

УДК 616.831.31-089.583.29:092.9.259-091.8:612.017.1

Особливості репаративних процесів в головному мозку та змін імунного статусу щурів після локальної кріодеструкції його структур

Лісяний М.І., Марущенко М.О.

Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова АМН України,
Національний медичний університет ім. О.О.Богомольця МОЗ України, м. Київ, Україна

В експерименті вивчено динаміку репаративних процесів в речовині головного мозку (ГМ) та змін імунного статусу щурів після кріо-, електро- та механічного пошкодження його структур. Встановлено, що особливістю кріовпливу на ГМ є формування вираженого вазогенного набряку та порушення кровообігу у мікроциркуляторному руслі (МЦР) на фоні помірно виражених дистрофічних змін у нейронах та гліальних клітинах. Локальна кріодеструкція мозкової речовини викликає стійке порушення гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ) і може призводити до розвитку клітинної нейросенсибілізації до антигенів ГМ та наростання гуморальних аутоімунних реакцій у віддалені строки після кріовпливу. Виявлені нами зміни в імунному статусі піддослідних тварин після кріодеструкції речовини ГМ можуть впливати на перебіг репаративних процесів в ГМ в післяопераційному періоді.

Ключові слова: кріодеструкція, електролітична деструкція, нейросенсибілізація, аутоімунні реакції.

У вітчизняній функціональній нейрохірургії запропоновані та випробувані кілька методів локальної деструкції глибоких структур ГМ та патологічних утворень, провідне місце серед яких посідає стереотаксична кріодеструкція [6, 7, 9, 16]. Результати експериментальних досліджень та клінічних спостережень свідчать, що, у порівнянні з механічним, електричним та хімічним руйнуванням біологічних тканин, вогнище кріовпливу чітко обмежене від навколишніх тканин, холодова дія дозволяє утворювати вогнища некрозу заданих розмірів практично без крововиливів і не спричиняє грубих загальномозкових і перифокальних реакцій [4, 9, 10, 16, 21, 24]. Такі переваги дали можливість застосовувати низькі температури в нейрохірургії з метою лікування захворювань екстрапірамідної системи, епілепсії, в комбінованому лікуванні пухлин головного мозку, больових синдромів, деяких психічних розладів тощо [6, 7, 9, 10, 16, 20].

Розвиток сучасних методів нейровізуалізації, зокрема, комп'ютерної (КТ), магніторезонансної (МРТ) томографії та кріогенної техніки дали новий поштовх до розробки та вдосконалення кріохірургічних втручань в різних галузях медицини, розширили уявлення про динаміку структурних змін у вогнищі кріодеструкції та прилеглих зонах, спонукали до необхідності більш глибокої оцінки можливостей кріометоду в нейрохірургії [16, 18, 22, 23]. Проте, вплив локальної кріодеструкції речовини ГМ на організм в цілому і, зокрема, на імунний статус пацієнтів не вивчений. Лише в окремих дослідженнях простежувалась кореляція між структурними змінами в речовині ГМ та імунному статусу

пацієнтів після локальної кріодеструкції тих чи інших його структур [5, 8, 17].

Однією з перших, хто вивчав цю проблему, була І.В. Ганнушкіна, яка ще в 70-ті роки минулого сторіччя виявила вірогідне підвищення титру мозкових антитіл в крові пацієнтів та дослідних тварин після локального кріопошкодження речовини ГМ, і кріодеструкція була оцінена як хірургічний метод, що може ініціювати нейроаутоімунні процеси [5]. Автор довела, що за умови порушення вихідної імунореактивності організму, патологічних змін імунного статусу пацієнтів після повторної кріодеструкції можливе формування гіперергічної реакції на кріопошкодження ГМ, що зумовлює порушення репаративних процесів в зоні кріовпливу та прилеглих до неї ділянках речовини ГМ. Специфічна десенсибілізація щодо антигенів ГМ в експериментальних тварин позитивно впливала на відновні процеси в ГМ, який очевидно залежав не тільки від титру циркулюючих противозможкових антитіл, а й від активації захисних механізмів в організмі [5].

В подальшому, незважаючи на розвиток методу електронної мікроскопії та досягнення клінічної імунології, ця проблема практично не розглядалася.

Метою роботи стало вивчення репаративних процесів у речовині ГМ та змін імунного статусу у щурів після локальної кріодеструкції його структур у порівнянні з такими при електролітичному та механічному пошкодженні.

Матеріали і методи дослідження. Експериментальна частина проведена на 72 статевозрілих щурах самцях з масою тіла 250–350 г. Тварини розподілені на 3 експериментальні та

1 контрольну групи. Беручи до уваги дані про асиметрію ГМ в регуляції імунних функцій, кріо-, електро- та механічне пошкодження наносили в лівій тім'яно-скроневої ділянці ГМ. Діаметр зони деструкції складав до 2 мм, глибина пошкодження — до 2 мм.

Кріодеструкцію речовини ГМ здійснювали за удосконаленими методиками Т.Вихерт (1968), Е.Канделя (1974), Т.Томінага (1995) з використанням автономного перезарядного кріоапарата вітчизняного виробництва АСК-8 та кріозонда в модифікації Дитячого нейрохірургічного центра [4, 9, 25]. Електродеструкцію здійснювали з використанням пристрою для проведення анодного електролізу за удосконаленою методикою R.Thompson (1971) (навед. за Я. Буреш та співавт. [3]); механічну деструкцію — голкою з використанням інструмента власної конструкції з обмежувачем.

