

А.П. Энглези, С.В. Зяблицев

Морфогенез изменений в перифокальной зоне при электро- и магнитостимуляции головного мозга при очаговом травматическом его повреждении в эксперименте

Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького

Ключевые слова: электростимуляция, магнитостимуляция головного мозга, очаг деструкции головного мозга.

Действие переменного магнитного поля и тока оказывают положительный саногенный эффект при патологических процессах связанных с повышением проницаемости сосудистой стенки, нарушением сосудистого тонуса с воспалительными реакциями в тканях. Эксперимент поставлен на 45 белых крысах, метод исследования – морфологический (исследование полутонких и ультратонких срезов). Цель исследования: изучение морфофункциональных показателей в перифокальной зоне очага травматической деструкции при применении магнито – и электростимуляции травмированного головного мозга. Показано, что при применении физических факторов в раннем послеоперационном периоде отмечены реактивные изменения в нервных и глиальных клетках перифокальной зоны, на этом фоне имеет место снижение отека ткани мозга. На вторую неделю в перифокальной зоне отмечается уменьшение деструктивных процессов, глиальной реакции. При магнитостимуляции растет энергообразующая и белок синтетическая функция нейронов эндотелия микрососудов. На четвертую неделю имеет место процессы внутриклеточной регенерации более выраженные при магнитостимуляции.

Морфогенез змін в перифокальній зоні при електро- і магнітостимуляції головного мозку при осередковому травматичному його пошкодженні в експерименті

А.П. Енглези, С.В. Зябліцев

Дія змінного магнітного поля і струму надають позитивний саногенний ефект при патологічних процесах, пов'язаних з підвищеннем проникності судинної стінки, порушенням судинного тонусу із запальними реакціями в тканинах. Експеримент поставлений на 45 білих шурах, метод дослідження – морфологічний (дослідження напівтонких і ультратонких зрізів). Мета дослідження: вивчення морфо-функціональних показників у перифокальній зоні вогнища травматичної деструкції при застосуванні магніто- і електростимуляції травмованого головного мозку. Показано, що при застосуванні фізичних чинників в ранньому післяопераційному періоді відмічені реактивні зміни у нервових і глиальних клітинах перифокальної зони, на цьому фоні має місце зниження набряку тканини мозку. На другий тиждень в перифокальній зоні спостерігається зменшення деструктивних процесів, глиальної реакції. При магнітостимуляції росте енергетична і блок синтетична функція нейронів ендотелію мікросудин. На четвертий тиждень мають місце процеси внутріклітинної регенерації більш виражені при магнітостимуляції.

Ключові слова: електростимуляція, магнітостимуляція головного мозку, вогнище деструкції головного мозку**Патологія.** – 2009. – Т.6, №2. – С. 119-123

Morphogenesis of changes in a perifocal area under electro- and magnetostimulation of brain in its focal traumatic damage in experiment

A.P. Englez, S.V. Zyablitsev

Alternate magnetic field and current render positive sanogenic effect in pathological processes related to the increase of permeability of vascular wall, violation of vascular tone with inflammatory reactions in tissues. 45 white rats were used in experiment, investigation method was morphological one. The aim was to study morphofunctional indices in perifocal area of traumatic destruction focus under magneto- and electrostimulation of injured brain. It is shown that in early postoperative period reactive changes in nerve and glia cells are noted while using physical agents and against this background the decrease of brain tissue edema takes place. Next week the decrease of destructive processes, glial reaction are noted in perifocal area. Under application of magnetostimulation energy productive and protein synthetic function of micro vessels endothelium neurons increase. On the fourth week the processes of intracellular regeneration more pronounced under magnetostimulation take place. Keywords: electrostimulation, magnetostimulation of cerebrum, hearth of destruction of cerebrum.

