

УДК: 616.8-022:616.831+619:576.535

**ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО-ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ  
СОПОСТАВИМОСТЬ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ  
МАРКЕРОВ ВОСПАЛИТЕЛЬНО-  
ДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В  
ГОЛОВНОМ МОЗГЕ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ  
ИНСУЛЬТЕ И ГЕРПЕСВИРУСНОЙ  
НЕЙРОИНФЕКЦИИ**

(по данным клинично-экспериментальных исследований)

**Торяник И.И., Колесник В.В.\***

**ГУ «Институт микробиологии и иммунологии им.  
И.И. Мечникова АМН Украины», Харьков**

**\*ГУ «Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Роданова АМН Украины», Киев**

Анализ научно- теоретической и методологической литературы по проблеме диагностики и прогноза острых нарушений мозгового кровообращения отмечает смену взглядов на стратегию и тактику ведения больных с указанной нозологией. Эти факты обусловлены применением новых методов нейровизуализации, клинично-морфологического, биохимического мониторинга церебрального метаболизма и соответственно появлением новых сведений относительно структурно- функциональных расстройств в остром периоде мозгового инсульта [12;14]. По мнению специалистов, наиболее существенное влияние на стратегию лечебно-диагностических мероприятий у больных с ишемическим инсультом оказала концепция «ишемической полутени», возникшая в результате фундаментальных исследований гипоперфузии ткани мозга,- причины гибели/ дегенерации нервных клеток. В соответствии с этим функция нейроцитов оказывается нарушенной (в силу значительного снижения метаболизма), а сама зона «ишемической полутени» способна трансформироваться в инфаркт, в том числе, по причине вторичных нейрональных нарушений [4]. Существуют теории о ролевом значении факторов гипоксии, интоксикации, инфекции в развитии вторичных повреждений нервной ткани. Некоторыми авторами выдвигаются осторожные предположения об участии агентов вирусной (вирус простого герпеса, цитомегаловирус, вирус Эпштейн- Барра) этиологии в генезе деструктивно-дегенеративных изменений нейронов. Однако до сих пор в доступной литературе не представлены сравнительные данные относительно морфологических маркеров, дифференциально-диагностически сопоставимых для обеих из указанных патологий. Отсутствуют сведения, касающиеся роли вирусных инфекционных агентов в развитии расстройств кровообращения, способствующих развитию вторичных структурных повреждений нейроцитов головного мозга.

С учетом изложенного выше, целью принятой работы было изучить по данным клинично-экспериментальных исследований возможность дифференциально-диагностической сопоставимости морфологических маркеров воспалительно-

дегенеративных изменений в головном мозге при ишемическом инсульте и герпесвирусной инфекции.

**Материалы и методы**

Материалами исследований послужили гистологические срезы фиксированных препаратов головного мозга, полученных в результате плановых клинично- экспериментальных тематик: «Использование аутологических мезенхимальных стволовых клеток при моделированном ишемическом инсульте»; «Изучить влияние прогениторных клеток на течение воспалительно-дегенеративных повреждений ЦНС и разработать дифференцированные методы их лечения», 2010-2012 г.г. № 0110U002191; «Лабораторно-морфологические признаки герпесвирусной инфекции, ассоциации HSV с микоплазмой и усовершенствование методов диагностики обусловленных ими заболеваний», 2008- 2010 г.г. № 0108U001299. Нативные препараты подвергали фиксации в растворе 12%-го формалина на фосфатном буфере (рН= 7,0- 7,2). Обезвоживание производили по традиционной схеме использования батареи спиртов возрастающей концентрации от 30° до абсолютного. Парафиновые/ целлюлозные блоки резали, прибегая к помощи санного микротомы в трех взаимно перпендикулярных плоскостях. Окрашивали срезы в зависимости от нужд исследования (гематоксилином- эозином, азуром- эозином, импрегнировали серебром). Анализ структурно-функциональных сдвигов производили в светооптическом микроскопе ЛОМО (x300; x600). Идентичные показатели обобщали, статистическую обработку осуществляли, используя общепринятый пакет программ "Statistica". В ходе экспериментального исследования использовали имбредных самок крыс линии Вистар, 3- месячного возраста, массой 160- 175 г, содержащиеся в стандартных условиях вивария (температура воздуха составляла- 17- 22° С; относительная влажность не превышала уровень 50- 60%, норма искусственного освещения поддерживалась на цифре 60 лк). Для получения модели ишемического инсульта у подопытных животных прибегали к эмболии коллатеральных ветвей общей сонной артерии правого полушария головного мозга. Крыс наркотизировали кетамином интраперитонеально из расчета 125 мг на кг веса животного. В продолжение всего хода оперативного вмешательства и до выхода из наркоза производили контроль температуры тела животного, поддерживая ее на уровне 37 ° С. Фиксацию головы прооперированных особей осуществляли с помощью ушных кернов и зубного зажима на стереотаксическом аппарате. Проведя две лигатуры, пунктировали сонную артерию и внутриартериально вводили сульфат бария в количестве 0,1- 0,3 мл. Операционную рану ушивали послойно. Заявленный способ путем эмболизации коллатеральных сосудов частицами взвеси сульфата бария давал гарантированное выключение магистрального и коллатерального кровоснабжения соответствующего полушария головного мозга и, как следствие, стандартные повреждения головного мозга, сходные с таковыми у человека в случае развития традиционной клинической патологии. Указанные