Тварин контрольної та експериментальних груп виводили з експерименту із застосуванням глибокого наркозу ефіром на 7, 14, 30-ту та 60-ту добу. Структурні зміни речовини ГМ оцінювали в зоні деструкції, перифокальній, віддаленій зонах та відповідних ділянках контралатеральної півкулі. Морфологічні зміни на світлооптичному рівні оцінювали з використанням оглядових (забарвлення гематоксилином та еозином, гематоксилином та пікрофуксином) та спеціальних (забарвлення тіоніном за Ніслем та за методом Кульчицького) методик.

Для електронно-мікроскопічних досліджень ультратонкі зрізи речовини ГМ товщиною 60 мкм виготовляли на ультратомах ЛКБ і Рейхардт, для підвищення контрастності дофарбовували за Рейнтгольдсом, вивчали в електронному мікроскопі EM-400T фірми "Phillips".

Зміни імунного статусу щурів оцінювали за динамікою тимічного індексу, індексів співвідношення маси селезінки та надниркових залоз до маси тіла тварини як інтегрального показника, що відображає вплив стрес- та травм-чинників на імунну та ендокринну системи [8, 12, 15]. Проліферативну активність лімфоцитів оцінювали в реакції бласттрансформації (РБТЛ) на Т- та В-мітогени — конканавалін А (КонА, 10 мкг/мл), декстран сульфат (100 мкг/мл), за загальноприйнятими методиками [4]. Нейросенсибілізацію до антигенів ГМ визначали в РБТЛ на мозковий антиген (МА) [19] та за титром антитіл до нейроспецифічних білків (НСБ): основного білка мієліну (ОБМ), білка S-100, нейронспецифічної енолази (NSE). НСБ виділяли з ГМ теляти: ОБМ — за модифікованим методом А.В.Палладіна та співавторів [13], S-100 та NSE — за методом Г.А.Бережного [1, 2]. Титр антитіл до НСБ у сироватці експериментальних тварин визначали за методикою Т.М. Черенько з використанням непрямого імуоферментного методу [19].

Одержані результати обробляли статистично за допомогою програми Biostatistica 4.03 з використанням дисперсного аналізу.

Результати та їх обговорення. Під час оцінки результатів морфологічного дослідження речовини ГМ на 7, 14, 30-ту та 60-ту добу дослідження встановлено, що після кріо-, електро- та механічної деструкції речовини ГМ виникали загальнопатологічні неспецифічні репаративні процеси, однак динаміка структурних змін як в зоні деструкції, так і в перифокальній та віддаленій від впливу ділянках ГМ мала свої особливості.

Так, на 7-му добу в зоні пошкодження після різних видів оперативних втручань переважали деструктивні процеси з вираженим набряком речовини ГМ, руйнуванням клітинних елементів та значним порушенням кровообігу у МЦР.

У перифокальній зоні на 7-му добу після кріодеструкції виявляли стійке порушення кровообігу в МЦР, виражені дистрофічні зміни у збережених нейронах та клітинах глії, грубі порушення синаптичного апарату. На відстані від кріопошкодження дистрофічні зміни помірно виражені, проте, в окремих спостереженнях перивентрикулярно та в зоні підкірки відзначали набряк мозкової речовини, осередки пердіапедезних крововиливів.

Після електродеструкції у клітинах перифокальної зони також переважали деструктивні процеси на фоні порушення кровообігу у МЦР, характерним було скупчення лімфоцитів і макрофагів в стінці ранового каналу, переважання цитотоксичного набряку речовини ГМ над вазогенним.

Найменші структурні зміни спостерігали після механічного пошкодження речовини ГМ. Так, вже на 7-му добу дослідження за даними електронної мікроскопії виявляли чіткі відновні процеси у збережених клітинах, на відстані — основними ультраструктурними змінами в нейронах та глії були внутрішньоклітинний набряк з помірно вираженою деструкцією органел.

Характерними морфологічними змінами в зоні кріопошкодження на 14-ту добу дослідження були початкові ознаки розсмоктування та резорбції детриту, формування демаркаційної лінії між зонами оборотних і необоротних змін в речовині ГМ (рис.1 кольорової вкладки). У перифокальній зоні за даними електронної мікроскопії спостерігали виражений вазогенний набряк речовини ГМ, порушення ендотелію судин МЦР, у збережених нейронах, глії, синаптичному апараті — відновні процеси. Більшість збережених клітин у прилеглих до кріопошкодження ділянках ГМ перебували у стані підвищеної морфофункціональної активності. В окремих спостереженнях на відстані від зони кріодеструкції відзначали масивні крововиливи з ознаками розшарування та відкладенням зерен гемосидерину (рис.2 кольорової вкладки).