Key words: electrostimulation, brain magnetostimulation, focus of brain destruction**Pathologia.** 2009; 6(2): 119-123

Действие переменного магнитного поля оказывает положительный саногенный эффект при патологических процессах, связанных с повышением проницаемости сосудистой стенки [1-4], с нарушением сосудистого тонуса [5] с воспалительными реакциями в тканях [6]. Переменные магнитные токи могут оказаться полезными в борьбе с развитием патологических процессов при повреждении головного мозга, сопровождающимися нарушением водно-электролитного обмена [7].

Электрический ток вызывает активацию нейродинамических процессов, антипарабиотическую перестройку функциональных структур мозга, нормализует метаболизм, проницаемость гематоэнцефалического барьера, улучшает деятельность гипоталамо-гипофизарно-

надпочечниковой системы [8].

Переменные электрические токи и поля определенных частот активируют саногенные реакции в нервной ткани [9,10].

Целью исследования являлось изучение морфофункциональных показателей в перифокальной зоне очага травматической деструкции при применении магнито- и электростимуляции травмированного головного мозга.

Материал и методы. В нашей работе было использовано 45 белых лабораторных крыс линии «Вистар», преимущественно самцов. Были созданы контрольная и опытная группа животных.

Контрольные группы – животные с открытым дозированным мозговым повреждением (15 животных)

Группа «Травма»; животные, которым производилась хирургическая обработка (ХО) очага деструкции головного мозга – группа «ХО» (15 животных); методика нанесения открытой, дозированной травмы головного мозга и хирургической обработки путем отмывания мозгового детрита и сгустков крови описаны в работах [9]. Опытные группы – совместное применение ХО и магнитостимуляции (ХО+H_A), совместное применение ХО и транскраниальной электростимуляции (ХО+I_A) по 15 животных в каждой.

Животных опытных групп подвергали магнитостимуляции ($\text{H}_A = 30 \text{ Э}$ с частотой $f=40 \text{ Гц}$) ежедневно при экспозиции 30 мин. Экспериментальная установка описана в работе [9].

Транскраниальную электростимуляцию осуществляли током 10 мА и частотой 24 Гц, при этом игольчатые электроды, вводили поднадкостнично в теменно-височных областях с двух сторон. Время электростимуляции 10 минут. Экспериментальная установка описана в работе [10].

Для морфологического исследования головного мозга животных выводили из эксперимента на – 7, 14 и 30 сутки после травмы и операции.

В каждой экспериментальной подгруппе трем животным производились гистотопографические исследования, а у пяти исследовались полутонкие и ультратонкие срезы перифокальной зоны очага деструкции с последующей морфометрией. Методики морфологического исследования описаны в работах [9,10]. Основные морфометрические показатели полученные в экспериментах сравнивали с контрольными группами «ХО» и «Травма».

Эксперименты на животных проводились согласно правилам европейской конвенции защиты позвоночных животных, используемых в научных целях (Страсбург, 1985).

Результаты и их обсуждение

На первую неделю экспериментов в моделях ХО+H_A , ХО+I_A послеоперационное ложе представлено остатками коагуляционных некротических масс (рис.1).

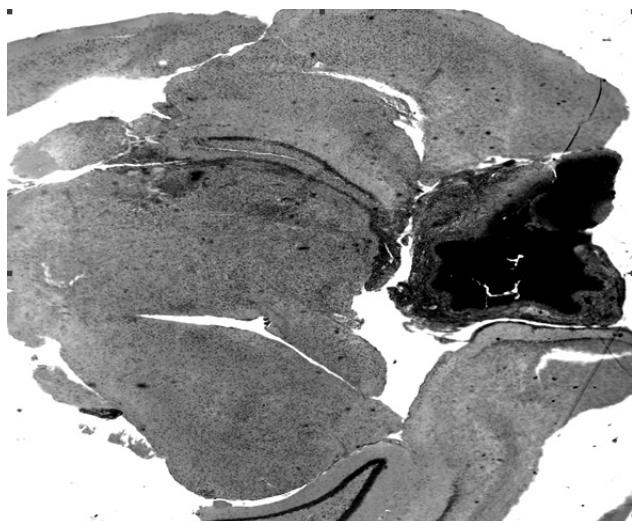


Рис. 1. Послеоперационное ложе в модели ХО+H_A через одну неделю эксперимента. Демаркационная линия, отделяющая некротически измененный участок.