меры предпринимались по отношению к животным, вошедшим в группу экспериментальной экстраполяции (n=15). Кроме нее, эксперимент проводили с ложнооперированными особями (n=15). Для проведения сравнения данных использовали группу интактного контроля (n=15). Оперативное вмешательство на грызунах производили в утренние часы суток, что соответствовало их биоритмологической активности и хронобиологическим особенностям возникновения ишемического инсульта, исходя из ретроспективного анализа клинко-эпидемиологических данных последних лет [1; 3; 13]. Кормление животных осуществляли по общепринятой схеме, путем применения сбалансированного рациона, специально разработанного для грызунов (имбредные крысы линии Вистар, с учетом роста-весовых показателей особей, их половой принадлежности и возраста). Выводили животных из эксперимента, четко регламентируясь документативной базой правовой нормы, касающейся защиты лабораторных животных. Забор клинического материала производился в условиях прозектуры. Патологоанатомическому исследованию и ретроспективному анализу подвергались пациенты (n= 32), умершие в результате развития острой герпесвирусной инфекции, сопровождавшейся признаками менингоэнцефалита, лептоменингита и характеризовавшейся молниеносным характером течения заболевания. Во всех наблюдениях с целью уточнения диагноза (для цитологического, бактерио- и вирусоскопического исследований) применяли мазки-отпечатки с мягких мозговых оболочек (окраска метиленовым синим по Павловскому). Объем дополнительных проб расширяли за счет иммунофлюоресцентного исследования (набор диагностических сывороток), серологической диагностики (материалом послужили кровь, спинномозговая жидкость). Для уточнения возможной наслойки бактериального процесса наряду с бактериоскопическими исследованиями проводились посевы спинномозговой жидкости, крови, мочи на широкий набор питательных сред. Авторы статьи выражают искреннюю признательность доцентам кафедр детских инфекций, нервных болезней Харьковской медицинской академии последипломного образования и Харьковского национального медицинского университета МОЗ Украины, к. мед. н. В.А. Мищенко и к. мед. н. А.С. Федорович за научно-практическое сотрудничество и любезное предоставление материалов для сравнительно-аналитических исследований.

### Результаты и обсуждение

В результате исследования серии гистологических препаратов было установлено, что воспалительно-дегенеративные процессы в мозге, сопровождающие развитие ишемического инсульта и острой (герпесвирусной) нейроинфекции, характеризуются наличием ряда соотносительных морфологических маркеров, выразительно иллюстрирующих каждую из вышеуказанных нозологий. В ходе обзорного морфологического исследования головного мозга пациентов, умерших в результате молниеносных форм герпесвирусной нейроинфекции (ранние стадии развития