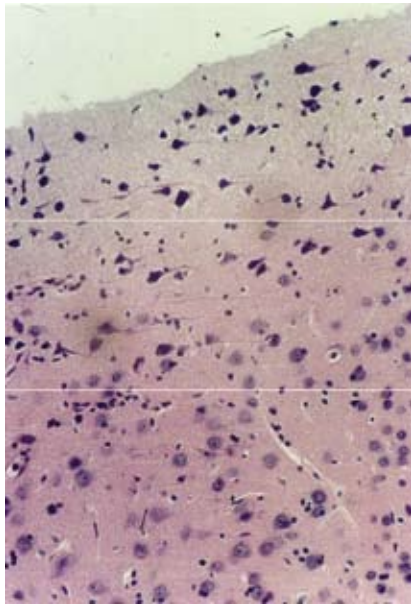


Рис. 1. Мікрофотограма. Кора ГМ на 14-ту добу після кріодеструкції. Формування демаркаційної лінії між зонами оборотних і необоротних змін. Виражений вазогенний набряк. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. $\times 400$

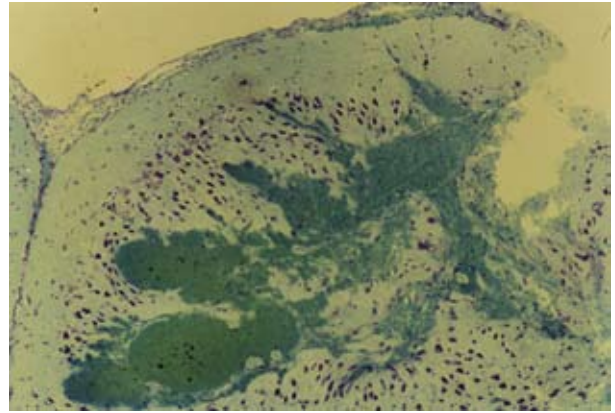


Рис. 2. Мікрофотограма. Кора ГМ на 14-ту добу після кріодеструкції. Зони поширених крововиливів з ознаками розшарування. Забарвлення тійоніном. Зб. $\times 125$

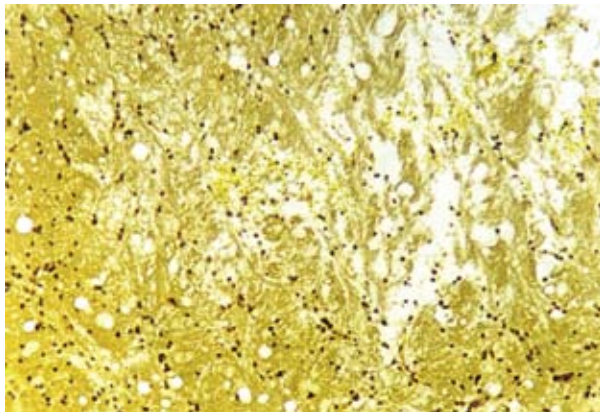


Рис. 3. Мікрофотограма. Кора ГМ на 14-ту добу після електродеструкції. Перифокальна та прилегла до неї зони. Вазогенний набряк з утворенням численних мікрокіст. Активация глії. Забарвлення гематоксиліном та пікрофуксином. Зб. $\times 200$

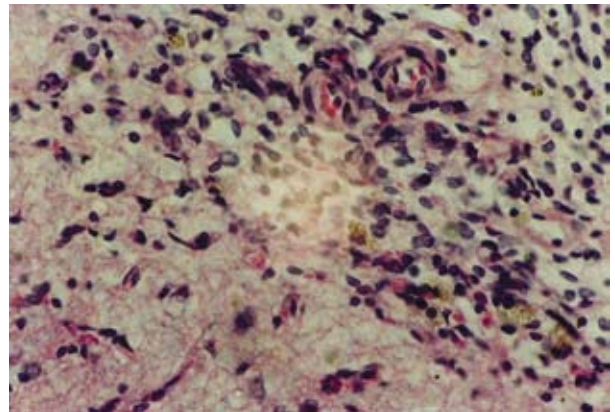


Рис. 4. Мікрофотограма. Кора ГМ на 14-ту добу після механічної деструкції. Початок формування гліального рубця. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. $\times 400$

На 14-ту добу спостереження в зоні електролітичного пошкодження виявляли початкові ознаки формування гліального рубця, у перифокальній та віддаленій зонах — утворення численних мікрокіст. За даними електронної мікроскопії виявляли незначні порушення кровообігу у МЦР, гіперплазію ендотелію його судин, активацію глії (рис.3 кольорової вкладки). Для механічної деструкції на 14-ту добу характерним було формування гліо-мезодермального рубця в зоні пошкодження, проростання новоутворених судин на фоні помірно вираженого порушення кровообігу у МЦР у прилеглих ділянках речовини ГМ (рис.4 кольорової вкладки).

На 30-ту добу дослідження спостерігали ознаки організації в зоні кріопошкодження з формуванням гліомезодермального рубця, у перифокальній та прилеглих до неї ділянках ГМ — виражені відновні процеси, проте, за даними електронної мікроскопії утримувались порушення кровообігу у МЦР, зміни в ендотелію судин, помірно виражений набряк відростків астроцитів (рис. 5).

Після електродеструкції у ці строки спостерігали формування грубого, переважно гліального рубця, у перифокальній зоні — значне відновлення ендотелію судин, активацію глії, скупчення лімфоїдних клітин (рис. 6). Поряд з вираженими відновними процесами в судинах та глії у цій зоні виявляли значну кількість нейронів з деструктивними змінами органел. В окремих спостереженнях на відстані від зони електролітичного пошкодження відзначали резорбцію перинейрональних крововиливів.

