ПАТОМОРФОЛОГІЯ

© Тертишний С.І.

УДК 616.831-091.8:616.831-036.884-08

Тертишний С.І.

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ АСТРОЦИТІВ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПРИ ПОСТРЕАНІМАЦІЙНІЙ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ

Запорізький державний медичний університет (м. Запоріжжя)

tertishniy@i.ua

Робота виконувалася у рамках комплексної науково-дослідної роботи «Нові технології ранньої діагностики онкологічних, нейроендокринних, серцево-судинних, цереброваскулярних, аутоімунних і інфекційних захворювань», № держ. реєстрації 0106U003709, що входила до плану науково-дослідних робіт Запорізького державного медичного університету.

Вступ. У роботах останніх років присвячених морфологічним аспектам постреанімаційної патології мозку [1,5] відомості про зміни астроглії нечисленні. Тим часом астроцити, які є найбільш поширеними клітинами головного мозку, виконують численні функції, які необхідні для нормального функціонування і забезпечення гомеостазу центральної нервової системи (ЦНС) [9]. Астроцити забезпечують надходження метаболічних субстратів до нейронів [6,7], є важливими структурними компонентами гематоенцефалічного бар'єру, регулюють функції мікросудин [11], забезпечують нейронну активність, регулюють синаптичну передачу [10], а також позаклітинні концентрації іонів і нейротрансмітерів [13]. Астрогліальні клітини можуть виробляти цитокіни, хемокіни, фактори росту і компоненти комплементу, а також експресувати антигени, що робить їх активними учасниками імунних процесів [2]. Враховуючи численність функцій астроцитів, актуальним завданням є вивчення їх змін при різних патологічних станах ЦНС.

Мета дослідження – вивчення патоморфологічних змін астроглії в динаміці постреанімаційного періоду.

Об'єкт і методи дослідження. В роботі проведено нейроморфологічний аналіз головного мозку 24 померлих хворих у віці від 35 до 52 років, які перенесли клінічну смерть тривалістю від 3 до 20 хвилин і прожили після неї від 6 годин до 60 діб. Дослідження проведено з дотриманням основних біоетичних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 04.04.1997 р.), Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964-2008 рр.), а також наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

У залежності від термінів постреанімаційного періоду були виділені наступні групи хворих: які померли до 6 годин (n=6), до 1 доби (n=5), через 3-6 діб (n=4), 7-9 діб (n=3) , 10-15 діб (n=3), 16-60 діб (n=3) після клінічної смерті. У всіх випадках вивчався головний мозок померлих в постреанімаційному періоді хворих, які раніше не страждали на захворювання центральної нервової системи (ЦНС). В якості групи порівняння нами вивчений головний мозок 7 раптово померлих хворих від гострої коронарної недостатності, які не страждали захворюваннями ЦНС, у віці 45-54 років.

Дослідженню піддавалася кора і прилегла біла речовина постцентральної звивини тім'яної частки правої півкулі головного мозку. Дослідження проводилося на целоїдин-парафінових препаратах, пофарбованих гематоксиліном і еозином, толуїдиновим синім, галлоціаніном за Einarson [3], використовувалися методи імпрегнації за Cajal і Rio-Hortega. Морфометричне дослідження проводилося за допомогою комп'ютерної системи цифрового аналізу зображення KS 200 (Kontron Elektronik, Німеччина, ліц. №0200299). Кількісні дані обробляли пакетом прикладних і статистичних програм KS 200 (Kontron Elektronik, Германію, ліц.№0200299), Exel-7.0 (Microsoft Corp., США) і Statistica 6.1 for Windows (serial number AXXR712D833214FAN5). Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M). Достовірність одержаних показників підтверджувалася шляхом розрахунку помилки (±m) для середніх величин, а достовірність різниці даних порівнюваних параметрів в контрольних спостереженнях і при вивчаємих патологічних процесах визначали на підставі розрахунку коефіцієнта t (Ст'юдента) і визначення по таблиці точності безпомилкового прогнозу (p). За достовірну мінімальну вірогідність відмінностей бралася $p<0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. У всіх секційних спостереженнях мав місце несприятливий перебіг постреанімаційної енцефалопатії, що було обумовлене важкою патологією яка передувала клінічній смерті, тривалими або повторними зупинками кровообігу, а також некоригуємими метаболічними порушен-

