոսկրածուծի ԱԿ-ի մեթոդը՝ մեր լաբորատորիայում հետազոտվել են ԽԱԺՎ-ի բջջախտաբանական և հեմադսորբցող հատկությունները, ոսկրածուծի լիմֆոիդ բջիջների պոպուլյացիաներում ֆենոտիպային փոփոխությունները, նրանցում ԴՆԹ-ի սինթեզի առանձնահատկությունները: Տույց է տրվել, որ ԽԱԺՎ-ի ազդեցությամբ ոսկրածուծի առաջնային չխթանված կուլտուրայի զարգացման վաղ փուլերում կենսունակ են մնում բոլոր հեմո- և իմունոպրոտեկ բջիջների մոտ կեսը: Կուլտիվացման ընթացքում կենդանի բջիջների տոկոսը նվազում է ավելի քան 3.5 անգամ, միաժամանակ արյան երիտասարդ ձևերի մահացությունը 2 անգամ գերազանցում է տարբերակվածներին (Արզումանյան Յ.,2013):

In vitro վարակման պայմաններում ԱԿ-ում վարակման 72 ժամերի ընթացքում մոնոցիտներն ու խոշոր լիմֆոցիտներն ամբողջովին անհետանում են, որը վկայում է ԽԱԺՎ-ի նկատմամբ այս բջիջների խիստ զգայունության մասին: Մոնոցիտներում ԴՆԹ-ի սինթեզ նկարագրվել է վարակումից 24 ժամ անց: Չվարակված բջիջների բջջաֆոտոմետրիայով հայտնաբերվել են հատուկ նյութատիպի լիմֆոցիտներ և լիմֆոբլաստներ կուլտիվացումից 72 ժամ անց: Մինչդեռ վիրուսով վարակված կուլտուրաներում 24 ժամվա ընթացքում ի հայտ են եկել մեծ քանակությամբ այդպիսի բջիջներ (մոտ 14%): Ատիպիկ լիմֆոցիտների և լիմֆոբլաստների մեծամասնությունն ունեն փոփոխված, իսկ նրանցից որոշները՝ նաև լրացուցիչ կորիզ: Հիմնական և լրացուցիչ կորիզների բջջաֆոտոմետրիան ցույց է տալիս, որ ԴՆԹ-ի պարունակությունը չի գերազանցում ստանդարտ դիպլոիդությանը, ինչը նշանակում է, որ լրացուցիչ կորիզի առկայությունը լիմֆոցիտների կորիզների ֆրագմենտացիայի արդյունք է (Karalova E.M. et al., 2011): Ոսկրածուծի չխթանված ԱԿ-ում կուլտիվացման ընթացքում փոքր, միջին և խոշոր լիմֆոցիտների շրջագիծը և մակերեսը նվազման միտում ունեն ինչպես ստուգիչ, այնպես էլ վիրուսով վարակված կուլտուրաներում: Լիմֆոբլաստներն ու մոնոցիտները և՛ ստուգիչում, և՛ փորձում միջինում տրիպլոիդ են, կարող են հանդիպել նաև դիպլոիդ, տետրապլոիդ բջիջներ: Բջջաֆոտոմետրիկ վերլուծությամբ պարզվել է, որ ԽԱԺՎ-ի ազդեցությամբ ոսկրածուծի ԱԿ-ի մոնոցիտներում և լիմֆոբլաստներում, հատկապես վարակման վաղ փուլերում (կուլտիվացման 24ժ) աճում է կորիզային ԴՆԹ-ի պարունակությունը: Լիմֆոբլաստներում վիրուսի այսպիսի ազդեցությունը բավականին արտահայտված է վարակման ավելի ուշ փուլերում (կուլտիվացման 72 ժ) (Karalova E.M. et al., 2011):

ԽԱԺՎ-ով ախտահարված բջիջների կորիզների մորֆոֆունկցիոնալ վիճակի ուսումնասիրության նպատակով օգտագործելով ոսկրածուծի բջիջների ԱԿ-ն, հետազոտվել են ԴՆԹ-ի, ՌՆԹ-ի և թթվային սպիտակուցների քանակը, կորիզի մորֆոմետրիկ ցուցանիշները (2աբարյան Յ., 2013): Ցույց է տրվել, որ ԽԱԺՎ-ի ազդեցությամբ վարակից 24 ժամ անց տեղին է ունենում հիպերպլոիդ և տետրապլոիդ մոնոցիտների ու մոնոբլաստների առաջացում:

Հայտնի է, որ մոնոցիտներն առավել տարբերակված լինելու պատճառով, ունակ չեն բաժանման և տարբեր հյուսվածքներում տարբերակվում են մինչև մակրոֆագերի (Van Furth et al.,1979): Ի տարբերություն մոնոցիտների, մոնոբլաստները՝ որպես պակաս տարբերակված բջիջներ, պահպանում են բաժանվելու ունակությունը (Van Furth et al.,1979): Այս աշխատանքում առաջին անգամ ցույց է տրվել, որ հավանական է վարակի ժամանակ ԽԱԺՎ-ն ուղղակի կամ անուղղակի կերպով ազդում է բջջացիկի վրա՝ դուրս բերելով մոնոցիտներին G_0 փուլից: Գրականության մեջ նկարագրված մի շարք մեխանիզմների միջոցով վիրուսներն ազդում են բջջացիկի վրա՝ ստեղծելով բարենպաստ միջավայր սեփական բազմացման համար (Moffat J., 2010; Mo M. et al.,2012; Nascimento R. et al.,2012): Մասնավորապես, չբաժանվող բջիջների S փուլում ԴՆԹ-ի կրկնապատկման խթանումը կարող է նպաստել ազատնուկլեոտիդների և պուրիներազների առաջացմանը, որոնք անհրաժեշտ են նաև վիրուսի գենոմի կրկնապատկման համար (Sullivan C.S.,2002): Հետևաբար, կարելի է ենթադրել, որ մոնոցիտների ու մոնոբլաստների S փուլի խթանումը կարող է նպաստել ԽԱԺ-ի վիրուսի գենոմի կրկնապատկմանը: Նախկինում նկարագրվել է ԽԱԺ-ով վարակված հավի մակրոֆագերում ԴՆԹ-ի սինթեզ (Enjuanes L .et al.,1977), իսկ նման երևույթ խոզերի իմունային բջիջների մոտ առաջին անգամ նկարագրվել է վերոհիշյալ աշխատանքում (Չաբարյան Հ.,2013): Մոնոցիտների կորիզում ՌՆԹ-ի քանակական վերլուծությունը ցույց է տվել, որ վարակի սկզբնական շրջանում ՌՆԹ-ի քանակը ոչ արժանահավատ ավելի շատ է, քան չվարակված բջիջներում: Սակայն վարակի ավելի ուշ փուլերում այն վարակված բջիջներում դառնում է ավելի քիչ, քան ստուգիչում, այսինքն տեղի է ունենում տրանսկրիպցիայի ճնշում: Ի տարբերություն մոնոցիտների, վարակված մոնոբլաստներում կորիզային ՌՆԹ-ի քանակը վարակի սկզբնական շրջանից սկսած քիչ է ստուգիչի համեմատությամբ: Մոնոբլաստներում կորիզային ՌՆԹ-ի քանակը մեծ է ստուգիչից միայն վարակումից 24 ժամ անց, որից հետո այն նույնպես նվազում է: Մոնոբլաստների և մոնոցիտների միջև նկարագրված տարբերությունը կարելի է բացատրել մոնոբլաստների պակաս տարբերակված լինելու փաստով, քանի որ այդ բջիջներն առավել զգայուն են արտաքին ազդակների նկատմամբ: Վարակի սկզբնական

շրջանում ՌՆԹ-ի քանակի ավելացումը մոնոցիտներում կարող է պայմանավորված լինել վիրուսային գեների տրանսկրիպցիայով, որոնց քանակը գերազանցում է 150-ը (Yanez R. et al.,1995; Chapman D. et al.,2011), կորիզային անցուղիների խախտմամբ, ինչպես նաև բջջային այն գեների ակտիվացմամբ, որոնց սպիտակուլները իմունային պատասխանի մի մասն են կազմում (Netherton C. et al.,2009): Ցույց է տրվել, որ ԽԱԺՎ-ի A238L սպիտակուլը ճնշում է որոշ տրանսկրիպցիոն գործոնների ակտիվությունը, որոնք կարգավորում են բջջային գեների գործունեությունը (Li and Stark, 2002; Müller and Rao, 2010):

Մոնոցիտներում և մոնոբլաստներում թթվային սպիտակուլների քանակական չափումները ցույց են տալիս, որ կորիզային սպիտակուլների քանակը քիչ է ստուգիչի համեմատությամբ: Վիրուսային սպիտակուլների տրանսլացիան ընթանում է քեպ-կախյալ եղանակով, քանի որ ԽԱԺՎ-ի իՌՆԹ-ն իր կառուցվածքով նման է բջջային իՌՆԹ-ին (Salas M. et al.,1981): Հայտնի է նաև, որ մկների ԽԱԺՎ-ով վարակած մակրոֆագերում տրանսլացիաները նվազում են (Sanchez E. et al.,2012): Հարկ է նշել, որ սպիտակուլների և ՌՆԹ-ի քանակի նվազմանը զուգընթաց տեղի է ունենում բջջի և հատկապես կորիզի չափսերի փոփոխություն, ինչից կարելի է ենթադրել, որ վիրուսային վարակի ժամանակ կորիզի չափսերը կախված են վերջինիս ֆունկցիոնալ ակտիվությունից:

Այսպիսով, վերլուծելով ցայսօր գրականության մեջ առկա ԽԱԺ-ի ախտածագումնաբանությանը վերաբերվող հետազոտությունները, կարելի է եզրակացնել,

որ դեռևս չկան ուսումնասիրություններ ԽԱԺ-ի վիրուսի (գենոտիպ II) ազդեցությամբ ոսկրածուծի էրիթրոիդ շարքի բջիջների քանակական և որակական փոփոխությունների, էրիթրոպոեզի ախտաբանական գործընթացների և նրանց զարգացման մոլեկուլային մեխանիզմների վերաբերյալ:

ԳԼՈՒԽ2: ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ ՄԱՍ

Աշխատանքն իրականացվել է ՀՀ ԳԱԱ Մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտի բջջի կենսաբանության լաբորատորիայում: ԽԱԺ-ի վարակի փորձարարական մասն իրականացվել է Սենդամթերքի անվտանգության ոլորտի ռիսկերի գնահատման և վերլուծության կենտրոն ՊՈԱԿ-ում (ըստ 2010թ. հունվարի 12-ի պայմանագրի): Հետազոտության ընթացքում օգտագործվել են նաև կենդանիներ, ինչի համար ստացվել է ՀՀ ԳԱԱ Մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտի էթիկայի հանձնաժողովի թույլ տվող թույլ (IRB#00004079):

2.1 Կենդանիներ

Աշխատանքի ընթացքում օգտագործվել են 35-40 կգ քաշով 3-4 ամսեկան Լանդրա ցեղատեսակի 18 առողջ խոզեր, որոնցից 14-ը միջմկանային ներարկմամբ վարակվել են ԽԱԺ-ի վիրուսով (գենոտիպ II), իսկ 4-ը՝ օգտագործվել ստուգիչ նպատակով, ինչպես նաև ՈԱԿ-ի ստացման համար:

Կենդանիների էթանազիան կատարվել է համաձայն “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, AVMA Guidelines” (Institutional Review Board/Independent Ethics Committee of the Institute of Molecular Biology of NAS, IRB00004079) արձանագրության:

2.2 Վիրուս

Աշխատանքում օգտագործվել է ԽԱԺ-ի վիրուս գենոտիպ II-ը, որը վարակել է Վրաստանը, ապա նաև հարևան երկրները, այդ թվում՝ Հայաստանը (Rowlands R. et al., 2008): Հեմադսորբցիայի եղանակով ԽԱԺ-ի վիրուսի վարակիչ տիտրի որոշումը կատարվել է նախկինում նկարագրված մեթոդի համաձայն (Enjuanes L. et al., 1976; Wardley R. et al., 1977): Փորձի ընթացքում խոզերին ներարկված ԽԱԺ-ի վիրուսի չափաբաժինը կազմել է 10^4 HADU₅₀/մլ (hemadsorbing unit) 0,2 մլ/կգ հաշվարկով: ՈԱԿ-ի ԽԱԺ վարակի համար BD FalconTM տեսակի անոթում ցանկած (10^6 բջիջ/մլ) ոսկրածուծի առաջնային կուլտուրայի բջիջներին ավելացվել է վիրուս՝ $4\log_{10}$ HADU₅₀/մլ չափաբաժնով: Միաժամանակ պահվել է նաև ՈԱԿ-ի չվարակված բջիջների խումբ՝ ստուգիչ նպատակով: Վարակից հետո, տարբեր ժամանակահատվածներում պատրաստվել են պատրաստուկներ ընդունված մեթոդներով և կատարվել ստուգիչ ու վարակված

կուլտուրաների բջիջների հետազոտում: Աշխատանքի ընթացքում պահպանվել են անվտանգության բոլոր կանոնները: Օգտագործված նյութերն ախտահանվել են վիրուսասպան ախտահանիչով (76% էթիլ սպիրտ), ապակատարվել է դրանց չեզոքացում:

2.3 Ուսումնասիրվող նյութի ստացում

Ճայրամասային արյունը քսուքների պատրաստման և վիրուսի տիրման նպատակով վերցվել է խոզի ակնային երակային ծոցից (ophthalmic venous sinus) (Stier H., Leucht W., 1980) հիվանդության 7 օրերի ընթացքում ամեն օր:

Փայծաղի կտրվածքներ և պատճեններ պատրաստելու նպատակով փայծաղային հյուսվածք վերցվել է առողջ և հիվանդ խոզերից հիվանդության դինամիկայում կատարված հերձումների ժամանակ:

Ոսկրածուծի պատճեններ պատրաստելու նպատակով ոսկրածուծ վերցվել է առողջ և վիրուսով վարակված խոզերի ազդրոսկրից:

Խոզերի ոսկրածուծի կախության առաջնային չխթանված կուլտուրա ստացվել է 4 առողջ խոզերի ազդրոսկրից անջատված ոսկրածուծային զանգվածից: Ոսկրածուծի անջատումը և աճեցումը կատարվել է համաձայն նախորոք նկարագրված մեթոդի (Lajhta L., 1952), որը հարմարեցվել է խոզերից բջիջների ստացման համար (Karalova et al., 2011): Կուլտիվացումը կատարվել է 25սմ² BD Falcon™ տեսակի անոթներում: Սկզբնական ցանքի քանակը եղել է 10⁶ բջիջ/մլ: Կուլտիվացման համար օգտագործվել է RPMI-1640 միջավայր, որին ավելացվել են գենտամիցին հակաբիոտիկը՝ 400 միավոր/մլ քանակով և 10% (ծ/ծ) ցլի սաղմնային շիճուկ (Gibco): Կուլտուրան պահվել է թերմոստատում՝ 37.0°C ջերմաստիճանում, 5% CO₂ և 100% խոնավություն պայմաններում: Ցանքից 24 և 48 ժամ անց կատարվել է միջավայրի և շիճուկի թարմացում: Կուլտուրային աճի գործոններ չեն ավելացվել, այդ պատճառով ցանքից 96 ժամ անց նրանում բջիջները կենսունակ չեն եղել (որոշվել է Trypan blue բացասման մեթոդով): Մոնոցիտ/մակրոֆագային շարքի բջիջները հայտնաբերվել են ըստիրենց

ձևաբանական և ադսորբցիայի հատկանիշների (Makarov B., 1987; Feldman B. et al., 2000): Միաժամանակ փորձանոթների մեջ ավելացվել է խոզերի աֆրիկյան ժանտախտի վիրուս՝ վերը նշված կոնցենտրացիայով: 24, 48,

72 և 96 ժամ հետո ստուգիչ և վարակված բջջային կուլտուրաներից ձևաբանական և բջջաբիմիական հետազոտությունների համար պատրաստվել են քուլթներ, որոնք ֆիքսվել են 96% էթիլ սպիրտով 30ր-ի ընթացքում:

2.4 Բջջների մորֆոմետրիա

Ուսումնասիրվող բջջների մորֆոմետրիկ փոփոխությունների գնահատման համար մեր կողմից օգտագործվել է ImageJ ստանդարտ ծրագիրը. որը թույլ է տալիս միաժամանակ ուսումնասիրել միևնույն բջջի և՛ ցիտոպլազմայի, և՛ կորիզի, և՛ կորիզակների մորֆոմետրիկ ցուցանիշները: Այդ ցուցանիշներն արտահայտվել են մկմ²-ով:

2.4.1. Փայծաղի բջջաբանական հետազոտությունը

Փայծաղի պատճենների ուսումնասիրությունը

Խոզերի փայծաղների պատճենների պատրաստումը կատարվել է ստանդարտ եղանակով (Ромейс Б., 1954): Ուսումնասիրության արդյունքները ներկայացվել են սալենոգրամի տեսքով: Սալենոգրամի ստացման համար փայծաղի յուրաքանչյուր պատճենի տարբեր մասերում հաշվվել են ավելի քան 800-1000 բջջներ և ներկայացվել տոկոսային հարաբերությամբ:

Փայծաղի կտրվածքների ուսումնասիրությունը

Խոզերի փայծաղներից կտրվածքներ ստանալու համար հյուսվածքի կտորները ֆիքսվել են 10%-անոց ֆորմալինի չեզոք լուծույթում, ապա ջրազրկվել էթանոլի աճող կոնցենտրացիայով լուծույթներում, գունաբացվել քսիլոլում և տեղադրվել պարաֆինում: 5մկմ հաստությամբ կտրվածքները ներկվել են հեմատոքսիլինով և էոզինով ըստ Վան-Գիզոնի և Ռոմանովսկու (Ромейс Б., 1954): Հետազոտվող օրգանի տարբեր հատվածների կառուցվածքային կազմավորման ուսումնասիրությունն իրականացվել է լուսային մանրադիտակի միջոցով մինչև 1200 անգամ խոշորացմամբ: Կիրառվել է մանրադիտակի թվային տեսախցիկի վանդակային թեստային համակարգը, որ համադրվել է

համակարգչի էկրանի պատկերի վրա: Բոլոր թեստային տեսադաշտերի վերջնական մակերեսները հավասար են եղել:

Բջջաբանական եզրակացության ճշգրտության գնահատումը (փայծաղի բջջաբանական հետազոտության որակի ստուգումը)

Փայծաղի պատճենների և կտրվածքների բջջաբանական հետազոտության որակի գնահատումն իրականացվել է ներլաբորատորային եզրակացության ճշգրտման համակարգով, որը պարբերաբար իրականացվում է լաբորատորիայում: Փայծաղի բոլոր պատճենները և կտրվածքները միաժամանակ իրարից անկախ ուսումնասիրվել են առնվազն 2 մասնագետների կողմից: Արդյունքները համեմատվել են, բջջաբանական պատկերի գնահատման ժամանակ ծագած տարածայնությունները՝ քննարկվել:

2.4.2.Ծայրամասային արյան, ոսկրածուծի և ՈԱԿ-ի բջիջների ձևաբանական վերլուծություն

Խոզերի ծայրամասային արյան, ոսկրածուծի և ոսկրածուծի չխթանված առաջնային կուլտուրայի բջիջների ձևաբանական վերլուծությունը կատարվել է ֆիքսված քսոլենների և պատճենների բջիջներում, որոնք ներկվել են հեմատոքսիլին-էոզինով ըստ Ռոմանովսկու-Գիմզայի (Ромейс Б., 1954; Weiss Douglas J., 2010): Ուսումնասիրվել է բջջային կազմը, տարբեր բջջային պոպուլյացիաների տոկոսային հարաբերությունը, ափսիկ, ինչպես նաև մեռուկի և ապոպտոզի հետևանքով ոչ նշագած բջիջների տոկոսը: Ուսումնասիրվող բջիջների տոկոսային հարաբերության ստացման համար յուրաքանչյուր դեպքում միջինում դիտարկվել են 300-ից ավելի բջիջներ: Ընդհանուր հաշվով յուրաքանչյուր փորձի ընթացքում ուսումնասիրվել են արյան, ոսկրածուծի և ոսկրածուծի չխթանված ԱԿ-ի 1500-ական բջիջներից ոչ պակաս:

2.5 Բջջաափսկտրոֆոտոմետրիա

ԴՆԹ-ի, ՌՆԹ-ի և սպիտակուցների որոշման, ինչպես նաև բջջի ձևաբանական ուսումնասիրության համար կատարվել է բջջաափսկտրոֆոտոմետրիա SMP 05 (OPTON) մանրադիտակ-ֆոտոմետրով: Այն համալրված է տեսախցիկով և BioScan ծրագրային փաթեթով, որը ստեղծվել է բջջի կենսաբանության լաբորատորիայում և թույլ է

տալ իս բացի քանակական չափումներից հաշվարկել նաև ուսումնասիրվող առարկայի մակերեսը և տրամագիծը:

2.5.1 ԴՆԹ-ի ներկում և քանակական որոշում

ԴՆԹ-ի քանակական որոշման համար նախապես բոլոր ծածկապակիները ֆիքսվել են 96% էթիլ սպիրտում 30 րոպեի ընթացքում, ապա ներկվել հիմնային ֆոլքսինով՝ ըստ Ֆյուլգենի: ԴՆԹ-ի հիդրոլիզը կատարվել է 5N HCl-ում 22.0°C ջերմաստիճանում 1 ժամվա ընթացքում, որից հետո ծածկապակիները ներկվել են Շիֆֆի ռեակտիվով (Sigma-Aldrich) ըստ Ստոուելի տարբերակի (Lillie, R.D., 1965; Макарян и Каралова, 1989): Ներկումից հետո հետազոտվող բոլոր բջիջներում ԴՆԹ-ֆոլքսին համալիրի քանակական որոշումը կատարվել են ալիքի առավելագույն կլանման տիրույթում (575նմ): Ստացված արդյունքները ինտեգրացվել են օպտիկական խտության տեսքով, որը համապատասխանում է ԴՆԹ-ի քանակին: Այն արտահայտվել է լույսի քանակով, որտեղ 1c համարժեք է ոչ ախտաբանական և G₀/G₁ փուլում գտնվող առողջ բջջի հապլոիդ քրոմոսոմային հավաքակազմի ԴՆԹ-ի քանակին: Ելնելով բջջաֆոտոմետրիկ չափումների արդյունքներից բջիջները կարելի է համարել անէուպլոիդ, եթե նրանցում ԴՆԹ-ի քանակը շեղված է 2c, 4c, 8c, 16c-ին համարժեք ԴՆԹ-ի քանակի 10%-ից ավել սահմանում, այլ կերպ ասած, եթե այդ արժեքները դուրս են 2c±0.2, 4c±0.4, 8c±0.8, 16c±1.6 սահմաններից (Böcking A. et al., 1995; Haroske G. et al., 1997): Յուրաքանչյուր դեպքում ԴՆԹ-ի պարունակությունը որոշվել է 100 կորիզներում: Հաշվարկվել է ԴՆԹ-ի միջին պարունակությունը (պայմանական համեմատական միավորներով), որոշվել են կորիզի և կորիզակների մակերեսները, տրամագծերը, յուրաքանչյուր կորիզում կորիզակների միջին թիվը: Այնուհետև, կորիզային ԴՆԹ-ի պարունակության մասին ստացված նյութի հիման վրա, կառուցվել են հիստոգրամներ, որոնք արտահայտում են նրանց տեղաբաշխումն ըստալիոդության դասերի: Հիստոգրամների կառուցումը կատարվել է՝ որպես չափանմուշ ընդունելով առողջ խոզերի ծայրամասային արյան լիմֆոցիտների դիպլոիդ կորիզների ԴՆԹ-ն:

2.5.2 ՌՆԹ-ի ներկում և քանակական որոշում

Բջջապեկտրոֆոտոմետրիկ մեթոդով ՌՆԹ-ի քանակական որոշման համար 96% էթիլ սպիրտում ֆիքսված (30 րոպե) բուրբ ծածկապակիները ներկվել են հալոցիանին-քրոմային շիբով՝ համաձայն Չանրիդերի մոդիֆիկացված մեթոդի (Schulte E. et al.,1992): Յուրաքանչյուր ներկման համար օգտագործվել է թարմ պատրաստված ներկանյութ (5գ քրոմային շիբ և 150 մգ հալոցիանին (Sigma-Aldrich) 100 մլ թորած ջուր): Այն 10 րոպե եռացվել է, ֆիլտրվել 100 մլ ծավալով անոթի մեջ: Ներկանյութի pH-ը անհրաժեշտ էր հավասարակշռել մինչև 1.64, որը կատարվել է ավելացնելով 10 մլ HCl և 5 մլ NaOH: Պատրաստուկները պահվել են ներկանյութի մեջ 48 ժամ, որից հետո 30 րոպե լվացվել են հոսող ջրով, ապա չրագրվել 70%, 96% և բացարձակ էթիլ սպիրտներում՝ յուրաքանչյուրում 5 րոպե տևողությամբ: Բուրբ պատրաստուկների ներկումը կատարվել է միաժամանակ: ՌՆԹ-ի բջջապեկտրոֆոտոմետրիկ չափումները կատարվել են հալոցիանին-քրոմային շիբ համալիրի 620նմ ալիքի կլանման տիրույթում: ՌՆԹ-ի քանակական փոփոխությունները ներկայացված են ստուգիչի նկատմամբ տոկոսային փոփոխությունների տեսքով, որի ժամանակ ստուգիչ խմբի արդյունքները համարվել են որպես 100%: Բջջի ցիտոպլազմայում, կորիզում և կորիզակում ՌՆԹ-ի պարունակության վերլուծումը կատարվել է ImageJ ծրագրով (նայել վերևում):

2.5.3 Սպիտակուցի ընդհանուր պարունակության հայտնաբերում նաֆթոլ դեղինով ներկման միջոցով

Բջջապեկտրոֆոտոմետրիկ մեթոդով ընդհանուր սպիտակուցի քանակական որոշման համար պատրաստուկները ներկվել են նաֆթոլ դեղինով՝ ձևափոխված մեթոդով (Gaub J. et al.,1975): Ներկանյութի պատրաստման համար նաֆթոլ դեղինը (Sigma-Aldrich) բացվել է քացախաթթվով մինչև ստացվել է 0.1% նաֆթոլ դեղինի խառնուրդ: Սպիտակուցի քանակական չափումները կատարվել են ներկի առավելագույն կլանման տիրույթում (480նմ): Ստացված արդյունքները եղել են ինտեգրացված օպտիկական խտության տեսքով, որը համարժեք է բջջում ընդհանուր սպիտակուցների քանակին: Յուրաքանչյուր դեպքում սպիտակուցի պարունակության չափումը կատարվել է 100 էրիթրոցիտներում:

2.6. Երկաթի միացությունների հայ տնաբերում հյուսվածքներում

Խոզի լյարդի հյուսվածքում երկաթի եռավալենտ միացությունների հայ տնաբերման նպատակով օգտագործվել է Պերլսի մեթոդը (Автандилов Г., 1990): Այս մեթոդի հիմքում ընկած է բեռլինյան լազուրի մուգ կապույտ նստվածքի առաջացումը, որի համար պատրաստուկները մշակվել են աղաթթվի և ֆերոցիանիդի լուծույթներով:

2.7 Արյան, մեզի և արտաթորանքի բիոքիմիական հետազոտություն

2.7.1 Արյան հեմատոլոգիական ուսումնասիրություն

ա. Խոզերի ծայրամասային արյան էրիթրոցիտների վերլուծություն

Մեր կողմից որոշվել են էրիթրոցիտների միջին ծավալը, հեմոգլոբինի միջին պարունակությունը էրիթրոցիտում, հեմոգլոբինի միջին խտությունը և հեմատոկրիտը՝ ամբողջական արյան նմուշին ավելացնելով EDTA: Այս հետազոտությունը կատարվել է արյան բջիջների Sysmex XS 1000i ավտոմատ հաշվիչի միջոցով:

Ուսումնասիրությունների համար օգտագործվել են ծայրամասային արյան ստանդարտ քսուքները: Պատրաստուկներում առանձին էրիթրոցիտների մեջ որոշվել են հեմոգլոբինի պարունակության քանակական փոփոխությունները: Հեմոգլոբինի նման ուսումնասիրության համար նմուշները վերլուծվել են մանրադիտակի հեռուստասկանավորման և էրիթրոցիտներում հեմոգլոբինի բջջապեկտոֆոտոմետրիայի տեխնիկայի համադրման միջոցով (Bacus J., 1980):

բ. Արյան շիճուկի բիոքիմիական վերլուծություն

Արյան շիճուկի բիոքիմիական վերլուծությունը կատարվել է COBAS Integra 400 վերլուծիչի միջոցով: Բոլոր ցուցանիշների որոշման համար օգտագործվել են աուտենտիկ ռեագենտներ (Roche): Արյան շիճուկում հիմնական նախաբորբոքային ցիտոկինների՝ ԻԼ-

1β, ԻL-6, ԻL-8 և ՌԻՆԳ-α-ի մակարդակների տատանումներն ուսումնասիրվել են ELISA մեթոդով:

2.7.2 Մեզի ընդհանուր վերլուծություն

Մեր կողմից կատարվել է մեզի ընդհանուր վերլուծություն մարդկանց կլինիկական պրակտիկայում կիրառվող ձևով: Գնահատվել են մեզի գույնը, թափանցիկությունը, թթվայնությունը (pH): Մեզում որոշվել են նաև սպիտակուցը, գլյուկոզը, բիլիռուբինը, ուրոբիլինոգենը, կետոնային մարմնիկները, նիտրիտները, հեմոգլոբինը: Մեզի նստվածքում հայտնաբերվել են էպիթելային բջիջներ, էրիթրոցիտներ, լեյկոցիտներ, ցիլինդրներ, բակտերիաներ: Վերլուծությունը կատարվել է «Urisys-1100 analyzer» անալիզատորով՝ «Roche Diagnostics» ստանդարտ հավաքածուի օգտագործմամբ:

2.7.3 Արտաթորանքում թաքնված արյան վերլուծություն

Արտաթորանքում թաքնված արյան հայտնաբերումը ստանդարտ հետազոտություն է, որի ժամանակ հայտնաբերվում է մանրադիտակային ուսումնասիրության մեջ անտեսանելի «թաքնված» արյուն: Այն լայնորեն կիրառվում է կլինիկական բժշկության մեջ: Թաքնված արյան որոշման համար օգտագործվել է «FOBT» հավաքածուն (Hemoccult II, Beckman): Բոլոր փորձարարական կենդանիներից հիվանդության դիսամիկայում վերցվել են արտաթորանքի նմուշներ անմիջապես կղազատումից (դեֆեկացիայից) հետո: 1-2 ժամվա ընթացքում նմուշներն ուսումնասիրվել են թաքնված արյան հայտնաբերման նպատակով:

2.8 Համակարգչային վերլուծություն

Յուրաքանչյուր դեպքում հիվանդ և առողջ խոզերի ծայրամասային արյան, ոսկրածուծի և ոսկրածուծի առաջնային կուլտուրայի բջիջներից ստացված պատրաստուկներում տարբեր մեթոդների կիրառմամբ վերլուծվել են ավելի քան 300-ական բջիջ: Քսուլներում հաշվարկվել են արյան բոլոր տարրերի տոկոսային հարաբերությունը, ինչպես նաև ախտահարման ընթացքում ի հայտ եկող բջիջները:

Պատրաստուկների վերլուծումը կատարվել է լուսային

մանրադիտակով (REFLECTED LIGHT FLUORESCENCE MICROSCOPE 2001 Series User Guide)՝ օգտագործելով «Labkit Standart vl. Ien» ծրագիրը:

2.9 Արդյունքների վիճակագրական մշակում

Ստացված բոլոր փորձարարական տվյալները ենթարկվել են մանրակրկիտ վերլուծության անձնական համակարգչով մշակված վարիացիոն վիճակագրական մեթոդներով՝ օգտագործելով «Տվյալների վերլուծություն» ծրագրի «Նկարագրողական վիճակագրություն» ենթաբաժնի և «Excel» 13.0 տարբերակի վիճակագրական մշակման ծրագրի համադրման փաթեթը: Յուրաքանչյուր խմբում բոլոր ցուցանիշների համար դուրս է բերվել միջին թվաբանականը (M), ստանդարտ շեղումը (σ) և միջին թվաբանականի սխալը (m): Միջին արժեքների միջև տարբերության հավաստիության որոշումը կատարվել է ըստ Ստյուդենտ-վիճակագրական ցուցանիշների: Ուսումնասիրվող հատկանիշների ոչ պարամետրիկ տեղաբաշխման ընթացքում օգտագործվել է Վիլկոկսոն Ման-Ուիտնի ցուցանիշը՝ SPSS 10.0 ծրագրի միջոցով (SPSS, Inc., Chicago, IL): Ուսումնասիրվող ցուցանիշների միջև կորելյացիան որոշվել է «Excel» ծրագրով՝ կորելյացիայի Պիրսոնի գործակցի օգնությամբ: Կորելյացիայի գործակցի սխալը որոշվել է $m_r = \pm 1 - r^2 / n$ բանաձևով, որտեղ n -ը դիտարկումների թիվն է: Սխալը չպետք է գերազանցի կորելյացիայի գործակցի արժեքի $1/3$ -ը: r -ի մինչև $0,3$ արժեքի դեպքում կորելյացիոն կապը համարվում է թույլ, $0,3-0,6$ ՝ միջին և $0,6$ -ից բարձր՝ ուժեղ: «-» նշանը նշանակում է հակադարձ կորելյացիոն կապ:

ԳԼՈՒԽ 3: ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅԱՆ ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԸ

3.1 Խոզերի աֆրիկյան ժանտախտի կլինիկական և ախտանշանաբանական դրսևորումները ԽԱԺ-ի վիրուսի միջմկանային ներարկման դեպքում

Խոզերը վարակվել են վիրուսի միջմկանային ներարկմամբ, միանման չափաբաժիններով, որոնք հաշվարկվել են հեմադսորբցիոն տիտրման օգնությամբ: Հիվանդության ախտանշանները միջմկանային ներարկման և բնական ճանապարհով վարակի դեպքում քիչ են տարբերվում: Միջմկանային վարակին բնորոշ է արյան մեջ վիրուսի վաղ բացահայտումը և հիվանդության գաղտնի շրջանի կրճատումը 2-4 օրով (Guinat C. et al., 2014): Հաշվի առնելով վիրուսային չափաբաժնի ստանդարտացումը, հիվանդության ընթացքի և համապատասխանաբար փորձարկման ժամկետների կրճատումը՝ հասկանալի է դառնում միջմկանային վարակի հաճախակի կիրառումը խոզերի աֆրիկյան ժանտախտի փորձարարական մոդելավորման նպատակով:

Մեր կողմից իրականացված փորձարկումների ժամանակ փորձարարական վարակումը չէր տարբերվում գրականության աղբյուրներում նշվածներից և վարակված խոզերը հասնում էին ազոնալ փուլին վարակման պահից սկսած 6-8-րդ օրերին (Gomez-

Villamandos J. et al.,1997b): Վարակման առաջին երկու օրերը անցնում էին գրեթե առանց ախտանշանների, չնայած վիրուսակրությանը, որը հայտնաբերվում էր 2-րդ օրվանից սկսած (մինչ $\log 4-5$ HADU₅₀/մլ): Այնուհետև տեղի էին ունենում հիվանդությանը բնորոշ փոփոխություններ վարքում. կենդանիները հաճախ պառկում էին սովերում, առկա էր խիստ արտահայտված թմրածություն: Շարժման ժամանակ նկատվում էր ոչ հստակ քայլվածք, հևում էին: 3-4-րդ օրերին դիտվում էր հիպերթերմիա, ախորժակի կորուստ, ինչին հաջորդում էր հիմնական ախտանշանների արագ դրսևորումը, որն արտահայտվում էր մարմնի արտաքին ծածկույթի ջերմաստիճանի բարձրացմամբ մինչև $40-41^{\circ}\text{C}$, կենդանիների ակտիվության նվազմամբ, շնչառության դժվարեցմամբ: Հետվարակային 5-6-րդ օրերին որոշ կենդանիների արտաթորանքում նկատվել է արյուն: Հիվանդության վերջին փուլում (սկսած 7-րդ օրվանից) կենդանիները սկսում էին մահանալ, ինչպես նշված էր արձանագրության մեջ:

Խոզերի աֆրիկյան ժանտախտի սուր ձևի ընթացքում մեր կողմից դիտարկվել են

ինչպես տիպիկ բնորոշ, այնպես էլ հազվադեպ հանդիպող քիչ հայտնի ախտաանատոմիական փոփոխություններ (Karalova E. et al.,2015): Սկսած հետվարակային 2-3-րդ օրվանից, մաշկային ծածկույթի վրա հայտնաբերվում էին արյունազեղումներ՝ 1-2մմ-ից մինչև 10մմ տրամագծով, մուգ կարմիրից մինչև շագանակագույն հետքերի ձևով: Արյունազեղումները հաճախ տեղակայված էին առջևի և հետին վերջույթների ներսային մակերեսներին, ականջների վրա, հատկապես նրանց ծայրերին (նկ.1): Սկզբում առանձին-առանձին տեղակայված արյունազեղումները միավորման միտում էին դրսևորում, որն արտահայտվում էր հատկապես 3-5-րդ օրերին: Նման ախտաբանական փոփոխությունները լավ հայտնի են ԽԱԺ-ի դեպքում (McVicar J. et al.,1981; Anderson E. et al.,1987): Մեր կողմից դիտարկվող ԽԱԺ-ի սուր ձևի ընթացքում բազմաթիվ անգամներ նկատվել են արյունազեղումներ մկանային հյուսվածքում (հատկապես վերջույթներում), հոդերում, առաջին հերթին հետին վերջույթների խոշոր հոդերում: Կարևոր է նշել, որ հեմաթրոզներ հայտնաբերվել են ոչ միայն ծնկային հոդում, որտեղ առավել հաճախ տեղակայվում են, այլ նաև մյուս խոշոր հոդերում, ինչպես

օրինակ՝ կոնքազդրային (նկ.2): Փորձարարական վարակման դեպքում ներքին օրգանների ախտաանատոմիական պատկերը նույնպես բնորոշ էր ԽԱԺ-ով հիվանդ խոզերին: Կենդանիների հերձման ժամանակ մեր կողմից բացահայտվել էին բազմաթիվ արյունազեղումներ և ործա- և շճաթաղանթների վրա, որովայնի և կրծքավանդակի խոռոչների օրգաններում, մեջքնդերքում (նկ.3): Որոշ ավշային հանգույցներ մեծացած էին և նրանցում հայտնաբերվում էին արյունահոսական ներսփռանքներ: Բացահայտվել էին նաև, գրականության մեջ և ավ նկարագրված, ընդերային ավշային հանգույցների փոփոխություններ. դրանք մեծացած էին, շոշափելիս փափուկ, մուգ բալագույն և հիշեցնում էին հեմատոմաներ (նկ.4): Լյարդը մեծացած էր, արյունալեցված (նկ.5): Թոքերը փքված էին, նկատվում էր շճային այտուց: Հաճախ առկա էին նաև առանձին արյունազեղումներ (նկ.6): Կրծքի, որովայնի և պերիկարդի խոռոչներում նկատվում էին արտաքիրտի մեծ քանակության կուտակումներ (արտաքիրտի գույնը տատանվում էր դեղնակարմրավունից մինչև մուգ կարմիր), երբեմն նաև ֆիբրինային թանձրուկներով: Որոշ խոզերի սիրտը մեծացած էր, պերիկարդի խոռոչը՝ հաճախ լցված 100-150 մլ ծավալով մուգ կարմիր արտաքիրտով:

Հաճախ նկատվում էին արյունազեղումներ անմիջապես սրտամկանում (նկ.7ա,բ): Երիկամները արյունալեցված էին, ծավալով մեծացած, ծածկված բազմաթիվ մանր կետային արյունազեղումներով: Երբեմն կարող էին նկատվել միավորված արյունազեղումներ: Այդ դեպքում, ախտահարված օրգանը ծավալով շատավելի էր մեծացած և ուներ մուգ կարմիր գույն (նկ.8ա,բ):

Հերձումների ժամանակ կատարված փայծաղի մակրոսկոպիկ ուսումնասիրությամբ հայտնաբերվել էին հետևյալ փոփոխությունները. օրգանի ծավալը մեծացած էր (երբեմն մի քանի անգամ), եզրերը կորացած էին, խտաստիճանը՝ փափուկ: Կակղանը լցված էր արյունով, ուներ մուգ կարմիր երանգ, կտրվածքի վրա հեշտությամբ քերվում էր շիլայանման զանգվածի ձևով (հեմորագիկ սալենիտ): Ախտահարված օրգանում առկա էին արյունազեղումների բազմաթիվ օջախներ (նկ.11ա,բ): Քանի որ մեր աշխատանքում փայծաղի ախտահարումն ունի հենակետային նշանակություն, ուստի հարկ ենք համարում ներկայացնել ու նաև

օրգանի հյուսվածաբանական փոփոխությունները հիվանդության դինամիկայում: Այսպես՝ հիվանդության վաղ շրջանում (3-4-րդ օրեր) նկատվում էր հեմորագիկ սալենիտ, սպիտակ կակղանի ավշային ֆոլիկուլների հիպերալազիա (նկ.12), հետագայում (6-7-րդ օրեր)՝ նրանց ռեդուկցիա, լիմֆոցիտների կարիոպիկնոզ և կարիոռեքսիս (նկ.13ա,բ): Հյուսվածաբանական հետազոտությամբ օրգանում հայտնաբերվում էին օջախային և տարածուն արյունազեղումներ՝ հեմոսիդերինի կուտակմամբ (6-7-րդ օր), (նկ.14):

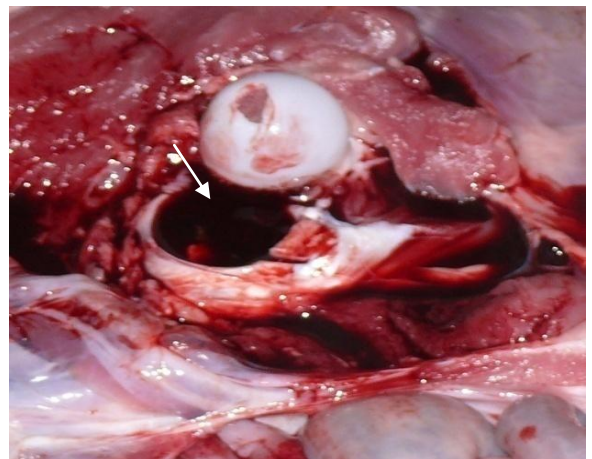
Այսպիսով, իրականացված փորձարական վարակման ընթացքում հիվանդության կլինիկական դրսևորումը ներկայացված է ավելի լայն կերպով, քան մեզ հասանելի գրականության մեջ: Մեր կողմից առաջին անգամ բացահայտվել են արյունազեղումներն երկրորդ կոնքազդրային հոդի գրպանիկում և երիկամային ավազաններում:

3.2. Փայծաղի էրիթրոիդ բջիջների հետազոտությունը ԽԱԺ-ի դեպքում

Չնայած այն հանգամանքին, որ ԽԱԺ-ի դեպքում փայծաղի ախտահարումը հայտնի է վաղուց և ապացուցված է նրանում վիրուսի կուտակումը հիվանդության տարբեր ձևերի ընթացքում, առողջ և ԽԱԺ-ով հիվանդ խոզերի փայծաղի պարենխիմի հիմնական



Նկար 1-խոզի ականջախեցիների կոնքազդրա-
արյունազեղումները 3-րդ հվօ
հվօ



Նկար 2-Արյունազեղում
ային հոդում 7-րդ



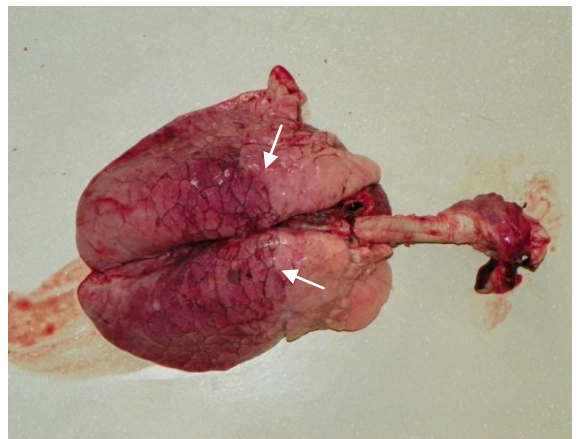
Նկար 3-Արյունազեղումները մեջընդեր-
ալշային քուժ հիվանդության 6-րդ օրը
հիվանդության 6-րդ օրը



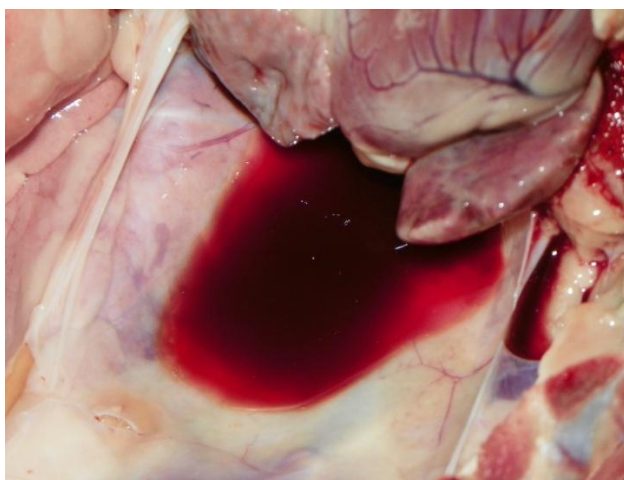
Նկար 4- Ախտահարված
հանգույց



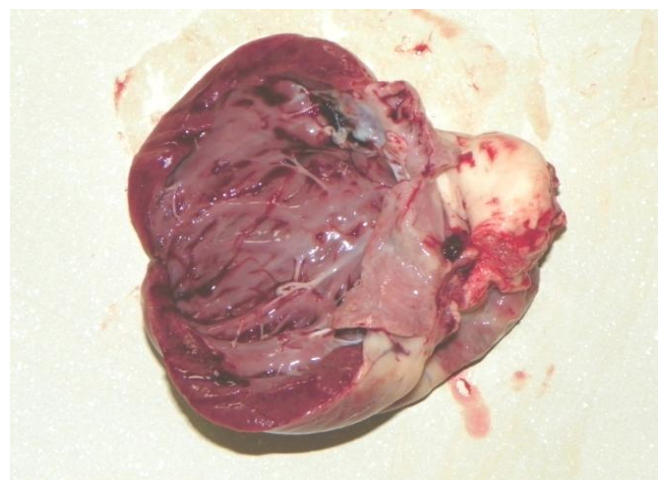
Նկար 5- Արյունազեղում խոզի լյարդում
թոքերը՝
հԱԺ-ի 6-րդ օրը



Նկար 6 - Ախտահարված
արյունազեղման օջախներով 6-
րդ հվօ



ա

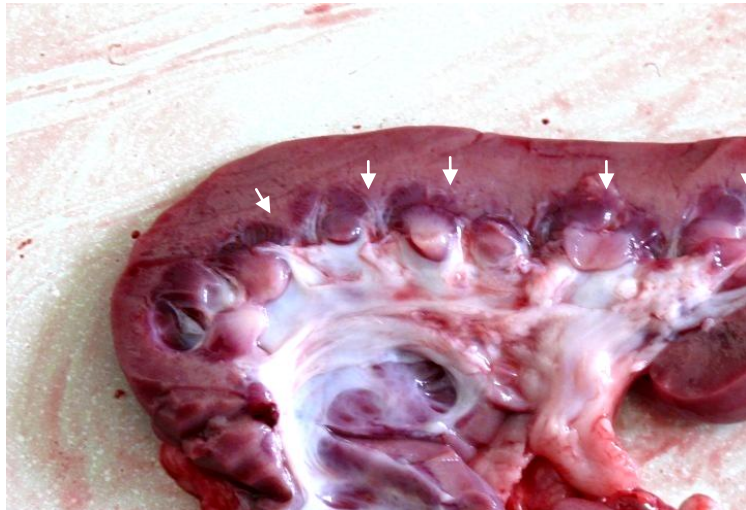


բ

Նկար 7-Պերիկարդի խոռոչը՝ լցված մուգ կարմիր արտաքիրտով (ա) և արտահարված սիրտը (բ) հիվանդու թյան 6-րդ օրը:

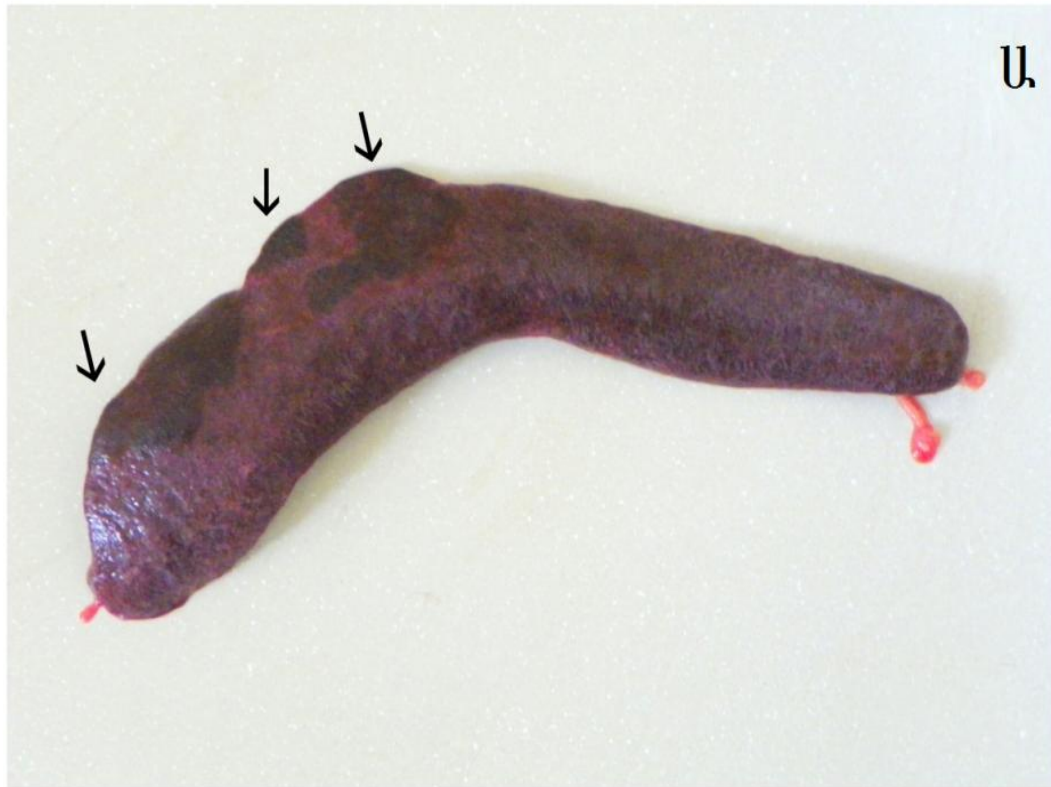


ա

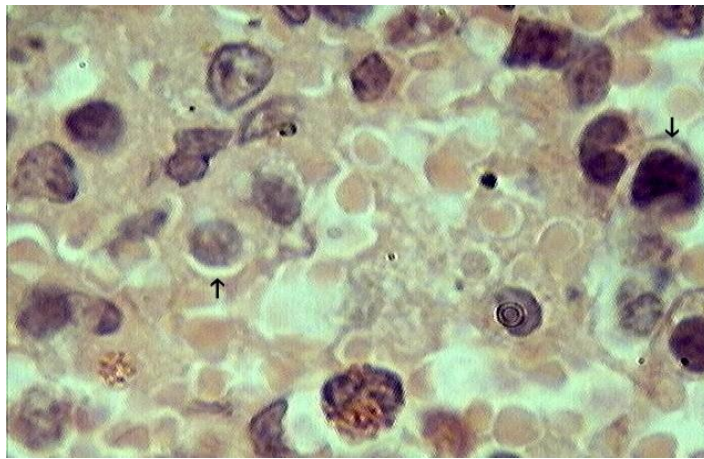


բ

Նկար 8-Խոզի երիկամը՝ պարենխիմի կետային (ա) և ավազանի տարածուն (բ) արյունազեղումներով հիվանդու թյան 5-րդ օրը:



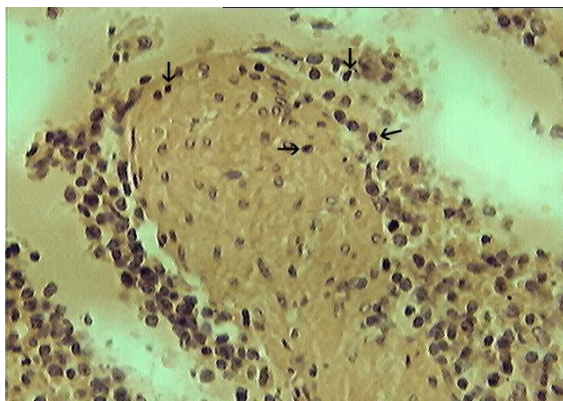
Նկար 9 (Ա,Բ)-Ախտահարված փայ ծաղը ԽԱԺ-ի սուր ձևի ընթացքում (6-րդ հվօ): Սլաքները ցույց են տալիս արյունազեղումներ փայ ծաղի կակղանում: Մասշտաբը՝ 1սմ:



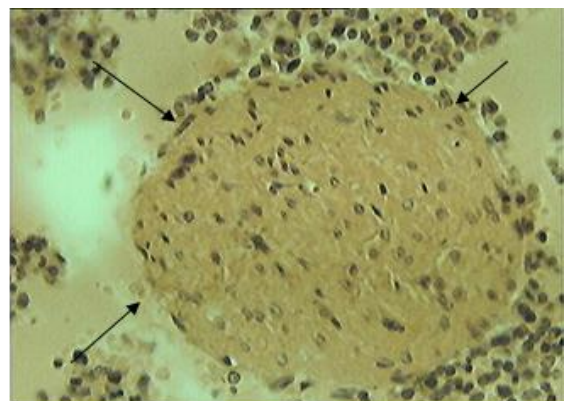
Նկար 10-

Հեմոռագիկ

սալ ենիտ, Լիմֆոցիտների կարիոռեքսիս (ցույց են տրված սլաքներով), հիվանդության 3-րդ օրը: Ներկումը հեմատոքսիլին էոզինով, խշորացումը՝ x1250:

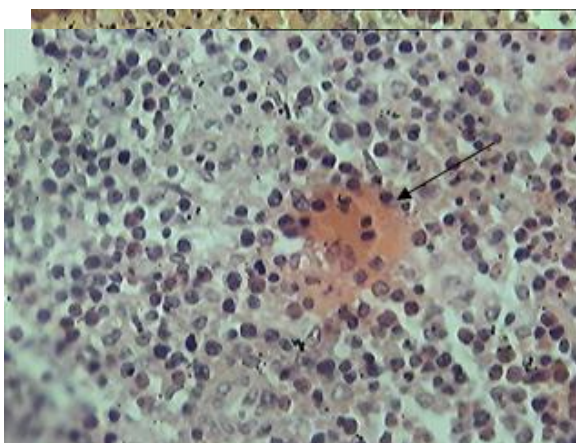


ա



բ

Նկար 11 (ա, բ)-Փայծաղի ավշային հանգույցների ռեդուկցիա (հանգույցը ցույց են տրված սլաքներով), 6-րդ հվօ: Ներկումը հեմատոքսիլին էոզինով, խշորացումը՝ x250:



Նկար 12-Արյունագեղման օջախ

(ծախից) և տարածուն արյունագեղումներ (աջից)՝ հեմոսիդերինի կուտակմամբ (ցույց են տրված սլաքներով), 6-րդ հվօ: Ներկումը հեմատոքսիլին էոզինով, խշորացումը՝ x250:

բջիջների պոպուլյացիոն վերլուծությունը հիվանդության դինամիկայում կատարվում է առաջին անգամ: Այն ներկայացվել է սալ էնոգրամի ձևով (աղ.1), որտեղ ցույց է տրվել, որ առողջ խոզերի փայծաղի բջիջների մեծ մասը (մոտ 75%) կազմում են լիմֆոիդ բջիջները, իսկ էրիթրոիդ բջիջներին բաժին է ընկնում ողջ պոպուլյացիայի բջիջների մոտ 6%-ը: Սկսած վարակման 3-րդ օրվանից լիմֆոիդ պոպուլյացիայի բջիջները նվազում են, իսկ վերջին փուլում նրանց քանակը դառնում է մոտ երկու անգամ փոքր համեմատած ստուգիչի հետ: Սափտակ արյան բջիջների պոպուլյացիայի նվազումը հիմնականում պայմանավորված է հասուն լիմֆոցիտների նվազմամբ, որոնք նորմայում կազմում են փայծաղի բոլոր կորիզավոր բջիջների 2/3-ից ավելին: Հիվանդության ավարտին լիմֆոիդ բջիջների թիվը կազմում է բոլոր բջիջների ընդհանուր քանակի մոտ 34,5%-ը:

Ինչպես նշվեց վերևում՝ ստուգիչ փորձի ժամանակ փայծաղի հիմնական կորիզավոր բջիջների պոպուլյացիայում էրիթրոիդային բջիջները կազմում են մոտ 6.0%: Սակայն հիվանդության դինամիկայում դրանց քանակը էականորեն փոփոխվում է: Սկսած վարակման 4-րդ օրվանից աստիճանաբար ավելանում է, սկզբում միջինում 25%-ով, իսկ վարակման 5-րդ օրվանից՝ ավելի քան 2,5 անգամ՝ հիվանդության վերջին փուլում կազմելով փայծաղի բոլոր կորիզավոր բջիջների մոտ 22,6%-ը:

Ինչպես երևում է նկար 13-ից, փայծաղում կորիզ պարունակող բջիջների քանակը ԽԱԺ-ի սուր ձևի ընթացքում էականորեն չի փոփոխվում, նկատվում է միայն բջիջների քանակի աճի ոչ արտահայտված միտում ($p < 0.5$) 4-7-րդ հվօ ընթացքում: Քայքայված բջիջների քանակը փոխվում է առավել նկատելիորեն: 2-3-րդ հվօ վերջում նկատվում է աճի միտում ($p < 0.1$), իսկ սկսած 4-րդ հվօ-ից, տարբերությունը դառնում է արժանահավատ ($p < 0.05-0.01$): Հիվանդության այս փուլում մահացող բջիջների քանակը ավելի քան 20 անգամ գերազանցում է ստուգիչ ցուցանիշներին:

Այսպիսով՝ հիվանդության դինամիկայում նկատվում է էյկոցիտային ծագման բջիջների ընդհանուր մասնաբաժնի մշտական նվազում և էրիթրոիդային ծագում ունեցող բջիջների մասնաբաժնի աճ (աղ.1): Սակայն պետք է նշել, որ հասուն

Լիմֆոցիտների քանակի զգալի նվազման ֆոնի վրա (աղ.1), մեծանույն Նեյտրոֆիլային շարքի բջիջների մասնաբաժինը, բայց միևնույն ժամանակ փայծաղի կորիզավոր բջիջների ընդհանուր պոպուլյացիայում Լեյկոցիտային բջիջների քայքայումը

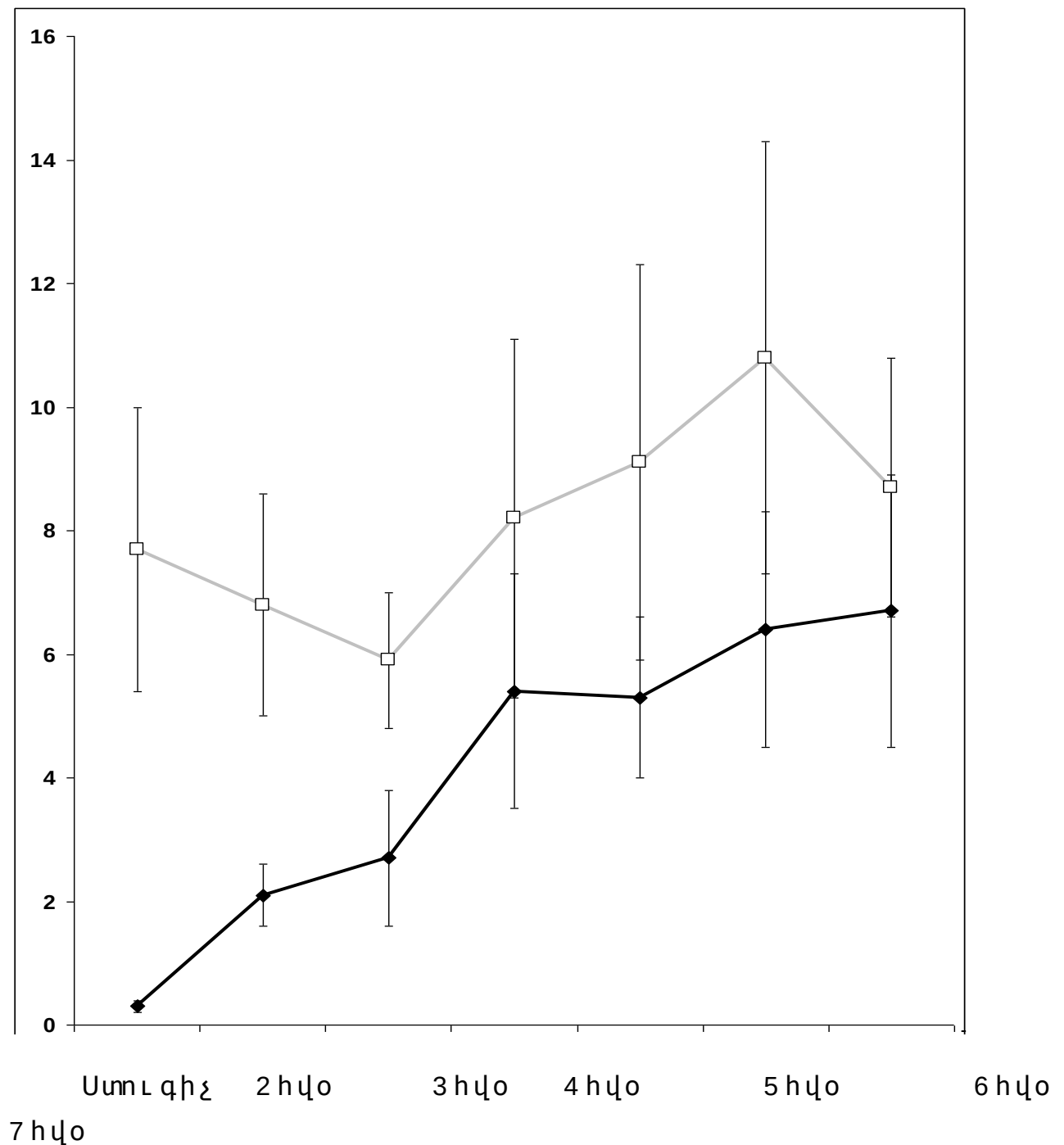
Աղյուսակ 1

Խոզի փայծաղի պարենքիմի հիմնական բջիջների հարաբերակցության սպեկտրամը ԽԱԺ-ի սուր ձևի դիսամիկայում և ստուգիչում (%)

Բջիջների տեսակները	ստուգիչ	3-րդ հվո	4-րդ հվո	5-րդ հվո	6-րդ հվո	7-րդ հվո
Մակրոֆագ	-	-	0.3±0.01	0.2±0.01	0.2±0.01	0.1±0.01
Լիմֆոցիտ	68.1±6.7	63.4±7.1	60.4±6.9	33.4±5.1*	35.0±4.9*	28.5±5.5*
Ատիպիկ Լիմֆոցիտ	-	0.3±0.01*	0.3±0.01*	2.5±0.5*	1.0±0.2*	3.0±0.7*
Լիմֆոբլաստ	5.5±1.2	1.0±0.3	1.5±0.2	4.9±0.8	3.0±0.9	4.4±1.1
Լիմֆոիդ բջիջ (ընդհ)	73.6±4.0	64.7±2.5	60.1±2.4	40.8±2.1*	35.0±2.0*	34.5±2.3*
Միելոիդ բջիջ	7.6±0.4	4.3±0.2	4.0±0.3	3.4±0.4	5.0±0.5	4.6±0.7
Նեյտրոֆիլ Լեյկոցիտ	8.8±0.4	12.8±0.8	14.1±0.4	15.3±0.7*	17.0±0.6*	26.1±1.4*
Հատիկավոր Լեյկոցիտ	4.4±0.3	12.6±0.3	13.9±0.4	14.0±1.4	23.0±1.8	12.1±1.1
Էրիթրոիդ բջիջ (ընդհ)	5.6±0.9	5.6±1.1	7.6±1.3	16.3±1.8*	19.8±1.9*	22.6±2.7*

* արժանահավատ է ստուգիչի համեմատությամբ (p<0.05-0.01)

մգեցված տառերով առանձնացված են լիմֆոիդ և էրիթրոիդ բջիջների
ընդհանուր քանակները



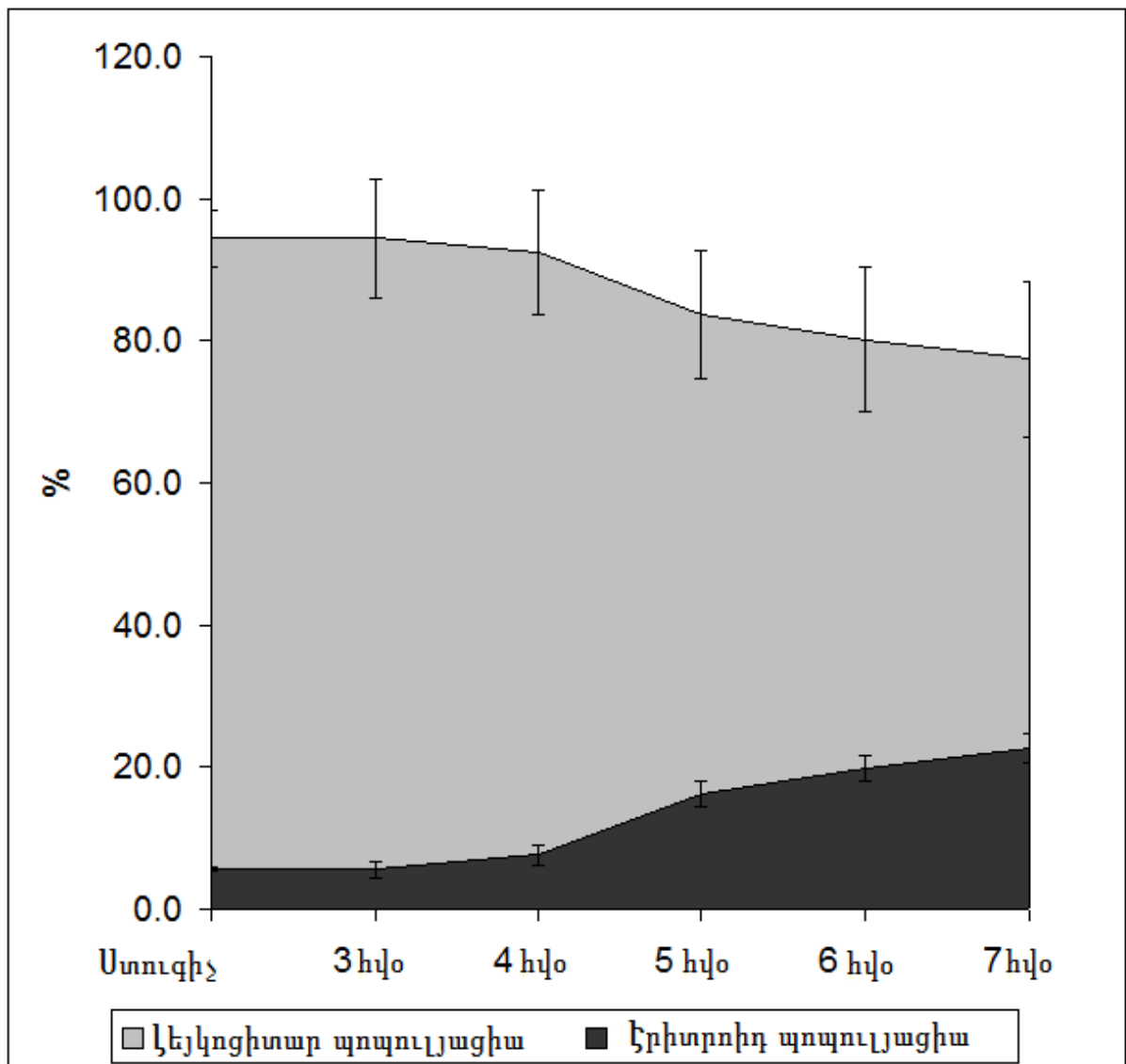
Նկար 13 - Սալ էնոգրամի հիմնական բջջաբանական ցուցանիշները
ԽԱԺ-ի սուր

ձևի դիսամիկայում

ըստաբացիսների առանցքի՝ օրերը ԽԱԺ-ի վիրուսով վարակումից
հետո (h)

ըստօրդիսատների առանցքի՝ բջիջների քանակը (%)

- քայքայված բջիջների քանակը 120×85մկմ տեսադաշտում
- կորիզավոր բջիջների քանակը 120×85մկմ տեսադաշտում



Նկար 14-Փայծաղում էյկոցիտային և էրիթրոիդային պոպուլյացիաների հարաբերակցության փոփոխության դինամիկան խձ-ի սուր ձևի ընթացքում
Ըստաքսցիսների առանցքի՝ օրերը խձ-ի վիրուսով վարակումից հետո
Ըստօրդինատների առանցքի՝ բջիջների ընդհանուր մասնաբաժինը (%)

գերակշռում է էրիթրոիդ բջիջների աճի նկատմամբ և վարակման 5-րդ օրվանից տարբերությունները դառնում են արժանահավատ: Քայքայված բջիջների քանակի մեծացման մասին տվյալների հիման վրա կարելի է եզրակացնել, որ փայծաղի բջջային տարրերի պոպուլյացիոն կազմը կրում է արտահայտված փոփոխություններ,

որոնք հանգեցնում են էնյկոցիտային պոպուլյացիայի ակնհայտ նվազման և Էրիթրոիդային պոպուլյացիայի ավելացման (նկ.14): Փայծաղում Էրիթրոիդային պոպուլյացիայի ավելացման հիմքում ընկած է նախև առաջ օքսիֆիլ Էրիթրոբլաստների (տասնապատ

Աղյուսակ 2

Փայծաղի Էրիթրոիդ բջիջների բաշխումն ըստ հասունության
աստիճանի առողջ և
ԽԱԺ-ով հիվանդ խոզերի մոտ (%):

Բջիջներ	ստուգիչ	III հվո	IV հվո	V հվո	VI հվո	VII հվո
Էրիթրոիդ (ընդհանուր)	5.6±0.9	5.6±1.1	7.6±1.3	16.3±1.8*	19.8±1.9*	22.6±2.7*
Պրո-Էրիթրոբլ	-	-	0.2±0.02	0.2±0.01	0.5±0.02*	1.1±0.3*
Բազոֆիլ Էրիթրոբլ	2.3±0.9	0.6±0.07	0.6±0.1	1.9±0.3	2.6±0.3	2.4±0.5
Պոլիքրոմատոֆիլ Էրիթրոբլ	1.1±0.2	1.7±0.4	2.6±0.3	3.9±1.0*	3.7±0.7*	5.0±0.9*
Ատիպիկ պոլիքր. Էրիթրոբլ	1.1±0.1	1.0±0.1	1.5±0.1	1.8±0.4	1.9±0.3	1.2±0.1
Օքսիֆիլ Էրիթրոբլ	1.1±0.08	1.6±0.2	2.0±0.2	8.1±2.1*	7±2.0*	12.6±1.5*
Ատիպիկ օքսիֆիլ Էրիթրոբլ	-	0.7±0.1*	0.7±0.1*	0.4±0.03	1.4±0.4*	0.3±0.1

* արժանահավատ է ստուգիչի համեմատությամբ ($p<0.05-0.01$)