У зоні ранового каналу на 30-ту добу після механічного пошкодження спостерігали чіткі межі гліомезодермального рубця, в прилеглих ділянках речовини ГМ — виражені відновні процеси (рис. 7).

На 60-ту добу дослідження в зоні кріодеструкції формувалася кістозна порожнина.

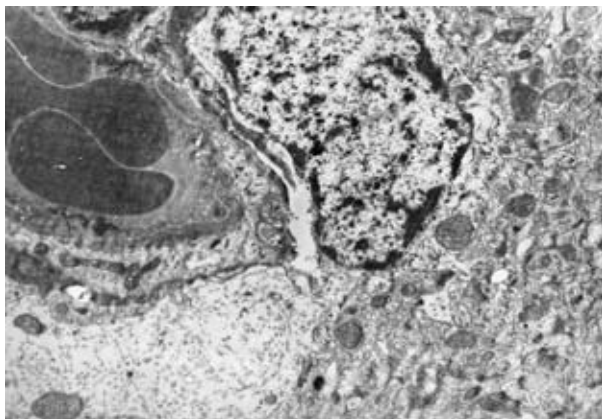


Рис.5. Електроннограма. Кора ГМ на 30-ту добу після кріодеструкції. Зона некробіотичних необоротних змін. Дистрофічні зміни нейрона. Стаз крові в мікросудині. Зб. ×10000

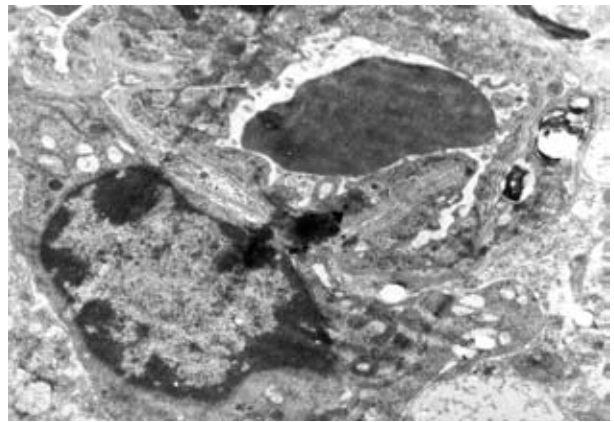


Рис. 6. Електроннограма. Кора ГМ на 30-ту добу після електродеструкції. Перифокальна зона. Функціонально активний гліоцит поряд з функціонально активною мікросудиною. Зб. ×22000

За даними електронної мікроскопії у прилеглих до пошкодженої ділянках ГМ більшість збережених нейронів та клітин глії функціонально активні, лише в окремих спостереженнях виявляли незначні порушення кровообігу в МЦР. В зоні електродеструкції відзначали утворення грубого гліального рубця, на відстані — численні дрібнокістозні порожнини, в окремих спостереженнях — ознаки лейкоенцефаліту та порушення процесів організації. Зона механічного пошкодження на 60-ту добу представлена щільним гліомезодермальним рубцем з інтенсивним утворенням нових судин, на відстані — цитоархітектоніка ГМ відповідала такій у нормі.

На основі результатів аналізу структурних змін речовини ГМ після різних видів локальної деструкції виділені певні особливості. Можна стверджувати, що найбільш стійкі порушення мікроциркуляторного кровообігу в МЦР і більш вірогідні зміни ГЕБ спостерігали після локальної кріодеструкції, оскільки навіть на 30-ту добу

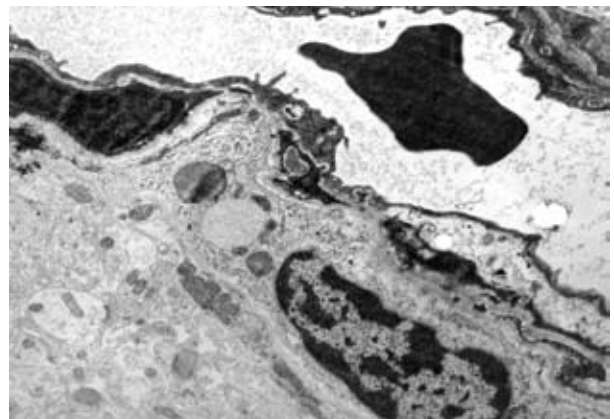


Рис. 7. Електроннограма. Кора ГМ на 30-ту добу після механічної деструкції. Перифокальна зона. Практично не змінена мікросудина. Зб. ×13000

в перифокальній зоні відзначали розлади кровообігу в МЦР, порушення цілісності ендотелію його судин, набряк відростків астроцитів. Після електродеструкції речовини ГМ порушення кровообігу в МЦР не виражені, відновлення ендотелію судин спостерігали на 30-ту добу. Для локальної кріодеструкції характерний стійкий вазогенний набряк речовини ГМ, який має тенденцію до прогресування на 14-ту та 30-ту добу; після електродеструкції, на відміну від кровопливу, на 7-му добу переважав цитотоксичний набряк, на 14-ту — вазогенний.