нями після клінічної смерті. У померлих через 6 годин після клінічної смерті структура більшості астроцитів мало змінена, лише в окремих клітинах виявлялася грубозерниста імпрегнація відростків і цитоплазми. У померлих через 1 добу після клінічної смерті, зазначалося рівномірне збільшення в обсязі головного мозку зі сплощенням рельєфу кори великих півкуль. При гістологічному дослідженні реєструвалося різке розширення відростків астроглії навколо нейронів і судин кори, що помітно контрастувало зі структурною компактністю білої речовини. У більшості мікросудин виявлялися різні варіанти мікроциркуляторних розладів з оклюзією мікроциркуляторного русла: гемоконцентрація з агрегацією еритроцитів, що призводить до різкого вповільнення кровотоку, лейкоцитарні і тромбоцитарні агрегати. Зазначеним факторам належить значна роль у розвитку феномена no-reflow – феномена неповного відновлення кровотоку, що на цей час підтверджено рядом досліджень [8].

У периваскулярних астроцитах спостерігалися явища зернистого розпаду, був виражений клазматодендроз (зернистий розпад потовщених терміналей) периваскулярних і навколонейрональних відростків астроцитів. У значної кількості астроцитів відзначався пікноз ядер і гомогенізація каріоплазми. Кількість астроцитів з пікнозом ядер в корі півкуль мозку наростало до 5,4%. Площа поперечного перетину ядер астроцитів становила 107,89±10,19 мкм^2, діаметр 11,70±0,12 мкм. Більшість астроцитів з пікнозом ядер і вакуолеподібною цитоплазмою, зазвичай, виявлялося поруч з капілярами у стані спадіння, що не містили крові. За даними морфометрії, відзначено статистично достовірне зниження кількості астроцитів в стандартизованому полі зору в перші 6 годин після клінічної смерті на 26,5% в порівнянні з групою порівняння, через 1 добу – на 17,7% (p=0,05). Таке зменшення кількості клітин, очевидно відображає їх руйнування і лізис в ранньому постреанимаційному періоді. Але, на відміну від нейронів, процес руйнування астроцитів мав мозаїчний, не розповсюджений характер.

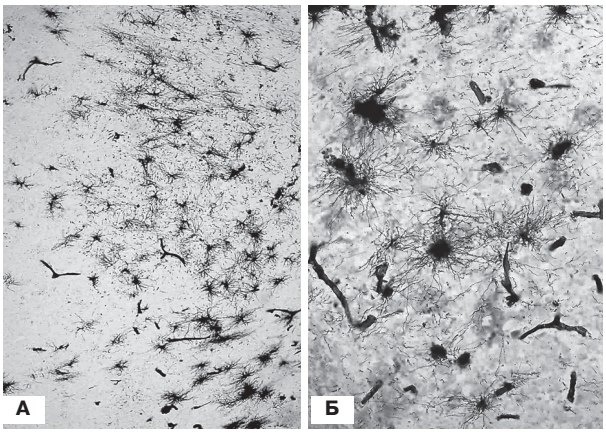

Рис. 1. А – порушення архітектоніки в корі мозку з деструктивними змінами астроцитів. Імпрегнація за Cajal. Збільш. Ч100. Б – гіперпластично-проліферативні зміни астроглії. Імпрегнація за Cajal. Збільш. Ч400.

Через 3 доби після клінічної смерті в умовах наростаючого набряку головного мозку, також як і в попередній термін, відзначалися наростаючі ішемічні зміни нейронів, різке розширення перинейрональних і периваскулярних астроцитарних відростків, клазматодендроз і зернистий розпад частини астроцитів навколо знекровлених судин, а також пікноз ядер деяких вільно розташованих астрогліальних клітин. Крім цього виявлялися ознаки значного набухання астроцитів зі збільшенням площі і проясненням їх ядер, а також збільшенням площі перікаріона. Площа поперечного перетину ядер астроцитів в цьому терміні становила 113,31±12,0 мкм^2, що на 5,02% вище ніж в ранні терміни постреанімаційного періоду, діаметр клітин складав 11,98±0,63 мкм. При елективній імпрегнації за Cajal також відзначалося збільшення площі тіл і потовщення відростків набряклих астроцитів. Поряд з цим у ділянках більш значних руйнувань нейронів відзначалась зміна співвідношення між олігодендроцитами і астроцитами, у бік значного збільшення кількості останніх на 45-55%, при цьому до 70% астроцитів мали типову морфологію астроцитів Ніcля. З огляду на важливе значення астроцитів у регуляції гідро-іонного балансу і об'єму нервової тканини, а також в процесах набрякання мозку [4], виявлені зміни варто розцінювати як прояв компенсаторно-пристосувальних процесів, біологічне значення яких складається в попередженні гіпергідротації міжклітинних просторів.

