

С.І. Тертишний, В.Є. Гуленко

Патоморфологічні та імуногістохімічні зміни в головному мозку при мозкових інсультах в умовах порушення проникності гематоенцефалічного бар'єра

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: мозкові інсульти, гематоенцефалічний бар'єр, імуногістохімія.

Методами патоморфологічного дослідження показано, що при мозкових інсультах на фоні мікроциркуляторних розладів з підвищенням проникності гематоенцефалічного бар'єра в мозку накопичуються імунні клітини, переважно CD 8 і CD 68 з розвитком запальної реакції, що може відігравати важливу роль у патогенезі цереброваскулярних захворювань.

Патоморфологические и иммуногистохимические изменения в головном мозге при мозговых инсультах в условиях нарушения проницаемости гематоэнцефалического барьера

С.И. Тертышный, В.Е. Гуленко

Методами патоморфологического исследования показано, что при мозговых инсультах на фоне микроциркуляторных нарушений с повышением проницаемости гематоэнцефалического барьера в мозге накапливаются иммунные клетки, преимущественно CD 8 и CD 68 с развитием воспалительной реакции, которая может играть важную роль в патогенезе цереброваскулярных заболеваний.

Ключевые слова: мозговые инсульты, гематоэнцефалический барьер, иммуногистохимия.*Патология.* – 2012. – №3 (26). – С. 88–90

Pathomorphologic and immunohistochemical changes in brain at brain strokes in conditions of blood brain barrier permeability disorder

S.I. Tertyshny, V.E. Gulenko

Pathomorphologic methods show that mainly CD8 and CD68 immune cells are accumulated at brain strokes which are based on microcirculation disorders with increased permeability of blood brain barrier. Accumulation of immune cells is accompanied by inflammation and it can play an important role in pathogenesis of cerebral-vascular diseases.

Key words: brain strokes, blood brain barrier, immunohistochemistry.*Pathologia.* 2012; №3 (26): 88–90

Актуальність проблеми мозкових інсультів нині визначається суттєвою поширеністю цієї патології з високою смертністю і значним відсотком інвалідизації [1,2,3].

Низка досліджень довела, що одним із відстрочених механізмів, що бере участь у формуванні інфаркту головного мозку, є імунне запалення. Аутоімунний процес також відіграє важливу роль у розвитку геморагічного інсульту, на що вказують зміни в цереброспинальній рідині у вигляді підвищення рівня органоспецифічних і органонеспецифічних антитіл. При цьому аутоімунна агресія проти антигенних детермінант тканини мозку стає можливою в результаті порушення функції гематоенцефалічного бар'єра [4]. Надалі імунне запалення збільшує порушення трофіки, викликає дифузну дегенерацію тканини мозку з розвитком постінсультної енцефалопатії. Імунопатологічним процесам у патогенезі гострих порушень мозкового кровообігу (ГПМК) останнім часом надається велике значення [5–9]. Однак більшість досліджень у цьому напрямку присвячено вивченню морфологічних змін в органах імуногенезу при мозкових інсультах, а також стану клітинної і гуморальної ланок імунітету, що реєструють при дослідженні периферичної крові і спинно-мозкової рідині.

Морфологічні роботи з вивчення характеру клітинної імунної інфільтрації в тканині головного мозку при ГПМК представлені тільки одиничними дослідженнями.

Мета роботи

Вивчення клітинного складу периваскулярних інфільтратів і наявність активованих лімфоцитів і макрофагів у тканині мозку при мозкових інсультах в умовах порушення проникності гематоенцефалічного бар'єра.

Матеріали і методи дослідження

Використано аутопсійний матеріал померлих хворих віком від 45 до 70 років з внутрішньомозковими гематомами (n=12) і ішемічними інфарктами мозку (n=15). Для патогістологічного дослідження брали ділянки мозку, прилеглі до вогнищ крововиливів і інфарктів, а також ділянки мозку на віддаленні від первинного вогнища. Для оглядової світлової мікроскопії мозок фарбували гематоксиліном і еозіном. Імуногістохімічне дослідження з CD4, CD 8 і CD 68 проводили непрямим імунопероксидазним методом відповідно до протоколів, детально описаних в інструкціях фірми-виготковника відповідних антитіл (всі реактиви фірми «ДАКО», Данія). Морфометричні дослідження проводили з використанням морфометричної сітки зі сторонами 230x230 мкм.