При оцінці змін в нейронах та глії у відповідь на різні види локальної деструкції виявлено, що локальне механічне пошкодження спричиняє найменш виражені структурні зміни речовини ГМ. Так, вже починаючи з 7-ї доби, у збережених нейронах та глії перифокальної зони спостерігали відновні процеси, а на відстані від зони деструкції основними ультраструктурними змінами були внутрішньоклітинний набряк без виражених деструктивних змін органел в цитоплазмі нейронів та клітин глії на фоні незначних порушень кровообігу в МЦР. Після кріодеструкції початкові відновні процеси у збережених нейронах та глії спостерігали з 14-ї доби, при електродеструкції — навіть на 30-ту добу у більшості нейронів перифокальної зони були виражені дистрофічні зміни, а на відстані від вогнища деструкції у речовині ГМ формувалися дрібнокістозні порожнини.

Вивчені зміни імунного статусу у тварин на 7, 14, 30-ту та 60-ту добу після кріо-, електро- та механічної деструкції кори ГМ.

У відповідь на кріодеструкцію у речовині ГМ відбувалося пригнічення функціональної активності центральних і периферичних імунних органів на 7-му добу дослідження та значна їх активація у подальшому, що проявлялося вірогідним збільшенням тимічного індексу на 14-ту та 60-ту добу, а також співвідношення маси селезінки до маси тіла тварини (табл. 1). Найменший вплив кріодеструкція справляла на ендокринну систему: співвідношення маси надниркових залоз до маси тіла тварини було в

межах показників у контрольній групі протягом усього періоду спостереження.

При електролітичному пошкодженні ГМ спостерігали незначне збільшення тимічного індексу — до $0,06 \pm 0,02$ на 30-ту добу, а також вірогідне зменшення індексу співвідношення маси селезінки до маси тіла тварини — до $0,21 \pm 0,05$ у порівнянні з цими показниками у контрольній групі ($P < 0,05$). Електродеструкція справляла більш виражений, ніж кріодеструкція, вплив на ендокринну систему, що проявлялося значним збільшенням маси надниркових залоз на 14-ту добу у порівнянні з такою у контролі та близьким до вірогідного зменшенням співвідношення маси надниркових залоз до маси тіла тварини на 60-ту добу, середні показники цього індексу в інших дослідних та контрольних тварин становили у середньому $0,05 \pm 0,01$.

При механічному пошкодженні відзначали зменшення зазначених показників на 7-му та 30-ту добу та незначне підвищення — на 14-ту та 60-ту добу. Подібну тенденцію спостерігали і при експериментальній легкій черепно-мозковій травмі, що свідчило про вплив механічного пошкодження на єдину нейро-імунно-ендокринну систему [11, 12, 14, 17].

При порівняльному аналізі впливу кріо-, електро- та механічної деструкції на проліферативну активність лімфоцитів, спонтанну та стимульовану Т- і В-мітогенами, виявлені певні особливості імунної відповіді на різні види оперативних втручань. Так, у відповідь на кріодеструкцію речовини ГМ відбувалося зниження спонтанної проліферативної активності лімфоцитів на 30-ту добу та вірогідна її стимуляція на 60-ту добу ($P < 0,05$). Після механічної деструкції виявили значне зниження спонтанної проліферації лімфоцитів на 7-му та 60-ту добу та її стимуляцію на 14-ту добу. Після електродеструкції спостерігали підвищення спонтанної проліферації лімфоцитів, починаючи з 14-ї доби, на 30-ту добу вона перевищувала показник у контрольній групі більш ніж утричі ($P < 0,001$). На 60-ту добу спостерігали, зниження спонтанної проліферативної активності лімфоцитів, яка корелювала з показниками у тварин після механічного пошкодження речовини ГМ (табл. 2).

Таблиця 1. Зміни тимічного індексу в різні строки після кріо-, електро- та механічної деструкції кори ГМ

Строки дослідження, доба	Тимічний індекс під впливом ($M \pm \delta$)			
	кріодеструкції	електродеструкції	механічної деструкції	контроль
7-ма (n=5)	$0,07 \pm 0,03$	$0,05 \pm 0,02$	$0,07 \pm 0,01$	$0,27 \pm 0,05$
14-та (n=5)	$0,12 \pm 0,03^*$	$0,05 \pm 0,02$	$0,07 \pm 0,01$	$0,06 \pm 0,01$
30-та (n=5)	$0,07 \pm 0,02$	$0,05 \pm 0,02$	$0,05 \pm 0,01$	$0,06 \pm 0,02$
60-та (n=5)	$0,12 \pm 0,04^*$	$0,05 \pm 0,01$	$0,07 \pm 0,01$	$0,04 \pm 0,02$

Примітка. * — різниця показників вірогідна у порівнянні з такими у контролі ($P < 0,05$)

При оцінці функціональної активності Т-лімфоцитів, стимульованої Кон А, вірогідні зміни показників за різних видів локальної деструкції не виявлені. Після кріодеструкції спостерігали стабільні показники протягом всього періоду дослідження з зниженням їх на 30-ту добу та незначним підвищенням — на 60-ту добу. Після електродеструкції виявлено підвищення функціональної активності Т-лімфоцитів, стимульованої Кон А, на 30-ту добу до (38,8±11,7)%, зниження показника на 60-ту добу до (27,33±10,9)%. Після механічної деструкції відзначали зниження проліферативної активності Т-лімфоцитів у відповідь на стимуляцію КонА на 7-му та 60-ту добу спостереження, на 14-ту та 30-ту добу — ці показники були подібні до таких у контрольній групі.