процесса), на фоне генерализованного герпеса отчетливо выявлялись набухание цитоплазмы нейроцитов, глиальных клеток, дегенеративные изменения в них, крупные относительно с объемом ядра базофильные и эозинфильные включения. Нередким явлением оставался гиперхроматоз ядер с выраженной фрагментацией и маргинализацией (вдоль мембраны) ядерного вещества [7]. Аналогичные морфологические признаки регистрировались при экспериментальном ишемическом инсульте. Применение различных методов окраски ткани в тактике дифференциально-диагностического подхода позволило установить преобладающее количество (анализ пяти полей зрения каждого из пяти обязательных для детекции срезов) нейронов, измененных по гиперхромному типу. Установленные сдвиги сочетались с фрагментацией хроматина, кариопикнозом, разрушением митохондрий, деструкцией гранулярного и агранулярного ретикулума, наличием многочисленных лизосомальных включений, вакуолей. Вакуолизация цитоплазмы и гибель, в конечном итоге, агранулярного ретикулума при инсультах и тяжелых нейроинфекциях были явлениями не сколько взаимосвязанными, сколь последовательно индуцируемыми (интоксикации, гипоксии, нарушения энергетического обмена), - не случайно же агранулярная цитоплазматическая сеть считается «внутриклеточной губкой» - главным местом захвата воды, содержащейся в цитоплазме. Для большинства клеток паренхиматозных органов картина вакуольной дистрофии создавалась именно цитоплазматическими вакуолями. В ряде случаев последние формировались в результате коагуляционного некроза, симулируя феномен вакуольной дистрофии. Однако же, декомпенсированная стадия вакуольной дистрофии с последующей гибелью клетки - были исключительным следствием хронического пролонгированного действия токсических агентов, гипокалиемии, гипоксии [2; 11].

Иными сопоставимыми маркерами структурно-функциональных изменений считались хроматизация нейронов и сопровождавшие его патологические процессы. К их числу относили: исчезновение цитоплазматических включений, лизисом, мембранных структур, замещение цистерн эндоплазматической сети группами дискретных пузырьков, отсутствие рибосом, набухание митохондрий. Изменения в структуре микрокапилляров и нейроцитов головного мозга, в том числе отмеченные выше, влекли за собой выраженный отек астроцитарных отростков, сосредоточение глиальных клеток в непосредственной близости патологически измененных элементов. В участках расположения патологически измененных микрососудов отмечалось появление клеток-теней (карицитоз, вызванный склерозом, сморщиванием последних). Наступавшее вследствие атрофии разрежение ткани мозга касалось в первую очередь верхних цитоархитектонических слоев коры (молекулярный, внешний зернистый, пирамидных клеток) и свидетельствовало о развитии существенных дегенеративных сдвигов [10]. Атрофические изменения носили диффузный характер, но не отличались равномерно-

стью распределения в ткани (чаще тяготели к лобным, височным долям, базальным ядрам, паравентрикулярным зонам). Нередко при стенозах экстракраниальных отделов магистральных артерий в зонах смежного кровоснабжения (участках смыкания периферических ветвей) регистрировались множественные, мелкие инфаркты, приводившие к гранулярной атрофии коры.

К числу важных сопоставимых признаков можно было также отнести явления субэпендимарного глиоза различной степени выраженности. Особенно ярко эти феномены проявлялись при герпесвирусной нейроинфекции. Пролонгированность заболевания, его прогрессирующий характер (на фоне нередко неполноценной диагностики и недостаточной этиотропной терапии [5; 6; 12]) способствовали генерализации очагов, преимущественная локализация которых - субэпендимарные зоны, лобные, височные доли головного мозга, зрительные бугры. Четко определяемые на гистологических препаратах очаги глиоза были представлены диффузными или периваскулярными скоплениями малодифференцированных глиальных клеток. В условиях развития ишемического инсульта со стойкой неврологической симптоматикой микроскопическое исследование выявляло выраженную гибель нейронов с заместительным астроглиозом (очаги неполного некроза в коре). Чем обширнее очаг, тем активнее проявлялось формирование соединительнотканых рубцов, многокамерных кист. Интересным фактом являлось то, что предшествовали этим процессам миграция лейкоцитов с появлением астроцитов, последующей пролиферацией, новообразованием коллагеновых волокон, микрососудов [8; 9]. Развитие пролиферативных явлений сопровождало течение острых нейроинфекций. Перифокальная лимфоплазмоцитарная инфильтрация становилась неотъемлемой чертой ареактивных некрозов.

Сосуды мозга отличались более выраженной устойчивостью как к ишемии, так и к воздействию факторов острой нейроинфекции. Встречались диapedезные кровоизлияния в виде единичных, незначительных по своим размерам, а также множественные с тенденцией к генерализации. Нарушения структуры капиллярной стенки сопровождалась изменениями их просвета, вторичными тромбозами, стазами.