Результати та їх обговорення

У гострому періоді мозкових інсультів (півкульових інфарктів або гематом) морфологічні зміни дебютували розвитком мікроциркуляторних розладів. У безпосередній близькості від півкульових вогнищ реєстрували підвищену проникність судин, що призводила до формування периваскулярної інфільтрації з макрофагів і лімфоцитів. Такі інфільтрати відзначали навколо як дрібних артеріол, заповнюючи порожнини периваскулярного набряку, так і навколо великих артеріол (рис. 1). Значне підвищення проникності гематоенцефалічного бар'єра (ГЕБ) з вираженою периваскулярною інфільтрацією лімфоцитами і макрофагами відзначали в умовах значного набряку з формуванням крібозного стану. В таких умовах периваскулярні інфільтрати визначали в окружностях артеріол і вен.

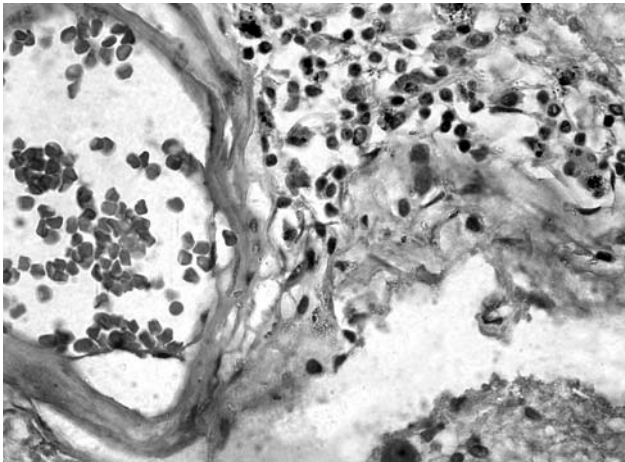


Рис. 1. Периваскулярна лімфо-макрофагальна інфільтрація навкруги артеріоли (діаметром 75 мкм) в перифокальній зоні ішемічного інфаркту. 5 доба захворювання. Зб. $\times 400$. Фарбування гематоксилином та еозином.

Для визначення гістогенезу клітин периваскулярних інфільтратів проведено імуногістохімічне дослідження з CD4, CD8 і CD68. Дослідження показало, що в умовах мікроциркуляторних розладів підвищення судинної проникності та формування набряку вже в ранні терміни захворювання (до 1 доби) відбувається накопичення клітин лімфоїдного ряду. В ці терміни одиничні CD8 позитивні клітини розташовувались частіше у вигляді ланцюжків по ходу судин у павутинній оболонці головного мозку і субарахноїдальному просторі (рис. 2). З прогресуванням набрякових змін на 2–3 добу відбувалось значне (в 2–3,5 рази) збільшення товщини (у двовимірному зображенні) субарахноїдального простору, в нижній частині якого визначено скупчення CD8 позитивних клітин і макрофагів. При цьому в розширеному субарахноїдальному просторі також реєстрували розширені артерії і вени, в яких наявні ознаки зупинки кровообігу.

Через 3–6 діб і в пізніші терміни CD8 позитивні клітини реєстрували як навколо судин, так і на віддаленні, поруч з ішемічними нейронами і гліальними клітинами. В ранні терміни розвитку інфарктів мозку деструктивні зміни мікросудин у зоні формування некротичних змін і на периферії інфарктного ядра супроводжувались підвищеною проникністю і поступовим накопиченням

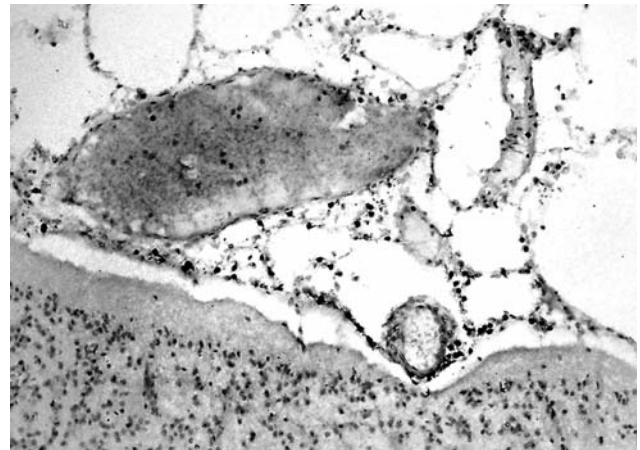


Рис. 2. Набрякове розширення субарахноїдального простору з накопиченням CD8 позитивних лімфоцитів. Внутрішньомозкова гематома. 2 доба захворювання. Зб. $\times 400$. ІГХ до CD 8.