последние отделены четкой демаркационной линией от пограничной зоны и здоровых тканей. На вторую неделю послеоперационного периода, при действии физических факторов, послеоперационное ложе представлено полостью с неровными, подрытыми краями, без некротических масс. Граница между перифокальной и пограничной зонами четкая. К четвертой неделе эксперимента послеоперационная полость уменьшается в размерах за счет краевого фиброза, строение перифокальной зоны и коры возвращается к норме. Таким образом, при применении H_A и I_A отмечена элиминация некротических масс из послеоперационного ложа имеет место на вторую – четвертую неделю послеоперационного периода.

Имеет место очаговое восстановление структуры микроциркуляторного русла на фоне уменьшения явлений периваскулярного отека отростков астроцитарной нейроглии и уменьшение внутреннего диаметра микросудов. Наиболее выраженными эти явления были при воздействии на ткань мозга переменного магнитного поля. При данном воздействии даже на 7 сутки после его применения в какой-то степени нормализовалась структура дистрофически измененных нейронов (Рис.2). При воздействии переменного тока наблюдалась лишь реакция со стороны микросудов.

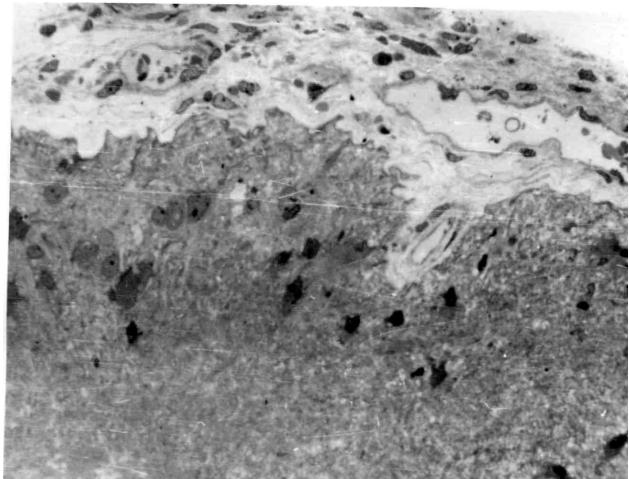


Рис. 2. 7 суток после ХО+H_A . Нормализация структурной целостности мозга в зоне его травматического повреждения. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим – пиронином $\times 400$.

Проведенное морфометрическое исследование (табл. 1,2) количества интактных и патологически измененных нейронов в перифокальной зоне очага повреждения головного мозга показало, что увеличения количества интактных нейронов наблюдалось при воздействии на ткань мозга переменного магнитного поля.

На 7 сутки после воздействия H_A наблюдалось увеличения количества неизмененных нейронов до $40,0 \pm 3,0\%$, в то время как при воздействии переменного тока этот процент составил $35,0 \pm 3,0\%$, то есть остается на уровне ЧМТ+ХО. На 30 сутки наиболее выраженные изменения наблюдались при H_A , где количество интактных нейронов достигло показателя $50,0 \pm 4,0\%$, и воздействии переменного тока количество интактных нейронов практически оставалось на уровне ЧМТ+ХО.