Функціональна активність В-лімфоцитів, стимульованих декстрану сульфатом, у відповідь на кріодеструкцію кори ГМ вірогідно підвищувалася у порівнянні з такою в контролі на 30-ту добу і значно знижувалася — на 60-ту добу ($P < 0,001$). Подібну тенденцію, проте, без вірогідних коливань спостерігали після механічного пошкодження кори ГМ. Найбільш вираженою була відповідь на електrolітичне пошкодження кори ГМ: близьке до вірогідного пригнічення проліферативної активності В-лімфоцитів на 7-му та 30-ту добу та збільшення показників — на 14-ту та 60-ту добу (табл. 3).

Важливим показником змін в імунній системі тварин у відповідь на різні види локальної деструкції речовини ГМ є клітинна нейросенсибілізація до МА. Під час дослідження пролі-

феративної активності лімфоцитів за наявності МА у відповідь на кріодеструкцію речовини ГМ виявлене зниження показника вдвічі у порівнянні з таким у контролі на 7-му добу до (5,6±2,7)% та вірогідне його збільшення на 30-ту та 60-ту добу відповідно до (14,6±7,5)% та (22,0±5,1)% ($P < 0,05$). У відповідь на механічне пошкодження кори ГМ клітинна нейросенсибілізація була виражена незначною мірою вже на 7-му добу та поступово збільшувалася протягом всього періоду спостереження. Після електродеструкції спостерігали найнижчий рівень клітинної нейросенсибілізації, на 7-му та 14-ту добу цей показник був нижчий, ніж у тварин контрольної групи, на 30-ту та 60-ту добу — дещо перевищував його.

Гуморальні аутоімунні реакції оцінювали за титром аутоантитіл до нейроспецифічних білків ОБМ, S-100 та NSE в периферичній крові як маркерів основних клітинних елементів ГМ. Найбільш виражені зміни виникали після кріодеструкції кори ГМ, титр аутоантитіл до ОБМ збільшувався, починаючи з 14-ї доби дослідження. На 60-ту добу він вірогідно перевищував показники в інших дослідних та контрольній групах ($P < 0,001$). При інших видах локальної деструкції титр аутоантитіл до ОБМ змінювався недостовірно, корелював з показниками у контрольній групі (табл. 4).

Титр аутоантитіл до білка S-100, маркера гліальних елементів, зазнавав незначних змін в усі періоди дослідження у відповідь на різні види локальної деструкції речовини ГМ. Близьке до вірогідного та вірогідне його підвищення спостерігали у відповідь на кріодеструкцію кори ГМ

Таблиця 2. Зміни спонтанної проліферативної активності лімфоцитів при різних видах оперативних втручань за даними РБТЛ

Строки дослідження, доба	Функціональна активність лімфоцитів, % під впливом (M±δ)			
	механодеструкції	електродеструкції	кріодеструкції	контроль
7-ма (n=5)	2,6±2,8	5,2±2,9	5,0±3,6	5,0±3,0
14-та (n=5)	11,0±7,6	11,2±7,6	8,4±6,5	12,6±10,6
30-та (n=5)	5,6±3,2	19,0±6,1*	2,0±2,4	5,6±4,5
60-та (n=5)	2,6±2,6	2,3±2,7	11,6±7,7*	5,6±2,5

Примітка. * — різниця показників вірогідна у порівнянні з такими у контролі ($P < 0,05$)

Таблиця 3. Зміни проліферативної активності В-лімфоцитів у відповідь на стимуляцію декстрану сульфатом за даними РБТЛ

Строки дослідження, доба	Функціональна активність В-лімфоцитів, % під впливом (M±δ)			
	механодеструкції	електродеструкції	кріодеструкції	контроль
7-ма (n=5)	42,8 ±11,6	26,6±13,3	43,4 ±12,8	44,6±23,5
14-та (n=5)	50,8± 7,6	47,2±9,3	59,6 ±14,5	41,3±5,6
30-та (n=5)	45,4 ±8,4	33,8±12,5	63,0 ± 13,0	41,0±8,6
60-та (n=5)	34,8 ±8,7	64,1±7,4	24,8 ±12,2*	48,3±5,6

Примітка. * — різниця показників вірогідна у порівнянні з такими у контролі ($P < 0,05$)

на 7-ту та 14-ту добу дослідження — відповідно до $(6,2 \pm 2,5)$ та $(6,1 \pm 0,9)$ ум.од., у контрольній групі в ці строки показник становив у середньому $(4,8 \pm 0,9)$ ум.од. ($P < 0,001$). Після інших видів оперативних втручань титр аутоантитіл до білка S-100 змінювався незначно і корелював з показниками у контрольній групі.

Під час оцінки титру аутоантитіл до NSE, маркера нейронів, не виявлено його вірогідних змін у відповідь на різні види пошкодження кори ГМ. На 7-му та 14-ту добу дослідження спостерігали збільшення титру аутоантитіл до NSE після механічної деструкції кори ГМ, після електро- та кріодеструкції не спостерігали збільшення синтезу аутоантитіл до NSE, їх титр корелював з показниками у контрольній групі. Збільшення титру аутоантитіл спостерігали на 30-ту добу після електродеструкції — до $(17,9 \pm 7,2)$ ум.од. у порівнянні з таким у контролі — $(11,1 \pm 0,9)$ ум.од. На 60-ту добу найбільший титр аутоантитіл до NSE спостерігали у тварин, яким проводили кріодеструкцію кори ГМ, проте, в цілому він незначною мірою перевищував показник у контрольній групі.