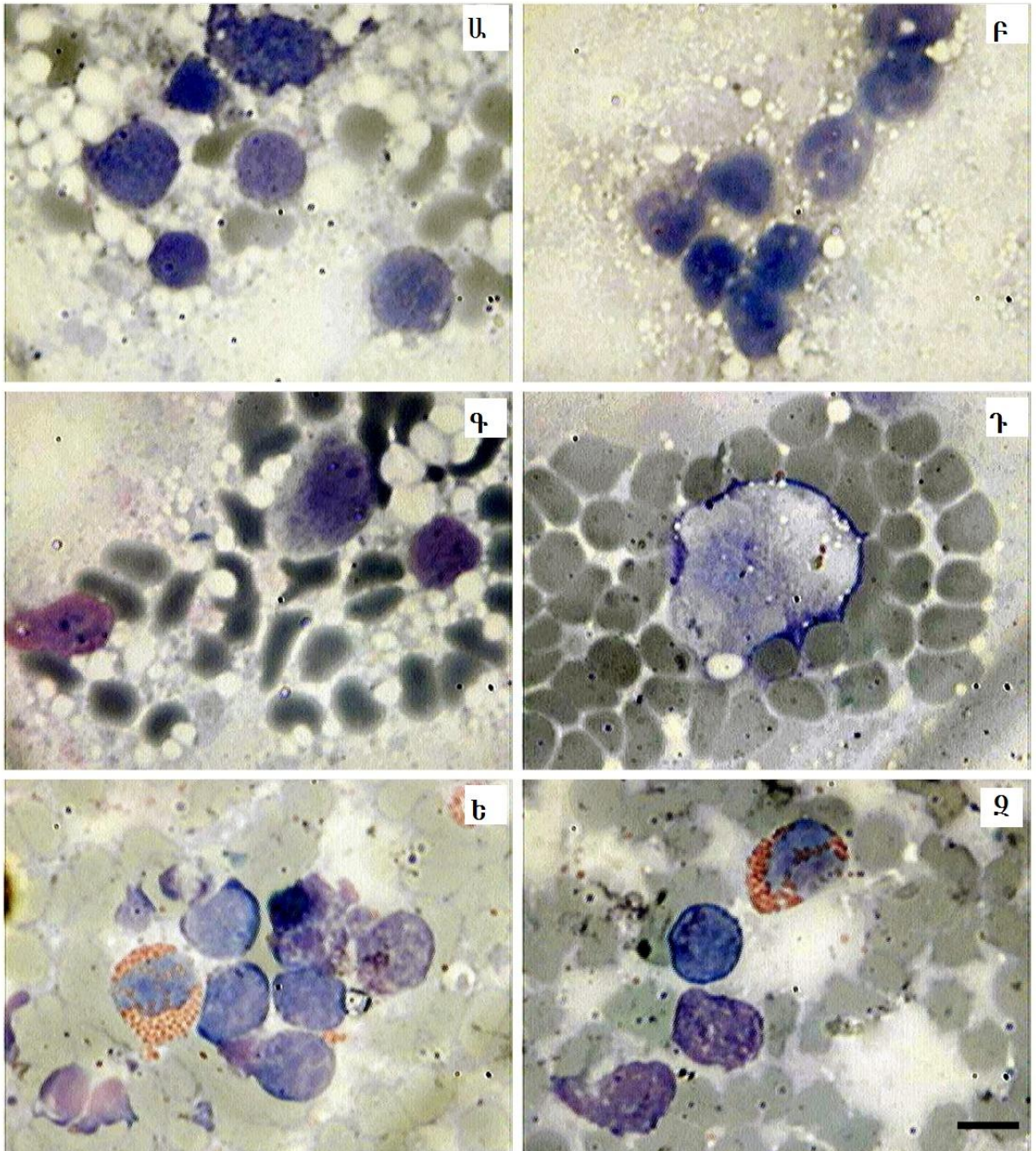
տիկ անգամ ստուգման համեմատությամբ) և պոլիքրոմատոֆիլ Էրիթրոբլաստների (ավելի քան քառապատիկ անգամ ստուգման համեմատությամբ) պարունակության մեծացումը, ($p<0.05-0.01$) (աղ.2): Ընդ որում Էրիթրոիդային շարքի առավել երիտասարդ ձևերը՝ պրոէրիթրոբլաստները նորմայում փայծաղում բացակայում են:

Վերջիններս փայծաղում ի հայտ են գալիս վարակման 3-4-րդ օրը և դրանց առկայությունն, ամենայն հավանականությամբ, հանդիսանում է արյունատար հունից գաղթի արդյունք, որտեղ հայտնաբերվում են դեռևս 3-րդ հվօ-ից (աղ.2): Հիվանդության ընթացքում պրոէրիթրոբլաստների քանակը մշտապես աճում է, ավելանալով ավելի քան 5 անգամ, սակայն նրանց բացարձակ քանակը հիվանդության վերջնական փուլում չի գերազանցում փայծաղի էրիթրոիդ բջիջների պոպուլյացիայի 1%-ը: Հարկ է նշել, որ հիվանդության ընթացքում, սկսած հետվարակային 3-րդ օրվանից փայծաղում հայտնաբերվում են նաև ատիպիկ օքսիֆիլ էրիթրոբլաստներ (1%-ից պակաս), որոնք ստուգիչում բացակայում են:

Նկար 15-ում բերված են ԽԱԺ-ով հիվանդ և առողջ խոզերի փայծաղի բջջային կազմի համեմատական տվյալները վարակումից հետո 6-րդ օրը: Նկարի առաջին երեք կադրերում (ԱԲԳ) ներկայացված են առողջ փայծաղներ, որոնցում գերիշխում է լիմֆոիդ հյուսվածքը, իսկ Գ կադրում բացի լիմֆոցիտներից առկա է նաև մեկ միելոիդ բջիջ: Դ կադրում ներկայացված են հիվանդ խոզի փայծաղի բջիջները վարակումից հետո 6-րդ օրը, որտեղ երևում է մակրոֆագը՝ շրջապատված էրիթրոցիտներով (հեմազլյուտինացիա), ինչը բնորոշ է ԽԱԺ-ին: Ե կադրում ներկայացված են էոզինոֆիլ, բազոֆիլ էրիթրոբլաստներ և ոչ կենսունակ լիմֆոցիտներ, իսկ Զ կադրում՝ լիմֆոցիտներ, բազոֆիլ էրիթրոբլաստներ և էոզինոֆիլ լեյկոցիտ: Նկար 16-ում ներկայացված է ԽԱԺ-ով հիվանդ խոզի փայծաղի կտրվածք, որում հայտնաբերվում են հիվանդությանը բնորոշ մեծ քանակությամբ էոզինոֆիլներ, ինչպես նաև երկկորիզ ատիպիկ օքսիֆիլ էրիթրոբլաստներ:

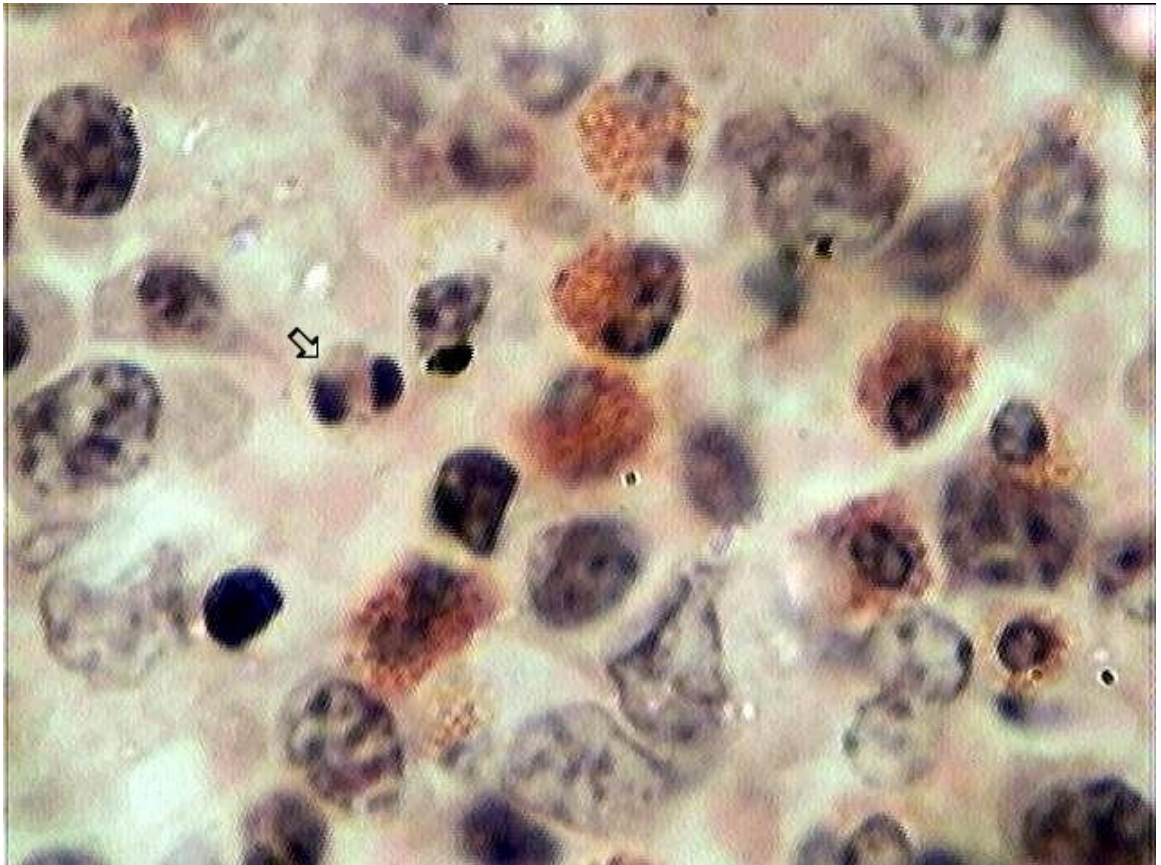
Այսպիսով, մենք փորձեցինք ցույց տալ փայծաղի հիմնական բջջային պոպուլյացիաների հարաբերակցության և բովանդակության արտահայտված փոփոխությունները. այն է՝ էրիթրոիդ և միելոիդ պոպուլյացիաների մեծացում ի հաշիվ լիմֆոիդ պոպուլյացիայի նվազման, միևնույն ժամանակ նորմայում չհանդիպող ախտաբանական և մահացած բջիջների հայտնաբերում: Ելնելով այս արդյունքներից՝ կարելի է եզրակացնել, որ հիվանդության դինամիկայում նշանակալիորեն ակտիվանում է

Էրիթրոպոեզը՝ Լիմֆոպոեզի ճնշման և կորիզ պարունակող բջիջների մեծ քանակությամբ ոչ նշացման ֆոնի վրա: Յիվանդության վաղ փուլներում ի հայտ են գալիս էրիթրոիդ բջիջների ոչ մեծ քանակությամբ ախտաբանական ձևեր և պրոէրիթրոբլաստներ, որոնք նորմայում բացակայում են փայծաղում:



Նկար 15-Առողջ (ԱԲԳ) և ԽԱԺ-ով հիվանդ (ԴԵԶ) խոզերի փայծաղի պատճենները վարակումից հետո 6-րդ օրը:

ԱԲ-տիպիկ առողջ փայծաղ՝ Լիմֆոիդ հյուսվածքի գերակշռումով, Գ-միելոիդ բջիջ և Լիմֆոցիտներ, Դ-մակրոֆագ՝ հեմագլոբինացիայով, հիվանդ խոզի փայծաղում, որը բնորոշ է ԽԱԺ-ին, Ե-Էոզինոֆիլ, բազոֆիլ Էրիթրոբլաստներ և ոչ կենսունակ Լիմֆոցիտներ, Չ-Լիմֆոցիտներ, բազոֆիլ Էրիթրոբլաստ և Էոզինոֆիլ Լեյկոցիտ: Գուճաճորումն ըստԳիմզայի, մասշտաբը՝ 10 մկմ:



Նկար-16 Փայծաղի կտրվածքը վարակումից հետո 6-րդ օրը.:

Սլաքը ցույց է տալիս երկկորիզավոր օքսիֆիլ Էրիթրոբլաստ:

Գուճաճորումն հեմատոքսիլին-Էոզինով, մասշտաբը՝ 10 մկմ:

3.3.Ոսկրածուծային և փայծաղային Էրիթրոպոեզների համեմատական բնութագիրը ԽԱԺ-ի սուր ձևի դեպքում

Այսպիսով՝ նախորդիվ մեր կողմից ցույց տրվեցին փայծաղի բջջային կազմի ախտաբանական տեղաշարժերը (Էրիթրոպոեզի խթանում, պրոԷրիթրոբլաստների և Էրիթրոիդ բջիջների ախտաբանական ձևերի հայտնաբերում և այլն) ԽԱԺ-ի դինամիկայում: Սակայն խոզերի Էրիթրոպոեզի խանգարումները կաթնասունների ախտաբանություններից ամենաքիչ ուսումնասիրվածն է և մասնավորապես, գործնականում ուսումնասիրված չէ Էրիթրոպոեզի

ախտաբանությունը ԽԱԺ-ի տարբեր ձևերի ընթացքում: Բջջի կենսաբանության և վիրուսաբանության և աբորատորիայում վերջին մի քանի տարիների ընթացքում ուսումնասիրվում են ԽԱԺ-ի դեպքում արյունաստեղծման խանգարումները (Karalyan Z.,2012; Karalova E.,2014): Ցույց է տրված, որ հիվանդության առաջին իսկ օրերից ծայրամասային արյան մեջ ի հայտ են գալիս Էրիթրոիդ բջիջների կորիզավոր ձևեր և գործի են դրվում միկրո- և մակրոցիտոզի մեխանիզմները, որոնք նպաստում են Էրիթրոիդ պոպուլյացիայի արագ վերականգնմանը և հեմոգլոբինով արյան հագեցմանը: Ոսկրածուծի բջջային կառուցվածքի վերլուծությամբ պարզվել է, որ Էրիթրոպոեզն ակտիվանում է ԽԱԺ-ի սկզբնական փուլերում, իսկ վերջնական փուլերում ճնշվում է (Нерсесян Н.,2015): Նախորդ հոդվածում (Мисакян А.,2015) մենք դիտարկել ենք Էրիթրոպոեզը փայծաղում, որը հանդիսանում է արտաոսկրածուծային Էրիթրոպոեզի գլխավոր օրգան արյունաստեղծման այնպիսի խանգարումների դեպքում, ինչպիսին սուր սակավարյունություններն են (Lenox L.,2005; Wu D-C.,2010):

Հայտնի է, որ կայուն Էրիթրոպոեզը տեղի է ունենում ոսկրածուծում և նոր Էրիթրոցիտները ձևավորվում են անդադար և հաստատուն արագությամբ: Իրավիճակը կտրուկ փոխվում է հասուն կենդանիների մոտ սուր սակավարյունության դեպքում: Այդ ժամանակ սկսում է գերիշխել արտաոսկրածուծային, այլ կերպ կոչված «սթրես» Էրիթրոպոեզը, որի արդյունքում ձևավորվում են նոր Էրիթրոցիտներ այնպիսի արագությամբ, որը դուրս է կայուն Էրիթրոպոեզի հնարավորությունների սահմաններից (Paulson L.,2011; Sokolovsky M.,2007): Հայտնի է նաև, որ սուր սակավարյունությունը հանգեցնում է հյուսվածքների կտրուկ թթվածնաքաղցի, ինչի արդյունքում փայծաղում ձևավորվում է մորֆոգենետիկական սպիտակուց (BMP4): Այն իրենից ներկայացնում է պրոլիֆերացիայի և տարբերակման գործոն և սուր թթվածնաքաղցի հետ խթանում է արտաոսկրածուծային «սթրես» Էրիթրոպոեզը: Ի պատասխան այդ ազդակների, փայծաղի «սթրես» Էրիթրոիդային բջիջները պրոլիֆերացվում և տարբերակվում են նոր Էրիթրոցիտների ավելի արագ, քան ոսկրածուծային բջիջները (Lenox L.,2009; Omid F., 2010): Հայտնի է նաև, որ մկների մոտ Էկզոգեն Էրիթրոպոետինի

ազդեցությամբ փայծաղում հասունացող էրիթրոիդ բջիջների քանակության ավելացում տեղի է ունենում ավելի վաղ, քան ոսկրածուծում: Իսկ սալ ենեկտոմիան՝ շուրջ 5 օր էՊՕ խթանման պայմաններում, բերում է էրիթրոնի պրոլիֆերատիվ պատասխանի երեք քառորդով նվազման համեմատած առողջ կենդանիների մոտ ընթացող նույն գործընթացի հետ (Papayannopoulou T.,1972): Ինչպես արդեն նշվեց, ի պատասխան սուր սակավարյունության, որն առաջանում է տարբեր գործոնների, ինչպես օրինակ ԽԱԺՎ-ի ազդեցությամբ, խթանվում է արտաոսկրածուծային էրիթրոպոեզը: Մեզ հետաքրքրել է այն հարցը, թե արդյո՞ք ոսկրածուծային կայուն էրիթրոպոեզի էրիթրոիդ բջիջները տարբերվում են փայծաղի «սթենս» էրիթրոպոեզի էրիթրոիդ բջիջներից: Այդ նպատակով սույն աշխատանքում կատարվել է ոսկրածուծում ձևավորված էրիթրոիդ բջիջների (Нерсесян Н.,2015) և փայծաղում «սթենս» էրիթրոպոեզի արդյունքում ձևավորված էրիթրոիդ բջիջների մակերեսային չափերի և նրանցում ՌՆԹ-ի պարունակության համեմատական վերլուծությունն ԽԱԺ-ի սուր ձևի դինամիկայում: Ստացված տվյալները՝ ներկայացված աղյուսակ 3-ում, վկայում են այն մասին, որ առողջ խոզերի փայծաղում պրոէրիթրոբլաստները բացակայում են, իսկ ոսկրածուծում բնականաբար հայտնաբերվում է հանդիսանալով ամենախոշոր էրիթրոիդ բջիջները: Նրանցում կորիզի մակերեսը միջինում 20%-ով գերազանցում է ցիտոպլազմայի մակերեսը: Տարբերակմանը զուգընթաց յուրաքանչյուր փուլում էրիթրոիդ բջիջները նվազում են չափերով միջինը երկու անգամ և վերջին կորիզային փուլում օքսիֆիլ էրիթրոբլաստները գրեթե ութ անգամ փոքր են պրոէրիթրոբլաստների համեմատությամբ: Միևնույն ժամանակ, էրիթրոպոեզի ողջ ընթացքում՝ սկսած պրոէրիթրոբլաստի փուլից, բոլոր էրիթրոիդ բջիջների կորիզների մակերեսները սահուն կերպով նվազում են և վերջնական փուլում մոտ 4,5 անգամ զիջում պրոէրիթրոբլաստների կորիզների մակերեսներին:

Հիվանդության առաջին իսկ օրերից և մինչև վերջնական փուլը ներառյալ ոսկրածուծի և փայծաղի պրոէրիթրոբլաստների, մեծ բազոֆիլ էրիթրոբլաստների մակերեսային չափերը առանձնապես չեն փոխվում, թեև առկա է ինչպես բջիջների, այնպես էլ ցիտոպլազմայի և կորիզի մակերեսների նվազման միտում: Ընդ

որում, փայծաղի բջիջների բոլոր մակերեսային չափերը միջինում 12-15%-ով փոքր են ոսկրածուծային բջիջների համապատասխան չափերից: 6-րդ հվօ համեմատությամբ 4-րդ հվօ նկատվում է փայծաղի պրոէրիթրոբլաստների, մեծ բազոֆիլների և օքսիֆիլների չափերի նվազման միտում: ԽԱԺ հիվանդության ողջ ընթացքում փայծաղի և ոսկրածուծի էրիթրոիդ բջիջների չափերը տարբերակմանը զուգընթաց նվազում են ($p < 0.001$) (3-րդ և 4-րդ օրերի ընթացքում ոսկրածուծի և փայծաղի պրոէրիթրոբլաստների, ինչպես նաև մեծ և փոքր բազոֆիլ էրիթրոբլաստների չափերը նվազում են միջինում երկուական անգամ, իսկ առավել տարբերակված էրիթրոիդ բջիջներինը՝ համապատասխանաբար՝ 40% և 50 %-ով): Վերջնական փուլում առավել տարբերակված օքսիֆիլ էրիթրոբլաստները դառնում են մոտ յոթ անգամ ավելի փոքր, քան պրոէրիթրոբլաստները:

Աղյուսակ 3

Փայծաղի և ոսկրածուծի էրիթրոիդ բջիջների մակերեսային փոփոխությունների համեմատական
վերլուծությունը ԽԱԺ-ի սուր ձևի դինամիկայում (մկմ²)

	Մակ.	Պրոէրիթրոբլաստ		Մեծ բազոֆիլ էրիթրոբլաստ		Փոքր բազոֆիլ էրիթրոբլաստ		Պոլիքրոմատոֆիլ էրիթրոբլաստ		Օքսիֆիլ էրիթրոբլաստ	
		Փ	ՈՃ	Փ	ՈՃ	Փ	ՈՃ	Փ	ՈՃ	Փ	ՈՃ
Սառցիչ	Բջիջ	-	220.3±12.4	98.3±6.2	122.7±9.2	54.1±3.1	58.4±3.1	45.5±3.2	37.7±0.7	36.6±2.9	25.7±0.8
	Ցիտ.	-	98.3±8.7	34.5±5.3	59.2±4.3	22.6±1.3	24.9±1.9	20.9±2.4	20.0±0.9	20.1±2.5	21.1±0.7
	Կորիզ	-	122.0±6.5	63.8±5.2	63.4±5.9	31.5±2.6	33.5±2.9	24.6±2.1	17.7±0.8	16.5±2.0	14.6±0.9
	Կորիզակ	-	9.1±0.9	8.5±1.5	-	-	-	-	-	-	-
3-րդ հվո	Բջիջ	183.6±25.4	228.2±17.5	99.4±9.4	127.1±4.5	54.5±1.5	55.8±4.7	35.3±0.3	35.8±0.8	25.0±4.4	25.7±1.3
	Ցիտ.	82.0±5.8	103.4±11.1	37.5±9.6	50.6±7.5	24.7±5.4	24.1.9±2.1	13.9±1.8	18.7±1.1	11.1±1.2	14.1±1.6
	Կորիզ	101.5±7.5	124.8±7.5	63.9±6.7	76.5±5.3	29.8±6.7	31.7±5.2	21.4±1.5	17.1±1.1	13.9±4.3	11.6±0.8
	Կորիզակ	10.1±0.7	6.2±0.6	8.0±1.4	-	-	-	-	-	-	-
4-րդ հվո	Բջիջ	232.4±15.0	277.5±25.1	78.5±5.2	104.6±6.8	46.5±0.9	54.3±1.7	35.6±1.4	36.5±0.9	24.4±1.7	26.6±0.8
	Ցիտ.	51.3±5.7	75.4±11.1	24.6±4.9	37.1±3.9	12.2±0.2	21.8±1.3	11.1±2.1	17.2±2.2	9.2±1.2	14.3±0.9
	Կորիզ	81.1±9.3	102.1±10.5	53.9±3.6	67.5±4.1	34.3±1.1	32.5±5.2	24.5±3.4	19.5±1.7	15.2±1.6	12.3±1.2
	Կորիզակ	12.2±4.6	8.8±0.5	4.7±0.7	-	-	-	-	-	-	-
6-րդ հվո	Բջիջ	130.8±17.7*	197.5±25.1	71.6±3.8*	113.3±8.2	46.6±1.6	55.3±1.8	34.1±1.6	36.6±1.9	26.4±0.8*	26.4±0.8
	Ցիտ.	150.9±21.2	86.0±11.1	23.2±2.2	45.8±5.1	11.3±1.6	21.7±1.0	10.6±2.2	17.2±2.2	12.1±0.9	13.5±0.9
	Կորիզ	80.0±8.3	111.5±19.7	48.4±4.9	67.5±4.1	35.3±1.5	33.6±1.9	23.5±0.8	19.4±1.7	14.3±0.7	12.9±0.7
	Կորիզակ	8.7±1.0	11.8±0.9	7.7±0.6	-	-	-	-	-	-	-

* p<0.1 միտում 4-րդ հվո համեմատությամբ

Հետաքրքրական է նշել, որ սկսած փոքր բազմաթիվ էրիթրոբլաստներից մինչև օքսիֆիլ էրիթրոբլաստները ներառյալ, բջիջների մակերեսային չափերը հիվանդության ողջ ընթացքում էականորեն չեն փոխվում:

Հայտնի է, որ էրիթրոիդ շարքի բջիջներում ՌՆԹ-ի պարունակության մակարդակը կարևոր նշանակություն ունի, քանի որ արտացոլում է ՌՆԹ-ի սինթեզը բջիջներում, և սկսած պրոէրիթրոբլաստի փուլից, բջիջների հետագա հասունացման ընթացքում հանդիսանում է հեմոգլոբինի պարունակության ցուցանիշ: Ինչպես երևում է աղյուսակ 4-ից, ոսկրածուծի և փայծաղի պրոէրիթրոբլաստներում, ինչպես ընդհանուր, այնպես էլ ցիտոպլազմային, կորիզային և կորիզակային ՌՆԹ-ի պարունակությունը հիվանդության ողջ ընթացքում մինչև վերջնական փուլը ներառյալ աննշան կերպով նվազում է: Բացառություն են կազմում փայծաղի պրոէրիթրոբլաստները, քանի որ հետվարակային 4-րդ օրը նրանցում ՌՆԹ-ի քանակը արժանահավատ կերպով բարձր է ($p < 0.01$), քան հիվանդության նախորդ փուլում: ՌՆԹ-ի պարունակությունը մեր կողմից դիտարկված ոսկրածուծի և փայծաղի կորիզ պարունակող բոլոր էրիթրոիդ բջիջներում փուլաափուլ տարբերակման ընթացքում արժանահավատ կերպով նվազում է ($p < 0.01$), որը հանընդհանուր հայտնի փաստ է և աղյուսակում չենք մատնանշել: Սակայն հիվանդության ընթացքում ինչպես ոսկրածուծում, այնպես էլ փայծաղում մեր կողմից հայտնաբերվել է ՌՆԹ-ի պարունակության ախտաբանական նվազում օքսիֆիլ և պուլիքրոմատոֆիլ էրիթրոբլաստներում համեմատած նախորդ փուլերի հետ, որն արժանահավատ է դառնում 6-րդ հվժ-ից:

Փայծաղի էրիթրոիդ բջիջներում սպիտակուցի պարունակության փոփոխությունները ներկայացված են նկար 17-ում: Ինչպես երևում է նկարից, հիվանդության 4-5-րդ օրը դիտվում է սպիտակուցի պարունակության արժանահավատ աճ ($p < 0.05$) ուսումնասիրվող բոլոր էրիթրոիդ բջիջներում: Այս փոփոխությունները պրոէրիթրոբլաստներում գրանցվել են սկսած հետվարակային 3-րդ օրվանից, քանզի մինչ այդ, ինչպես նաև ստուգիչ փորձում վերջիններս բացակայում էին: Չնայած հիվանդության վերջնական

փոփոխությունները Երիթրոցիտների բացակայությունը սպիտակուցի
 պարունակությունը նվազում է (բացառությամբ
 պրոէրիթրոբլաստների), սակայն ստուգիչի համեմատային մեծությունը
 բարձր (ուշ Երիթրոբլաստներում միտում $p < 0.1$):

Փայծաղի և ոսկրածուծի էրիթրոիդ բջիջներում ՌՆԹ-ի պարունակության փոփոխության դինամիկան խԱԺ-ի սուր ձևի դեպքում (ա/մ)

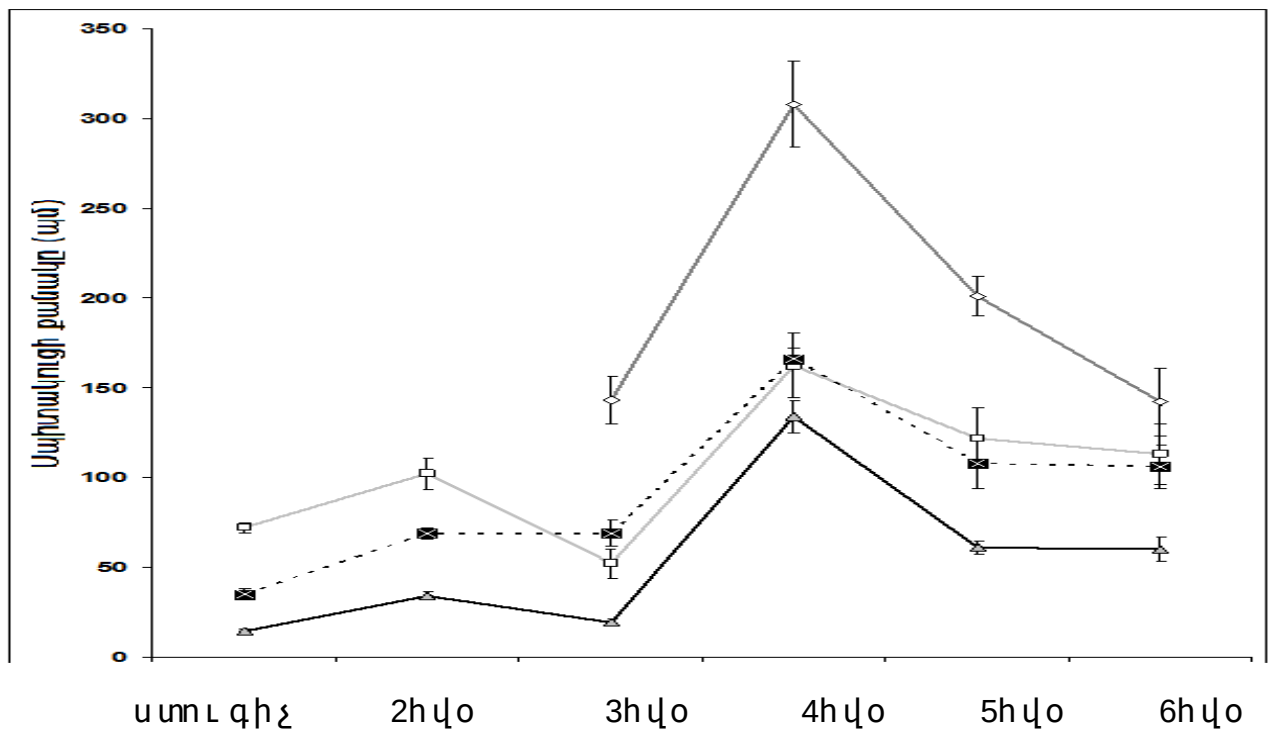
	ՌՆԹ	Պրոէրիթրոբլաստ		Մեծ բազոֆիլ էրիթրոբլաստ		Փոքր բազոֆիլ էրիթրոբլաստ		Պոլիքրոմ. էրիթրոբլաստ		Օքսիֆիլ էրիթրոբլաստ	
		Փ	ՈՃ	Փ	ՈՃ	Փ	ՈՃ	Փ	ՈՃ	Փ	ՈՃ
Ստուգիչ	Բջիջ	-	257.5± 16.3	107.7±8.5	132.9±13.2	54.4± 4.2	63.8± 3.2	45.0± 4.0	49.2± 0.9	33.2± 3.0	38.3± 0.7
	Ցիտ.	-	124.4± 9.9	41.6± 6.6	59.1± 6.6	25.3± 1.8	28.7± 1.9	20.8± 2.7	27.6± 0.9	18.4± 2.6	20.1± 0.5
	Կորիզ	-	133.0± 8.1	66.1± 6.1	73.8± 7.5	29.1± 3.1	35.1± 2.6	24.2± 2.1	21.6± 0.8	14.8± 1.9	18.2± 0.7
	Կորիզա	-	10.3± 1.01	8.3± 1.5	-	-	-	-	-	-	-
3-րդ հվո	Բջիջ	209.9± 80.7	236.2± 51.7	106± 13.6	111.9±18.9	49.0± 2.5	50.5± 2.3	36.6± 0.7	36.0± 1.6	32.6± 4.8	35.5± 0.8
	Ցիտ	121.5± 76.4	123.4± 40.8	44.8± 13.9	45.2± 12.2	22.2± 5.7	23.0± 1.1	18.7± 0.4	19.4± 0.8	19.4± 0.9	20.2± 1.1
	Կորիզ	88.4± 8.2	112.8± 14.6	61.2± 7.9	68.6± 9.7	26.8± 6.8	26.4± 1.7	17.9± 1.1	16.6± 1.8	13.2± 4.2	15.3± 0.6
	Կորիզա	9.4± 0.9	9.4± 1.1	7.4± 1.6	-	-	-	-	-	-	-
4-րդ հվո	Բջիջ	259.3± 19.9*	249.7± 19.7	99.2± 7.5	121.4±10.8	50.5± 3.8	51.6± 4.6	38.9± 2.3	35.7± 2.2	30.7± 1.6	32.8± 0.9
	Ցիտ	156.5± 7.8	132.4± 14.2	36.2± 4.8	62.8± 11.1	17.4± 0	22.4± 2.1	16.7± 2.3	20.1± 1.3	18.5± 1.2	21.6± 0.8
	Կորիզ	92.8± 12.1	117.2± 7.5	52.9± 5.8	58.7± 2.2	43.1± 6.9	29.2± 3.8	22.2± 3.9	15.6± 2.1	12.2± 1.5	11.2± 0.4
	Կորիզա	13.9± 4.9	5.7± 0.5	4± 0.9	-	-	-	-	-	-	-
6-րդ հվո	Բջիջ	146.5± 21.1*	170.9± 26.2*	68.3± 4.2**	98.6± 7.1**	49.0± 2.3	51.7± 1.9***	34.7± 3.4***	34.4± 0.8***	22.7± 1.8***	24.9± 0.6***
	Ցիտ.	62.8± 0.3*	71.3± 15.3*	25.2± 2.3**	38.9± 4.1**	21.5± 1.7	29.6± 1.2	15.7± 2.6	19.6± 0.4	9.1± 1.1	14.1± 0.6
	Կորիզ	83.7± 8.1	99.5± 17.2**	43.1± 5.5***	59.7± 4.9	27.5± 2.0	22.1± 1.6	19.0± 1.2	14.8± 0.7	11.6± 1.2	10.8± 0.4
	Կորիզա	9.0± 1.5	7.9± 1.0	6.6± 1.0	-	-	-	-	-	-	-

* արժանահավատ ($p<0.05-0.01$) բոլոր օրերի համեմատությամբ

** արժանահավատ ($p<0.05-0.01$) ստուգիչի համեմատությամբ

*** միտում ($p<0.1$) ստուգիչի համեմատությամբ

Փ-փայծաղում
ՈՃ-ոսկրածուծում



Նկար-17 Փայ ծաղի Էրիթրոֆիլ բջիջներում սպիտակուլի պարունակության փոփոխությունները ԽԱԺ-ի սուր ձևի դինամիկայում:

- օքսիֆիլ Էրիթրոֆիլ աստներ -◇- պրոէրիթրոֆիլ աստներ
 -□- փազոֆիլ Էրիթրոֆիլ աստներ -△- պրոէրիթրոֆիլ աստներ