лімфоцитів. При кількісному аналізі ділянок формування некрозу з перифокальними зонами на 2 добу захворювання кількість CD8 позитивних лімфоцитів в умовно стандартизованому полі зору становила 3,6 клітин, через 6 діб – 8,2 клітин. Надалі паралельно з процесами організації інфаркту відбувалось накопичення лімфоцитів з формуванням досить щільних інфільтратів, що розташовувались серед гліальних клітин у ділянках гліомезодермальній організації (рис. 3).

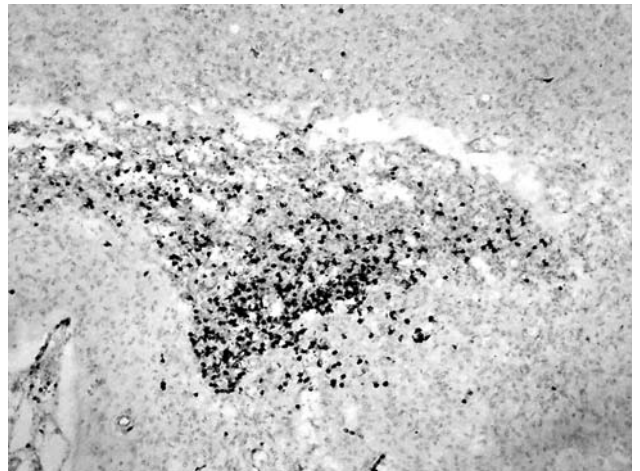


Рис. 3. Накопичення CD 8 позитивних лімфоцитів в ділянці організації некрозу. Інфаркт мозку, 10 доба. Зб. $\times 100$. ІГХ до CD 8.

При вивченні експресії CD4 – антигену Т-лімфоцитів-хелперів та індукторів у жодному терміні не виявлено накопичення таких лімфоцитів. Лише в одиничних спостереженнях у ділянках некрозу серед клітин некротичного детриту визначали незначну кількість CD4 позитивних лімфоцитів. Отже, підвищення судинної проникності сприяло переважному накопиченню в тканині мозку CD8-позитивних лімфоцитів. Враховуючи, що CD8 – це антиген супресорних/цитотоксичних Т-клітин, можна припустити, що активовані Т-клітини проникають через гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ) і взаємодіють з антигенпрезентуючими клітинами ЦНС. Наслідком цієї взаємодії, як відомо, є виділення проза-

пальних цитокінів. З початком запальної реакції локальне середовище мозку швидко змінюється: збільшується концентрація медіаторів запалення, що призводить до ще більшого порушення проникності ГЕБ, за рахунок чого в мозок додатково проникають запальні клітини, що визначено і в здійснених спостереженнях.

Повторному ушкодженню ГЕБ і паренхіми мозку також можуть сприяти процеси активації нейроглії. Так, на 3–4 добу захворювання навкруги спалих або деструктивно змінених мікросудин формувались дрібновогнищеві некрози. У зоні таких некрозів спостерігали збільшення кількості макрофагів гематогенного і мікрогліального генезу, на що вказувало значне збільшення в цих зонах CD68-позитивних клітин. Виражену активацію мікроглії зі значною її гіперплазією визначено на 2 тижні захворювання. Однак з активацією процесів організації в ці строки значна активація мікроглії може мати і негативне значення, підсилюючи ушкодження в ЦНС [10]. Дані наукової літератури свідчать, що активована мікроглії стає нейротоксичною і сприяє загибелі нейронів шляхом апоптозу, опосередкованого фактором некрозу пухлини і активацією каспаз 3 і 8 [11]. Аналогічну дію має астроглія. Поряд з процесами реконструкції ГЕБ після пошкодження мозку, активована астроглія сприяє збільшенню прозапальних медіаторів, у тому числі цитокінів (IL-1, IL-6, TNF- α і γ -інтерферону), факторів росту (TGF- β і VEGF), хемокінів, активних форм кисню і оксиду азоту, всі з яких можуть впливати на цілісність ГЕБ і призводити до зміни стану щільних з'єднань між ендотеліальними клітинами (ЕК) [12]. Крім того, астроцити, лейкоцити і макрофаги сприяють активації матричних металопротеїназ, що може призводити до посилення пошкодження ГЕБ.

Ознаки активації астроглії відзначали на 9–12 добу і в пізніші терміни захворювання, що залежало від обсягів первинного вогнища, ступеня відновлення мікроциркуляції. У ці терміни гліонейрональний індекс збільшувався на 80%. Значне збільшення астроцитів в окружності мікросудин, щільність яких до цього терміну також збільшувалась. У ці терміни периваскулярний простір зменшувався порівняно з ранніми термінами захворювання, однак зберігався набряк ЕК, а в деяких мікросудинах виникали відстрочені розлади мікроциркуляції у вигляді зупинки кровообігу, стазу, заповнення судин плазмою крові без формених елементів, що свідчило про тяжкість гемодинамічних розладів. Розвиток гліозу в ділянках організації неповних некрозів має подвійне значення для збереження цілісності ГЕБ. З одного боку, зниження кількості астроцитів призводить до зниження експресії білка, що бере участь у формуванні щільних з'єднань у судинах, з іншого боку, активовані астроцити і мікроглія призводять до збільшення виробництва прозапальних цитокінів, що викликають пошкодження ГЕБ.