Таким чином, оцінюючи вплив різних видів локальної деструкції речовини ГМ на імунний статус щурів, виявлено, що кріодеструкція спричиняє значні функціональні зміни в тимусі щурів, які проявляються вірогідним збільшенням тимічного індексу на 14-ту та 60-ту добу. Під час оцінки впливу різних видів локальної деструкції ГМ на рівень спонтанної та мітогеніндукованої проліферативної активності лімфоцитів встановлено підвищення спонтанної проліферації лімфоцитів після електродеструкції на 30-ту добу, після кріодеструкції виражену активацію спонтанної проліферативної активності лімфоцитів та пригнічення проліферації В-лімфоцитів відзначали на 60-ту добу.

Після електродеструкції і незначною мірою механічної деструкції у 80% спостережень виявляли формування гуморальних аутоімунних реакцій до NSE та ОБМ до 30-ї доби дослідження, які не фіксували на 60-ту добу дослідження. Такі результати свідчили, що пошкодження речовини ГМ при механічній та електролітичній деструкції відбувається без

значної аутоімунної реакції; кріодеструкція — супроводжується вірогідним посиленням клітинної нейросенсибілізації до антигенів речовини ГМ на 30-ту та 60-ту добу та стійким збільшенням титру аутоантитіл до ОБМ з 14-ї до 60-ї доби дослідження. Можна припустити, що після кріодеструкції структур ГМ відбувається таке руйнування клітинних структур, яке забезпечує інтенсивний та тривалий вихід нейроспецифічних антигенів у кров, або ж ці аутоантитіла після кровопливу стають більш імуногенними, що може суттєво впливати на перебіг репаративних процесів.

Висновки. 1. Особливістю кровопливу на ГМ щурів є наявність стійких дисгемічних явищ на фоні помірно виражених дистрофічних змін у клітинах його речовини, в той час, як електродеструкція супроводжується значними дистрофічними змінами в клітинах, а в пізні строки — формуванням численних дрібнокістозних порожнин в речовині ГМ.

2. Локальна кріодеструкція речовини ГМ спричиняє стійке порушення ГЕБ, що підтверджено даними електронної мікроскопії, і може супроводжуватися посиленням клітинної нейросенсибілізації до антигенів ГМ та прогресуванням гуморальних аутоімунних реакцій у віддалені строки після операції, що може мати патогенетичне значення і бути підґрунтям до виникнення різноманітних ускладнень у віддалені строки.

3. Морфоімунологічні зміни у відповідь на різні види локальної деструкції речовини ГМ в експериментальних тварин потребують подальшого підтвердження в клінічній практиці. Вираженість імунної відповіді залежатиме не тільки від виду локальної деструкції, а й від багатьох чинників — основного захворювання, віку пацієнта тощо. Проте, виявлення активації аутоімунних реакцій у відповідь на локальну кріодеструкцію речовини ГМ дає підстави рекомендувати оцінювати імунний статус пацієнтів до операції з метою визначення подальшої лікувальної тактики, і за умови виявлення вихідного високого рівня нейросенсибілізації до антигенів ГМ обирати інший вид оперативного втручання чи проводити курс імунокоригувальної терапії.

Таблиця 4. Динаміка титру аутоантитіл до ОБМ в периферичній крові після кріо-, електро- та механічного пошкодження речовини ГМ

Строки дослідження, доба	Титр антитіл до ОБМ, (ум. од.) під впливом ($M \pm \delta$)			
	механодеструкції	електродеструкції	кріодеструкції	контроль
7-ма (n=5)	13,4±3,8	12,1±4,4	12,6 ±1,6	14,9±1,7
14-та (n=5)	12,5±8,9	9,9±2,1	17,9 ±12,7	12,6±3,2
30-та (n=5)	16,6±13,5	13,2±3,3	21,5 ± 6,0	13,3±1,8
60-та (n=5)	11,7±2,3	13,4±3,4	27,4 ± 7,3*	13,0±4,8

Примітка. * — різниця показників вірогідна у порівнянні з такими у контролі ($P < 0,05$)