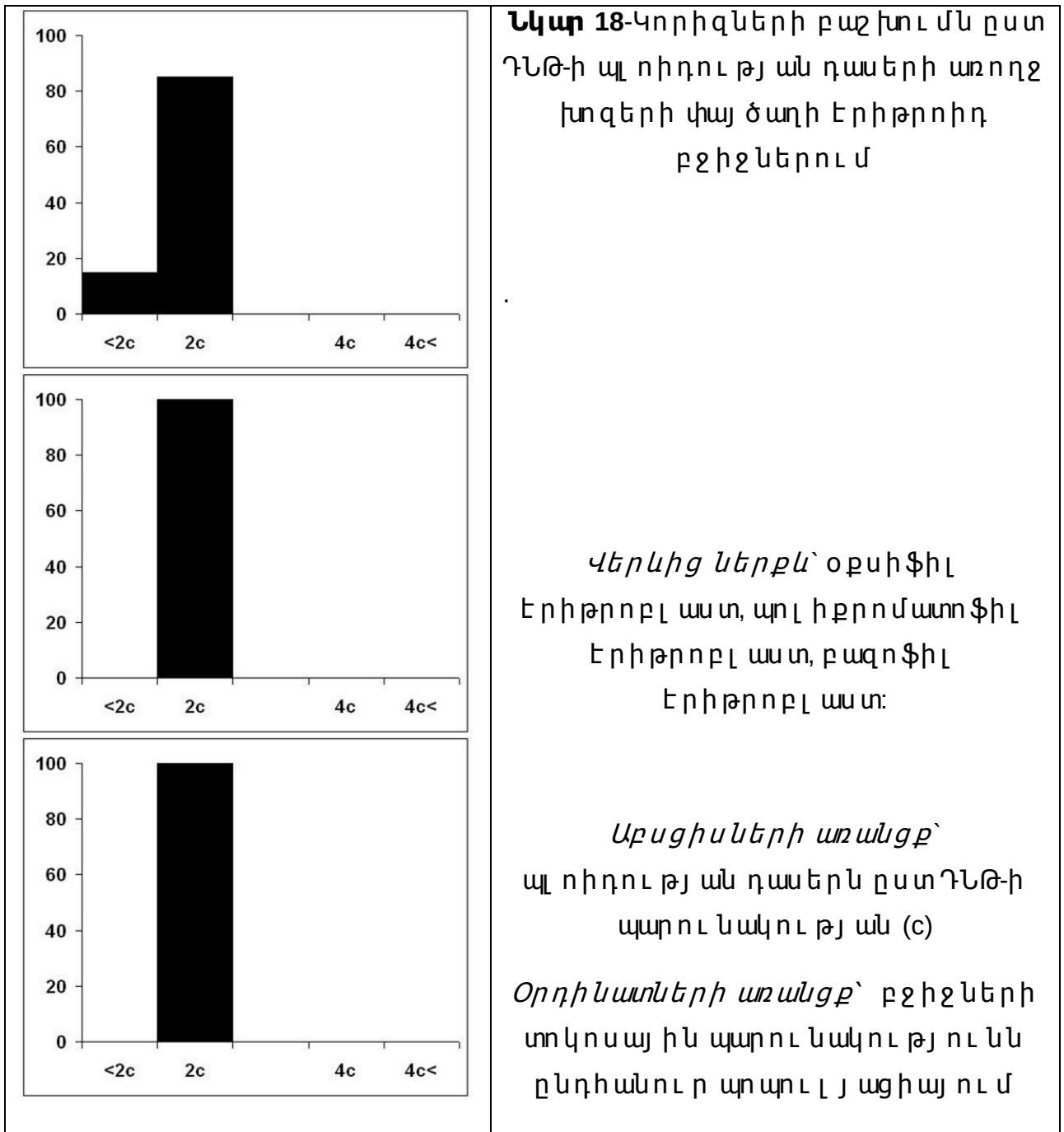
Էրիթրոֆիլ աստներ

Այսպիսով, մեր կողմից կատարված փայ ծաղի և ոսկրածուծի կորիզ պարունակող Էրիթրոֆիլ բջիջների մակերեսային ցուցանիշների և ՌՆԹ-ի պարունակության համեմատական վերլուծությունը դրանց տարբերակման գործընթացում և ԽԱԺ-ի սուր ձևի դինամիկայում ցույց է տվել, որ Էրիթրոֆիլ բջիջների մակերեսային փոփոխությունները ուղիղ համեմատական են հետազոտվող բջիջների բոլոր կառույցներում սինթեզվող ՌՆԹ-ի քանակության փոփոխություններին: Փայ ծաղի Էրիթրոֆիլ բջիջների չափերը և նրանցում ՌՆԹ-ի պարունակությունը ԽԱԺ-ի սուր ձևի ողջ ընթացքում ոչ արժանահավատ կերպով փոքր են, քան ոսկրածուծի համանման բջիջներում: Հետևաբար, թեև ԽԱԺ-ի ընթացքում խթանվում է «սթրես» Էրիթրոպոեզը, որի դեպքում կտրուկ արագանում է փայ ծաղում պահեստավորված Էրիթրոֆիլ բջիջների տարբերակումը, սակայն նրանց մակերեսային ցուցանիշները և ՌՆԹ-ի պարունակությունն ոչ արժանահավատ կերպով են տարբերվում

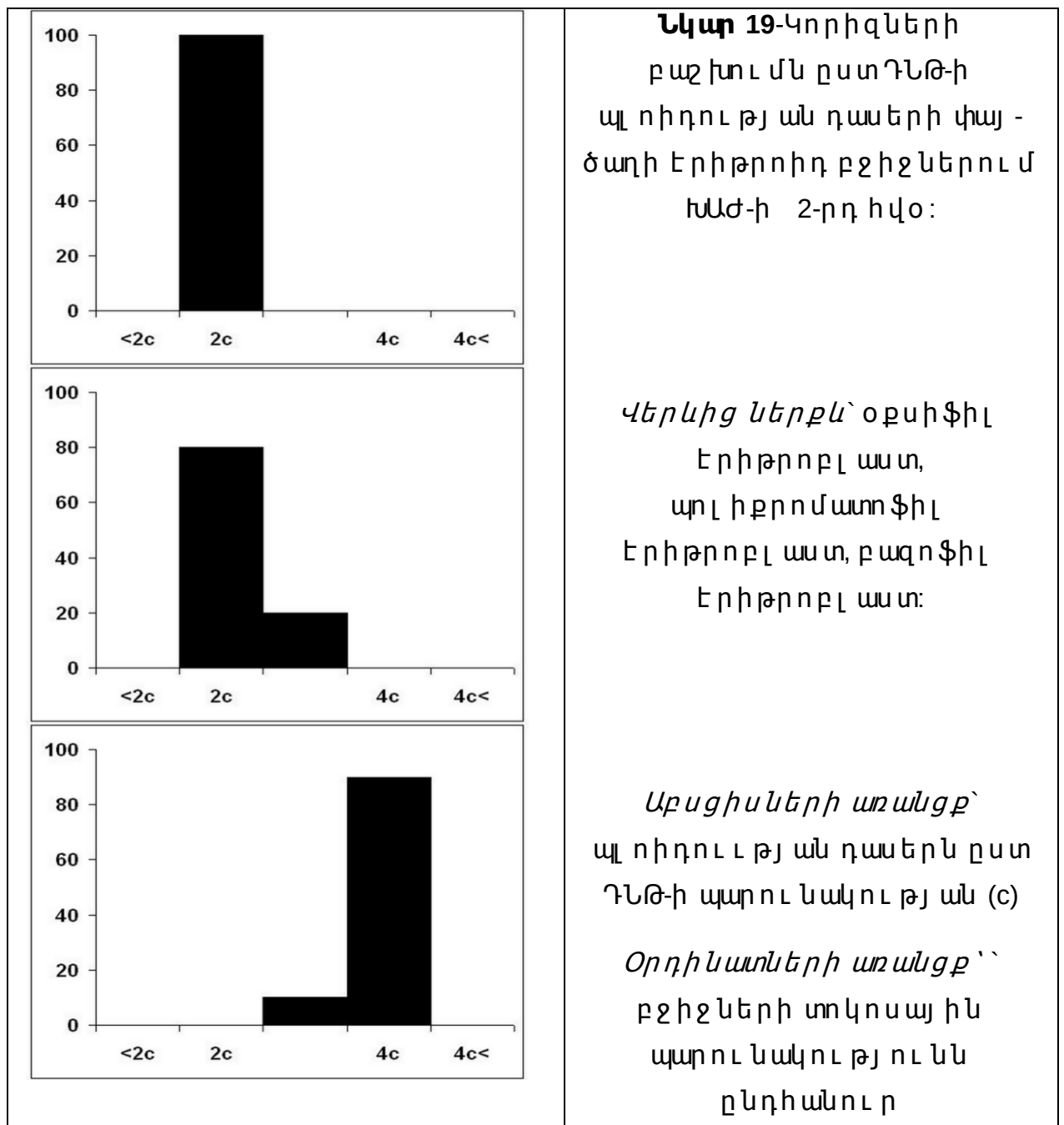
նսկրած ու ծի կայ ու ն էր ի թրոպոեզի բջիջների համապատասխան
ցուցանիշներից:

3.4 ԴՆԹ-ի պարունակության փոփոխությունները փայծաղի Էրիթրոիդ բջիջների կորիզավոր ձևերում ԽԱԺ-ի սուր ձևի դեպքում

Մեր աշխատանքի հաջորդ փուլը խոզերի փայծաղի կորիզ
պարունակող Էրիթրոիդ բջիջներում ԴՆԹ-ի պարունակության
որոշումն է և նրանց բաշխումն ըստ պոփոխության դասերի՝ ԽԱԺ-ի
վիրուսով վարակման ընթացքում զարգացող փոփոխությունների
բնույթը բացահայտելու համար:



Ինչպես երևում է նկար 18-ից առողջ խոզերի փայծաղում օքսիֆիլ էրիթրոբլաստները ներկայացված են առավելապես դիպլոիդ բջիջներով և հիպոդիպլոիդ բջիջների ոչ մեծ (մոտ 15%) պոպուլյացիայով: Վերջինս վկայում է կորիզազրկման և տվյալ բջիջների վերջնական հասունացման մասին (Kapanova E., 2013): Պոլիքրոմատոֆիլ և բազոֆիլ էրիթրոբլաստները ներկայացված են բացառապես դիպլոիդ բջիջներով: Ստուգիչ փորձերում առողջ խոզերի փայծաղի էրիթրոիդ բջիջների պոպուլյացիայում մերկոմից պրոէրիթրոբլաստներ չեն հայտնաբերվել:



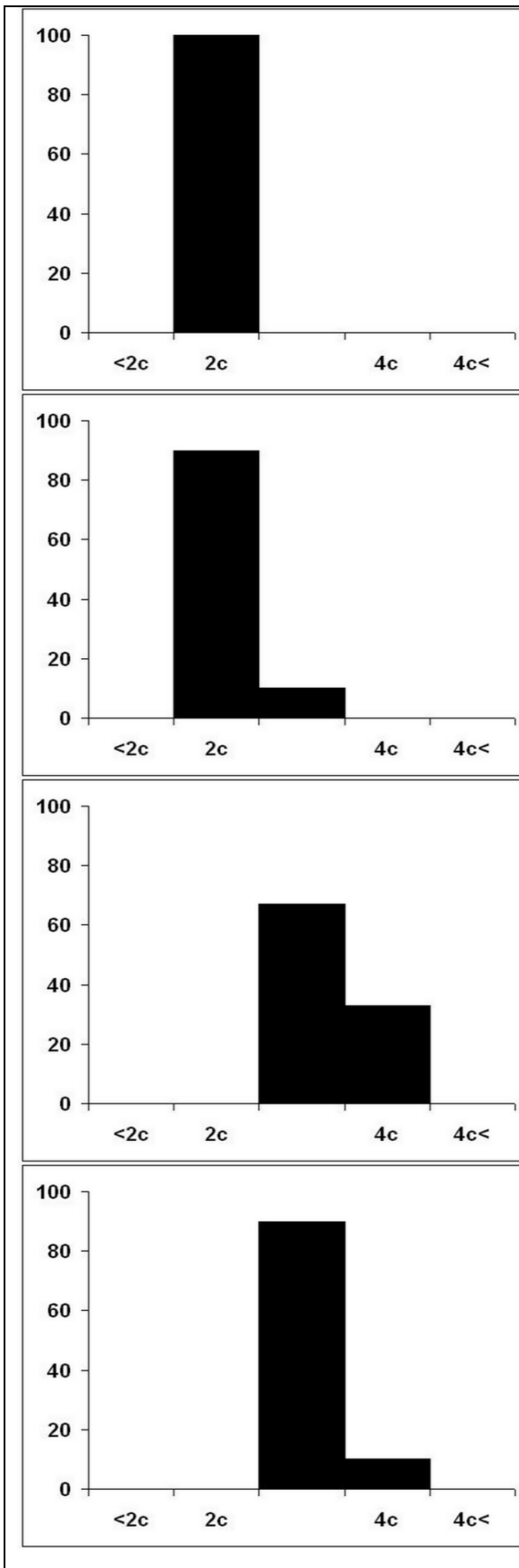
	պոպուլյացիայում
--	-----------------

ԽԱԺ հիվանդության երկրորդ օրը ըստ պաթոլոգիայի դասերի բջիջների բաշխման մեջ տեղի են ունենում Էսկան փոփոխություններ (նկ.19): Անհետանում են հիպոդիպլոիդ օքսիֆիլ Էրիթրոբլաստները, ինչը վկայում է վերջնական հասունացման և կորիզազրկման գործընթացի անավարտ լինելու մասին (Karapova E.,2013): Էրիթրոբլաստների առավել վաղ ձևերը ցուցաբերում են ԴՆԹ-ի պարունակության բաշխման հիստոգրամի աջ տեղաշարժ, ինչը վկայում է պրոլիֆերացիոն գործընթացների արագացման և/կամ բջիջների միտոտիկ ցիկլի G_2 փուլում արգելափակման մասին:

ԽԱԺ-ի 3-րդ օրը հիվանդության 2-րդ օրվա ընթացքում հայտնաբերված փոփոխությունները պահպանվում են: Նկ.20-ը, որը ներկայացնում է այդ գործընթացը պարզաբանման կարիք ունի: Աղյուսակ 3-ում ներկայացված սալենոգրամում մինչև հիվանդության 3-րդ օրը պրոԷրիթրոբլաստները բացակայում են, իսկ նկար 20-ում դրանք առկա են: Դա բացատրվում է նրանով, որ Էրիթրոիդ պոպուլյացիայի վերլուծության ժամանակ մի շարք պատրաստուկներում (մոտ 10%) պրոԷրիթրոբլաստներ հայտնաբերվել են աննշան քանակությամբ և դրանց ընդհանուր քանակն այնքան փոքր է եղել, որ չեն գրանցվել սալենոգրամում: Սակայն ըստ ԴՆԹ-ի պաթոլոգիայի դասերի կորիզների բաշխման ժամանակ, մենք հարկ ենք համարել ներկայացնել այդ բջիջները, քանի որ դրանց վիճակը կարևոր է ԽԱԺ-ի սուր ձևի դինամիկայում Էրիթրոնի բջիջների փոփոխության ընդհանուր միտումները բացահայտելու համար:

Այսպիսով, ԽԱԺ հիվանդության 3-րդ օրը (նկ.20) բջիջների բաշխումն ըստ պաթոլոգիայի դասերի պահպանում է միևնույն միտումը, ինչ հիվանդության 2-րդ օրը (նկ.19): Բացակայում են հիպոդիպլոիդ օքսիֆիլ Էրիթրոբլաստները, ինչն ամենից առաջ հանդիսանում է ոսկրածուծի Էրիթրոբլաստային կղզյակների ախտահարման հետևանք (Hercsey H.,2015): Էրիթրոբլաստների ավելի վաղ ձևերն ըստ ԴՆԹ-ի պարունակության բաշխման ցուցադրում են գրեթե միևնույն հիստոգրամները, ինչ մեկ օր առաջ: Դա

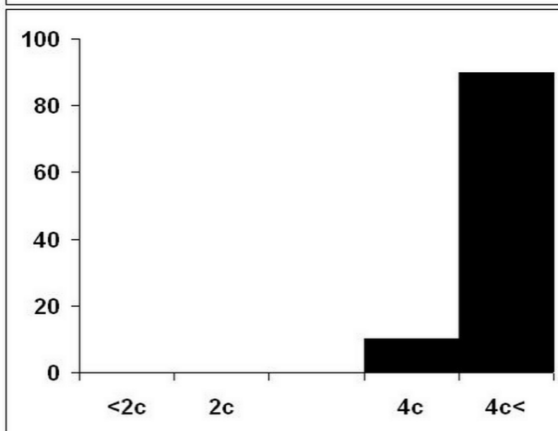
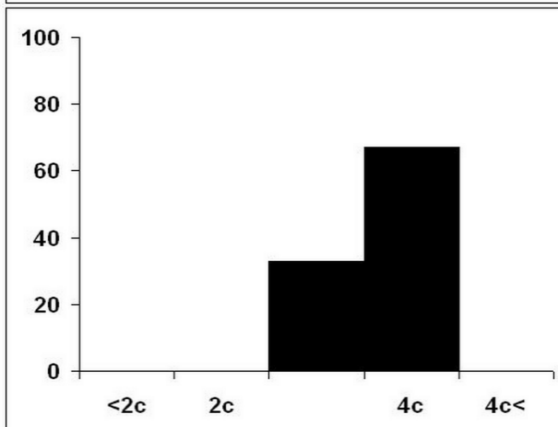
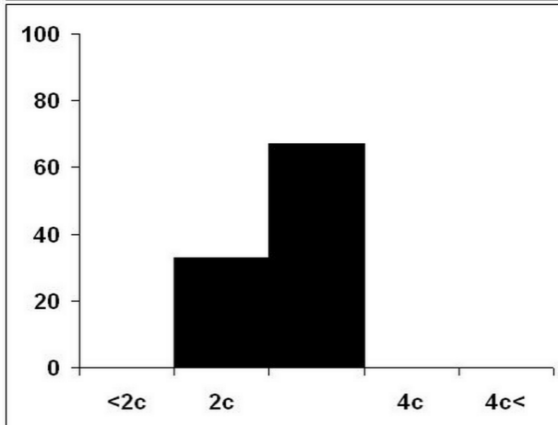
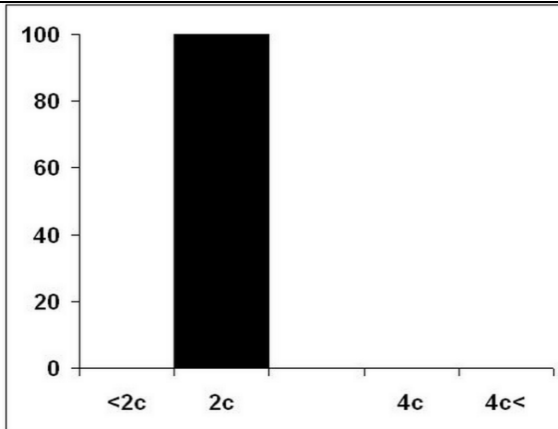
հնարավորությունն է տալ իս համարել ու, որ առկա է արվիֆերացիոն գործընթացների արագացում և/կամ բջիջների միտոտիկ ցիկլի G_2 փուլում արգելափակում, ինչը նման է նախորդող փոփոխություններին:



Նկար 20-Կորիզների բաշխումն ըստ ԴՆԹ-ի պլոդություն անդամների փայծաղի էրիթրոիդ բջիջներում հԱԺ-ի 3-րդ հվժ:

Վերսից ներքև՝ օքսիֆիլ էրիթրոբլաստ, պրոիբրոմատոֆիլ էրիթրոբլաստ, բազոֆիլ էրիթրոբլաստ, պրոէրիթրոբլաստ:

Արսցիսների առանցք՝ պլոդություն անդամներն ըստ ԴՆԹ-ի պարունակության (c)
Օրդիսատների առանցք՝ բջիջների տոկոսային պարունակությունն ընդհանուր պարունակության նկատմամբ

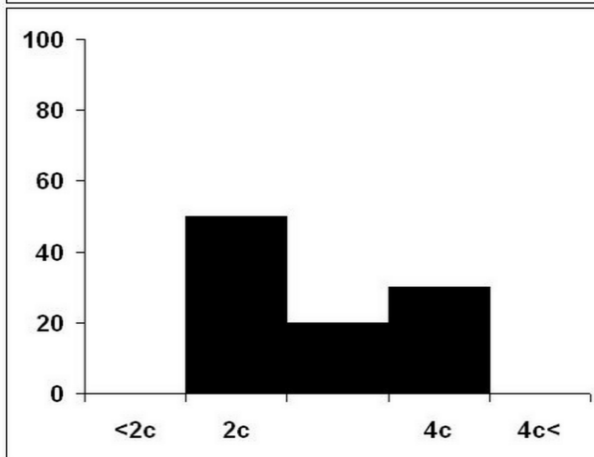
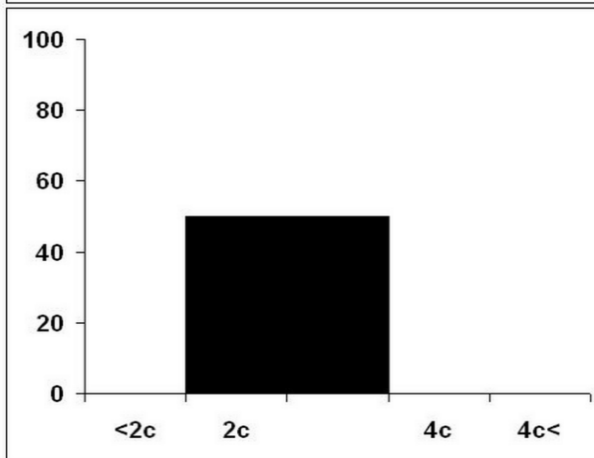
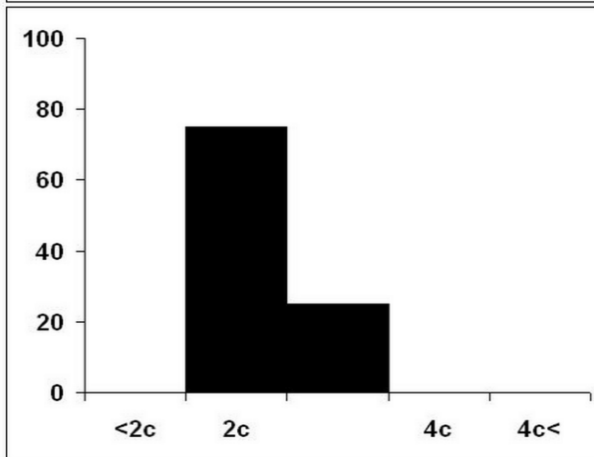
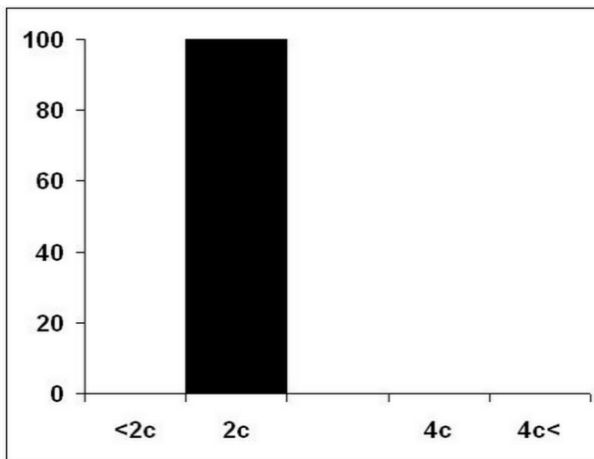


Նկար 21-Կորիզների բաշխումն ըստ
ԴՆԹ-ի պլոդություն դասերի
փայծաղի էրիթրոիդ բջիջներում
ԽԱԺ-ի
4-րդ հվօ.

*Վերևից ներքև` օքսիֆիլ
էրիթրոբլաստ, պրոիքրոմատոֆիլ
էրիթրոբլաստ, բազոֆիլ
էրիթրոբլաստ, պրոէրիթրոբլաստ:*

*Աբսցիսների առանցք` պլոդություն
դասերն ըստ ԴՆԹ-ի պարունակության
(c)*

*Օրդիսատների առանցք` բջիջների
տոկոսային պարունակությունն
ընդհանուր պարունակության*

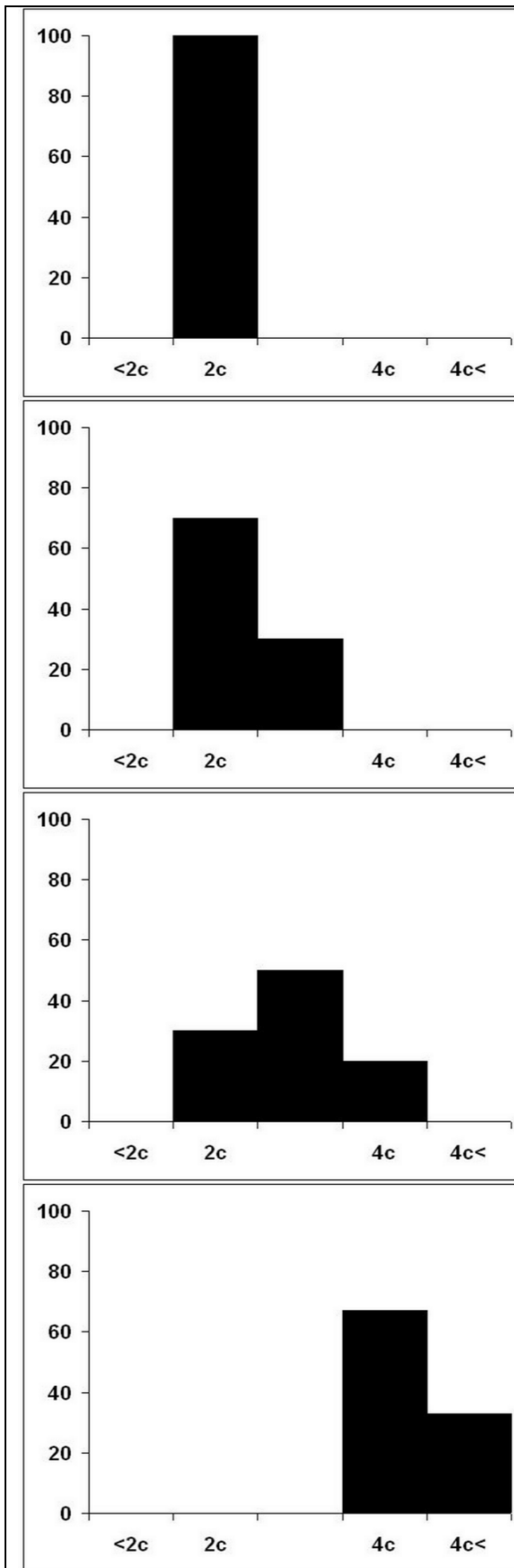


Նկար 22-Կորիզների բաշխումն ըստ
ԴՆԹ-ի պլոիդության դասերի
փայծաղի Էրիթրոիդ բջիջներում
ԽԱԺ-ի
5-րդ հվօ:

Վերսից ներքև՝ օքսիֆիլ
Էրիթրոբլ աստ, պոլիքրոմատոֆիլ
Էրիթրոբլ աստ, բազոֆիլ
Էրիթրոբլ աստ, պոնԷրիթրոբլ աստ:

Արսցիսների առանցք՝
պլոիդության դասերն ըստ ԴՆԹ-ի
պարունակության (c)

Օրդիևատների առանցք՝ բջիջների
տոկոսային պարունակությունն
ընդհանուր պարունակից



Նկար 23-Կորիզների բաշխումն ըստ
ԴՆԹ-ի պլոիդության դասերի
փայծաղի էրիթրոիդ բջիջներում
ԽԱԺ-ի
6-րդ հվօ:

Վերսից ներքև՝ օքսիֆիլ
էրիթրոբլաստ, պոլիքրոմատոֆիլ
էրիթրոբլաստ, բազոֆիլ
էրիթրոբլաստ, պոլիէրիթրոբլաստ:

Արսցիսների առանցք՝
պլոիդության դասերն ըստ ԴՆԹ-ի
պարունակության (c)
Օրդիսատների առանցք՝ բջիջների
տոկոսային պարունակությունն
ընդհանուր պոպուլյացիայում

ԽԱԺ հիվանդության 4-րդ օրը ըստ ԴՆԹ-ի պլոհիդության դասերի բջիջների բաշխման մեջ տեղի են ունենում նախորդող փոփոխություններին նման փոփոխություններ, որոնք հանգեցնում են ողջ պոպուլյացիայի էական փոփոխությունների (Նկ.21): Օքսիֆիլ էրիթրոբլաստները ներկայացված են միայն դիպլոիդ բջիջներով: Էրիթրոբլաստների ավելի վաղ ձևերը ըստ ԴՆԹ-ի պարունակության բաշխման շարունակում են ցուցադրել հիստոգրամայի տեղաշարժ դեպի աջ, ինչը հանգեցնում է բազոֆիլ էրիթրոբլաստների շրջանում տետրապլոիդ պոպուլյացիայի գերակայությանը: Առավել արտահայտված փոփոխություններ տեղի են ունենում պրոէրիթրոբլաստների պոպուլյացիայում: Այդ բջիջները հիմնականում պարունակում են հիպերտետրապլոիդ կորիզներ:

ԽԱԺ հիվանդության 5-րդ և 6-րդ օրերին ըստ ԴՆԹ-ի պլոհիդության դասերի բջիջների բաշխման ուսումնասիրությունները ներկայացված են Նկ.22-ում և Նկ.23-ում: Ինչպես երևում է այս նկարներից, վաղ էրիթրոբլաստների պոպուլյացիան ոչ մեծ շեղումներով ներկայացված է հիմնականում հիպերդիպլոիդ և երբեմն էլ տետրապլոիդ բջիջներով, իսկ պրոէրիթրոբլաստները, ոչ մեծ բացառությամբ պարունակում են տետրապլոիդ և հիպերտետրապլոիդ կորիզներ:

Այսպիսով, ամփոփելով ստացված արդյունքները, կարելի է ենթադրել, որ ԽԱԺ-ի սուր ձևի ընթացքում առաջանում է ըստ ԴՆԹ-ի պլոհիդության դասերի կորիզների բաշխման հիստոգրամի տեղաշարժ դեպի աջ: Այդ գործընթացը սկսվում է դեռևս հիվանդության վաղ փուլում (2-րդ հվօ) և ավարտվում 4-րդ հվօ:

Պրոէրիթրոբլաստների և վաղ էրիթրոբլաստների պոլիպլոիդացումը կարող է լինել սթրեսի և/կամ ախտաբանության նկատմամբ հարմարվողականության արդյունք (Pandit M. et al., 2013):

Նախորդող ախտություններում (Karapova E., 2013) ցույց է տրված, որ կաթնասունների սուր սակավարյունության դեպքում գործի են դրվում կարգավորման այն մեխանիզմները, որոնք արգելափակում են որոշ էրիթրոբլաստների բջջացիկլը S և G_2 փուլներում և դրա հետևանքով ձևավորվում են մակրոցիտներ՝ սպիտակուցի (հեմոգլոբին) մեծ պարունակությամբ: Մեր լաբորատորիայում ավելի վաղ կատարված հետազոտություններում ցույց է տրվել, որ խոզերի ծայրամասային արյան մեջ ԽԱԺ-ի սկզբնական փուլներում

ձևավորվում են մակրոցիտների և միկրոցիտների պոպուլյացիաներ (Karalova E. et al., 2014): Հաշվի առնելով գրականության տվյալները՝ կարելի է ենթադրել, որ կաթնասունների մակրոցիտոզը հանդիսանում է պահեստային էրիթրոպոեզի ռուդիմենտային դրսևորում, որն ամբողջովին իրականանում է միայն կորիզ պարունակող էրիթրոցիտների տեսակներում (Кульминская А., 1980): Տվյալ մեխանիզմը անկասկած գործում է, սակայն, ինչպես նշում է Կարալովան (2013), մակրոցիտոզը, ինչպես նաև նորմոցիտոզը, էական դեր չեն խաղում առնետներին կրիտիկական վիճակից հանելու համար: Այդ դերն իրականացնում են միկրոցիտները, որոնք դառնում են էրիթրոիդ բջիջների հիմնական պոպուլյացիան: Հայտնվելով արյան մեջ մակրոցիտներից մեկ օր առաջ՝ նրանք ապահովում են էրիթրոիդ բջիջների և հետևաբար արյան հեմոգլոբինի տիտրի այն նվազագույն քանակը, որն անհրաժեշտ է առնետներին վերակենդանացնելու համար: Հարկ է նշել նաև, որ ԽԱԺ-ի և Ֆենիլ հիդրազինային (կիրառվում է հեմոլիտիկ սակավարյունության մոդելավորման համար) սակավարյունության դեպքում խթանվող այլընտրանքային էրիթրոպոեզի մեխանիզմները իրարից տարբերվում են: Ֆենիլ հիդրազինային սակավարյունության դեպքում առաջնահերթ տուժում է էրիթրոցիտի հեմոգլոբինային բաղադրիչը, իսկ հեմոգլոբինի որակական փոփոխությունները ազդում են էրիթրոցիտների թաղանթների կառուցվածքային և գործառնությանը հատկությունների վրա (Шиффман Ф., 2000): ԽԱԺ-ի դեպքում էրիթրոցիտների անմիջականորեն վիրուսով պայմանավորված նշանակալի ախտահարումներ չեն դիտարկվել, չնայած վիրուսի ներթափանցման հնարավորությանը (Quintero J. et al., 1986): Անհրաժեշտ է ավելացնել նաև, որ ԽԱԺ-ի դեպքում սակավարյունությունն ի հայտ է գալիս բավականին ուշ՝ 3-4-րդ հվօ:

Այսպիսով, փայծաղում էրիթրոիդային շարքի բջիջների ախտաբանությունը ծագում է ավելի վաղ, քան արյան շիճուկում հեմոլիզին բնորոշ կենսաբանական ցուցանիշների փոփոխությունները, ինչը նախկինում բացահայտվել էր մեր լաբորատոր ռիայում (Нерсисян Н., 2015):

3.5 Երկաթի փոխանակության խանգարումը և նրա զարգացման մեխանիզմը ԽՍՀ-ի դինամիկայում

Հայտնի է, որ երկաթի և հեմոգլոբինի փոխանակությունները փոխկապակցված են: Արյան և արյունաստեղծ հյուսվածքում առկա հեմոգլոբինը պարունակում է օրգանիզմի ողջ երկաթի (մոտ 4000մգ) մեծ մասը (3/4): Հեմոգլոբինի սինթեզի համար անհրաժեշտ երկաթն օգտագործվում է երկաթապրոտեինային կոմպլեքս՝ ֆերիտինից: Ֆերիտինը բաղկացած է ապֆերիտին սպիտակուցից, որը ձևավորվում է աղիքների լորձաթաղանթի բջիջներում: Այն միանալով երկաթի հետ վերածվում է ֆերիտինի, որը կուտակվում է լյարդում, փայծաղում և ոսկրածուծում: Այդ օրգաններում պարունակվում է շուրջ 1000 մգ պահեստային երկաթ և անհրաժեշտության դեպքում արյան շիճուկով փոխադրվում տրանսֆերինի տեսքով (Алберт Д.Е., 1965): Վերջինս աղիներում ներծծված կամ մակրոֆագերով էրիթրոցիտների մարսման արդյունքում առաջացած երկաթը կապելով՝ այն տեղափոխում է հյուսվածքներ: Տրանսֆերինը միանգամից կարող է կապել եռաձև ենտերկաթի երկու իոն: Որոշ բորբոքային գործընթացների դեպքում տրանսֆերինի մակարդակն իջնում է (Ritchie R.,1999), իսկ երկաթապակասորդային սակավարյունությունների դեպքում՝ ավելանում (Macedo M.,2008): Հյուսվածքներում երկաթի կուտակումները բացահայտվում են ստևարտոմեթոդով (Perls M.,1867):