Табл. 1

Изменение основных морфометрических показателей при совместном применении ХО и физических факторов (Полутонкие срезы)

№	Параметры	Контроль	Сроки эксперимента	Травма	Травма + ХО	Травма+ХО+НА	Травма+ХО+IA
1	Кол-во интактных нейронов	75,0±5,0	7 сут.	30,0±3,5*	35,0±3,0*	40,0±3,0*	35,0±3,0*
			14 сут.	35,0±3,0*	40,0±3,5*	45,0±4,0*	35,0±2,5*
			30 сут.	40,0±3,5*	45,0±4,0*	50,0±4,0*	40,0±3,0*
2	Кол-во измененных нейронов	10,0±1,5	7 сут.	30,0±3,0*	25,0±2,0*	25,0±2,0*	25,0±2,0*
			14 сут.	25,0±2,5*	25,0±2,5*	25,0±2,5*	30,0±3,0*
			30 сут.	25,0±2,0*	30,0±2,5*	25,0±2,0*	25,0±2,0*
3	Кол-во глиальных клеток	15,0±1,5	7 сут.	40,0±3,5*	40,0±4,0* **	35,0±3,0* **	40,0±3,5*
			14 сут.	40,0±3,0*	35,0±3,5*	30,0±3,0* ***	35,0±3,0*
			30 сут.	35,0±3,5*	25,0±2,0* *** ***	25,0±2,0* *** ***	35,0±2,5*
4	Соотношение нейрон- глия	5,6	7 сут.	1,5	1,5	1,8	1,5
			14 сут.	1,5	1,8	2,3	1,8
			30 сут.	1,8	3,0	3,0	1,8
5	Диаметр микрососудов	7,5±0,6	7 сут.	14,0±1,2*	12,0±1,2*	11,5±1,1*	13,5±1,2*
			14 сут.	13,5±1,1*	11,0±1,1*	10,5±0,9*	11,5±1,1*
			30 сут.	11,5±1,2*	10,5±0,8*	10,0±0,7*	11,0±0,9*

* Достоверно по сравнению с контролем;

** Достоверно между сроками исследования;

*** Достоверно между видами лечения относительно травмы.

Табл. 2

Изменение основных морфометрических показателей при совместном применении ХО и физических факторов (Ультратонкие срезы)

№	Параметры	Контроль	Сроки эксперимента	Травма	Травма + ХО	Травма+НА	Травма+ХО+IA
1	Хроматин, % отношение	47,0±4,0	7 сут.	22,0±2,0*	25,0±2,0* **	28,0±2,5* **	25,0±2,0* **
			14 сут.	25,0±2,0*	30,0±3,0*	30,0±2,5*	30,0±3,0*
			30 сут.	28,0±2,5*	35,0±3,0* **	37,0±3,0* *** ***	35,0±3,5* **
2	Митохондрии, % отношение	40,0±3,0	7 сут.	18,0±1,5*	23,0±2,5*	25,0±2,0* ***	22,0±2,0*
			14 сут.	22,0±2,0*	25,0±2,0*	30,0±3,0*	24,0±2,0*
			30 сут.	25,0±2,0*	28,0±3,0*	30,0±2,5*	28,0±2,5*
3	Синапсы, длина активной зоны синапса/ длина синаптического контакта	0,80±0,03	7 сут.	0,35±0,02*	0,40±0,03*	0,45±0,03* **	0,38±0,03* **
			14 сут.	0,37±0,02*	0,45±0,02*	0,55±0,04* ***	0,43±0,03*
			30 сут.	0,40±0,03*	0,47±0,04*	0,60±0,04* *** ***	0,47±0,04* **
4	Синапсы, кол-во везикул	88,0±5,0	7 сут.	35,0±3,0*	35,0±3,5* **	40,0±4,0* **	35,0±3,0* **
			14 сут.	35,0±3,5*	40,0±3,0*	50,0±4,5* ***	40,0±3,5*
			30 сут.	40,0±4,0*	48,0±4,0* **	55,0±4,5* *** ***	50,0±4,0* **

* Достоверно по сравнению с контролем;