Список літератури

1. Бережной Г.А. Прибор для препаратного разделения белков в полиакриламидном геле // Укр. біохім. журн. — 1978. — Т.50, №1. — С.116–120.
2. Березин В.А., Белик Я.В. Специфические белки нервной ткани. — К.: Наук. думка, 1994. — 264 с.
3. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения: Пер. с англ. — М.: Высш. шк., 1991. — С.250–270.
4. Вихерт Т.М., Кандель Э.И., Кукин А.В., Купарадзе Г.Р. Изучение очага внутримозговой деструкции после локального замораживания жидким азотом (экспериментально-морфологическое исследование) // Вопр. нейрохирургии. — 1968. — №3. — С.45–48.
5. Ганнушкина И.В. Иммунологические аспекты травмы и сосудистых поражений головного мозга. — М.: Медицина, 1974.—200 с.
6. Зозуля Ю.П., Лапоногов О.О., Костюк К.Р. Перспективи нейрохірургічного лікування психічних захворювань // Журн. АМН України. — 1997. — Т.3, №1. — С.45–59.
7. Зозуля Ю.П., Лапоногов О.О., Цимбалюк В.І., Костюк К.Р. Сучасні аспекти функціональної нейрохірургії // Мистецтво лікування. — 2004. — №5. — С.4–7.
8. Иммунная система головного мозга / Н.И.Лисяный, В.А.Руденко, И.А. Гнедкова и др.; Под ред. Н.И.Лисяного. — К., 1999. — 216 с.
9. Кандель Э.И. Функциональная и стереотаксическая нейрохирургия. — М.: Медицина, 1981. — 368 с.
10. Лапоногов О.А., Антоненко В.Г. Стереотаксический метод операций в нейрохирургии // Укр. журн. малоінвазив. та ендоск. хірургії. — 1997. — №1. — С.50–53.
11. Лисяний М.І., Руденко В.А., Гнедкова І.О. та ін. Особливості імунних порушень при первинній та повторній черепно-мозковій травмі // Фізіол. журн. — 1997. — Т.43, №5–6. — С.3–9.
12. Малашиха Ю.А., Надареишвили З.Г. Малашиха Н.Ю. Мозг как орган иммунитета // Журн. неврологии и психиатрии. — 1999. — №9. — С.62–64.
13. Палладін А.В., Терлецька Я.Т., Козуліна О.П. Білки структурних утворень тканини головного мозку // Укр. біохім. журн. — 1970. — Т.42, №2. — С.144–154.
14. Ромоданов А.П., Лисяный Н.И. Черепно-мозговая травма и иммунологическая реактивность. — К.: Здоровья, 1991. — 149 с.
15. Руденко В.А., Лисяный Н.И., Черенько Т.М. и др. Диагностика легкой черепно-мозговой травмы // Вопр. нейрохирургии. — 1990. — №2. — С.7–9.
16. Сипитый В.И. Криохирургическое лечение больных с глиальными опухолями полушарий большого мозга. — Х.: Основа, 1994. — 193 с.
17. Старченко А.А. Клиническая нейроиммунология хирургических заболеваний головного мозга: в 2-х частях. — Санкт-Петербургское мед. изд-во, 2001. — Ч.1. — 328 с.
18. Халиков А.Д. Изменение объема и МРТ семиотика зоны криодеструкции после стереотаксических операций на головном мозге // Нейрохирургия и неврология детского возраста. — 2003. — №1. — С.61–64.
19. Черенько Т.М. Сенсibilизация к нейроспецифическим белкам у больных с закрытой черепно-мозговой травмой: Автореф. дис...канд.мед.наук; 14.00.36. — К., 1988. — 152 с.
20. Шабалов В.А., Томский А.А. Хирургическое лечение болезни Паркинсона (часть II) // Нейрохирургия. — 2003. — №4. — С.7–11.
21. Borkunova E.N., Shafranov V.V., Taganov A.V., Tsyganov D.I. Some theoretical aspects of cryosurgery // Cryosurgery. — 2001. — N5. — P.9.
22. Gilbert J.C., Rubinsky B., Roos M.S. et al. MRI-monitored cryosurgery in the rabbit brain // Magnet. Resonance Imag. — 1993. — V.11. — P.1155–1164.
23. Moser R.B., Abbott I.R., Stephens C.L., Lee Y.Y. Computerized tomographic imaging of cryosurgical iceball formation in brain // Cryobiology. — 1987. — N24. — P.368–375.
24. Shafranov V.V., Kobiatsky A.V., Borkunova E.N., Taganov A.V. Method of extension of the volume of cryolesion zone // Cryosurgery. — 2001. — N5 — P.12.
25. Tominaga T., Ohnishi S. Ion movements and edema formation in CNS injury // Central nervous system trauma and research techniques / Eds. S.T. Ohnishi, T. Ohnishi/ — NY.: CRC, Boca Raton, 1995. — P.85–94.

Особенности репаративных процессов в головном мозге и изменений иммунного статуса крыс после локальной криодеструкции его структур
Лисяный Н.И., Марущенко М.О.

В эксперименте изучены особенности репаративных процессов в веществе головного мозга (ГМ) после крио-, электро- и механического повреждения его структур. Установлено, что особенностью криовоздействия на ткань ГМ крыс является формирование выраженного вазогенного отека и нарушений кровообращения в микроциркуляторном русле на фоне умеренно выраженных дистрофических изменений в нейронах и глиальных клетках. После локальной криодеструкции структур ГМ может возникать стойкое нарушение гематоэнцефалического барьера, что обуславливает развитие нейросенсibilизации к антигенам ГМ, прогрессирование гуморальных аутоиммунных реакций в отдаленные сроки после криовоздействия. Изменения иммунного статуса после криодеструкции вещества ГМ могут оказывать влияние на течение репаративных процессов в ГМ в послеоперационном периоде.

Features processes of reparation in cerebral substance and changes of the immune status of rats after a local cryodestruction of brain
Lisyany N.I., Marushchenko M.O.

During an experimental research is revealed features processes of reparations in cerebral substance after cryo-, electro- and mechanical damage of brain. It is established, that feature of cryolysis on a cerebral tissue of rats is the presence of microcirculator damage on a background moderately expressed of distrophic changes in cells of cerebral substance. The local cryolysis of frames of a brain results in damage of BBB and development of cellular neurosensibilisation to antigens of a cerebral tissue, increase of humoral autoimmun reactions in the remote terms after cryolysis, that can essentially influence current of processus of reparations in a brain.