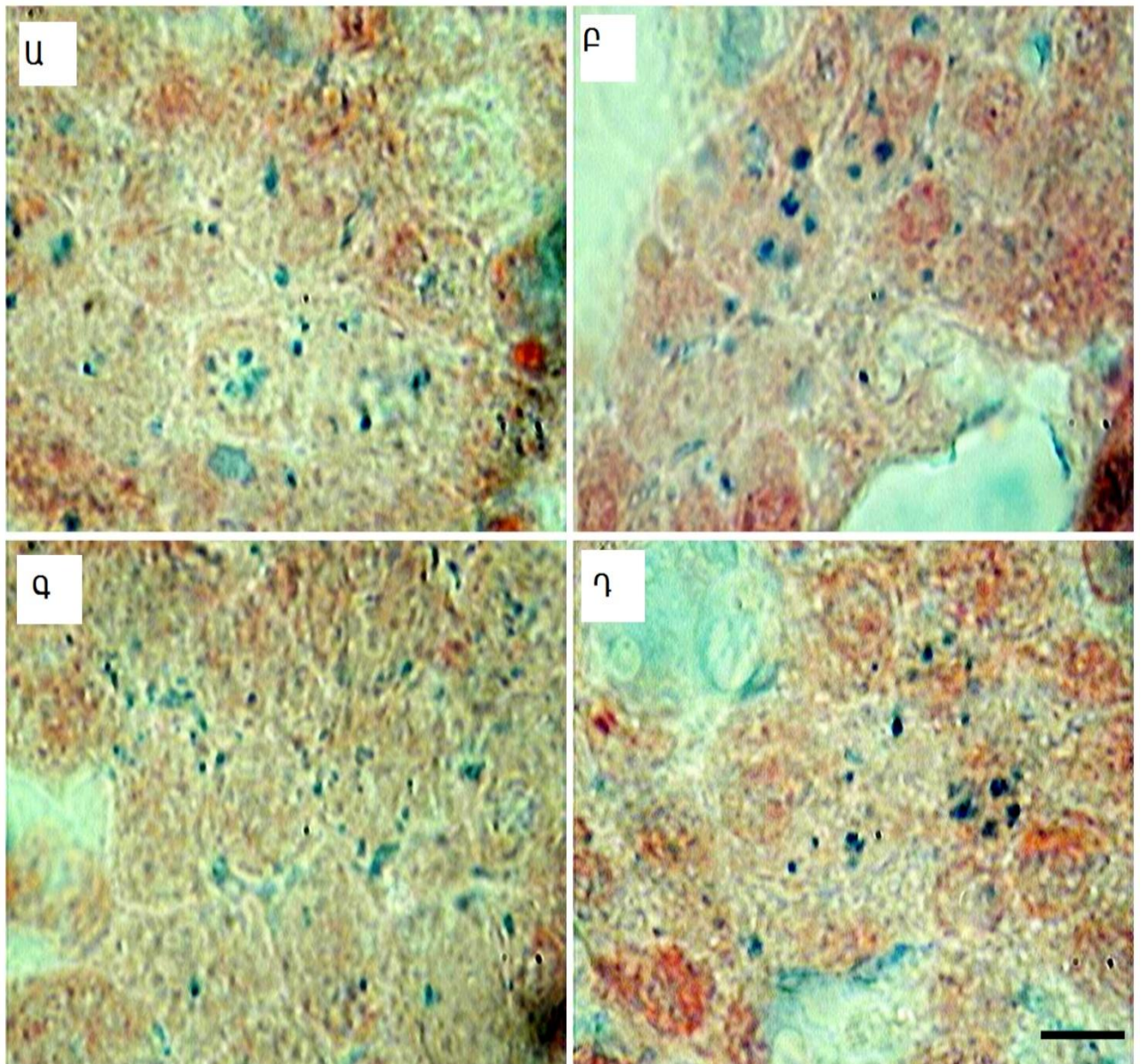
Ներանոթային հեմոլիզի դեպքում արյան մեջ մեծանում է լուծված հեմոգլոբինի խտությունը (հեմոգլոբինեմիա), տեղի է ունենում նրա արտազատում մեզի միջոցով (հեմոգլոբինուրիա): Գունանյութը կուտակում է երիկամների, թոքերի և այլ օրգանների մոնոնուկլեար-մակրոֆագային բջիջներում, որտեղ նորմայում բացակայում է: Բացի այդ, այն հայտնաբերվում է նաև արտազատիչ օրգանների էպիթելային, հատկապես լյարդի պարենխիմային բջիջներում, որտեղ միաժամանակ կուտակվում է նաև ֆերիտինը: Նման տարածուն ախտաբանական գործընթացը անվանում են ընդհանուր հեմոսիդերոզ: Ֆերիտին երկաթապրոտեինը պարունակում է մինչ 23% երկաթ: Անաբոլիկ ֆերիտինը ձևավորվում է աղիներում

ներծծված, իսկ կատաբոլիկ \$երիտինը՝ հեմոլիզված էրիթրոցիտների երկաթից: \$երիտինը երկաթցիանիդային կալիումի և աղաթթվի կամ քլորաջրածնական թթվի ազդեցությամբ առաջացնում է բեռլինյան լազուր (Պերլսի ռեակցիա): Տվյալ մեթոդը լայնորեն կիրառվում է երկաթի փոխանակության ախտաբանության ու սուլմնասիրության համար:

Նախկինում մեր լաբորատորիայում բացահայտվել են էրիթրոպոեզի գործընթացի որոշ խանգարումներ, որոնք պայմանավորված են ԽԱԺ-ի սուր ձևի զարգացմամբ (Нерсисян Н.,2015): Ելնելով վերոշարադրյալից՝ մեր աշխատանքի նպատակներից է հանդիսացել ԽԱԺ-ի ընթացքում երկաթի փոխանակության խանգարման բացահայտումը, ինչի պատճառներից կարող են լինել հիվանդության ընթացքում խոզերի ստամոքս-աղիքային ուղու արյունահոսությունները (de Carvalho F., et al.,2012): Սակայն մեր հետազոտության տվյալները գենոտիպով իրոսով հարուցված ԽԱԺ-ի դեպքում չեն բացահայտել երկաթի և երկաթ պարունակող սպիտակուցների կորուստ խոզերի ստամոքս-աղիքային ուղու արյունահոսությունների հետևանքով (Нерсисян Н.,2015): Այդ պատճառով հետազոտության առաջին փուլում է մղվել երկաթի հնարավոր կուտակման ու սուլմնասիրությունը տարբեր օրգանների հյուսվածքներում, նախևառաջ՝ լյարդում: Այս նպատակով կիրառվել ենք Պերլսի ռեակցիան, որը հնարավորություն է տալիս հյուսվածքային կտրվածքում հայտնաբերել երկվալենտ երկաթը (\$երիտին և հեմոսիդերին) (Perls M.,1867): \$երիտին և հեմոսիդերին երկաթաբույրներն ըստ էության միևնույն գույնակն են այն տարբերությամբ, որ \$երիտինի հատիկները մանր են, իսկ հեմոսիդերինինը՝ խոշոր: Հեմոսիդերինը ձևավորվում է \$երիտինի հատիկների միավորման ճանապարհով (\$երիտինի «պրլիմեր») (Авцын А., Шахламов В.,1979.):

Մեր տվյալները բացահայտել են, որ խոզերի լյարդում հիվանդության առաջին փուլում չեն հայտնաբերվել այնպիսի տարրեր, որոնք տալիս են Պերլսի դրական ռեակցիա: Լյարդի բոլոր կառույցներում վարակման մինչև 3-րդ օրը Պերլսի ռեակցիան բացասական է: Ավելի ուշ փուլերում հայտնաբերվում են

հյուսվածքների առանձին հատվածներ, որոնցում այն դրական է: Հիվանդության վերջնական փուլում (հետվարակային 6-րդ օր) լյարդի հյուսվածքում երկաթի նկատմամբ Պերլսի ռեակցիան չափավոր է կամ բարձր խոզերի մեծամասնության մոտ (6-ից 4-ի մոտ՝ 67 %): Մեկ խոզի մոտ Պերլսի ռեակցիան երկաթի նկատմամբ բացասական է եղել (16.7%), իսկ մեկ ուրիշի մոտ էլ՝ թույլ արտահայտված: Ինչպես հետևում է նկար 24-ից, հիվանդության վերջնական փուլում լյարդի հյուսվածքում մեր կողմից նկատվել են երկաթ պարունակող սպիտակուցների կուտակումներ և՛ բջիջների ցիտոպլազմայում (նկ.24 Ա,Բ), և՛ միջբջջային նյութում (նկ.24 Գ) և՛ երկու տեղակայմամբ էլ (նկ.24 Դ):



Նկար 24 -Երկաթի կուտակումը խոզի լյարդի հյուսվածքում խԱԺ-ի դեպքում

(6-րդ հվօ): Գուլնավորումը չեզոք կարմիրով, մասշտաբը՝ 10 մկմ:

Ինչպես նշվեց ներանոթային հեմոլիզի դեպքում հեմոգլոբինը մեծ քանակությամբ անցնում է շիճուկի մեջ և ապա դուրս է գալիս մեզով անփոփոխ/կամ հեմոսիդերինի

տեսքով: Վերջինս կարող է կուտակվել ներքին օրգաններում՝ հեմոսիդերոզի հետագա զարգացմամբ: Սակայն խԱԺ-ի դեպքում մեզի հետազոտության տվյալները (Нерсисян Н.,2015) չեն բացահայտել ուրոբիլինոգենի պարունակության զգալի աճ: Սահաշվի առնելով՝ կարելի է պնդել, որ խԱԺ-ի դեպքում հեմոգլոբինի նշանակալի

քանակությունն չի արտադատվում մեզով, այլ կուտակվում է հյուսվածքներում, իսկ որոշ մասը օրգանիզմից կարող է դուրս գալ արտաթորանքի հետհիվանդության ուշ փուլերում:

Էրիթրոպոետինը (ԷՊՕ) հորմոն է, որը կարգավորում է Էրիթրոպոեզը: Գրականությունից հայտնի է, որ Էրիթրոպոետինի արտադրությունը կախված է թթվածնի նկատմամբ հյուսվածքների պահանջի և նրա բավարարման փոխհարաբերությունից: Էրիթրոպոետինն արտադրվում է երիկամներում և լյարդում ի պատասխան թթվածնաքաղցի: Մեր լաբորատորիայում ԽԱԺ-ի ընթացքում խոզերի մոտ բացահայտվել է շիճուկային ԷՊՕ-ի մակարդակի բարձրացում (Нерсисян Н., 2015):

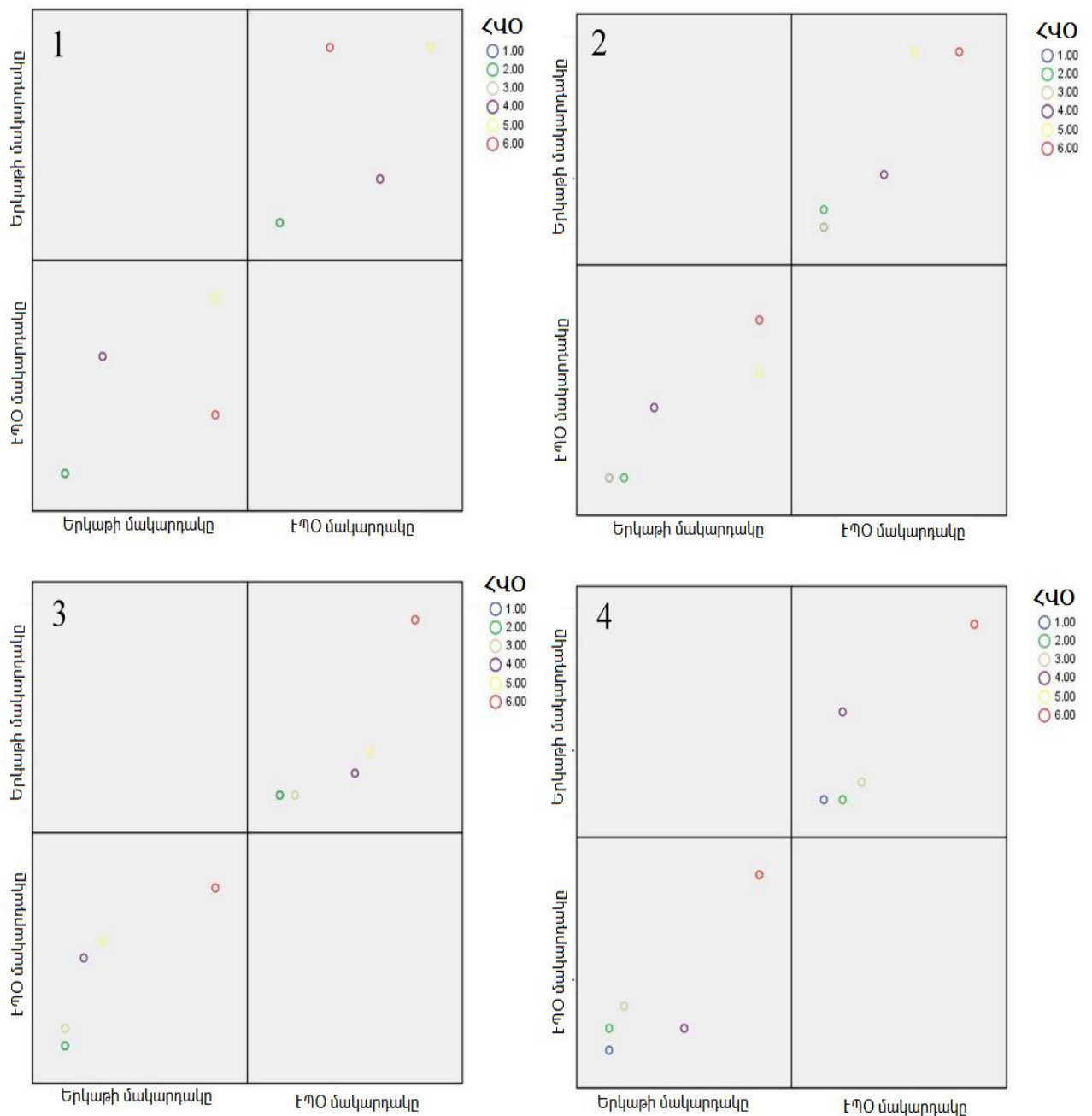
Ըստ հեղինակի ԷՊՕ-ի քանակն արյան շիճուկում հիվանդության առաջին իսկ օրերից զգալիորեն աճել է, իսկ հիվանդության վերջնական փուլերում (6-7 հվօ)՝ 30 անգամ գերազանցել ստուգիչ խմբի Էրիթրոպոետինի քանակին ($p < 0.001$):

Մեր կողմից կատարվել է վերլուծություն՝ ԽԱԺ-ի դինամիկայում Էրիթրոպոետինի մակարդակի և հյուսվածքներում երկաթի պարունակության փոխկապակցվածությունը բացահայտելու նպատակով: Վերլուծության արդյունքները ներկայացված են նկ.25-ում

սկատերալ ոտի (գրաֆիկ, որն արտացոլում է փոփոխականների վիճակը, երբ մեկ թվային փոփոխականը համադրվում է մյուսին հակառակ) ձևով: Այն արտացոլում է ԽԱԺ-ով հիվանդ խոզերի շիճուկում Էրիթրոպոետինի մակարդակի ավելացման և հյուսվածքներում երկաթի կուտակման փոխադարձ կապը հիվանդության դինամիկայում (1-6-րդ հվօ): Ինչպես երևում է նկարից, խոզերի մեծամասնության մոտ (բացառությամբ 1 խոզի) նկատվել է այդ ցուցանիշների գրեթե գծային կախվածություն: Մեր հետազոտությունների հաջորդ փուլը հանդիսացել է երկաթի փոխանակության համակարգային վիճակն արտահայտող և/կամ նրա վրա ազդող տարբեր գործոնների փոխազդեցության ուսումնասիրությունը:

Ըստ գրականության տվյալների, երկաթի փոխանակությունը կարևոր դեր ունի վարակների և օրգանիզմի վրա ազդող թուլյաների դեմ օրգանիզմի պայքարում: Այդ ընթացքում տեղի է ունենում

Երկաթի մոբիլ իզացիա, փոփոխվում է նրա տեղափոխությունը, նվազում հեմոգլոբինի ձևավորման գործընթացում յուրացումը, կրճատվում է էրիթրոցիտների կյանքի տևողությունը: Միաժամանակ երկաթի պարունակությունն ավելանում է ռետիկուլոէնդոթելային տարրերում, որոնք, ինչպես հայտնի է, կարևոր նշանակություն ունեն իմունային ռեակցիաներում: Հայտնի է նաև իմունային միջնորդանյութերի՝ ցիտոկինների դերն էրիթրոպոեզի խանգարումների



Նկար 25-Էրիթրոպոետինի մակարդակի և խոզերի հյուսվածքներում երկաթի կուտակման փոխկապակցվածությունը ԽԱԺ-ի դինամիկայում
Գծագրում համարներով նշված են խոզերը, որոնք ենթարկվել են
հետազոտության:

զարգացման և ընդհանուր առմամբ արյան համակարգի հոմեոստազի խախտման մեջ: Չափի առնելով այս ամենը՝ մեր աշխատանքի հաջորդ փուլը հանդիսացել է նախաբորբոքային ցիտոկինների (ԻԼ-1 β , ԻԼ-6, ԻԼ-8, ՈԼՆԳ- α) շիճուկային մակարդակների հետ երկաթի

Չեմատոկրիտի, Էրիթրոպոետինի, ինտերլեյկինների, ՈւՆԳ-α-ի և Երկաթի հարաբերակցությունը

	Չեմատոկրիտ	ԻԼ-1β	ԻԼ-6	ԻԼ-8	ՈւՆԳ-α	Fe-ի մակարդակը լյարդի հյուսվածք ում	ԷՊՕ մակարդակը
--	------------	-------	------	------	--------	--	------------------

Խ
Ա
Ժ
-

Դ
Ի
Ն
Ա
Մ
Ի
Կ
Ա
Յ
Ո
Լ
Մ

Հեմատոկրիտ	1	-.976(**)	-.901(**)	-.906(**)	-.769(*)	-.920(**)	-.952(**)
		.000	.002	.002	.026	.001	.000
ԻL-1β	-.976(**)	1	.918(**)	.832(*)	.844(**)	.861(**)	.921(**)
	.000		.001	.010	.008	.006	.001
ԻL-6	-.901(**)	.918(**)	1	.739(*)	.876(**)	.701	.908(**)
	.002	.001		.036	.004	.053	.002
ԻL-8	-.906(**)	.832(*)	.739(*)	1	.698	.871(**)	.852(**)
	.002	.010	.036		.054	.005	.007
ՈւՆԳ-α	-.769(*)	.844(**)	.876(**)	.698	1	.554	.716(*)
	.026	.008	.004	.054		.154	.046
Fe-ի մակարդակը լյարդի հյուսվածք էՊՕ	-.920(**)	.861(**)	.701	.871(**)	.554	1	.826(*)
	.001	.006	.053	.005	.154		.011
մակարդակը	-.952(**)	.921(**)	.908(**)	.852(**)	.716(*)	.826(*)	1
	.000	.001	.002	.007	.046	.011	

*

*Կորելյացիան արժանահավատ է 0.05 մակարդակում ** Կորելյացիան արժանահավատ է 0.01 մակարդակում

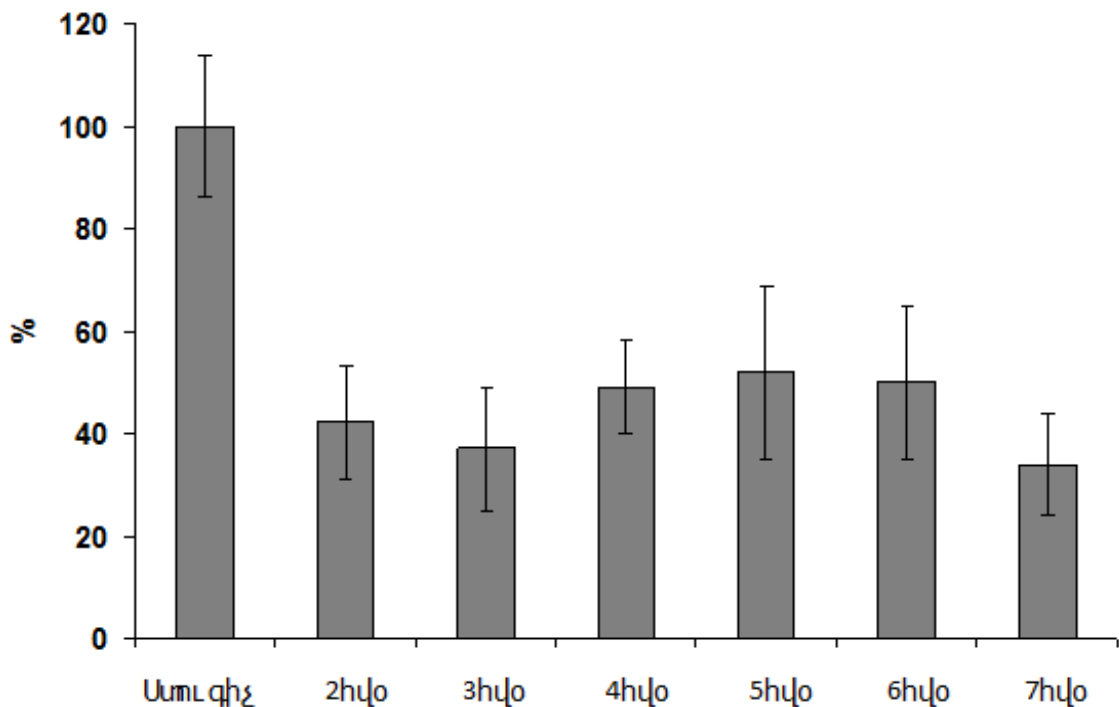
փոխանակության, հեմատոքիտի և էրիթրոպոետինի մակարդակի հիմնական ցուցանիշների փոխազդեցության ուսումնասիրությունը: Տվյալ ցիտոկինների ընտրության պատճառը նրանց ունեցած դերն է արյան ախտաբանության մեջ՝ որպես սակավարյունության զարգացման միջնորդանյութերի (Atkins M. et al., 1995, Davenport R., 1994): Այսպիսով, որպես հիմնական ցուցանիշներ մենք ընտրել ենք նախկինում ուսումնասիրված հեմատոկրիտը և էրիթրոպոետինը (Нерсисян Н., 2015), և մեր կողմից հետազոտված նախաբորբոքային ցիտոկինների (ԻԼ-1β, ԻԼ-6, ԻԼ-8, ՈւՆԳ-α), երկաթի մակարդակները (Zakaryan H., Misakyan A. et al., 2015): Ինչպես հետևում է աղյուսակ 5-ից, առկա է բոլոր նախաբորբոքային ցիտոկինների (առանց բացառության արժանահավատ) և լյարդի հյուսվածքում երկաթի կուտակման արտահայտված հակադարձ հարաբերակցություն և հեմատոկրիտի ցուցանիշների հետ: Հեմատոկրիտի և լյարդի հյուսվածքում երկաթի կուտակման արտահայտված հակադարձ հարաբերակցությունը կարող է մեկնաբանվել հոգուտ արյան ախտաբանության հեմոլիտիկ բնույթի: Ցիտոկինների և հեմատոկրիտի հիմնական ցուցանիշների արտահայտված հակադարձ հարաբերակցությունը վկայում է սակավարյունության զարգացման մեջ իմունային համակարգի հեմոլիզ առաջացնող գործոնների ներգրավվածության մասին, որոնք ի հայտ են գալիս ԽԱԺ հիվանդության վերջնական փուլերում:

Այսպիսով, մեր կողմից հաստատվել են ԽԱԺ-ի սուր ձևի դեպքում էրիթրոպոետի ախտաբանության հեմոլիտիկ բնույթի մասին տվյալները:

3.6 Ոսկրածուծի էրիթրոբլաստային կղզյակների ուսումնասիրությունը ԽԱԺ-ի սուր ձևի դինամիկայում

Մեր կողմից կատարված ԽԱԺ-ի փորձարարական վարակման դինամիկայում ոսկրածուծի էրիթրոբլաստային կղզյակների ուսումնասիրությունը ցույց է տվել, որ հետվարակային 2-րդ օրվանից սկսած նրանց քանակությունն արժանահավատ ($p < 0.05-0.01$) կերպով նվազում է և ստուգիչի (պայմանականորեն 100%) համեմատությամբ կազմում մոտ 40% (նկ. 26): Այս փոփոխությունը ոչ արտահայտված շեղումներով պահպանվում է հիվանդության ողջ ընթացքում: Էրիթրոբլաստային կղզյակների քայքայումը կարող է

պայմանավորված լինել վիրուսի ուղղակի և/կամ միջնորդավորված ազդեցությամբ:



Նկար 26 - Ոսկրածուծի էրիթրոբլաստային կղզյակների քանակությունը խԱԺ-ի սուր ձևի դինամիկայում: *Աբսցիսների առանցքը*՝ հետվարակային օրերը, *օրդինատների առանցքը*՝ կղզյակների քանակությունն արտահայտված %-ով:

3.7. Էրիթրոպոեզը խոզերի ոսկրածուծի առաջնային չխթանված կուլևտուրայում

Նախորդ գլխում մենք ներկայացրել ենք կարմիր արյան ախտաբանությունը խԱԺ-ի գենոտիպի II վիրուսով *in vivo* վարակման պայմաններում հարուցված հիվանդության սուր ձևի դեպքում: Վերոհիշյալ ախտաբանության հնարավոր պատճառներից կարող է լինել խԱԺ-ի վիրուսի անմիջական ազդեցությունը էրիթրոիդ բջիջների վրա: Նպատակ ունենալով բացառել խԱԺ-ի ընթացքում տարբեր միջնորդանյութերի (ներառյալ ցիտոկինների) ազդեցությունը էրիթրոիդ բջիջների ախտաբանության մեջ՝ մեր կողմից առաջարկվել է ոսկրածուծի բջիջների առաջնային կուլևտուրայի (ՈԱԿ) մոդելը (Karalova E. et al., 2011): Գիտական

պրակտիկայում կաթնասունների ոսկրածուծի առաջնային խառը կարճաժամկետ կուլտուրաները հաճախ կիրառվում են տարբեր բջջաբանական և վիրուսաբանական հետազոտությունների համար: Դրանք հարմարավետ մոդելներ են հեմո- և իմունոապոետիկ բջիջների հայտնաբերման և տարբերակման համար: Ոսկրածուծի առաջնային կուլտուրայի բջիջների ուսումնասիրությունը ԽԱԺ-ով վարակման դեպքում թույլ կտա հասկանալ ու վիրուսի ախտածնության հիմնական պատճառները:

Խոզերի ոսկրածուծից վերցված հեմո- և իմունոապոետիկ բջիջների խառնուրդը բավականին հետերոգեն է: Արյունաստղծ բջիջներից բացի, այն ներառում է նաև լիմֆո- և միելոպոեզի բջջային տարրեր: Դրանք լիմֆոցիտների, գրանուլոցիտների և մոնոնուկլեար ֆագոցիտների համակարգի բջիջների նախորդներն են (Makarov B., 1987; Theo J. et al., 1975; Karalova E. c соавт., 2011): Արյան և ոսկրածուծի հիմնական բջիջների ձևաբանական ուսումնասիրության համար սովորաբար կիրառում են ներկման Գիմզայի մեթոդը, որն էլ օգտագործվել է մեր աշխատանքում: Ոսկրածուծի էրիթրոիդ բջիջների ձևաբանական ցուցանիշներն առաջին անգամ բավականին մանրամասնորեն նկարագրվել են մարդու մոտ Lajtha-ի կողմից (1952), սակայն խոզերի ոսկրածուծի նման հետազոտություններն առաջին անգամ են իրականացվում:

Մեր կողմից կատարված կուլտիվացման սկզբնական փուլում խոզերի ոսկրածուծի առաջնային չխթանված կուլտուրայում նկատվել են առանձին միտոզներ, որոնք սակայն կուլտիվացումից 48-72 ժամ հետո անհետացել են: Խոզերի ՈԱԿ-ի ընդհանուր բջջային կազմի պոպուլյացիոն ուսումնասիրությունների արդյունքները բերված են աղյուսակ 6-ում, ըստ որի կուլտիվացումից 24 ժամ անց գերիշխող են հանդիսացել սպիտակ արյան բջջային տարրերը՝ ավելի քան 65%-ը, իսկ էրիթրոիդ բջիջներին բաժին է ընկել կենդանի բջիջների պոպուլյացիայի 25-35%-ը: Կուլտիվացման ընթացքում հայտնաբերվել է ինչպես սպիտակ, այնպես էլ կարմիր արյան բջիջների մոտավորապես հավասարաչափ ոչնչացում: Ընդ որում, տարբերակված բջիջների մահացության տոկոսը երկու անգամ փոքր է, քան բոլոր տեսակի նախորդ բջիջներինը: Արդյունքում բոլոր կենսունակ բջիջների թվում նախորդ բջիջների քանակը

կուլլ տիվացումից 24 ժամ անց կազմել է 8,3%, իսկ 96 ժամ անց՝ 1,4% (աղ.6), այսինքն նվազել է վեց անգամ, այն դեպքում, երբ ոսկրածուծի բոլոր տեսակի տարբերակված բջիջների քանակը կուլլ տիվացման ժամանակ նվազել է երեք անգամ:

Էրիթրոիդ շարքի բջիջներում ևս դիտվում է նմանատիպ պատկեր: Էրիթրոպոեզի առավել վաղ նախորդ բջիջները՝ պրոէրիթրոբլաստները, աստիճանաբար անհետանում են և կուլլ տուրայից 96 ժամ անց կազմում խոզերի ՌԱԿ-ի կենսունակ բջիջ-

Աղյուսակ 6

Խոզի ոսկրածուծի առաջնային կուլ տուրայի բջջային կազմի փոփոխությունը ստուգիչ ում և խձժ վարակի ընթացքում արժեքը չորս փորձի միջինն է՝ ստանդարտ շեղումով:

Բջջեր	Կուլ տիվացման ժամկետներ							
	24 ժ	24 ժվհ	48 ժ	48 ժվհ	72 ժ	72 ժվհ	96 ժ	96 ժվհ
Մոնոցիտ	2.4±0.9	4.4±2.0	2.3±0.4	5.0±3.6	1.5±0.5	6.7±0.7**	1.4±0.3	1.5±0.2
Մոնոբլաստ	5.2 ±1.8	3.6±1.3	5.3±0.9	5.7±3.3	7.7±1.6	7.3±0.2**	4.1±0.8	1.5±0.3
Լիմֆոցիտ	36.8 ±8.8	17.7±5.9	24.6±6.6	19.4±1.1	26.2±4.7	22.0±4.8	28.4±4.9	21.6±5.4
Լիմֆոբլաստ	3.3±1.0	9.0±3.6	3.5±0.9	3.4±4.3	1.5±0.4	2.9±1.2	*/**	2.2±0.3
Միելոիդ բջիջ	2.4±0.5	4.5±0.4	4.7±0.9	9.4±3.4	4.6±1.3	6.4±2.0	9.5±1.4	1.5±0.3**
Նեյտրոֆիլ	3.3±0.8	8.2±4.6	8.2±1.7	11.5±3.2	4.6±1.0	7.4±2.2	12.2±2.7	0.7±0.1**
Էոզինոֆիլ	14.6±2.6	10.0±2.6	16.4±2.2	9.2±1.9	20.0±3.6	10.6±2.3	12.2±3.0	11.9±2.2
Բազոֆիլ	0.1±0.02	0.6±0.2	0.2±0.02	0.8±0.4	0.2±0.03	0.9±0.2	0.1±0.02	0.8±0.1
Պրոերիթրոբլաստ	5.2±1.8	5.3±1.2	2.1±0.3	4.1±3.8	1.5±0.6	2.6±1.2	1.4±0.4	6.0±2.0
Բազոֆիլ էրիթրոբլաստ	12.2±3.9	22.5±7.7	7.6±2.0	12.6±4.4	10.6±2.4	16.2±1.6	10.7±2.9	29.9±5.4
Պոլիքրոմ., օքսիֆիլ էրիթրո-բլաստներ	14.6±3.2	10.8±7.8	25.2±5.6	15.0±5.1	21.5±4.1	6.3±1.8	20.3±4.6	21.0±6.6
Ատիպիկ Լիմֆոցիտ	-	3.4±1.2**	-	3.9±2.2**	-	10.8±0.9**	-	1.5±0.3**

*Կուլ տիվացման 4-րդ օրը Լիմֆոբլաստների քանակը կտրուկ նվազել է, շատ նմուշներում բացակայել, այդ իսկ պատճառով նրանց հաշվարկ չի կատարվել

** արժանահավատ է ($p < 0.05$) համապատասխան ստուգիչի համեմատությամբ

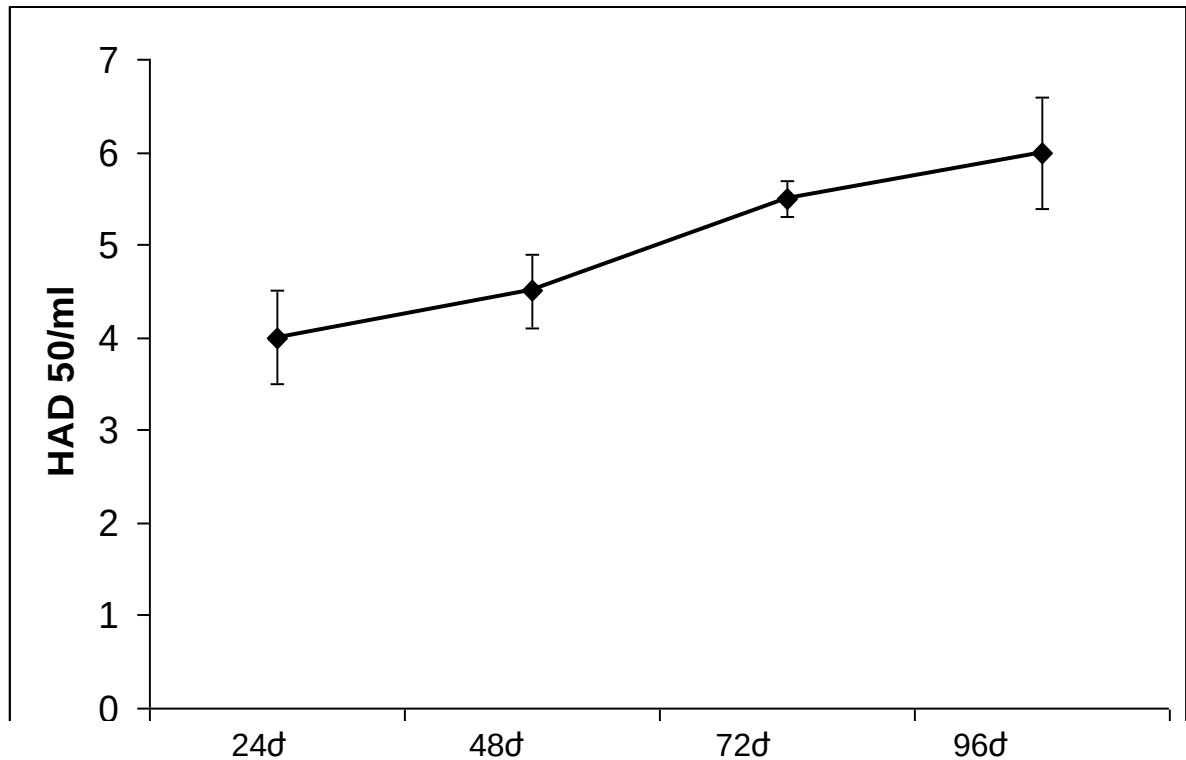
ների պրաբաբիլիտետի 0.2%-ը: Մինչդեռ ուշ պրոֆերոմատոֆիլ և օքսիֆիլ էրիթրոբլաստները պարզվում է ավելի կենսունակ են: Նրանք լիմֆոցիտների, նեյտրոֆիլների և էոզինոֆիլների, այսինքն սպիտակ արյան առավել հասուն բջիջների հետ միասին կազմում են խոզերի ոսկրածուծի առաջնային չխթանված կուլտուրայի բջիջների հիմնական պրաբաբիլիտետային կուլտիվացումից 96 ժամ անց: Այս փորձարկման ժամանակ $\log 4 \text{HAD}/\text{մլ}$ չափաբաժնով tHd -ի վիրուսը ներմուծվել է ՈԱԿ-ի կախույթի մեջ: Միաժամանակ պահվել է նաև կուլտուրայի բջիջների չվարակված ստուգիչ խումբ: Վարակումից հետո 96 ժամվա ընթացքում վիրուսի քանակը ավելացել է մինչ $\log 6 \text{HAD}/\text{մլ}$ (նկ.27):

Վիրուսի վերարտադրությունը նրա ներարկումից մեկ օր անց ուղեկցվում է ստուգիչի համեմատությամբ լիմֆոցիտների, էոզինոֆիլների քանակի արժանահավատ և մոնոբլաստների, նեյտրոֆիլների, մեծ էրիթրոբլաստների քանակի ոչ արժանահավատ նվազմամբ: Ընդ որում, աննշան կերպով մեծանում է մոնոցիտների, լիմֆոբլաստների, միելոիդ բջիջների և պրոէրիթրոբլաստների տոկոսը և ի հայտ են գալիս ատիպիկ լիմֆոցիտներ, որոնց թիվը կազմում է կուլտուրայի բջիջների ընդհանուր քանակի 4.3%-ը: Ոչ արժանահավատ կերպով աճում է քայքայվող բջիջների տոկոսը:

Հետագայում կուլտիվացման ողջ ընթացքում ստուգիչում դիտվում է բոլոր կենսունակ բջիջների նվազման միտում: 96 ժամ անց նրանց քանակը չի գերազանցում 16%-ը, մինչդեռ քայքայված բջիջների թիվը աճելով՝ կազմում է 83%: Վիրուսի ազդեցությամբ այդ միտումները պահպանվում են, ապա փոքր ինչ խորանալով՝ քայքայված բջիջների թիվը հասնում է 84%: Ստուգման ժամանակ կուլտիվացման ընթացքում կուլտուրայի նախորդ բջիջների թիվը նվազում է վեց անգամ (առաջին օրվա 8.3%-ից կուլտիվացման չորրորդ օրը նվազում է մինչ 1.4%), իսկ տարբերակված բջիջներին՝ այդ նույն ժամանակահատվածում՝ երեք անգամ (42.1%-ից մինչ 14.5%):

Նախկինում մեր լաբորատորիայում կատարվել է ՈԱԿ-ում tHd -ի վիրուսի ազդեցությամբ մոնոցիտների և լիմֆոիդ բջիջների

ուևսումնասիրություն (Karalova E. с соавт.,2011), սակայն Էրիթրոիդ բջիջների հետազոտությունը ԽԱԺ-ի վիրուսով *in vitro* վարակման դինամիկայում կատարվում է առաջին անգամ մեր կողմից (աղ.6):



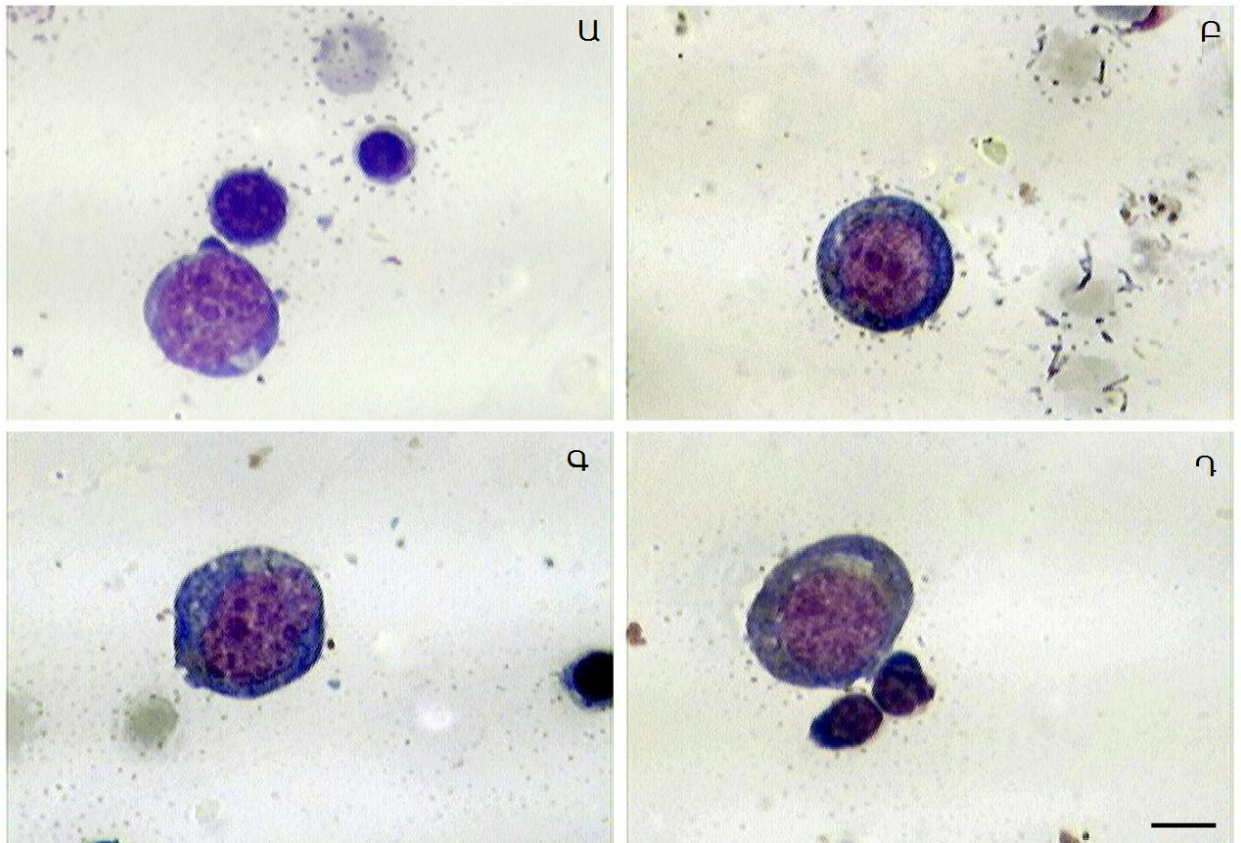
Նկար 27-ԽԱԺ-ի վիրուսի վերարտադրության դինամիկան խոզերի ՌԱԿ-ում

Աբսցիսների առանցք՝ վարակի տևողությունն արտահայտված ժամերով:

Օրդինատների առանցք՝ վիրուսի տիտրն արտահայտված $\log_{10}$ HADU₅₀/մլ միավորով:

Էրիթրոիդ պոպուլյացիայի հետազոտությունը բացահայտել է, որ Էրիթրոիդ շարքի բջիջների պոպուլյացիոն ցուցանիշները չեն ենթարկվում վիրուսի ազդեցությանը, այլ կերպ ասած նրանց բացարձակ քանակը չի փոխվում: Սակայն լիմֆոիդ բջիջների թվաքանակի նվազման ֆոնի վրա ընդհանուր բջջային պոպուլյացիայում նրանց տոկոսային պարունակությունն աճում է (աղ.6): Այսինքն, ԽԱԺ-ի վիրուսի ազդեցության նկատմամբ Էրիթրոիդ շարքի բջիջների թվաքանակի կայունությունը հանգեցնում է նրանց հարաբերական պարունակության մեծացմանը (նկ.28): Ավելի վաղ ցույց է տրվել կուլտիվացման ուշ շրջանում խոզերի ոսկրածուծի առաջնային չխթանված կուլտուրայում լրացուցիչ կորիզներով առիպիկ լիմֆոցիտների առկայություն (Karalova E. et

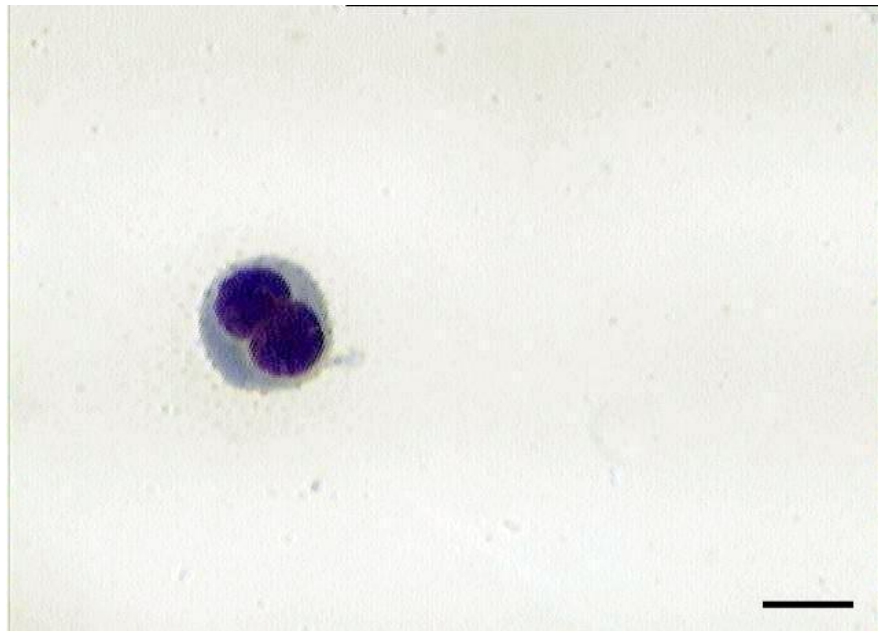
al.,2011): Այս փորձարկումներում մեր կողմից բացահայտվել են ինչպես ատիպիկ լիմֆոցիտներ, այնպես էլ ատիպիկ էրիթրոբլաստներ կուլտիվացման արդեն երկրորդ օրը: Այդպիսի բջիջների քանակը չի գերազանցել պոպուլյացիայի ընդհանուր բջիջների 0,5%-ը (նկ.29): Ախտաբանական փոփոխություններ կրած ուշ էրիթրոբլաստներ նկարագրվել են բավականին հաճախ (Sansone G., 1978):



Նկար 28 -Էրիթրոիդ բջիջների կորիզավոր ձևերը ԽԱԺ-ի վիրուսով վարակված ՈԱԿ-ում (24 ժամյա վարակ): Գույնավորումն ըստ Գիմզայի, մասշտաբը՝ 10 մկմ: Ա-վերևից ներքև՝ օքսիֆիլ էրիթրոբլաստ, պրոիբրոմատոֆիլ էրիթրոբլաստ, փոքր բազոֆիլ էրիթրոբլաստ; Բ-խոշոր բազոֆիլ էրիթրոբլաստ; Գ-պրոէրիթրոբլաստ, աջից՝ օքսիֆիլ էրիթրոբլաստ; Դ-պրոէրիթրոբլաստ, ներքևում՝ օքսիֆիլ էրիթրոբլաստներ:

Խոզի ՈԱԿ-ի բջիջներում ԴՆԹ-ի միջին պարունակության նկարագրությունը, ինչպես և սպասելի էր, բացահայտել է, որ կարմիր և սպիտակ արյան բոլոր տարբերակված բջիջները դիպլոիդ են: Միևնույն ժամանակ ոչ հասուն բջիջները, մասնավորապես լիմֆոբլաստները, մոնոբլաստները, միելոիդ բջիջները,

պրոէրիթրոբլաստները և խոշոր էրիթրոբլաստները հիմնականում ներկայացված են դիպլոիդ, հիպերդիպլոիդ և տետրապլոիդ կորիզներով: Միայն մոնոբլաստների պրոբլյացիան կոլոնիվացման առաջին օրերին պարունակում է ԴՆԹ-ի առավել բարձր պարունակությամբ բջիջների աննշան քանակություն (մոտ 10%), իսկ էրիթրոբլաստների շրջանում կոլոնիվացման ողջ ընթացքում բացահայտվել են հիպերտետրապլոիդ բջիջներ: Միջինում ՈԱԿ-ի բջիջների բոլոր վաղ ձևերը պարունակում են ԴՆԹ-ի տետրապլոիդ քանակությանը



Նկար 29 -երկկորիզավոր օքսիֆիլ էրիթրոբլաստիվիդի վիրուսով վարակված ՈԱԿ-ում (48 ժամյա վարակ): Գունավորումն ըստ Գիմզայի, մասշտաբը՝ 10 մկմ:

մոտ քանակություն: Կարմիր արյան բջիջների ըստ պլոիդության բաշխման վերլուծությունը բացահայտել է փոքր ինչ այլ օրինաչափություններ: Այսպես՝ ուշ (օքսիֆիլ և պոլիքրոմատոֆիլ) էրիթրոբլաստներում կոլոնիվացման ողջ ընթացքում չեն բացահայտվել էական փոփոխություններ ո՛չ ստուգիչ կոլոնուրայում և ո՛չ էլ ԽԱԺ-ի վիրուսի ազդեցությամբ (նկ.30): Պրոէրիթրոբլաստների պրոբլյացիայում (նկ.32) դի-, տրի- և տետրապլոիդ բջիջներին բաժին է ընկնում պրոբլյացիայի բջիջներից միջինը 20-ական տոկոս, իսկ մոտ 40%-ը ներկայացված են հիպերտետրապլոիդ բջիջներով: Կոլոնիվացումից 48 ժամ անց

դիպլոմի և հիպերտետրապլոմի պրոէրիթրոբլաստների քանակը նվազում է կրկնակի անգամ, իսկ սինթեզող և միտոտիկ ցիկլի G₂-փուլում գտնվող բջիջներինը՝ համապատասխանաբար աճում: Արդեն 72 ժամ անց դիպլոմի պրոէրիթրոբլաստները լիովին անհետանում են, տրիպլոմի բջիջների քանակը կազմում է պոպուլյացիայի 50%-ը, այն դեպքում, երբ տերա- և հիպերտետրապլոմի բջիջների տոկոսը նվազում է: 96 ժամ անց պոպուլյացիայի հիմնական մասը կազմում են G₂ փուլում արգելափակված բջիջները, իսկ տրի- և հիպերտետրապլոմի կորիզներին բաժին է ընկնում պոպուլյացիայի 15-ական տոկոսը (նկ.32): ԽԱԺ-ի վիրուսի ազդեցությամբ նկատվում է պրոէրիթրոբլաստների կորիզների ԴՆԹ-ի բաշխման տեղաշարժ դեպի աջ (կուլտիվացման բոլոր ժամկետներում), ինչը վկայում է այդ բջիջներում տեղի ունեցող սինթետիկ գործընթացների մասին:

Համանման պրոէրիթրոբլաստների դիպլոմի բազոֆիլ էրիթրոբլաստներ հանդիպում են կուլտիվացման միայն առաջին և երկրորդ օրերին: Ընդ որում, եթե կուլտիվացման առաջին օրերին դի- և տրիպլոմի բջիջները բաշխված են հավասարապես, ապա կուլտիվացումից 48 ժամ անց հիմնական զանգվածը (մոտ 80%) կազմում են տրիպլոմիները, իսկ արդեն 72 ժամ անց ողջ պոպուլյացիան ներկայացված է ԴՆԹ սինթեզող բջիջներով (նկ.31): Կուլտիվացումից 96 ժամ անց բոլոր բազոֆիլ էրիթրոբլաստները տետրապլոմի են, հետևաբար ՈԱԿ-ի պրոլիֆերացվող էրիթրոիդ բջիջներում ԴՆԹ-ի կրկնապատկման ժամանակահատվածը կազմում է 24-36 ժամ:

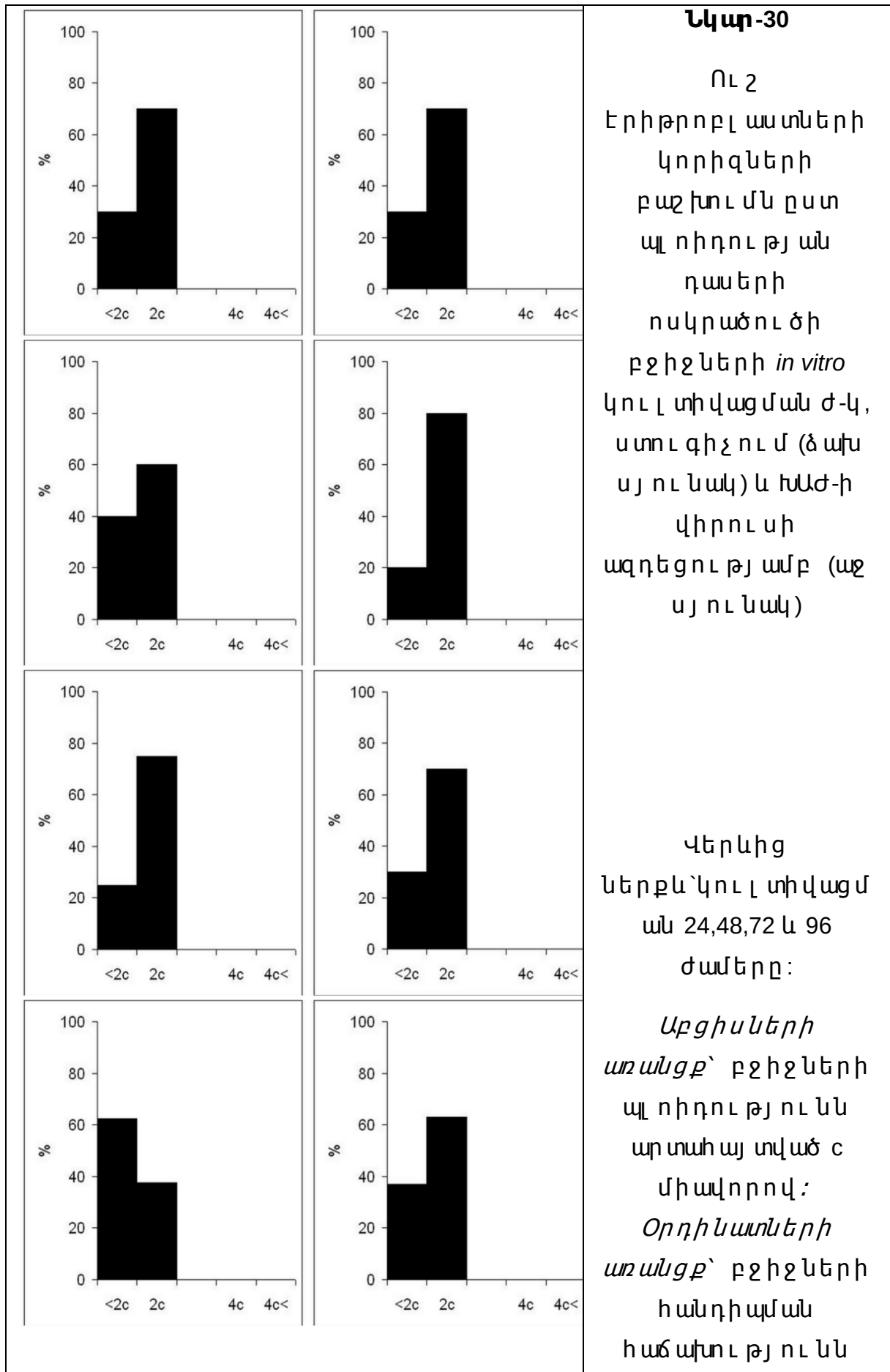
ԽԱԺ-ի վիրուսի ազդեցությամբ մեր կողմից չեն հայտնաբերվել պրոէրիթրոբլաստների նման տեղաշարժեր, այլ նկատվել է միայն դեպի աջ տեղաշարժման միտում վիրուսով կուլտիվացման առաջին երեք օրերին: ՈԱԿ-ի էրիթրոիդ շարքի բջիջներում ԽԱԺ-ի վիրուսով վարակելիս ստուգիչի համեմատությամբ չեն գրանցվել ԴՆԹ-ի բացարձակ քանակության և ակտիվ փոփոխություններ և ախտաբանական բջիջների պարունակության աճ: Նախորդ ոչ հասուն բջիջների խիստ լարվածության պատճառը կարող է բացատրվել երկու ձևով. նրանց պակաս կայունությամբ և հասունացմամբ-տարբերակմամբ: Սակայն ոչ հասուն բջիջների թվի նվազումը նրանց տարբերակման հաշվին 96

ժամվա ընթացքում քիչ հավանական է, քանի որ բջիջների տարբերակումը առաջնային չխթանված կուլտուրաներում սովորաբար տեղի է ունենում ավելի երկար ժամանակահատվածում (Dexter T. et al., 1977): Կուլտիվացման 48-96 ժամերի ընթացքում ախտաբանական բջիջների առաջացումը բացառվում է ՈԱԿ-ի կուլտիվացման պայմաններով, այն է առանց խթանող և աճի գործոնների:

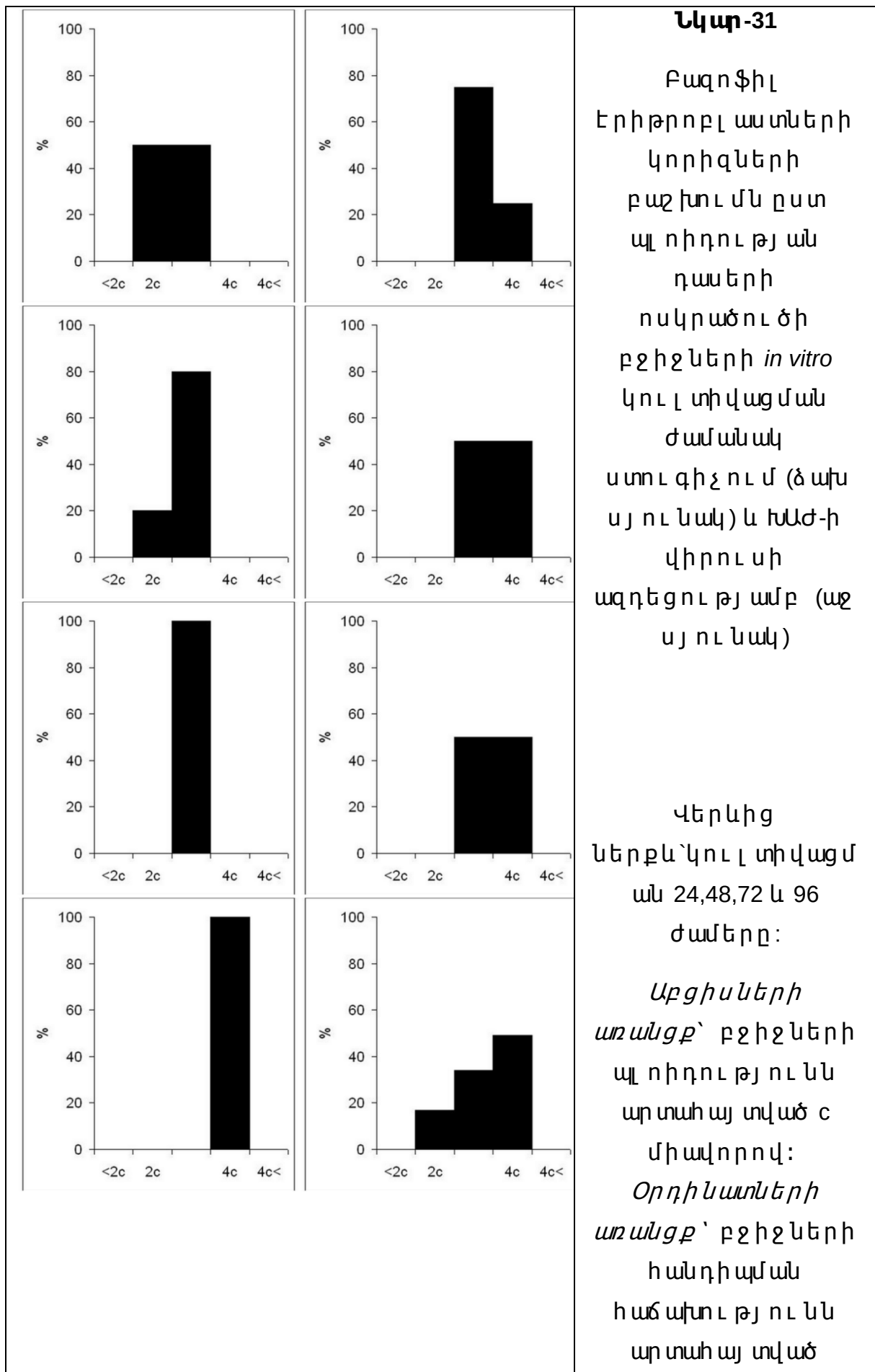
Կարևոր տվյալներ են ստացվել ՈԱԿ-ի բուրոր տեսակի բջիջների կորիզների ըստ պլոիդության դասերի բաշխման վերլուծություներից: Ոսկրածուծի առաջնային կուլտուրայում արյան բուրոր սպիտակ բջիջների մեջ մեր կողմից նկատվել է մոնոբլաստների լոկ աննշան պոպուլյացիա, որը պարունակում է ԴՆԹ-ի հիպերտետրապլոիդ քանակություն: Այդ պոպուլյացիան հայտնաբերվել է միայն 24 ժամյա կուլտուրայում և կուլտիվացման ժամկետների երկարեցմանը զուգընթաց այն անհետացել է: Ընդհանուր առմամբ, մոնոցիտային շարքի նախորդ բջիջների (մոնոբլաստներ, պրոմոնոցիտներ և մոնոցիտներ) համար ԴՆԹ-ի սինթեզը բնորոշ երևույթ է *in vitro* պայմաններում (Van Furth R., 1970): Արյան կարմիր բջիջները դրսևորում են հակառակ միտումը. կուլտիվացման ժամկետի աճման հետմեծանում է ԴՆԹ-ի տետրապլոիդ կորիզներով բջիջների քանակը: Դա անկասկած հանդիսանում է բջիջների բջջային ցիկլի G₂ փուլում արգելափակման արդյունք: Արյան կարմիր և սպիտակ բջիջների այդքան տարբեր վարքի պատճառ կարող են հանդիսանալ ոսկրածուծում դրանց աճի տարբեր սկզբունքները: Ինչպես հետևում է վերը շարադրվածից, Էրիթրոիդ շարքի բջիջների կորզներում ԴՆԹ-ի պարունակության բաշխման փոփոխությունները մոտավորապես համընկնում են կաթնասունների Էրիթրոիդ բջիջներում բջջային ցիկլի փուլերի հետ (խոզերի ՈԱԿ-ում այդ փոփոխությունները որոշ չափով ավելի դանդաղած են): Այսպես՝ մարդու ոսկրածուծի բաժանվող բջիջների բջջային ցիկլը տևում է 24 ժամ, իսկ S փուլը՝ 12-14 ժամ (Strychmans P. et al., 1966): Ընդ որում, մեր կողմից ներկայացված է նաև անավարտ բջջային ցիկլ, որն ըստ էության Էրիթրոիդ բջիջների արգելափակումն է G₂ փուլում: Վերջինիս հավանական պատճառը հանդիսանում է

Էրիթրոբլաստային կղզյակների քայքայումը ՈԱԿ-ի ստացման ընթացքում:

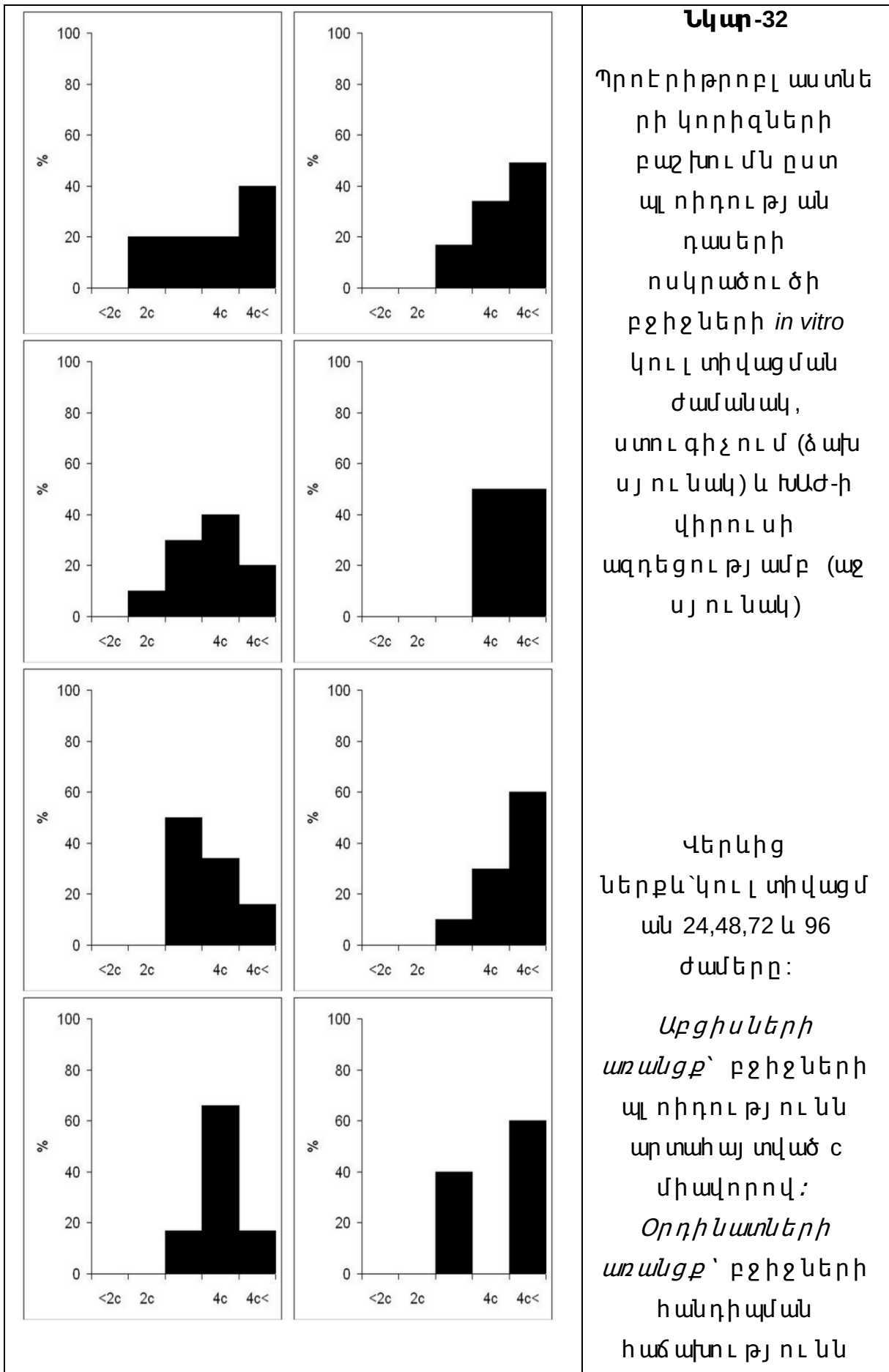
Ինչպես ցույց է տրվել (Rhodes M. et al.,2008), ոսկրածուծում մակրոֆագի հետ Էրիթրոբլաստների (ներառյալ վաղ ձևերի՝ պրոԷրիթրոբլաստների և բազոֆիլ Էրիթրոբլաստների) անմիջական շփումն անհրաժեշտ է նրանց պոլիֆերացիայի և տարբերակման գործընթացի համար: Ըստ հեղինակի Էրիթրոբլաստային կղզյակում մակրոֆագի հետ շփումը հանգեցնում է Էրիթրոիդ բջջի փոխակերպման ժամկետի նվազմանը: Ավելին, Էրիթրոբլաստների կուլտիվացումը Էրիթրոբլաստային կղզյակների մակրոֆագից դուրս հանգեցնում է նրանց պոլիֆերացիայի, հասունացման և կորիզազրկման կտրուկ նվազման (Chasis J.,2008): ԴՆԹ-ի կուտակումը պրոԷրիթրոբլաստներում ԽԱԺ-ի վիրուսով վարակման դեպքում կարելի է բացատրել վիրուսով մոնոցիտար-մակրոֆագային շարքի բջիջների ախտահարմամբ, ինչը հանգեցնում է պրոԷրիթրոբլաստների բաժանման ճնշմանը և հետևաբար՝ ԴՆԹ-ի կուտակմանը: Նման երևույթների բացակայությունը ուշ Էրիթրոբլաստներում բացատրվում է այդ բջիջների բաժանման անկարողությամբ:



	ար տառի այ տվ ան տո կ ո ս ո վ :
--	------------------------------------



	ពាក្យបញ្ជី:
--	-------------



	ար տառի այ տվ ան տո կ ո ս ո վ :
--	--

ՈԱԿ-ի էրիթրոիդ բջիջների և նրանց կորիզների չափերը ստուգիչ ու մ և խձ-ի վիրուսով վարակման

Բջիջներ	Ստուգիչ				Խձ վարակ			
	24 ժ	48 ժ	72 ժ	96 ժ	24 հվժ	48 հվժ	72 հվժ	96 ժվհ
Պրոէրիթրոբլաստ	223.3±17.7	292.9±19.4	248.5±20.1	171.5±15.5	339.4±16.8***	229.8±23.1	188.6±20.4**	*
Խոշոր բլաստ	78.4 ±7.1	76.6±6.7	89.8±10.2	64.4±5.9	82.0±6.8	100.7±11.0	109.8±9.8**	71.8±8.0
Փոքր բլաստ	47.2±3.9	47.4±6.4	51.5±4.4	36.8±2.1	50.2±3.8	45.8±3.7	48.3±4.7	44.4±5.3
Բջջակորիզ	24 ժ	48 ժ	72 ժ	96 ժվհ	24 ժվհ	48 ժվհ	72 ժվհ	96 ժվհ
Պրոէրիթրոբլաստ	104.6±10.4	180.9±12.3	93.7±12.1	85.7±5.6	182.5±10.3***	131.4±10.1	98.0±7.6	*
Խոշոր բլաստ	50.3±8.5	42.3±2.3	41.4±3.4	44.4±3.8	59.3±7.1	39.2±8.0	55.1±7.8	48.3±7.1
Փոքր բլաստ	33.3±4.1	29.5±2.5	40.7±4.2	22.8±3.3	33.4±3.8	27.3±1.5	29.0±1.8	32.0±1.7

դեպքում (մկմ²)

*բջիջների աննշան քանակությամբ պատճառով հաշվարկ չի կատարվել

** միտոմ ստուգիչի համեմատությամբ (p<0.5)

*** արժանահավատ է ստուգիչի համեմատությամբ (p<0.05)

Ոսկրածուծի առաջնային կուլտուրայի հիմնական բջիջների մակերեսային չափերի փոփոխության դինամիկ հետազոտությունը կատարվել է կուլտիվացման չորս օրերի ընթացքում (աղ.7): Բջիջների հայտնաբերման համար պատրաստուկները ներկվել են հալոցիանին քրոմային շիբով ըստ Կարալովայի (Karalova E. и соавт., 2011): Ցույց է տրվել, որ ոսկրածուծի բոլոր բջիջները ամենախոշորները նախորդ ձևերն են: Պրոէրիթրոբլաստները 50-55% տոկոսով ավելի խոշոր են, քան մոնոբլաստները և միելոիդ բջիջները՝ հանդիսանալով ոսկրածուծի առաջնային կուլտուրայի առավել խոշոր բջիջները: Բոլոր հասուն ձևերը զգալիորեն փոքր են նախորդ ձևերից և դրանց շարքում ըստ մակերեսի ամենափոքրերն են պրոէրոմատոֆիլ և օքսիֆիլ էրիթրոբլաստները, որոնց մակերեսը 4,5-5 անգամ զիջում է պրոէրիթրոբլաստների մակերեսին (աղ.7): Բջիջների մակերեսների փոփոխությանը համապատասխան փոխվում են նաև կորիզների մակերեսները: Կուլտիվացման 72 ժամվա ընթացքում բոլոր հետազոտված բջիջների մակերեսները աստիճանաբար, սակայն աննշան կերպով մեծանում են, իսկ 96 ժամ անց՝ կտրուկ նվազում միջինը 20-50%-ով: Վիրուսի ազդեցությամբ մեր կողմից բացահայտվել է պրոէրիթրոբլաստների չափերի մեծացում վարակի վաղ շրջանում:

ՌՆԹ-ի պարունակության հետազոտությունը (աղ.8) ցույց է տալիս, որ նրա քանակությունը բոլոր բջիջների ինչպես ցիտոպլազմայում, այնպես էլ կորիզում փոփոխվում է բջիջների չափերի փոփոխություններին համապատասխան: Ինչպես և սպասելի էր, ՌՆԹ-ի մեծ քանակություն հայտնաբերվել է ՈԱԿ-ի ավելի երիտասարդ բջիջների կորիզներում, հատկապես պրոէրիթրոբլաստներում, այսինքն այն բջիջներում, որոնք ունակ են բաժանման: Համապատասխանաբար այդ բջիջների ցիտոպլազմայում պարունակվում է ավելի մեծ քանակությամբ ՌՆԹ, քան առավել տարբերակված բջիջներում: ՌՆԹ-ի պարունակությունը ՈԱԿ-ի տարբերակված բջիջների կորիզներում և ցիտոպլազմայում զգալիորեն քիչ է: Կուլտիվացման առաջին երեք օրերի ընթացքում ՌՆԹ-ի քանակությունը բոլոր հետազոտվող բջիջներում հիմնականում աննշան մեծանում է, իսկ չորրորդ օրը կտրուկ

նվազում. կորիզում միջինը 50%-70%-ով, ցիտոպլազմայում՝ 20%-60%-
ով: Միայն վերջնականապես տարբերակված փոքր
էրիթրոբլաստներում այն մի փոքր ավել անում է (աղ.8):

ՌՆԹ-ի պարունակությունը ՈԱԿ-ի բջիջներում (ընդհանուր) և բջջակորիզներում ԽԱԺ-ի վիրուսով վարակման դեպքում (ա/մ)