В цей термін також відзначалося значне збільшення кількості гліальних клітин, що контактували з дистрофічно зміненими нейронами і нейронами, що мали морфологічні ознаки посиленого функціонування – реєструється активація сателітозу. Така структурна перебудова астроглії відображає її участь у забезпеченні функціональної активності нейронів і має компенсаторну спрямованість.

У померлих через 3 доби і в більш пізні терміни після клінічної смерті при гістологічному дослідженні ідентифікуються постаноксичні мозаїчні та периваскулярно-дрібновогнищеві зміни нейронів і гліоцитів в зонах відновленої мікроциркуляції. У значних за протяжністю зонах невідновленого кровотоку формувалися осередки парціального некрозу півкуль мозку. Останні розвивалися у хворих, які перенесли двох-трьохкратну клінічну смерть або тривалу зупинку серця (до 10-15 хвилин).

На 7-9 добу постреанімаційного періоду в корі мозку реєструється порушення впорядкованої нейронної архітектоніки (**рис. 1 А**). У цьому терміні тривають ішемічно-некротичні зміни деяких астроцитів, які поєднуються з явищами репаративної гіпертрофії (**рис. 1 Б**), а також з активацією фагоцитарно-резорбтивних функцій збережених астрогліальних клітин. У зонах, д мозковий кровоток відновився, значна частина астроцитів зберігала звичайну гістологічну будову, в значній частині астроцитів кори і білої речовини виявлялися явища гіпертрофії ядра, цитоплазми і відростків.

У цей термін відзначається нерівномірний розподіл астрогліальних клітин: ділянки з відсутністю астроцитів чередуються з ділянками де спостерігалися скупчення гліоцитів, що формували дрібні гліально-клітинні вузлики поруч з патологічно-зміненими нейронами і навколо повнокровних судин. У препаратах, імпрегнованих за Cajal і Rio-Hortega, в цитоплазмі нечисленних астро-

цитів з укороченими і потовщеними відростками виявлялися зернисті включення фагоцитованого матеріалу.

Зазвичай зернисті включення в цитоплазмі виявлялися в астроцитах, розташованих неподалік від ішемічно змінених клітин або облітерованих мікросудин. Активна проліферація астроцитів призводила до статистично достовірного збільшення загальної кількості астроцитів в корі на 15 добу після клінічної смерті на 27,88% (p=0,05).

У померлих через 16-60 діб після перенесеної клінічної смерті в головному мозку переважає проліферація гліальних клітин і формування замісного гліофіброза на місці селективно-нейрональних некрозів. Поруч зі зморщеними залишками ішемічно-некротизованих нейронів або «тінями» лізованих нервових клітин спостерігалась підвищена кількість гліальних клітин, серед яких переважали астроцити. Через 60 діб після клінічної смерті, кількість астроцитів в зонах формування замісного гліофіброзу була підвищена на 104,4% в порівнянні з умовно контрольними показниками. Внаслідок такого поєднання поступової деструкції нейронів, резорбції та репаративної неповної репарації, формування кіст як правило не відбувалося. Завдяки гліофіброзу макроструктура головного мозку не змінювалася, однак це не заповнює ні структурно, ні функціонально величезний дефіцит нервових клітин і тому не сприяло відновленню неврологічного статусу хворих.

Висновки.

У ранньому постреанімаційному періоді переважають мозаїчні постаноксичні пошкодження і руйнування частини астроцитів із зменшенням їх кількості в перші 6 годин після клінічної смерті на 26,5%, а через 1 добу – на 17,7%.

Через 3 доби після клінічної смерті в умовах наростаючого набряку головного мозку виявляються ознаки значного набухання астроцитів зі збільшенням площі їх перікаріона і формуванням набряклих астроцитів Ніcля, що відображає компенсаторно-пристосувальні зміни, які направлені на попередження гіпергідротації міжклітинних просторів.

У віддаленому постреанімаційному періоді переважають гіперпластично-проліферативні зміни астроглії з формуванням замісного гліофіброза на місці селективно-нейрональних некрозів.

З огляду на те, що дотепер залишаються маловивченими питання, які стосуються захисного і ушкоджуючого впливу активованої астроглії на нейрони при різних ушкодженнях головного мозку [12], **перспективи подальших досліджень** в данному напрямку передбачають більш детальне вивчення реактивних і компенсаторно-пристосувальних змін астроглії, яка може бути об'єктом терапевтичного впливу для забезпечення нейропротекції у хворих з ішемічними ушкодженнями ЦНС.