Висновки

Дослідження показали, що при ГПМК первинні порушення пов'язані з розвитком мікроциркуляторних

розладів з підвищенням проникності ГЕБ і формуванням вазогенного набряку. Надалі це призводить до появи в тканині мозку імунних клітин з розвитком запальної реакції. Запалення призводить до підвищення концентрації медіаторів запалення і інших біологічно активних речовин, що може викликати вторинні пошкодження ГЕБ і, як наслідок, несприятливий результат захворювання. Імунноопосередкований запальний процес може відігравати важливу роль у патогенезі цереброваскулярних захворювань, що необхідно враховувати при проведенні лікувальних заходів.

Перспективи подальших досліджень у цьому напрямку передбачають детальніше вивчення імунопатологічних клітинних реакцій на фоні дезорганізації ГЕБ, що відбуваються в головному мозку при гострому інсульті. Це дозволить намітити нові можливості патогенетично обґрунтованої терапії гострих порушень мозкового кровообігу.

Список літератури

1. *Верещагин Н.В.* Инсульт. Принципы диагностики, лечения и профилактики: Краткое руководство для врачей / Верещагин Н.В., Пирадов М. А., Суслина З.А. – М., 2002. – 208 с.
2. *Гусев Е.И.* Проблема инсульта в России / Е.И. Гусев // Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Инсульт: прил. к журн. – 2003. – Вып. 9. – С. 3–7.
3. *Скворцова В.И.* Медицинская и социальная значимость проблемы инсульта / В.И. Скворцова // Качество жизни. – 2004. – Т. 4, №2. – С. 10–12.
4. *Ребенко Н.М.* Клинико-иммунологические особенности у больных в остром периоде ишемического инсульта: дисс. ... к. мед. н. / Ребенко Н.М. – Новосибирск, 2004. – 112 с.
5. *Герасимов С.М.* Значение антител к кардиолипину в патогенезе ишемического инсульта / Герасимов С.М., Чуранова Л.Н., Герасимова М.М. // Нейроиммунология. – 2005. – Т. III, №2. – С. 173.
6. *Горбачева Ф.Е.* Особенности прогноза больных, перенесших острое нарушение мозгового кровообращения с синдромом Валленберга-Захарченко / Горбачева Ф.Е., Махмудов М.И., Исаева А.А. // Мат. IX Всероссийского съезда неврологов. – Ярославль, 2006. – С. 390.
7. *Климов Л.В.* Когнитивные расстройства при полушарном инфаркте: автореф. дисс. ... к. мед. н. / Климов Л.В. – М., 2005. – 26 с.
8. *Ребенко Н.М.* Состояние иммунной системы у больных с острым инсультом / Ребенко Н.М., Кожевников В.С., Попова Т.Ф. и др. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова (приложение «Инсульт»). – 2005. – Вып. 14. – С. 46–49.
9. *Сергеева С.П.* Морфофункциональное состояние тимуса, цитокиновый профиль и клеточный иммунный статус при остром нарушении мозгового кровообращения: дисс. ... к. мед. н. / Сергеева С.П. – М., 2009. – 115 с.
10. *Dheen S.T.* Microglial activation and its implications in the brain diseases / S.T. Dheen, C. Kaur, E.A. Ling // Curr Med Chem. – 2007. – Vol. 14, №11. – P. 1189–1197.
11. *Kaushal V.* Mechanisms of microglia-mediated neurotoxicity in a new model of the stroke penumbra / V. Kaushal, L.C. Schlichter // J Neurosci. – 2008. – Vol. 28, №9. – P. 2221–2230.
12. *Willis C.L.* Glia-Induced Reversible Disruption of Blood-Brain Barrier Integrity and Neuropathological Response of the Neurovascular Unit / C.L. Willis // Toxicol Pathol. – 2011. – Vol. 39, №1. – P. 172–185.

Відомості про авторів:

Тертишний С.І., д. мед. н., професор каф. патологічної анатомії і судової медицини з основами права ЗДМУ.

Гуленко В.Є., магістр каф. патологічної анатомії і судової медицини з основами права ЗДМУ.

Надійшла в редакцію 28.09.2012 р.