Բջիջներ	Ստուգիչ				ԽԱԺ վարակ			
	24 ժ	48 ժ	72 ժ	96 ժ	24 ժվհ	48 ժվհ	72 ժվհ	96 ժվհ
Պրոէրիթրո-բլաստ	21.6±3.5	26.7±3.7	19.4±2.8	16.8±2.5	27.5±3.9**	20.5±4.5	20.5±1.2	*
Խոշոր բլաստ	6.0±1.1	6.1±2.1	8.5±2.6	4.9±1.3	5.1±0.8	8.5±1.3	10.9±2.4	5.4±0.5
Փոքր բլաստ	3.7±0.3	3.8±0.2	4.1±1.0	3.0±0.5	3.4±0.7	3.1±0.4	3.8±0.7	3.3±0.6
Բջջակորիզներ	24 ժ	48 ժ	72 ժ	96 ժ	24 ժվհ	48 ժվհ	72 ժվհ	96 ժվհ
Պրոէրիթրո-բլաստ	8.4±1.1	15.1±2.4	9.9±1.4	6.4±1.0	14.8±1.3**	10.3±1.8	9.3±1.9	*
Խոշոր բլաստ	2.6±0.6	2.5±0.6	3.1±0.5	2.7±0.7	2.7±0.4	2.2±0.3	3.9±0.4	2.8±0.3
Փոքր բլաստ	2.1±0.2	2.4±0.3	2.7±0.5	1.3±0.4	1.7±0.2***	1.3±0.4***	1.8±0.5***	2.0±0.2

* բջիջների աննշան քանակության պատճառով հաշվարկ չի կատարվել

** միտում ստուգիչի համեմատությամբ ($p < 0.5$)

***արժանահավատ է ստուգիչի համեմատությամբ ($p < 0.05$)

Վիրուսի ազդեցությամբ էական փոփոխություններ տեղի են ունենում վարակման սկզբնական փուլում (24ժ) պրոէրիթրոբլաստներում, երբ մեծանում է ՌՆԹ-ի պարունակությունը ինչպես կորիզում, այնպես էլ բջջում ամբողջությամբ: Աղյուսակ 8-ից հետևում է նաև, որ ԽԱԺ վարակի ընթացքում ՌՆԹ-ի պարունակությունը նվազում է օքսիֆիլ (փոքր բլաստներ) էրիթրոբլաստներում ստուգիչ պոպուլյացիայի համեմատությամբ: Այս երևույթը բացատրել ԽԱԺ-ի վիրուսի վերարտադրությամբ անհնար է, քանի որ այն չի վերարտադրվում ուշ էրիթրոբլաստներում, համեմատելի դեպք, ոչ վարակի վաղ շրջանում: Մինչդեռ արժանահավատ փոփոխություններ տեղի են ունենում վարակման 48-72-րդ ժամերի ընթացքում: Ամենայն հավանականությամբ այս փոփոխությունները հանդիսանում են ՈԱԿ-ի ոչ էրիթրոիդային բջիջներում ախտաբանական փոփոխությունների արդյունք, որոնք զգայուն են վիրուսի նկատմամբ: Նման բջիջներում (առաջին հերթին մոնոցիտ/մակրոֆագարային շարքի) վիրուսի վերարտադրությունը կարող է հանգեցնել էրիթրոբլաստների ախտաբանության *in vitro* պայմաններում: Իսկ տվյալ բջիջների ախտահարումները հանգեցնում են ուշ էրիթրոբլաստների միջնորդավորված ախտաբանական փոփոխությունների, մասնավորապես կորիզազրկման գործընթացներում (Chasis J., 2008; McGrath K., 2014):

Կորիզ-ցիտոպլազմային փոխհարաբերությունը, որը հիմնականում կիրառվում է բջիջների տարբերակման աստիճանը որոշելու համար, հանդիսանում է նաև նյութափոխանակության մակարդակի գնահատման կարևոր ձևաբանական բնութագիր: Լիմֆոիդ պոպուլյացիայում այն հնարավորություն է տալիս բացահայտել բջիջների ակտիվացման աստիճանը (Petrzilka G., 1979): Ըստ հեղինակների, Լիմֆոցիտների ակտիվացման դեպքում այդ փոխհարաբերությունը նվազում է, այլ կերպ ասած մեծանում է ցիտոպլազման:

Մեր կողմից ստացված տվյալների արդյունքում բացահայտվել է Լիմֆոբլաստների, մոնոբլաստների, մոնոցիտների և նեյտրոֆիլների մոտ տվյալ ցուցանիշի նվազման միտում: Այս

Երևույթը մշտական բնույթ չի կրում և կուլ տիվացման 96-րդ ժամվա ընթացքում այն փոխարինվում է կորիզ-ցիտոպլազմային հարաբերության մեծացմամբ գրեթե բոլոր բջջային պոպուլյացիաներում: Հավանաբար այդ փոփոխությունները կապված են կուլ տիվացման ընթացքում բջիջների հարմարվողականության, իսկ բարձրացումը՝ կուլ տուրայի բջիջների սկսվող դեգեներացիայի հետ: ՈԱԿ-ի Էրիթրոիդ բջիջների հետազոտությունը կորիզ-ցիտոպլազմային մակերեսների փոխհարաբերության էական փոփոխություններ չի բացահայտել (աղ 9):

ՈԱԿ-ի բջիջների կորիզ-ցիտոպլազմային մակերեսային փոխհարաբերությունը ստուգիչ ու մեխանիկական

Բջիջներ	24ժ ստուգիչ	24ժ հԱժՎ	48ժ ստուգիչ	48ժ հԱժՎ	72ժ ստուգիչ	72ժ հԱժՎ	96ժ ստուգիչ	96ժ հԱժՎ
Մոնոցիտ	1.2±0.2	0.9±0.1	0.9±0.1	0.8±0.2	0.8±0.2	0.6±0.1	1.3±0.2	0
Մոնոբլաստ	1.2±0.1	1.0±0.1	1.1±0.2	0.8±0.2	0.8±0.1	0.8±0.1	1.6±0.3	0
Լիմֆոցիտ	1.3±0.2	1.3±0.3	1.2±0.2	0.7±0.2	1.2±0.2	1.5±0.3	1.9±0.3	2.9±0.4
Լիմֆոբլաստ	1.4±0.2	1.2±0.2	1.0±0.1	1.6±0.3	1.0±0.2	1.7±0.3	-	2.0±0.3
Ատիպիկ լիմֆոցիտ	-	1.1±0.2	-	1.9±0.3	-	1.6±0.3	-	1.6±0.4
Միելոիդ	1.1±0.2	0.9±0.2	0.9±0.1	0.9±0.1	0.8±0.2	0.9±0.1	1.1±0.2	1.0±0.2
Նեյտրոֆիլ	0.9±0.2	0.7±0.1	0.6±0.1	0.7±0.1	0.6±0.1	0.8±0.2	0.8±0.2	0.6±0.1
Պրոերիթրոբլ .	0.9±0.1	1.2±0.3	0.9±0.1	1.3±0.3	0.7±0.2	1.1±0.3	1.0±0.1	-
Օքսիֆիլ երիթրոբլ .	2.4±0.3	2.0±0.3	1.6±0.3	1.5±0.4	3.8±0.7	1.5±0.3	1.6±0.3	2.6±0.4
Բազոֆիլ երիթրոբլ .	1.8±0.2	2.6±0.4	1.2±0.3	0.8±0.1	0.9±0.1	1.0±0.1	2.2±0.4	2.1±0.4

վարակի դեպքում

ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԻ ՔՆՆԱՐԿՈՒՄ

Ստացված տվյալների հիման վրա կարող ենք եզրակացնել, որ խԱԺ-ի դեպքում կարմիր արյան ախտաբանությունը բարդ կառուցվածք ունի և կազմված է երկու պատճառագիտական բաղադրիչներից:

Կարմիր արյուն ասելով հասկանում ենք, արյունատար համակարգի այն հատվածը, որը պատասխանատու է թթվածնի տեղափոխման համար, այսինքն՝ հեմոգլոբինը, էրիթրոցիտները, գունային ցուցանիշը, երկաթի փոխանակությունը և այլն:

Կարմիր արյան ախտաբանության առաջին բաղադրիչը՝ էրիթրոբլաստոզը, առաջանում է հիվանդության առաջին իսկ օրերից (Нерсисян Н., 2015): Ըստ սահմանման էրիթրոբլաստոզը կաթնասունների այն ախտաբանական վիճակն է, որի դեպքում արյունատեղծման օրգաններից շրջանառող արյան մեջ են անցնում կորիզ պարունակող ոչ հասուն էրիթրոիդ բջիջներ (Воробьев А., 2005):

Խոզերի մոտ էրիթրոբլաստոզ հանդիպում է ինչպես նորմայում, այնպես էլ որոշ ախտաբանությունների դեպքում: Պտղի մոտ էրիթրոբլաստոզ նկարագրվել է որպես մահացու գործոն (C14), որը ժառանգվում է պարզ աուտոսոմ-դոմինանտ եղանակով (Harvey E., 2012): Էրիթրոբլաստոզի զարգացմամբ խոզերի մեկ այլ ախտաբանություն է հանդիսանում խոճկորների երկաթապակասորդային սակավարյունությունը: Հիվանդության հիմնական պատճառը հանդիսանում է օրգանիզմում երկաթի անբավարարությունը: Պայմանավորված խոճկորների արագ աճով՝ նրանց օրգանիզմում երկաթի պահանջը ավելի մեծ է, քան այլ կենդանիների մոտ: Ստնտու խոզամայրերի կաթը հարուստ է պլաստիկ նյութերով, սակայն ոչ երկաթով: Այդ իսկ պատճառով կաթի հետ խոճկորը կարող է ստանալ օրական 1-1,5 մգ երկաթ, որը կազմում է օրական նորմայի 15-20%-ը:

Էնդոգեն երկաթը, որն արտազատվում է հեմոգլոբինից էրիթրոցիտների քայքայման ժամանակ, կազմում է օրական մոտ 1%: Ծնվելիս խոճկորների օրգանիզմում երկաթի պաշարը կազմում է ընդամենը 50 մգ, որն արագ ծախսվում է, քանի որ 1 կգ քաշի համար պահանջվում է մոտ 27 մգ երկաթ: Այդ իսկ պատճառով ծնվելուց հետո 7-8-րդ օրը խոճկորների մոտ առաջանում է երկաթի անբավարարություն, իսկ 3-4 շաբաթական հասակում

սակավարյունությունը հասնում է գագաթնակետին (<http://www.zoocompas.ru/articles/view/1622>):

Այսպես, երկու-երեք շաբաթական խոզերի մոտ նորմայում արյան մեջ կարող են հանդիպել ոչ մեծ քանակությամբ էրիթրոբլաստներ (1-2%): Պետք է նշել, որ այդ էրիթրոբլաստները գտնվում են տարբերակման վերջին փուլում (հիմնական պարունկացիան օքսիֆիլ էրիթրոբլաստներն են): Վաղ էրիթրոբլաստները (բազոֆիլ) առողջ խոզի արյան մեջ ընդհանրապես բացակայում են հետծննդյան օնտոգենեզի ցանկացած փուլում: Պետք է նկատել, որ որոշ վարակային հիվանդությունների, ինչպես օրինակ՝ միկոպլազմային ինֆեկցիայի դեպքում ևս կարող է նկատվել էրիթրոբլաստոզ, (Harvey E., 2012):

Էրիթրոբլաստոզը, որը զարգանում է խժ-ի սուր ձևի ընթացքում, բացահայտվել է մեր լաբորատորիայում (Нерсисян Н., 2015): Այն տարբերվում է վերոնշյալ ախտաբանություններից: Նախև առաջ խժ-ի դեպքում էրիթրոբլաստոզը ի հայտ է գալիս առանց գենետիկական, պիմենտար և/կամ այլ վարակային ախտաբանություններիով կենդանիների մոտ: Երկրորդ՝ նրան բնորոշ է շատ արագ դրսևորումը՝ վիրուսի մ/մ ներարկումից 24 ժամ անց: Երրորդ՝ խժ-ի դեպքում զարգացող էրիթրոբլաստոզին բնորոշ է վաղ էրիթրոբլաստների (բազոֆիլ), իսկ վիրուսի ներարկումից 48 ժամ անց արյան մեջ էրիթրոիդ բջիջների առավել վաղ ձևերի՝ պրոէրիթրոբլաստների հայտնաբերումը:

Խժ-ի սուր ձևի ընթացքում էրիթրոբլաստոզի առաջացման մեխանիզմը անհնար է բացատրել խժ-ին բնորոշ հեմոլիզով, քանի որ այն զարգանում է հիվանդության ավելի ուշ փուլերում (Нерсисян Н.Г., 2015): Անհնար է էրիթրոբլաստոզի առաջացումը պատճառաբանել նաև խժ-ին բնորոշ արյունահոսությունների հետևանքով էրիթրոցիտների կորստով (Rodríguez F. et al., 1996): Պատճառն այն է, որ խժ-ի գենոտիպ II վիրուսով պայմանավորված արյունահոսություններն ուշ են առաջանում և ժամանակային առումով համընկնում են հեմոլիզի զարգացման հետ (առավել ապես վիրուսային վարակի 3-4-րդ օրը) (Karalova E. et al., 2015):

Էրիթրոբլաստոզի նման վաղ առաջացումը բնորոշ է Էրիթրոբլաստային կղզյակի կենտրոնական մակրոֆագի ախտահարմանը: Նման երևույթը բավականին լավ նկարագրված է գիտական գրականության մեջ (Wang J. et al.,2013): Նկատի ունենալով մեր աշխատանքում ստացված տվյալները, որտեղ ներկայացված է Էրիթրոբլաստային կղզյակների քայքայումը կենտրոնական մակրոֆագերի ախտահարման հետևանքով, կարող ենք բավարար հիմքով ենթադրել, որ Էրիթրոբլաստոզի հիմնական պատճառը այդ մակրոֆագերի անմիջական ախտահարումն է ԽԱԺ-ի վիրուսով:

Կարմիր արյան ախտաբանության հաջորդ պատճառագիտական բաղադրիչը հանդիսանում է մեր լաբորատորիայում բացահայտված ներանոթային հեմոլիզը (Нерсисян Н.,2015): Հեմոլիզ ասելով հասկանում ենք Էրիթրոցիտների վնասման գործընթացը, որի դեպքում հեմոգլոբինը դուրս է գալիս շրջակամիջավայր:

Հեմոլիզի պատճառ կարող են լինել Էրիթրոցիտների բնածին կամ ձեռքբերովի անլիարժեքությունները, որոշ աուտոիմունային վիճակները և այլն: Ներանոթային հեմոլիզ զարգանում է արյան անհամատեղելի փոխներարկումների ժամանակ: Հեմոլիզ կարող է տեղի ունենալ որոշ քիմիական միացությունների, օրինակ Էրիթրոցիտների թաղանթները վնասող լիպոիդների լուծիչների, եթերների, քլորոֆորմի, բենզոլի, ալկոհոլի ազդեցությամբ (Воробьева А.,2005): Մեր տեսանկյունից հետաքրքրություն են ներկայացնում բացիլակրության և վիրուսակրության, առավել ապես կաթնասունների մոտվիրեմիաների միջարք դեպքերում զարգացող հեմոլիզի մասին տվյալները: Այսպես, հեմոլիզ առաջանում է հեպատիտ C վիրուսով (Emilia G. et al.,1997), ցիտոմեգալովիրուսով (Taglietti F.et al.,2010), միջարք արյունահոսական տենդերի և այլ վիրուսներով պայմանավորված վիրեմիաների դեպքերում (Cammack N., Gould E., 1986; Adu F. et al.,1990):

Վիրուսային հիվանդությունների դեպքում հեմոլիզի պատճառ կարող են լինել հետևյալ գործոնները. ախտաբանական իմունային պատասխանը որպես սուր աուտոիմունային ռեակցիայի տարատեսակ (Hod E.et al.,2008), վիրուսի ուղղակի կամ միջնորդավորված ազդեցությունը Էրիթրոցիտների վրա (Sigbjørn B. and Tatjana S., 2015),

Էրիթրոպոեզի նախորդ բջիջների ախտահարումը վիրուսով (Sornjai W. et al., 2014) և այլն:

ԽԱԺ-ի վիրուսի ուղղակի ազդեցությունը Էրիթրոցիտների վրա կարող է ընթանալ երկու եղանակով. Էրիթրոցիտների անմիջական վարակմամբ և/կամ հեմադսորբցիայի արդյունք լինելով, որը մանրամասնորեն ներկայացված է գրականության մեջ (Breese S., Hess W., 1966; Karalyan Z. et al., 2012):

Մեր կողմից *in vitro* պայմաններում կատարված ուսումնասիրությունները՝ կապված Էրիթրոիդ բջիջների վրա ԽԱԺ-ի վիրուսի անմիջական ազդեցության հետ, ցույց են տվել, որ չնայած կուլտուրայում վիրուսի վերարտադրության, ՈԱԿ-ի Էրիթրոիդ բջիջները ընկալունակ չեն եղել նրա ազդեցությանը: Նրանց քանակական փոփոխություններ, ի տարբերություն սպիտակ արյան բջիջների չեն նկատվել, իսկ բջջաբանական ցուցանիշներում աննշան փոփոխությունները հեշտությամբ բացատրվում են կուլտիվացման պայմաններով: Մեր կողմից բազմաթիվ անգամներ *in vitro* պայմաններում հայտնաբերվել են վիրուսով խթանված փոփոխություններ հեմադսորբցիայի տեսքով, սակայն հեմոլիզի դիտվել: Հետևաբար կարելի է ենթադրել, որ կարճմիտ արյան բջիջների ախտաբանությունն ի հայտ է գալիս միայն *in vivo* պայմանում, այլ կերպասած դաօրգանիզմի ռեակցիան է վիրուսային վարակի նկատմամբ:

Այս ախտաբանությունը բացատրելու համար անհրաժեշտ է մատնանշել մեր կողմից բացահայտված յուրահատուկ ախտաբանական վիճակի՝ հիպերցիտոկինեմիայի մասին, որը զարգանում է ԽԱԺ-ի ընթացքում (Zakaryan H. et al., 2015): Նորմալ իմունային պատասխանի դեպքում, որն ունի պաշտպանական նշանակություն, տեղի է ունենում նախաբորբոքային ցիտոկինների տեղային արտադրություն, ինչը հանգեցնում է սուր բորբոքման օջախի ձևավորման: Հիպերցիտոկինեմիայի դեպքում, որն առաջանում է ի պատասխան վարակարյունության (այդ թվում նաև վիրուսային ծագման), արյան շիճուկում խիստ աճում է առաջնային նախաբորբոքային ցիտոկինների (ուռուցքի նեկրոզի գործոն α , ինտերլեյկին-1 β և այլն) պարունակությունը: Նախաբորբոքային

ցիտոկիններն արտադրող հիմնական բջիջներն են մոնոցիտները, մակրոֆագերը և լիմֆոցիտները: Սակայն նախաբորբոքային ցիտոկիններն արտադրող հենց այս բջիջներն են հանդիսանում թիրախ ԽԱԺ-ի վիրուսի համար: Հետևաբար վիրուսով վարակվելու արդյունքում առաջանում է հիպերցիտոկինեմիա (ցիտոկինային գրոհ): Հիպերցիտոկինեմիայի և նեյտրոֆիլների, էնդոթելային բջիջների, մոնոնուկլեար ֆագոցիտների, պարարտ բջիջների համակարգային տրանսֆորմացիայի արդյունքում բոլոր օրգաններում և հյուսվածքներում սկսում են զարգանալ պաշտպանական նշանակությունից զուրկ բորբոքային գործընթացներ (<http://medkarta.com/?cat=article&id=24936>):

Հենց այդպիսի ախտաբանությունն է բացահայտվել մեր կողմից ԽԱԺ-ի դեպքում: Ցույց է տրվել նախաբորբոքային ցիտոկինների շիճուկային մակարդակների և հյուսվածքներում երկաթի պարունակության արտահայտված հակադարձ կորելյացիոն կախվածությունն հեմատոկրիտից: Հայտնի է նաև, որ ՈՒՆԳ α և ԻԼ-1 β նախաբորբոքային ցիտոկինները հանդիսանում են էրիթրոպոետինի արգելափակիչներ (Jelkmann W., 1998, Wang J. et al., 2013): Հավանական է, որ նրանց ազդեցությամբ է պայմանավորված է ԽԱԺ-ի դեպքում էրիթրոպոետինի մակարդակի ուշ բարձրացումը (Нерсисян Н., 2015): Ընդ որում, էրիթրոպոետինը ևս կարող է ճնշել նախաբորբոքային ցիտոկինների արտադրությունը, սակայն ոչ անմիջականորեն, որի հետևանքով նրանց ազդեցությունն ուշ է արտահայտվում (Cervellini I. et al., 2013), ինչն էլ բացատրվում է մեր կողմից ստացված արդյունքների միջոցով: Այդ տվյալները հաստատվում են բազմաթիվ աշխատանքներով, որոնցում նշվում է նախաբորբոքային ցիտոկինների բարձր մակարդակի և կարմիր արյան ախտաբանության կապը (Demeter J. et al., 2002; Imagawa S. et al., 2003): Ավելին՝ նախաբորբոքային ցիտոկինների մակարդակն արգելափակող թերապիան կարող է կտրուկ նվազեցնել մահացությունը վիրեմիայի դեպքում (Atrasheuskaya A. et al., 2003):

Այսպիսով, մեր կողմից ցույց են տրվել այն հիմնական ախտաբանական գործընթացները, որոնք ԽԱԺ-ի դեպքում հանգեցնում են կարմիր արյան ախտաբանությանը, ինչպես նաև այն, որ այս

ախտաբանությունն առաջացնող մեխանիզմները և նրանց դրսևորումները տարբեր են հիվանդության սկզբնական և վերջնական փուլներում:

ԵԶՐԱԿԱՑՈՒ ԹՅՈՒՆՆԵՐ

1. ԽԱԺ-ի դինամիկայում փայծաղում նշանակալիորեն ակտիվանում է Էրիթրոպոեզը, ի հայտ են գալիս ոչ մեծ քանակությամբ պրոէրիթրոբլաստներ և Էրիթրոիդ բջիջների ախտաբանական ձևեր, որոնք առողջ խոզերի փայծաղում բացակայում են:
2. ԽԱԺ-ի սուր ձևի ընթացքում արագանում է փայծաղում պահեստավորված Էրիթրոիդ բջիջների տարբերակումը, սակայն նրանք ՌՆԹ-ի պարունակությամբ և մակերեսային ցուցանիշներով արժանահավատ կերպով չեն տարբերվում ոսկրածուծի կայուն Էրիթրոպոեզի համամասն բջիջներից:
3. ԽԱԺ-ի սուր ձևի ընթացքում փայծաղի և ոսկրածուծի առաջնային կուլտուրայի Էրիթրոիդ բջիջներում ԴՆԹ-ի պարունակության վերլուծությունը բացահայտել է վաղ Էրիթրոիդ բջիջների կորիզների ըստալ ոիդության բաշխման հիստոգրամի տեղաշարժ դեպի աջ: Այդ գործընթացը սկսվում է ԽԱԺ-ի սկզբնական փուլներում և ավարտվում վարակման մոտավորապես 4-րդ օրը:
4. Առկա է նախաբորբոքային ցիտոկինների և հյուսվածքներում երկաթի պարունակության հակադարձ կորելյացիոն կախվածություն:
5. *In vitro* պայմաններում ԽԱԺ-ի վիրուսը անմիջական ազդեցություն չի գործում Էրիթրոիդ բջիջների վրա:
6. Էրիթրոնի ախտաբանությունը ԽԱԺ-ի սուր ձևի դեպքում կարելի է բաժանել երկու մասի. Էրիթրոբլաստոզ, որը դիտվում է հետվարակային առաջին օրերից, և հեմոլիզ,

արյունազեղումներ, որոնք ի հայտ են գալիս հետվարակային 4-7-րդ օրերին:

7. Ախտաբանության վաղ դրսևորումները հանդիսանում են էրիթրոբլաստային կղզյակների կառուցվածքի և գործառույթի խանգարման հետևանք, որը պայմանավորված է կենտրոնական մակրոֆագերի ախտահարմամբ:
8. ԽԱԺ-ի սուր ձևի դեպքում հեմոլիզը հանդիսանում է վիրեմիայի ընթացքում առաջացող իմունային միջնորդանյութերի (ցիտոկինների) ազդեցության հետևանք, որոնք հանգեցնում են բնորոշ համընդհանուր համակենսաբանական ախտաբանության:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ՑԱՆԿ

1. Cox B.F. African swine fever. // Bull Epizoot Dis Afr. 1963; 11(2): 147-148.
2. 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. 2012; 8(18): doi: 10.1186/1746-61485.
3. Karalova E.M., Sargsyan K.V., Hampikian G.K., Voskanyan H.E., Abroyan L.O., Avetisyan A.S., Hakobyan L.A., Arzumanyan H.H., Zakaryan H.S., Karalyan Z.A. Phenotypic and cytologic studies of lymphoid cells and monocytes in primary culture of porcine bone marrow during infection of African swine fever virus. // In Vitro Cell Dev Biol Anim. 2011; 47(3): 200-204.
4. Karalova E., Voskanyan H., Nersisyan N., Zakaryan H., Abroyan L., Arzumanyan H., Karalyan N., Karalyan Z. Evaluating Porcine Red Blood Cells in Acute African Swine Fever Virus (Genotype II) Infection in Peripheral Blood. // Journal of Advances in Biology. 2014; 3(2): 227–233.
5. Lenox L., Perry J., Paulson R. BMP4 and Madh5 regulate the erythroid response to acute anemia. // Blood. 2005; 105: 2741–2748.
6. Perry J., Harandi F., Porayette P, et al. Maintenance of the BMP4-dependent stress erythropoiesis pathway in the murine spleen requires hedgehog signaling. // Blood. 2009; 113: 911–918.
7. Wu D., Paulson R. Hypoxia Regulates BMP4 Expression in the Murine Spleen during the Recovery from Acute Anemia. // PLoS ONE. 2010; 5(6): e11303.
8. Boshoff C.I. et al. Genetics characterisation of ASFV from outbreaks in southern Africa // Vet. Microbiol. 2007; 121(1-2): 45-55.
9. Tulman E.R., Delhon G.A., Ku B.K., Rock D.L. African swine fever virus. // Current Topics in Microbiology and Immunology. 2009; 328: 43–48.

10. Sanchez-Vizcainoj M., Martinez-Lopez B., Martinez-Aviles M., Martins C., Boinas B., Vial L., Mighaud V., Jori F., Etter E., Albina E., Roger F. Scientific Review on African Swine Fever. // CFP/EFS/AHAW. 2009; 02: 1–141.
11. Dixon L.K. The structure and function of the African swine fever virus. // Rev. sci. tech. Offint. Epiz. 1986; 5(2): 469-475.
12. Salas M.L, Germán A. African swine fever virus morphogenesis. // Virus Research. 2013; 173(1): 29–41.
13. Leblanc N., Cortey M.; Fernandez Pinero J., Gallardo, C., Masembe C., Okurut A.; Heath L., Van Heerden J., Sánchez-Vizcaino M., Ståhl K., Belák S. Development of a Suspension Microarray for the Genotyping of African Swine Fever Virus Targeting the SNPs in the C-Terminal End of the p72 Gene Region of the Genome. // Transboundary and Emerging Diseases. 2012; 4: 378-383.
14. Cistue C. and Tabarés E. Expression in vivo and in vitro of the major structural protein (VP73) of African swine fever virus. // Arch. Virol. 1992; 123: 111-124.
15. Yozawa T., Kutish G., Afonso L., Lu Z., Rock D. 2 novel multigene families, 530 and 300, in the terminal variable regions of African-swine-fever virus genome. // Virology. 1994; 202(2): 997–1002.
16. Dixon L.K., et al. African swine fever virus replication and genomics. // Virus Res. 2012; <http://dx.doi.org/10.1016/j.virusres.2012.10>.
17. Netherton C.L., Wileman T.E. African swine fever virus organelle rearrangements. // Virus Res. 2013; <http://dx.doi.org/10.1016/j.virusres.2012.12.01>.
18. Javier M. Rodríguez, Maria L. Salas. African swine fever virus transcription. // Virus Res. 2013; 173(1): 15–28.
19. Luther N.J., Udeama P.G., Majiyagbe K.A., Shamaki D., Antiabong J., Bitrus Y., Nwosuh C.I., Owolodun O.A. Polymerase chain reaction (PCR) detection of the genome of African swine fever virus (ASFV) from natural infection in a Nigerian baby warthog (*Phacochoerus aethiopicus*). // Niger. Vet. 2007; 28: 63–67.
20. Gallardo C., Nieto R., Soler A., Pelayo V., Fernández-Pinero J., Markowska-Daniel I., Pridotkas G., Nurmoja I., Granta R., Simón A., Pérez C., Martín E., Fernández-Pacheco P., Arias M. Assessment of African swine fever diagnostic techniques as a response to the epidemic outbreaks in eastern European Union countries: how to improve surveillance and control programs. // Clin Microbiol. 2015; 53: 2555–2565.
21. Montgomery R.E. On a form of swine fever occurring in British East Africa (Kenya colony). // Comparative Pathology. 1921; 34: 159–191.
22. Wilkinson P.J. The persistence of African Swine Fever in Africa and the 869 Mediterranean. // Preventive Veterinary Medicine. 1984; 2(1–4): 71–82.

23. Penrith M.L., Thomson G.R., Bastos A.D., Phiri O.C., Lubisi B.A., Du Plessis E.C., Macome F., Pinto F., Botha B., Esterhuysen J. An investigation into natural resistance to African swine fever in domestic pigs from an endemic area in southern Africa. // *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties*. 2004; 23(3): 965–977.
24. Boinas F.S., Hutchings G.H., Dixon L.K., Wilkinson P.J. Characterization of pathogenic and non-pathogenic African swine fever virus isolates from *Ornithodoros erraticus* inhabiting pig premises in Portugal. // *Journal of General Virology*. 2004; 85(8): 2177–2187.
25. Gulenkin V.M., Korennoy F.I., Karaulov A.K., Dudnikov S.A. Cartographical analysis of African swine fever outbreaks in the territory of the Russian Federation and computer modeling of the basic reproduction ratio. // *Preventive Veterinary Medicine*. 2011; 102(3): 167–174.
26. Gonzague M., Roger F., Bastos A., Burger C., Randriamparany T., Smondack S., Cruciere C. Isolation of a non-haemadsorbing, non-cytopathic strain of African swine fever virus in Madagascar. // *Epidemiology and Infection*. 2001; 126(3): 453–459.
27. Lubis B.A., Dwarka R.M., Meenowa D., Jaumally R. An investigation into the first outbreak of African swine fever in the Republic of Mauritius. // *Transboundary and Emerging Diseases*. 2009; 56(5): 178–188.
28. Rowlands R.J., Michaud V., Heath L., Hutchings G., Oura C.A., Vosloo W., Dwarka R.M., Onashvili T., Albina E., Dixon L.K. African swine fever virus isolate, Georgia. // *Emerging Infectious Diseases*. 2008; 14(12): 1870–1874.
29. Rahimi P., Sohrabi A., Ashrafihelan J., Edalat R., Alamdari M., Masoudi M., Mostofi S. and Azadmanesh K. Emergence of African swine fever virus northwestern Iran. // *Emerging Infectious Diseases*. 2010; 16: 1946–1948.
30. Burrage T.G. African swine fever virus infection in *Ornithodoros* ticks. // *Virus Res*. 2012; <http://dx.doi.org/10.1016/j.virusres.2012.10.010>.
31. Белянин С.А., Васильев А.П., Колбасов Д.Р., и др. Патогенность вируса африканской чумы свиней, циркулирующего на территории РФ. // *Роль ветеринарной науки в реализации продовольственной доктрины РФ*. 2011; 14-20.
32. Dixon L.K., Abrams C.C., Chapman D.D., Goatley L.C., Netherton C.L., Taylor G., Takamatsu H.H. Prospects for development of African swine fever virus vaccines. // *Dev Biol (Basel)*. 2013; 135: 147-57.
33. Colgrove G.S., Haelterman E.O., Coggins L. Pathogenesis of African swine fever in young pigs. // *American Journal of Veterinary Research*. 1969; 30: 1343-1359.

34. Plowright W., Thomson G.R. & Neser J.A. African swine fever. //In Infectious diseases of livestock with special reference to southern Africa, (J.A.W. Coetzer, G.R. Thomson & R.C. Tustin, eds). Oxford University Press, Cape Town. 1994; I: 568-599.
35. McVicar J.W. Quantitative aspects of transmission of African swine fever virus. // Am J Vet Res 1984; 45: 1535-1541.
36. Penrith M.L., Guberti V., Depner K. and Lubroth J. Preparation of African swine fever contingency plans. // FAO Animal Production and Health Manual, Rome. 2009a; 8: 69.
37. 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; 178(2): 328-39.
38. Arias M.L., Escribano J.M., Rueda A, Sánchez-Vizcaíno J.M. La peste porcina africana. // MedVet. 1986; 3: 333-350.
39. Sánchez-Vizcaíno J.M. African swine fever. // Diseases of Swine. Iowa State University Press. 1999; 93-102.
40. Blome S. et al. Pathogenesis of African swine fever in domestic pigs and European wild boar. // Virus Res. 2012; <http://dx.doi.org/10.1016/j.virusres.2012.10.026>
41. Mebus C.A. Pathobiology and pathogenesis African Swine Fever In Martinus. Becker Y., Ed., Nijhoff, Boston. 1987; 21–30.
42. Mebus C.A. African swine fever. // Advances in Virus Research. 1988; 35: 251–269.
43. Fernandez A., Perez J., Carrasco L., Bautista J., Sanchez M., Sierra M.A. Distribution of ASFV antigens in pig tissues experimentally infected with two different Spanish virus isolates. // Zentralblatt fur Veterinarmedizin. 1992; 39(6): 393–402.
44. Perez J., Rodriguez F., Fernandez A., Martin de las Mulas J., Gomez-Villamandos J.C., Sierra M.A. Detection of African swine fever virus protein VP73 in tissues of experimentally and naturally infected pigs. // Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 1994; 6(3): 360–365.
45. Ramiro-Ibanez F., Escribano J.M., Alonso C. Application of a monoclonal antibody recognizing protein p30 to detect African swine fever virus-infected cells in peripheral blood. // Journal of Virological Methods. 1995; 55(3): 339–345.
46. Carrasco L., de Lara F.C., Martin de las Mulas J., Gomez-Villamandos J.C., Hervas J., Wilkinson P.J., Sierra M.A. Virus association with lymphocytes in acute African swine fever. // Veterinary Research. 1996a; 27(3): 305–312.
47. Carrasco L., Gomez-Villamandos J.C., Bautista M.J., Martin de las Mulas J., Villeda C.J., Wilkinson P.J., Sierra M.A. In vivo replication of African swine fever virus (Malawi '83) in neutrophils. // Veterinary Research. 1996b; 27(1): 55–62.