** Достоверно между сроками исследования;

*** Достоверно между видами лечения относительно травмы.

Что же касается количества глиальных клеток, то при воздействии переменного магнитного поля (H_A) этот показатель снижается на 30 сутки на 10%, по сравнению с ЧМТ без хирургической обработки и составляет $25,0 \pm 2,0\%$. Кроме того, по сравнению с 7 сутками количество глиальных клеток достоверно уменьшается на 10% и составляет $25,0 \pm 2,0\%$ относительно $35,0 \pm 3,0\%$. В то же время при воздействии на ткань мозга переменного тока количество глиальных клеток на протяжении 30 суток после постановки эксперимента оставалось на уровне контроля «Травма» или снижалось в пределах 5%.

Что же касается внутреннего диаметра внутримозговых микрососудов, то этот показатель был наиболее низким при воздействии на ткань головного мозга переменного магнитного поля и уменьшался на 30 сутки после воздействия H_A до $10,0 \pm 0,7$ мкм, то есть был ниже, чем в группе «Травма» и «ХО». При электростимуляции внутренний диаметр микрососудов через 30 суток после постановки эксперимента составил $11,0 \pm 0,9$ мкм.

При электронно-микроскопическом исследовании ткани мозга перифокальной зоны было установлено, что начиная с 14 суток после воздействия физических факторов наблюдалось явление снижения отека отростков периваскулярной астроцитарной нейроглии, а также отека основной массы эндотелиальных клеток, преимущественно при воздействии на ткань мозга переменного магнитного поля. В части эндотелиоцитов повышалась рибосомальная активность и, в отличие от ЧМТ, появлялись микропиноцитозные везикулы, что указывало на увеличение морфофункциональной активности эндотелиальных клеток (Рис. 3).



Рис. 3. 14 суток после ХО+ H_A . Повышение микропиноцитозной активности в эндотелиальной выстилке микрососуда. Электронограмма x 22000.

В то же время морфофункциональная активность эндотелиоцитов в микрососудах пораженного участка головного мозга при воздействии переменного тока, была несколько ниже.

В восстановивших свою функцию нейронах, согласно данным электронно-микроскопического исследования происходило восстановление количества ядерного хроматина в течение 30 суток после ЧМТ в среднем на 8-10%, что являлось статистически достоверной величиной относительно ЧМТ. Полученные показатели

были однотипными при всех видах физического взаимодействия: переменном магнитном поле, переменном токе. Необходимо указать, что наряду с частичным восстановлением ядерного хроматина в цитоплазме нейронов увеличивалось количество свободных и фиксированных рибосом.

Менее показательный эффект при воздействии физических факторов, был получен при анализе митохондриального аппарата. Несмотря на то, что процентное отношение площади, занимаемой интактными митохондриями увеличилось в среднем относительно ЧМТ на 4-6%, даже через 30 суток после постановки эксперимента значительная часть митохондрий находилась в различной степени выраженности дистрофических изменений с наличием резко просветленного матрикса, деструкцией крист, а также нарушением целостности как наружной, так и внутренней оболочек митохондрий. Помимо изменений в митохондриях наблюдалось расширение цистерн ретикулума, а также деструкция пластин аппарата Гольджи (Рис. 4).

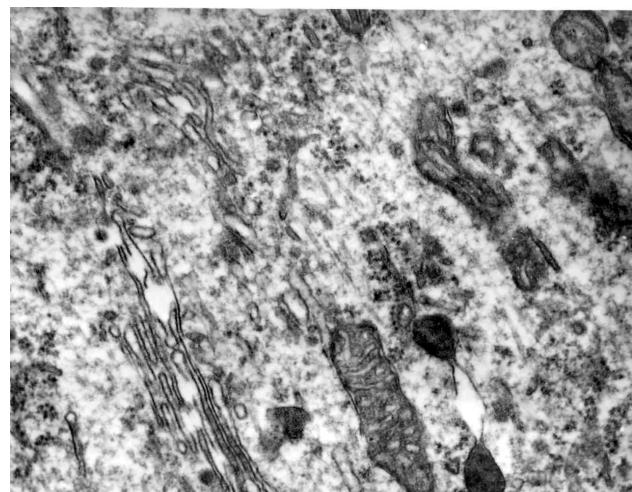


Рис. 4. 14 суток после ХО+ H_A . Дистрофически-деструктивные изменения митохондрий, цистерн ретикулума, аппарата Гольджи. Электронограмма x 22000.