Література

1. Євсєєв А.В. Імуногістохімічні та ультраструктурні особливості апоптозу нейронів та гліальних клітин при постреанімаційній енцефалопатії / А.В. Євсєєв // Патологія. – 2010. – № 2. – С.18-21
2. Ершов Ф.И. Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств)/ Ф.И. Ершов, О.И. Киселев. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2005. – 368 с.
3. Микроскопическая техника : Руководство / Под ред. Д.С. Саркисова, Ю.Л. Перова. – М. : Медицина, 1996. -544 с.
4. Туманский В.А. Патологическая анатомия и патогенез изменений головного мозга при интенсивной терапии и реанимации коматозных состояний : автореф. дисс. На соискание научной степени доктора мед. Наук : спец. 14.00.15 «Патологическая анатомия» / В.А. Туманский. – М., 1985. – 30 с.
5. Церебральная недостаточность и структурные мишени ее протекции при постреанимационных энцефалопатиях / В.А. Туманский, Л.М. Туманская, С.И. Тертышный [и др.] // Патологія. – 2010.- Т. 7, № 2. – С. 4-14.
6. Activity-dependent regulation of energy metabolism by astrocytes: an update / L. Pellerin, A-K. Bouzier-Sore, A. Aubert [et al.] // Glia. – 2007. – Vol. 55 (12). – P. 1251-1262.
7. Astroglial metabolic networks sustain hippocampal synaptic transmission / N. Rouach, A. Koulakoff, V. Abudara [et al.] // Science. – 2008. – Vol. 322 (5907). – P. 1551-1555.
8. Del Zoppo G.J. Cerebral microvessel responses to focal ischemia / G.J. Del Zoppo, T. Mabuchi // J. Cereb. Blood Flow. Metab. – 2003.- Vol. 23, № 8.-P.879-894
9. Glial cells in (patho)physiology / V. Parpura, M.T. Heneka, V. Montana [et al.] // J. Neurochem. – 2012. – Vol. 121. – P. 4-27.
10. Halassa M.M. Integrated brain circuits: astrocytic networks modulate neuronal activity and behavior / M.M. Halassa, P.G. Haydon // Ann. Rev. Physiol. -2010. – Vol. 72. – P. 335-355.
11. Iadecola C. Glial regulation of the cerebral microvasculature / C. Iadecola, M. Nedergaard // Nat. Neurosci. – 2007. – Vol. 10 (11). – P. 1369-1376.
12. Pathological Potential of Astroglia / A. Chvátal, M. Anděrovб, H. Neprašová, I. Prajerová [et al.] // Physiol. Res. – 2008. – Vol. 57 (Suppl. 3). – S.101-S110.
13. Stobart J.L. Multifunctional role of astrocytes as gatekeepers of neuronal energy supply / J.L. Stobart, C.M. Anderson // Front Cell Neurosci. – 2013. – Vol. 7. – art. 38.

УДК 616.831-091.8:616.831-036.884-08

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ АСТРОЦИТІВ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПРИ ПОСТРЕАНІМАЦІЙНІЙ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ

Тертишний С.І.

Резюме. з метою вивчення патоморфологічних змін астроглії в динаміці постреанімаційного періоду проведено нейроморфологічний аналіз головного мозку 24 померлих хворих у віці від 35 до 52 років, які перенесли клінічну смерть тривалістю від 3 до 20 хвилин і прожили після неї від 6 годин до 60 діб. Встановлено, що у ранньому постреанімаційному періоді розвиваються мозаїчні постаноксичні ушкодження і руйнування частини астроцитів із зменшенням їх кількості в перші 6 годин після клінічної смерті на 26,5%, а через 1 добу – на 17,7%. Через 3 доби після клінічної смерті виявляються ознаки значного набухання астроцитів зі збільшенням площі їх перікаріона і форму-

ванням набряклих астроцитів Ніcля. У віддаленому постреанімаційному періоді переважають гіперпластично-проліферативні зміни астроглії з формуванням замісного гліофіброза на місці селективно-нейрональних некрозів.

Ключові слова: астроцити головного мозку, постреанімаційна енцефалопатія.

УДК 616.831-091.8:616.831-036.884-08

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ АСТРОЦИТОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ПОСТРЕАНИМАЦИОННОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ

Тертышный С.И.