48. Gómez-Villamandos J.C.,Bautista M.J.,Sánchez-Cordón P.J.,Carrasco L. Pathology of African swine fever: the role of monocyte-macrophage. // *Virus Res.* 2013; 173(1): 140-149.
49. Sierra M.A., Quezada M., Fernandez A., Carrasco L., Gomez-Villamandos J.C., Martin de las Mulas J., Sanchez-Vizcaino J.M. Experimental African swine fever: evidence of the virus in interstitial tissues of the kidney. // *Vet Pathol*, 1989; 26: 173-176.
50. Gómez-Villamandos J.C., Hervás J., Moreno C., Carrasco L., Bautista M.J., Caballero J.M., Wilkinson P.J., Sierra M.A. Subcellular changes in the tonsils of pigs infected with acute African swine fever virus. // *Vet Res.* 1997a; 28(2): 179-189.
51. Gómez-Villamandos J.C., Bautista M.J., Carrasco L., Caballero M.J., Hervás J., Villeda C.J., Wilkinson P.J., Sierra M.A. African swine fever virus infection of bone marrow: lesions and pathogenesis. // *Vet Pathol.* 1997b; 34(2): 97-107.
52. Alcamí A., Angulo A., Lopez-Otin C., Munoz M., Freije J.M.P., Carrascosa A.L., Vinuela E. Amino acid sequence and structural properties of protein p12, an African swine fever virus attachment protein. // *Journal of Virology.* 1992; 66: 3860–3868.
53. Carrasco L., de Lara F.C., Gomez-Villamandos J.C., Bautista M.J., Villeda C.J., Wilkinson P.J., Sierra M.A. The pathogenic role of pulmonary intravascular macrophages in acute African swine fever. // *Research in Veterinary Science*, 1996c; 61 (3): 193–198.
54. Gomez-Villamandos J.C., Bautista M.J., Hervas J., Carrasco L., de Lara F.C., Perez J., Wilkinson P.J., Sierra M.A. Subcellular changes in platelets in acute and subacute African swine fever. // *Journal of Comparative Pathology.* 1996; 115 (4): 327–341.
55. Murtaugh M.P., Baarsch M.J., Zhou Y., Scamurra R.W., Lin G. Inflammatory cytokines in animal health and disease. // *Veterinary Immunology and Immunopathology.* 1996; 54(1-4): 45–55.
56. Gomez del Moral M., Ortuno E., Fernandez-Zapatero P., Alonso F., Alonso C., Ezquerra A., Dominguez J. African swine fever virus infection induces tumor necrosis factor alpha production: implications in pathogenesis. // *Journal of Virology.* 1999; 73 (3): 2173–2180.
57. Chacon M.R., Almazan F., Nogal M.L., Vinuela E., Rodriguez J.F. The African swine fever virus IAP homolog is a late structural polypeptide. // *Virology.* 1995; 214 (2): 670–674.
58. Afonso C.L., Neilan J.G., Kutish G.F., Rock D.L. An African swine fever virus Bc1-2 homolog, 5-HL, suppresses apoptotic cell death. // *Journal of Virology.* 1996; 70 (7): 4858–4863.
59. Brun A., Rivas C., Esteban M., Escribano J.M., Alonso C. African swine fever virus gene A179L, a viral homologue of bcl-2, protects cells from programmed cell death. // *Virology.* 1996; 225 (1): 227–230.

60. Revilla Y., Cebrian A., Baixeras E., Martinez C., Vinuela E., Salas M.L. Inhibition of apoptosis by the African swine fever virus Bcl-2 homologue: role of the BH1 domain. // *Virology*. 1997; 228 (2): 400–404.
61. Nogal M.L., Gonzalez deBuitrago G.,Rodriguez C.,Cubelos B.,Carrascosa A.L., Salas M.L., Revilla Y. African swine fever virus IAP homologue inhibits caspase activation and promotes cell survival in mammalian cells. // *Journal of Virology*. 2001; 75 (6): 2535–2543.
62. Rodriguez C.I., Nogal M.L., Carrascosa A.L., Salas M.L., Fresno M., Revilla Y. African swine fever virus IAP-like protein induces the activation of nuclear factor kappa B. // *Journal of Virology*. 2002; 76 (8): 3936–3942.
63. Zsak L., Neilan J.G. Regulation of apoptosis in African swine fever virusinfected macrophages. // *The Scientific World Journal*. 2002; 2: 1186–1195.
64. Hurtado C., Granja A.G., Bustos M.J., Nogal M.L., Gonzalez de Buitrago G., de Yebenes V.G., Salas M.L., Revilla Y., Carrascosa A.L. The C-type lectin homologue gene (EP153R) of African swine fever virus inhibits apoptosis both in virus infection and in heterologous expression. // *Virology*. 2004; 326 (1): 160–170.
65. Hernaez B., Diaz-Gil G., Garcia-Gallo M., Ignacio Quetglas J., Rodriguez-Crespo I., Dixon L., Escribano J.M., Alonso C. The African swine fever virus dynein-binding protein p54 induces infected cell apoptosis. // *FEBS Letters*. 2004a; 569 (1-3): 224–228.
66. Hernaez B., Escribano J.M., Alonso C. Switching on and off the cell death cascade: African swine fever virus apoptosis regulation. // *Progress in Molecular and Subcellular Biology*. 2004b; 36: 57–69.
67. Fernandez de Marco M., Salguero F.J., Bautista M.J., Nunez A., Sanchez-Cordon P.J., Gomez-Villamandos J.C. An immunohistochemical study of the tonsils in pigs with acute African swine fever virus infection. // *Research in Veterinary Science*. 2007; 83 (2): 198–203.
68. Galindo I., Hernaez B., Diaz-Gil G., Escribano J.M., Alonso C. A179L, a viral Bcl-2 homologue, targets the core Bcl-2 apoptotic machinery and its upstream BH3 activators with selective binding restrictions for Bid and Noxa. // *Virology*. 2008; 375 (2): 561–572.
69. Portugal R., Leitao A., Martins C. Characterization of African swine fever virus IAP homologue expression in porcine macrophages infected with different virulence isolates. // *Veterinary Microbiology*. 2009; 139 (1-2): 140–146.
70. Salguero F.J., Ruiz-Villamor E., Bautista M.J., Sanchez-Cordon P.J., Carrasco L., Gomez-Villamandos J.C. Changes in macrophages in spleen and lymph nodes during acute African swine fever: expression of cytokines. // *Vet Immunol Immunopathol*. 2002; 90: 11–22.

71. Salguero F.J., Sanchez-Cordon P.J., Nunez A., Fernandez de Marco M., GomezVillamandos J.C. Proinflammatory cytokines induce lymphocyte apoptosis in acute African swine fever infection. // Journal of Comparative Pathology. 2005; 132 (4): 289–302.
72. Quintero J.C., Wesley R.D., Whyard T.C., Gregg D., Mebus C.A. In vitro and in vivo association of African swine fever virus with swine erythrocytes. // Am J Vet Res. 1986; 47 (5): 1125-1131.
73. Galindo I., Fernando A., María J. B., Eladio V., Angel L. Carrascosa A. African Swine Fever Virus EP153R Open Reading Frame Encodes a Glycoprotein Involved in the Hemadsorption of Infected Cells . // Journal of Virology. 2000; 20: 340–351.
74. Villeda C.J., Williams S.M., Wilkinson P.J., Vinuela E. Consumption coagulopathy associated with shock in acute African swine fever. // Archives of Virology. 1993a; 133 (3-4): 467–475.
75. Villeda C.J., Williams S.M., Wilkinson P.J., Vinuela E. Haemostatic abnormalities in African swine fever a comparison of two virus strains of different virulence (Dominican Republic '78 and Malta 78). // Archives of Virology. 1993b; 130 (1-2): 71–83.
76. Gomez-Villamandos J.C., Carrasco L., Bautista M.J., Sierra M.A., Quezada M., Hervás J., Chacon Mde L., Ruiz-Villamor E., Salguero F.J., Sonchez-Cordon P.J., Romanini S., Nunez A., Mekonen T., Mendez A., Jover A. African swine fever and classical swine fever: a review of the pathogenesis. // Deutsche Tierärztliche Wochenschrift. 2003; 110 (4): 165–169.
77. Sanchez-Botija C. African swine fever. New developments. // Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties. 1982; 1: 1065–1094.
78. Carrasco L., Bautista M.J., Martín de las Muías J., Gómez-Villamandos J.C. Espinosa de los Monteros A., Sierra M.A. Description of a new population of fixed 626 macrophages in the splenic cords of pigs. // Journal of Anatomy. 1995; 187,: 395–402.
79. Carrasco L., Bautista M.J., Gómez-Villamandos J.C., Martín de las Mulas J., Chacón M., De Lara F., Wilkinson P.J., Sierra M.A. Development of microscopic 618 lesions in splenic cords of pigs infected with African swine fever virus. // Veterinary Research. 1997a; 28: 93–99.
80. Straw B.E., D'Allaire S., Mengeling W.L. Diseases of Swine. Taylor D.J. (Editors), Iowa State University Press, Ames, IW, 8th Edition, 1999, 1256.
81. 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. 1997b; 62(3): 199-204.
82. Колбасов Д.В., Белянин С.А., Рыжова Е.В., Пронин В.В., Корнева Г.В. Иммуногистохимические изменения в лимфатических узлах и селезенке у диких

- свиней при экспериментальном воспроизведении африканской чумы свиней. // Ветеринарная патология, Москва. 2012; 4: 93-97.
83. Gomez-Villamandos J.C., Hervas J., Mendez A., Carrasco L., Villeda C.J., Wilkinson P.J., Sierra M.A. Pathological changes in the renal interstitial capillaries of pigs inoculated with two different strains of African swine fever virus. // Journal of Comparative Pathology. 1995a; 112 (3): 283–298.
 84. Gomez-Villamandos J.C., Hervas J., Mendez A., Carrasco L., Villeda C.J., Wilkinson P.J., Sierra M.A. Ultrastructural study of the renal tubular system in acute experimental African swine fever: virus replication in glomerular mesangial cells and in the collecting ducts. // Archives of Virology 1995b; 140 (3): 581–589.
 85. Penrith M.L. African swine fever. // J. Vet. Res Onderstepoort. 2009b; 76 (1): 91–95.
 86. Bool P.H., Ordas A., Sanchez Botija C. The diagnosis of African swine fever by immunofluorescence. // Bull. OIE. 1969; 72: 819- 839.
 87. Malmquist W.A., Hay D. Haemadsorption and cytopathic effect produced by African swine fever virus in swine bone marrow and buffy coat cultures. // Am. J. Vet. Res. 1960; 21: 104- 108.
 88. Enjuanes L., Carrascosa A.L., Moreno M.A., Viñuela E. Titration of African swine fever (ASF) virus. // J Gen Virol. 1976; 32: 471–477.
 89. Agüero M., Fernandez J., Romero L., Sanchez Mascaraque C., Arias M., Sanchez-Vizcaino J.M. Highly sensitive PCR assay for routine diagnosis of African swine fever virus in clinical samples. // Journal of Clinical Microbiology. 2003; 41: 4431–4434.
 90. Agüero M., Fernandez J., Romero L., Zamora M.J., Sanchez C., Belak S., Arias M., Sanchez-Vizcaino J.M. A highly sensitive and specific gel-based multiplex RT-PCR assay for the simultaneous and differential diagnosis of African swine fever and Classical swine fever. // Vet. Res. 2004; 35: 1–13.
 91. King D.P., Reid S.M., Hutchings G.H., Grierson S.S., Wilkinson P.J., Dixon L.K., Bastos A.D.S. Drew T.W. Development of a TaqMan® PCR assay with internal amplification control for the detection of African swine fever virus. // J. Virol. Methods. 2003; 107: 53–61.
 92. Spleen Anatomy & Physiology. <http://en.wikivet.net/Spleen>. 2014.
 93. Sherwood L., Klansman H., Yancey P: Animal Physiology. Brooks/Cole, Cengage Learning. 3rd edition, 2005.
 94. Jain A.K. Textbook of Physiology, Kala Amb, Distt. Sirmour (H.P): Avichal, 3-rd edition, 2006-2007.
 95. Ganowiak J. Patho-anatomical studies on african swine fever in Uganda. // Uppsala: SLU, Dept. of Biomedical Sciences and Veterinary Public Health. 2012; 4: 37-57.
 96. Oura C.A., Powell P.P., Anderson E., Parkhouse R.M. The pathogenesis of African swine fever in the resistant bushpig. // J Gen Virol. 1998a; 79 (6): 1439-1443.

97. Oura C.A., Powell P.P., Parkhouse R.M. African swine fever: a disease characterized by apoptosis. // J Gen Virol. 1998b; 79 (6): 1427-1438.
98. Carrasco L., Chacón M., De Lara F., Martín de las Muías J., Gómez-Villamandos J.C., Pérez J., Wilkinson P.J., Sierra M.A. Apoptosis in lymph nodes in acute African swine fever. // Journal of Comparative Pathology. 1996d; 115: 415–428.
99. Konno S., Taylor W.D., Hess W.R., Heuschele W.P. Spleen pathology in African swine fever. // Cornell Vet. 1972; 3: 71-84.
100. Childerstone A., Takamatsu H., Yang H., Denyer M., Parkhouse R.M.E. Modulation of T cell and monocyte function in the spleen following infection of pigs with African swine fever virus. // Veterinary Immunology and Immunopathology. 1998; 62: 281–296.
101. Perez J., Fernandez A.I., Sierra M.A., Herraez P., Fernandez A., Martin de las Mulas J. Serological and immunohistochemical study of African swine fever in wild boar in Spain. // Veterinary Record. 1998; 143(5): 136–139.
102. Minguez I., Rueda A., Dominguez J., Sánchez-Vizcaíno J.M. 1988. Double labeling immunohistological study of African swine fever virus-infected spleen and lymph nodes. Vet Pathol 25:193-198.
103. Gonzdlez-Juarrero M, Lunney JK, Sanchez-Vizcaino JM, Mebus C. Modulation of splenic macrophages and swine leukocyte antigen (SLA) and viral antigen expression following African swine fever virus (ASFV) inoculation. // Arch Virol. 1992; 123: 145-156.
104. Louise L., Bertel S., Jens N., Åse U., Thomas B., Graham J., Belsham. Anette B. Experimental infection of pregnant sows with African swine fever virus (ASFV Georgia 2007): Clinical outcome, pathogenesis and vertical transmission., Annual Meeting of Epizone, Copenhagen, Denmark. Publication. 8th. Edition, 2014.
105. Bone R.C, Balk R.A., Cerra F.B., Dellinger R.P., Fein A.M., Knaus W.A., Schein R.M., Sibbald W.J. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. ACCP/SCCM // Consensus Conference Committee, American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. Chest. 1992; 101: 1644–1655.
106. Hüsser L., Ruggli N., Summerfield A. N^{pro} of Classical Swine Fever Virus Prevents Type I Interferon-Mediated Priming of Conventional Dendritic Cells for Enhanced Interferon- α Response. // Journal of Interferon & Cytokine Research. 2012; 32(5): 221-229.
107. Summerfield A., Alves M., Ruggli N., de Bruin M.G., McCullough K.C. High IFN- α responses associated with depletion of lymphocytes and natural IFN-producing cells during classical swine fever. // J Interferon Cytokine Res. 2006; 26(4): 248-255.
108. Choi C., Hwang K.K., Chae C. Classical swine fever virus induces tumor necrosis factor- α and lymphocyte apoptosis. // Arch Virol. 2004; 149: 875–889.

109. Sánchez-Cordón P.J., Núñez A., Salguero F.J., Pedrera M., Fernández de Marco M., Gómez-Villamandos J.C. Lymphocyte apoptosis and thrombocytopenia in spleen during classical swine fever: role of macrophages and cytokines. // *Vet Pathol.* 2005; 42: 477–488.
110. Nagata S. Apoptosis by death factor. // *Cell.* 1997; 88: 355–365.
111. Тартаковский А.Д. Питательные среды для культивирования клеток млекопитающих. // *Методы культивирования клеток.* Наука. 1988; 44-63.
112. Фрешни Р. Культура животных клеток. Методы. М. Мир. 1989; 318.
113. ATCC® Primary cell culture guide; tips and techniques for culturing primary cells. 10801 University Blvd. Manassas, VA 20110. <http://www.atcc.org/> 2012.
114. Lambrecht J.T., Marks S.C.Jr. Human osteoclast-like cells in primary culture. // *Clin Anat.* 1996; 9(1): 41-45.
115. Dexter T.M., Allen T.D., Lajtha L.G. Conditions Controlling the Proliferation of Haemopoietic Stem Cells in Vitro. // *Journal of Cellular Physiology.* 1977; 91: 335-344.
116. Diamandopoulos G.T. Human Myelopoiesis in Culture of Liquid Medium Lacking Colony Stimulating Factors: Therapeutic Implications for Cancer Patients with Leukopenia. // *Anticancer Research.* 1994; 14; 1695-1702.
117. Brandt J., Baird N., Lu L., Srouf E., Hoffman R. Characterization of a human hematopoietic progenitor cell capable of forming blast cell containing colonies in vitro. // *Journal of Clinical Investigation.* 1988; 82(3): 1017-1027.
118. Dainiak N., Kreczko S., Cohen A., Pannell R., Lawler J. Primary human marrow cultures for erythroid bursts in a serum-substituted system. // *Exp Hematol.* 1985; 13: 1073-1079.
119. Laharrague P., Larrouy D., Fontanilles A.M. et al High expression of leptin by human bone marrow adipocytes in primary culture. // *J Faseb.* 1998; 12: 747-752.
120. Yoshikawa T., Peel S.A, Gladstone J.R., Davies J. E. Biochemical analysis of the response in rat bone marrow cell cultures to mechanical stimulation. // *Biomed Mater Eng.* 1997; 7(6): 369-377.
121. Eslaminejad M.B, Nikmahzar A., Taghiyar L., Nadri S., Massumi M. Murine mesenchymal stem cells isolated by low density primary culture system. // *Dev Growth Differ.* 2006; 48(6): 361-370.
122. Zou L., Lv N., Feng W. Characteristics of osteoblastic differentiation in mesenchymal stem cells from porcine bone marrow in vitro. // *Zhongguo Xue Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi.* 2007; 21(11): 1222-1227.
123. Peterbauer-Scherb A., van Griensven M., Meinel A., Gabriel C., Redl H et al. Isolation of pig bone marrow mesenchymal stem cells suitable for one-step procedures in chondrogenic regeneration. // *J Tissue Eng Regen Med.* 2010; 4: 485–490.

124. Anderson Jr G.W., Slone Jr T.W., Peters C.J. Pathogenesis of Rift Valley fever virus (RVFV) in inbred rats. // *Microb. Pathog.* 1987; 2(4): 283–293.
125. Morahan P.S., Klykken P.C., Smith S.H., Harris L.S., Munson A.E. Effects of cannabinoids on host resistance to *Listeria monocytogenes* and herpes simplex virus. // *Infect Immun.* 1979; 23: 670–674.
126. Martyniszyn L., Szulc-Dąbrowska L., Boratyńska-Jasińska A., Niemiałtowski M. Increased formation of autophagosomes in ectromelia virus-infected primary culture of murine bone marrow-derived macrophages. // *Acta Virol.* 2013; 57(4): 467-470.
127. Lajtha L.G. Culture of Human Bone Marrow in Vitro. The Reversibility between Normoblastic and Megaloblastic Series of Cells. // *Journal of Clinical Pathology.* 1952; 2: 67-85.
128. Karalyan Z., Simonyan L., Misakyan A., Abroyan L., Hakobyan L., Avetisyan A. and Saroyan D. Cell Development in Primary Culture of Porcine Bone Marrow. // *CellBio.* 2014; 3: 43-49.
129. Garderet L., Kobari L., Mazurier C., De Witte C., Giarratana M.C., Pérot C., Gorin N.C., Lapillonne H. and Douay L. Unimpaired Terminal Erythroid Differentiation and Preserved Enucleation Capacity in Myelodysplastic 5q(del) Clones. // *A Single Cell Study. Haematologica.* 2010; 95: 398-405.
130. Giarratana M.C., Kobari L., Lapillonne H., Chalmers D., Kiger L., Cynober T., Marden M.C., Wajcman H. and Douay L. Ex Vivo Generation of Fully Mature Human Red Blood Cells from Hematopoietic Stem Cells. // *Nature Biotechnology* 2005; 23: 69-74.
131. Weh H.J., von Paleske A. and Hossfeld D.K. Disappearance of Hypotetraploid Clones after Short-Term Culture of Leukemic Cells. // *Cancer Genetics and Cytogenetics*; 1983; 10; 237-240.
132. Chasis J.A. and Mohandas N. Erythroblastic Islands: Niches for Erythropoiesis. // *Blood.* 2008; 112: 470-478.
133. Rhodes M.M., Kopsombut P., Bondurant M.C., Price J.O. and Koury M.J. Adherence to Macrophages in Erythroblastic Islands Enhances Erythroblast Proliferation and Increases Erythrocyte Production by a Different Mechanism than Erythropoietin. // *Blood.* 2008; 111: 1700-1708.
134. Wesley R.D., Tuthill A.E. Genome relatedness among African swine fever virus field isolates by restriction endonuclease analysis. // *Prev. Vet. Med.* 1984; 2: 53–62
135. Nersisyan N.H., Hakobyan A.S., Simonyan L.A., Misakyan A.E., Karalyan Z.A., Karalova E.M. Disorders of eritropoiesis during acute African swine fever. // *Chemisy and Biology.* 2014; 3: 46–50.

136. Нерсисян Н.Г. Динамика изменений содержания гемоглобина в эритроцитах периферической крови при Африканской чуме свиней. // Биолог. журн. Армении. 2014; 4 (66): 6-10.
137. Макаров В.В. Африканская чума свиней. Российский университет дружбы народов. 2011; 268.
138. King K.D., Chapman J.M., Argilaguët E., Fishbourne E., Hutet R., Cariolet G., Hutchings C.A.L., Oura C.L., Netherton K., Moffat G., Taylor M.F., Le Potier L.D., Dixon L. and Takamatsu H. Protection of European domestic pigs from virulent African isolates of African swine fever virus by experimental immunization. // Vaccine. 2011; 29: 4593–4600.
139. Արզումանյան Յ.Յ.: Լեյկոցիտների ախտաբանական փոփոխությունների մոլեկուլաբջջային վերլուծությունը աֆրիկյան ժանտախտի ժամանակ: Սեղմագիր, կենս. գիտ. թեկնածու, Գ.00.03 / ՅՅ ԳԱԱ. - Երևան, 2013. – 22 էջ.
140. Չաքարյան Յ.Ս.: Կորիզի նյութափոխանակության փոփոխությունները տարբեր վիրուսային վարակների ժամանակ: Ատենախոսություն, կենս. գիտ. թեկնածու, Գ.00.03 / ՅՅ ԳԱԱ. - Երևան, 2013. – 130 էջ.
141. Van Furth R., Raeburn J.A., van Zwet T.L. Characteristics of human mononuclear phagocytes. // Blood. 1979; 54: 485-500.
142. Moffat J.F., Greenblatt R.J. Effects of varicella-zoster virus on cell cycle regulatory pathways. // Curr Top Microbiol Immunol. 2010; 342: 67-77.
143. Mo M., Shahar S., Fleming S.B., Mercer A.A. How viruses affect the cell cycle through manipulation of the APC/C. // Trends Microbiol. 2012; 20: 440-448.
144. Nascimento R., Costa H., Parkhouse R.M. Virus manipulation of cell cycle. // Protoplasma. 2012; 249: 519-528.
145. Sullivan C.S., Pipas J.M. T antigens of simian virus 40: molecular chaperones for viral replication and tumorigenesis. // Microbiol Mol Biol Rev. 2002; 66: 179-202.
146. Enjuanes L., Cubero I., Viñuela E. Sensitivity of macrophages from different species to African swine fever (ASF) virus. // J Gen Virol. 1977; 34: 455-463.
147. Yanez R.J., Rodríguez J.M., Nogal M.L., Yuste L., Enríquez C., Rodríguez J.F., Vinuela E. Analysis of the complete nucleotide sequence of African swine fever virus. // Virology. 1995; 208: 249-278.
148. Chapman D.A., Darby A.C., Da Silva M., Upton C., Radford A.D., Dixon L.K. Genomic analysis of highly virulent Georgia 2007/1 isolate of African swine fever virus. // Emerg Infect Dis. 2011; 17: 599-605.

149. Netherton C.L., Simpson J., Haller O., Wileman T.E., Takamatsu H.H., Monaghan P., Taylor G. Inhibition of a large double-stranded DNA virus by MxA protein.// J Virol. 2009; 83: 2310-2320.
150. Li X., Stark G.R. NFkappaB-dependent signaling pathways. // Exp Hematol. 2002; 30: 285-296.
151. Müller M.R., Rao A. NFAT, immunity and cancer: a transcription factor comes of age. // Nat Rev Immunol. 2010; 10: 645-56.
152. Salas M.L., Kuznar J., Vinuela E. Polyadenylation, methylation, and capping of the RNA synthesized in vitro by African swine fever virus. // Virology. 1981; 113: 484-491.
153. Sánchez E.G., Quintas A., Nogal M., Castelló A., Revilla Y. African swine fever virus controls the host transcription and cellular machinery of protein synthesis.// Virus Res. 2012; 173: 58-75.
154. Wardley R.C., Wilkinson P.J. The Association of African swine fever Virus with Blood Components of Infected Pigs. // Archives of Virology. 1977; 55: 327–334.
155. Stier H., Leucht W. Blood sampling from the ophthalmic venous sinus in miniature swine. // Zeitschrift fur Versuchstierkunde. 1980; 22: 161-164.
156. Макаров В.В. Клетки системы мононуклеарных фагоцитов свиньи в культуре. // Функциональная морфология и биохимия. 1987; 99-101.
157. Feldman B.F., Zinkl J.G., Jain N.C., Schalm O.W. Schalm's veterinary hematology,. 5th ed., Wiley-Blackwell, USA. 2000; 1079–1080.
158. Ромейс Б. Микроскопическая техника. // Издательство иностранной литературы. 1954. 719; 156–164.
159. Weiss Douglas J., Wardrop K. Jane. Schalm's Veterinary Hematology, 6th Edition, ISBN: 978-0-8138-1798-9, Wiley-Blackwell. 2010; 1232.
160. Lillie R.D. Histopathologic Technic and Practical Histochemistry. McGraw-Hill, NY, 3rd ed. 1965;149-150.
161. Магакян Ю.А., Каралова Е/М. Цитофотометрия ДНК. Ереван, издательство АН Армении. 1989; 204.
162. Böcking A., Giroud F., Reith A. Consensus report of the European Society for Analytical Cellular Pathology task force on standardization of diagnostic DNA image cytometry. // Anal Quant Cytol Histol. 1995; 17: 1-7.
163. Haroske G., Dimmer V., Meyer W., Kunze K.D. DNA histogram interpretation based on statistical approaches. // Anal Cell Pathol. 1997; 15: 157-173.
164. Schulte E.K., Lyon H.O., Hoyer P.E. Simultaneous quantification of DNA and RNA in tissue sections. A comparative analysis of the methyl green-pyronin technique with the

- gallocyenin chromalum and Feu Igen procedures using image cytometry. // J. Histochem. 1992; 24: 305-310.
165. Gaub J., Auer G., Zetterberg A. Quantitative cytochemical aspects of a combined feulgen-naphthol yellow S staining procedure for the simultaneous determination of nuclear and cytoplasmic proteins and DNA in mammalian cells. // Exp Cell Res. 1975; 92: 323-332.
 166. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. М., Медицина.1990; 384.
 167. US 4199748 A, Automated method and apparatus for classification of cells with application to the diagnosis of anemia. / J.W. Bacus (USA). - US 05/875,126, Filing date 03.02.1978; Pub. date 22.04.1980, 114p.
 168. Guinat C., Reis A., Netherton C.L., Goatley L., Pfeiffer D.U. and Dixon L. Dynamics of African swine fever virus shedding and excretion in domestic pigs infected by intramuscular inoculation and contact transmission. // Vet. Res. 2014; 45: 93.
 169. Karalova E., Zakaryan H., Voskanyan H., Arzumanyan H., Hakobyan A., Nersisyan N., Saroyan D., Karalyan N., Tatoyan M., Akopian J., Gazaryantz M., Mkrtchyan Z., Pogosyan L., Nersesova L., Karalyan Z. Clinical and post-mortem investigations of genotype II induced African swine fever. // Porc Res. 2015; 5(1): 1-11.
 170. McVicar J.W., Mebus C., Becker H.N. et al. Induced African swine fever virus in feral pigs. // J Am Vet Med Assoc. 1981; 179: 441-446.
 171. Anderson E.C., Williams S.M., Fisher-Hoch S.P., Wilkinson P.J. Arachidonic acid metabolites in the pathophysiology of thrombocytopenia and haemorrhage in acute African swine fever. // Research in Veterinary Science. 1987; 42: 387–394.
 172. Нерсисян Н.Г. Нарушение эритропоэза при острой форме Африканской чумы свиней. Дисс. канд. биол. Наук: 03.00.03. – НАН РА, Ереван, 2015. – 105с.
 173. Мисакян А.Э., Каралова Е.М. Эритропоэз в селезенке при острой форме Африканской чумы свиней. // Вопросы теоретической и клинической медицины. Научно-практический журнал. 2015; 3(99): 8-11.
 174. Paulson Lei Shib and DaiChen Wuc. Stress erythropoiesis: new signals and new stress progenitor. // Cells Curr Opin Hematol. 2011; 18(3): 139–145.
 175. Socolovsky M. Molecular insights into stress erythropoiesis. // Curr Opin Hematol. 2007; 14: 215–224.
 176. Lenox L.E., Shi L., Hegde S. et al. Extramedullary erythropoiesis in the adult liver requires BMP-4/Smad5-dependent signaling. // Exp Hematol. 2009; 37: 549–558.
 177. Omid F. Harandi, Shailaja Hedge, Dai-Chen Wu, Daniel Mckeone and Robert F. Paulson Murine erythroid short-term radioprotection requires a BMP4-dependent, self-renewing population of stress erythroid progenitors. // J Clin Invest. 2010; 120(12): 4507–4519.

178. Papayannopoulou T., Finch C.A. On the in vivo action of erythropoietin: a quantitative analysis. // J.Clin Invest. 1972; 51: 1179–1185.
179. Каралова Е.М., Восканян Г.Е., Арзумян Г.А., Каралян Н.Ю., Мирзоян А.Ф., Акопян А.В., Каралян З.А. Патанатомическая характеристика острой формы африканской чумы свиней, вызванной внутримышечной инъекцией вируса. // Ветеринарная медицина 97, Феодосия, Украина. 2013; 98-100.
180. Pandit S.K., Westendorp B., de Bruin A. Physiological significance of polyploidization in mammalian cells. // Trends Cell Biol. 2013; 23(11): 556–566.]
181. Кульминская А.С., Газарян К.Г. Пролиферативная активность клеток костного мозга и крови при фенилгидразиновой анемии у крыс. // Онтогенез. 1980; 11(49): 386-391.
182. Шиффман Ф.Дж. Патопфизиология крови. Монография .2000; 448.
183. Альперн Д.Е. Нарушения обмена железа, магния и микроэлементов. Патологическая физиология. 6-е издание, Москва, Медицина. 1965;434
184. Ritchie R.F., Palomaki G.E., Neveux L.M., Navolotskaia O., Ledue T.B., Craig W.Y. Reference distributions for the negative acute-phase serum proteins, albumin, transferrin and transthyretin: a practical, simple and clinically relevant approach in a large cohort. // J. Clin. Lab. Anal. 1999; 13(6): 273–279.
185. Macedo M.F., de Sousa M. Transferrin and the transferrin receptor: of magic bullets and other concerns. // Inflammation & Allergy Drug Targets. 2008; 7(1): 41–52.
186. Perls M. Perls Prussian Blue Staining Protocol. // Arch.Pathol. 1867; 39: 42.
187. de Carvalho Ferreira, H.C., Weesendorp, E., Elbers A.R., Bouma A., Quak S., Stegeman J.A., Loeffen W.L. African swine fever virus excretion patterns in persistently infected animals: a quantitative approach. // Vet. Microbiol. 2012; 160(3–4): 327–340.
188. Авцын А.П. Ультрaструктурные основы патологии клетки. Авцын А.П., Шахламов В.А.,-М., 1979; 316.
189. Atkins M.B., Kappler K., Mier J.W., Isaacs R.E., Berkman E.M. Interleukin-6-associated anemia: determination of the underlying mechanism. // Blood. 1995; 86(4): 1288-1291.
190. Davenport R. Cytokines and erythrocyte incompatibility. // Curr Opin Hematol. 1994; 1(6): 452-456.
191. Zakaryan H., Cholakyans V., Simonyan L., Misakyan A., Karalova E., Chavushyan A., Karalyan Z. A study of lymphoid organs and serum proinflammatory cytokines in pigs infected with African swine fever virus genotype II. // Arch Virol. 2015; 160(6): 1407-1414.
192. Theo J.L.M Goud, Corine S. and Van Furth R. Identification and characterization of mononuclear phagocyte colonies grown in vitro. // The jurnal of experemental medicine. 1975; 142: 1180..

193. Sansone G. A new type of congenital dyserythropoietic anaemia. // *British Journal of Haematology*. 1978; 39: 537–543.
194. van Furth R. and Diesselhoff-den Dulk M.M.C. The kinetics of promonocytes and monocytes in the bone marrow. // *J. Exp. Med.*, 1970; 132: 813-819.
195. Strychmans P., Cronkite E.P., Fache J., Fliedner T.M. and Ramos J. Deoxyribonucleic Acid Synthesis Time of Erythropoietic and Granulopoietic Cells in Human Beings. // *Nature*. 1966; 13: 717-720.
196. McGrath K.E. "Red cell island dances: switching hands." // *Blood*. 2014; 123(25): 3847-3848
197. Petrzilka G.E., Schroeder H.E. Activation of human T-lymphocytes. A kinetic and stereological study. // *Cell Tissue Res*. 1979; 201(1): 101-127.
198. Воробьева А.И. Руководство по гематологии: М., Ньюдиамед, 3-е изд. 2005; 416.
199. Harvey J.W. *Veterinary hematology: a diagnostic guide and color atlas*. St. Louis, Elsevier. 2012; 367.
200. <http://www.zoocompas.ru/articles/view/1622> Железодефицитная анемия поросят.
201. Rodriguez F., Fernandez A., Martin de las Mulas J.P., Sierra M.A., Jover A. African swine fever: morphopathology of a viral haemorrhagic disease. // *Vet Rec*. 1996; 139(11): 249-253.
202. Wang L., Jia Y., Rogers H., Suzuki N., Gassmann M., Wang Q., McPherron A.C., Kopp J.B., Yamamoto M., Noguchi C.T. Erythropoietin contributes to slow oxidative muscle fiber specification via PGC-1alpha and AMPK activation. // *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2013; 45: 1155–1164.
203. Emilia G. et al. Hepatitis-c virus-induced leuko-thrombocytopenia and hemolysis // *Journal of medical virology*. 1997; 53(2): 182-184.
204. Taglietti F., Drapeau C.M., Grilli E., Capone A., Noto P. et al. Hemolytic anemia due to acute cytomegalovirus infection in an immunocompetent adult: a case report and review of the literature. // *J Med Case Rep*. 2010; 4: 334-337.
205. Cammack N. & Gould E. Topographical analysis of epitope relationships on the envelope glycoprotein of yellow fever 17D vaccine and the wild type Asibi parent virus. // *Virology* 1986; 150: 333-341.
206. Adu F.D., Tomori O. and Oyejide A. Susceptibility of chickens vaccinated with three live Newcastle disease vaccines to challenge by velogenic strains. // *Prev. Vet. Med*. 1990; 10: 131-135.
207. Hod E.A., Zimring J.C., Spitalnik S.L. Lessons learned from mouse models of hemolytic transfusion reactions. // *Current opinion in hematology*. 2008; 15(6): 601.

208. Sigbjørn B. and Tatjana S. Red Blood Cell Destruction in Autoimmune Hemolytic Anemia: Role of Complement and Potential New Targets for Therapy. // Article; BioMed Research International. 2015; 11.
209. Sornjai W., Khungwanmaythawee K., Svasti S., Fucharoen S., Wintachai P., Yoksan S., Ubol S., Wikan N., Smith D.R. Dengue virus infection of erythroid precursor cells is modulated by both thalassemia trait status and virus adaptation. // Virology. 2014; 471: 61-71.
210. Breese S.S., Hess W.R. Electron Microscopy of African swine fever Virus Hemadsorption. // Journal of Bacteriology. 1966; 92(1): 272-274.
211. <http://medkarta.com/?cat=article&id=24936>. Септический шок.
212. Jelkmann W. Proinflammatory cytokines lowering erythropoietin production. // J Interferon Cytokine Res. 1998; 18: 555–559.
213. Cervellini I., Sacre S., Ghezzi P., Mengozzi M. Erythropoietin does not affect TNF and IL-6 production directly. // J Biol Regul Homeost Agents. 2013; 27(1): 189-196.
214. Demeter J., Messer G., Schrezenmeier H. Clinical relevance of the TNF-alpha promoter/enhancer polymorphism in patients with aplastic anemia. // Hematol. 2002; 81: 566–569.
215. Imagawa S., Nakano Y., Obara N., Suzuki N., Doi T., Kodama T., Nagasawa T., Yamamoto M. A GATA-specific inhibitor (K-7174) rescues anemia induced by IL-1 β , TNF- α , or L-NMMA. // J.FASEB. 2003; 17: 1742–1744.
216. Atrasheuskaya A., Petzelbauer P., Fredeking T.M., Ignatyev G. Anti-TNF antibody treatment reduces mortality in experimental dengue virus infection. // FEMS Immunol. Med. Microbiol. 2003; 35: 33-42.