#### Выводы

1. Морфологические маркеры воспалительно-дегенеративных изменений в головном мозге при ишемическом инсульте и герпесвирусной нейроинфекции отличаются дифференциально-диагностической сопоставимостью.
2. По микроскопическим признакам маркеры воспалительно-дегенеративных изменений соответствуют ишемической патологии нейроцитов и нейробиотическим сдвигам глии.
3. Морфологические маркеры демонстрируют зависимость структурных компонентов в цепи: нейротит-микрососуд-глия.
4. К числу наиболее важных морфологических маркеров воспалительно-дегенеративных изменений в

головном мозге при ишемическом инсульте и герпесвирусной нейроинфекции относятся: гиперхроматоз, кариопикноз, вакуольная дистрофия цитоплазмы, хроматолиз нейронов и сопровождающие его процессы, глиозы.

#### Литература

1. Анатомия крысы (лабораторные животные).- Лань, 2001. - 464 с.-ISBN 13: 978-5-8114-0435-3.
2. Антонов П.В. Современное состояние проблемы хронических и медленных нейроинфекций /П.В. Антонов, В.А. Цинзерлинг //Архив патологии.- 2001.- Т. 63.- С. 47- 51.
3. Арушанян Э.Б. Хронобиологические особенности инсульта и защитная роль эпифизарного мелатонина/ Э.Б. Арушанян, С.С. Наумов // Буковинський медичний вісник.- 2009.- Том 13, №4.- С.10- 16.
4. Зозуля Ю.П. Сучасні принципи діагностики та лікування хворих із гострими порушеннями мозкового кровообігу/Ю.П.Зозуля, П.В. Волошин, Т.С. Міщенко та ін. //Методичні рекомендації Міністерства охорони здоров'я, Академії медичних наук України.- Київ, 2005.- 63 с.
5. Исаков В.А. Герпесвирусные инфекции человека/ под редакцией В.А. Исакова.- СПб.: СпецЛит., 2006.- 303 с.
6. Міщенко В.А. Клініко-морфологічні паралелі діагностики герпетичних енцефалітів та менінгоенцефалітів у дітей / В.А. Міщенко, І.І. Торяник //Український вісник психоневрології.- 2003.- Т.11, вип.4 (37).- С.99- 101.
7. Торяник І.І. Морфологічний аналіз причин виникнення важкого менінгоенцефаліту у дорослих як допоміжний чинник диференційної діагностики герпесвірусних менінгоенцефалітів/І.І. Торяник, Г.С. Федорович, Т.В. Федорович та інші //Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології.- 2010.- Вип. 1(97).- С.455- 459.
8. Торяник І.І. Мікроскопічні ознаки як доказовий інструмент у фактах формування та розвитку модельованого ішемічного інсульту в експерименті /І.І. Торяник, В.В. Колесник // Вісник проблем біології та медицини.- 2010.- №2.- С. 174- 178.
9. Торяник И.И. Структурно-функциональные особенности сосудов головного мозга линейных крыс при моделированном ишемическом инсульте /И.И. Торяник, В.В. Колесник //Світ медицини та біології.- 2010.- №3.- С.83- 86.
10. Цымбалюк В.И. Ишемия как пусковой механизм микро и ультраструктурных изменений в цепи нейротит-капилляр-глия /В.И. Цымбалюк, В.В. Колесник, И.И. Торяник //Український нейрохірургічний журнал.- 2010.- №3.- С.65.
11. Durukan A. Ischemic Stroke in Mice and Rats / A.Durukan, T. Tatlisumak //Springer protocols.-2009.- Vol. 573.-P. 95- 114.
12. Kennedy R. Lees. Stroke: success for acute treatment / Lees R. Kennedy //The Lancet Neurology. - 2009. - № 8(1).-P. 2-4.

13. Maikos JT. Mechanical properties of dura mater from the rat brain and spinal cord / JT Maikos, R.A. Elias, D.I. Shreiber // Neurotrauma. - 2008. - 25(1). - P. 38- 51.

14. Wahtgren N. Thrombolysis with alteplase for acute ischemic stroke in the Safe implementation of Thrombolysis in Stroke- Monitoring Study (SITS-MOST): an observational study // N. Wahtgren, N. Ahmed, A. Davalos // The Lancet Neurology. - 2007. - № 369. - P. 275.