Наиболее положительные результаты при хирургической обработке очага повреждения были получены уже на 7 сутки после воздействия на ткань мозга переменного магнитного поля в синаптическом аппарате нейронов. Прежде всего, явно уменьшается отек терминалей, восстанавливается активная зона синапсов, а в пресинаптических окончаниях нейронов увеличивается количество синаптических везикул, которые локализовались вблизи синаптически активной зоны.

Таким образом, через неделю, при применении H_A в течение одной недели, выражены реактивные изменения нервных и глиальных клеток в перифокальной зоне. На этом фоне имеет место снижение отека ткани мозга, а также очаговое восстановление структуры микроциркуляторного русла. Уменьшается отек синаптических терминалей, восстанавливается активная зона синапсов. Так, по сравнению с контролем «Травма», имеет место рост числа интактных нейронов в $1,33 \pm 0,1$ раза, выражена глиальная реакция, количество глиальных клеток

превышает интактные значения в $2,3 \pm 0,2$ раза. Несколько возрастает белок синтетическая и энергообразующая функция нейронов (рост по сравнению с контролем «Травма» показателя процентного содержания хроматина в ядре и процентного содержания митохондрий в цитоплазме нейрона в $1,27 \pm 0,1$ и в $1,39 \pm 0,1$ раза соответственно), хотя данные значения далеки от интактных.

При применении транскраниальной электростимуляции на первую неделю эксперимента имеет место преимущественно деструктивные изменения в перифокальной зоне на фоне незначительно выраженных процессов саногенеза. Имеет место частичное восстановление гистоархитектоники перифокальной зоны - имеет место рост числа интактных нейронов, выражена глиальная реакция, о чем говорят низкие значения коэффициента нейрон – глия. Имеет место отсутствие роста белоксинтетической и энергообразующей функции нейронов. Отмечается отек пресинаптических терминалей. Значения основных морфометрических показателей составляют 40 – 50 % от интактных.

На вторую неделю экспериментов при электро- и магнитостимуляции имеет место полная элиминация некротических масс из очага деструкции. В перифокальной зоне отмечается уменьшение деструктивных процессов, глиальной реакции. При магнитостимуляции растет энергообразующая функция нейрона - увеличение процентного содержания митохондрий в его цитоплазме (рост по сравнению с соответствующим контролем «Травма», показателя процентного содержания хроматина в ядре и процентного содержания митохондрий в цитоплазме нейрона в $1,2 \pm 0,1$ и в $1,36 \pm 0,07$ раз соответственно). В части эндотелиоцитов повышалась рибосомальная активность, что указывало на увеличение в них белковосинтетической функции, а также появляются явления везикуляции. Последнее указывает на активацию функциональной активности ГЭБ. При токовом воздействии имеет место отсутствие активации белоксинтетической и энергообразующей функции нейронов.

Через месяц эксперимента при магнитостимуляции имеют место процессы регенерации, в перифокальной зоне по сравнению с контролем «Травма» имеет место рост ядерного хроматина в $1,32 \pm 0,11$ раза. Соотношение длины активной зоны синапса к общей длине контакта, возрастает в $1,5 \pm 0,1$ раза.

При применении переменного электрического тока в перифокальной зоне снижается количество интактных и измененных нейронов, имеют место явления глиоза – рост клеток глии в 1,4 раза. Явления начальной регенерации корковых нейронов (восстановление количества ядерного хроматина в 1,2 раза по сравнению с контролем «Травма», увеличивалось количество свободных и фиксированных рибосом).