Резюме. С целью изучения патоморфологических изменений астроглии в динамике постреанимационного периода проведен нейроморфологический анализ головного мозга 24 умерших больных в возрасте от 35 до 52 лет, перенесших клиническую смерть длительностью от 3 до 20 минут и проживши после нее от 6 часов до 60 суток. Установлено, что в раннем постреанимационном периоде развиваются мозаичные постаноксические повреждения и разрушение части астроцитов с уменьшением их количества в первые 6 часов после клинической смерти на 26,5%, а через 1 сутки – на 17,7%. Через 3 дня после клинической смерти выявляются признаки значительного набухания астроцитов с увеличением площади их перикариона и формированием тучных астроцитов Нисля. В отдаленном постреанимационном периоде преобладают гиперпластически-пролиферативные изменения астроглии с формированием заместительного глиофиброза на месте селективно-нейрональных некрозов.

Ключевые слова: астроциты головного мозга, постреанимационная энцефалопатия

UDC 616.831-091.8:616.831-036.884-08

The Morphological Changes of Astrocytes in the Brain in Cases of Postresuscitational Encephalopathy

Tertishniy S.I.

Abstract. In order to elucidate morphological changes of astroglia in the dynamics of the postresuscitation period (PRP), neuromorphological analysis of the brain was conducted on 24 patients, who withstood clinical death from 3 to 20 minutes and remained alive afterwards from 6 hours to 60 days. The mean age was 35 to 52 years. Tissue specimens were stained by hematoxylin and eosin, toluidine blue, gallocyanin, impregnated by Cajal y Rio-Hortega. Morphometrical analysis was conducted with the help of a computer system for digital analysis, KS 200 (Kontron Elektronik, Germany, lic. №0200299). Quantitative data were processed in a computer program, Statistica 6.1 for Windows (serial number AXXR712D833214FAN5).

Obtained results and discussion: Adverse course of postresuscitational encephalopathy was noted in all autopsy observations, which was caused by serious pathology of the preceding clinical death, prolonged or repeated cardiac arrests, as well as uncorrectable metabolic disorders after clinical death. After 6 hours of clinical death the structure of most astrocytes was almost unchangeable. After 1 day a uniform increase in the volume of the brain with cerebral cortex relief flattening was observed. Sharp expansion of astroglial processes around neurons and cortical blood vessels was established histologically. In most microvessels, various types of microcirculatory disorders with occlusion of the microvasculature were noted: haemoconcentration with aggregation of red blood cells, leading to a sharp decrease of blood flow, with leukocyte and platelet aggregates as well. A phenomenon of granular disintegration was observed in perivascular astrocytes, also there was marked granular disintegration of thickened perivascular terminals and around the neuronal processes of astrocytes. The number of astrocytes with pyknotic nuclei in the cerebral cortex grew up to 5.4%. According to the morphometrical data, the quantity of astrocytes decreased to 26.5% during first 6 hours after clinical death compared with the comparison group after 1 day on 17.7% ($p=0.05$). Such a decrease in cell number obviously reflects their destruction and lysis during early PRP. The process of astrocytic destruction was a mosaic, not diffuse in nature.

Three days after clinical death, marked expansion of perineural and perivascular astrocytes, and granular disintegration of some parts of astrocytes around bloodless blood vessels, was noted. We found that the cross sectional area of astrocyte nuclei increased to 5.02% comparative with early period of PRP. Astrocyte swelling with activation of satellitosis was also registered.

Disturbance of the ordered neuronal architecture in the brain cortex was determined on day 7-9 of the postresuscitational period. There were areas void of astrocytes alternating with clusters of gliocytes, which formed small cellular-glial nodules. Grainy inclusions of phagocytosed material appeared in the cytoplasm of few astrocytes with shortened and thickened processes. The whole number of astrocytes in the brain cortex increased to 27.88% on the 15th day after clinical death ($p=0.05$). After 16-60 days, proliferative changes of astroglia with formation of substitutive gliofibrosis in place of selective neuronal necrosis became predominant. After 60 days the number of astrocytes in substitutional zones of gliofibrosis was increased by 104.4% compared to control indexes. Because of the gliofibrosis, the brain structure did not change, but it did not fill the neither structural nor functional huge deficit of nerve cells and therefore didn't contribute to the restoration of neurological status of patients.

Prospects for further research in this area include a detailed study of reactive and compensatory-adaptive changes of astroglia that can be the object of therapeutic intervention to provide neuroprotection in patients with ischemic lesions of the CNS.

Key words: astrocytes of the brain, postresuscitational encephalopathy.

Рецензент – проф. Старченко І.І.

Стаття надійшла 07.07.2015 р.