**УДК: 616.8-022:616.831+619:576.535**

**ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО-ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ СОПОСТАВИМОСТЬ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ВОСПАЛИТЕЛЬНО-ДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ И ГЕРПЕСВИРУСНОЙ НЕЙРО-ИНФЕКЦИИ (по данным клинико-экспериментальных исследований)**

**Торяник И.И., Колесник В.В.**

В статье представлены результаты изучения дифференциально-диагностической соотносительности морфологических маркеров воспалительно-дегенеративных изменений в головном мозге при ишемическом инсульте и герпесвирусной нейроинфекции. Материалом исследования послужили данные клинико-экспериментальных разработок. Методами морфологического анализа выявлены: гиперхроматоз нейроцитов, фрагментация хроматина, каріопікноз, разрушение митохондрий, деструкция гранулярного и агранулярного ретикулумов, наличие лизосомальных включений, вакуолярная дистрофия. Особое место в дифференциальной диагностике каждой из патологий занимали явления очагового глиоза, скопления клеток-теньей вокруг патологически измененных капилляров. Изменения структуры микрососудов и нейроцитов сопровождалась отеком астроцитарных отростков. Воспалительную реакцию демонстрировали инфильтративные и пролиферативные явления.

**Ключевые слова:** дифференциально-диагностическая сопоставимость, морфологические маркеры, воспалительно-дегенеративные изменения, головной мозг, ишемический инсульт, герпесвирусная нейроинфекция.

**УДК: 616.8-022:616.831+619:576.535**

**ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО-ДИАГНОСТИЧНА СПІВСТАВНІСТЬ МОРФОЛОГІЧНИХ МАРКЕРІВ ЗАПАЛЬНО-ДЕГЕНЕРАТИВНИХ ЗМІН У ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ПРИ ІШЕМІЧНОМУ ІНСУЛЬТІ ТА ГЕРПЕСВІРУСНІЙ НЕЙРОІНФЕКЦІЇ (за даними клініко-експериментальних досліджень)**

**Торяник І.І., Колесник В.В.**

У статті представлені результати вивчення дифференціально-діагностичної співвідносності морфологічних маркерів запально-дегенеративних змін у головному мозку при ішемічному інсульті та герпесвірусній нейроінфекції. Матеріалом дослідження послуговували дані клініко-експериментальних розробок. Методами морфологічного аналізу виявлені: гіперхроматоз нейроцитів, фрагментація хроматину, каріопікноз, руйну-

вання митохондрий, деструкція гранулярного та агранулярного ретикулумів, наявність лізосомальних включень, вакуольну дистрофію. Особливе місце у диференціальній діагностиці кожної із патологій займали явища вогнищового гліозу, накопичення клітин-тінєй навколо патологічно змінених капілярів. Зміни структури микросудин та нейроцитів супроводжувалось набряком астроцитарних відростків. Запальну реакцію демонстрували інфільтративні та проліферативні явища.

**Ключові слова:** диференціально-діагностична співставність, морфологічні маркери, запально-дегенеративні зміни, головний мозок, ішемічний інсульт, герпесвірусна нейроінфекція.

**UDC: 616.8-022:616.831+619:576.535**

**DIFFERENTIAL AND DIAGNOSTIC COMPARIENCE OF THE MORPHOLOGICAL MARKERS OF THE INFLAMMATORY AND DEGENERATIVE CEREBRAL CHANGES IN THE ISCHEMIC STROKE AND HERPESVIRAL NEUROINFECTION (for the data of the clinical and experimental investigations)**

**Torianik Inna I., Kolesnik Vladimir V.**

The studing results of the differential and diagnostic comparience of the morphological markers of the inflammatory and degenerative cerebral changes in the ischemic stroke and herpes virus neuroinfection were presented in the article. The research material were the data of the clinical and the experimental elaborations. With the morphological methods analysis was revealed: hyperchromatism of the neurocyte's, fragmentation of the chromatin, karyopyknosis, destruction of the mitochondrion, the granular and a granular reticulum, availability of the lysosomic inclusion, vacuolar dystrophy. Symptoms of the focal gliosis and the cells-shadow accumulation around the pathologically changed capillary was taken is a special place in the differential diagnostic of each pathology. Microvessels and neurocytes structure changes were been accompanied astrocyte processes oedema. Infiltrative and proliferative symptoms were demon-strated inflammatory reaction.

**Key words:** differential and diagnostic comparience, morphological markers, inflammatory and degenerative changes, brain, ischemic stroke, herpes virus neuroinfection.