Сведения об авторах:

Энглези Андрей Павлович, к.мед.н., ст.н.с. клиники нейрохирургии НИИ травматологии и ортопедии Донецкого национального медицинского университета.

Зяблицев Сергей Васильевич, д.мед.н. профессор кафедры патологической физиологии Донецкого национального медицинского университета.

Адрес для переписки:

Энглези Андрей Павлович, Институт травматологии и ортопедии клиника нейрохирургии, ул. Артема, 106, Донецк 83048.
Тел.: 0623114684

Выводы

Применение магнито и электростимуляции в раннем послеоперационном периоде хирургической обработки приводит к демаркации некротических масс в очаге деструкции головного мозга на этом фоне имеет место реактивные изменения нервных и глиальных клеток в перифокальной зоне на этом фоне имеет место снижение отека ткани мозга.

На вторую неделю применения магнито и электростимуляции отмечено полная элиминация некротических масс из очага деструкции. В перифокальной зоне отмечается уменьшение деструктивных процессов, глиальной реакции. При магнитостимуляции растет энергообразующая и белок синтетическая функция нейронов эндотелия микрососудов.

На четвертую неделю послеоперационного периода на фоне сформированной послеоперационной кисты, имеют место процессы внутриклеточной регенерации, более выраженные при магнитостимуляции.

Литература

- Хиженков П.К., Зинкович И.И., Ковальчук Н.В. и др. Жизнедеятельность организмов в инфразвукочастотных магнитных полях // Магнитная гидродинамика. – 1995. – Т. 31, № 1-2. – С. 97-102.
- Хиженков П.К., Зинкович И.И., Нецовтов М.В. Магнитоактивность клеток крови человека и животных // Электронная обработка материалов. – 2001. – № 1. – С. 50-56.
- Хиженков П.К., Добрица Н.В., Нецовтов М.В. и др. Влияние низко- и сверхнизкочастотных переменных магнитных полей на ионную проницаемость клеточных мембран // Доп. НАН Украины. – 2001. – № 4. – С. 161-164.
- Хиженков П.К., Нецовтов М.В., Соболев В.В. и др. Влияние переменного магнитного поля на течение гнойного воспалительного процесса и водно-солевой обмен у мышей // Электронная обработка материалов. – 2001. – № 4. – С. 83-86.
- Шлыгин В.В., Тюляев А.П., Аракелян А.Г. и др. Влияние магнитного поля на проведение возбуждения в иннервирующем кровеносный сосуд нервном волокне // Биофизика. – 2001. – Т. 46, вып. 3. – С. 537-542.
- Мартынюк В.С., Мартынюк С.Б. Влияние экологически значимого переменного магнитного поля на метаболические параметры в головном мозге животных // Биофизика. – 2001. – Т. 46, вып. 5. – С. 910-915.
- Стрелкова Н.И. Физические методы лечения в неврологии. – М.: Медицина, 1991. – 318 с.
- Курако Ю.Л., Герцев Н.Н. Способ лечения посттравматических церебральных сосудистых расстройств // Патент на изобретение от 8.07.98. Регистрационный № 97115515; МПК A 61 N 1/30, A 61 N 1/32.
- Энглези А.П. Колесникова Л.И. Нецовтов М.В. Федорова А.А. Постаплюк И.Г. Хирургическая обработка очагов травматической деструкции головного мозга как способнейропротекции в остром периоде черепно-мозговой травмы // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2005. – том 6, № 1, С. 17 – 20
- Энглези А.П. Электромагнитная стимуляция при экспериментальных ушибах головного мозга // Травма. – 2006. – Т. 7, № 4. – С. 254-260
- Энглези А.П. Использование электростимуляции и хирургической обработки в динамике экспериментального повреждения головного мозга // Травма. – 2008. – Т. 9, № 3. – С. 247-251.