

В.О. Мельник

Вплив імуноглобулінів на морфологію тканини потиличної частки головного мозку при експериментальному алергічному енцефаломієліті

Определяли степень изменения морфологии ткани затылочной части головного мозга лабораторных крыс в условиях индукции экспериментального аллергического энцефаломиелимита (ЭАЭ) путем использования иммуноглобулинов. Животные были разделены на четыре группы. У крыс первых трех групп был индуцирован ЭАЭ, IV группа – интактные животные. Крысам I группы вводили внутривенно иммуноглобулин человека нормальный для внутривенного введения, крысам II группы – иммуноглобулин крысиный, животные III группы были контролем ЭАЭ. У всех животных с индуцированным ЭАЭ определены морфологические изменения гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) и нейронов затылочной доли коры головного мозга по сравнению с интактными крысами. Изменения ГЭБ и нейронов в затылочной коре крыс, которые получали инъекции иммуноглобулина человека нормального и иммуноглобулина крысиного, были менее выражены по сравнению с крысами с ЭАЭ, которые не получали иммуноглобулины. Таким образом, иммуноглобулины оказывают протекторное действие на структуру ГЭБ и нейронов затылочной доли коры головного мозга крыс с индуцированным ЭАЭ.

ВСТУП

Одним з найважливіших напрямків сучасної медицини є вирішення проблем патогенезу й ефективного лікування захворювань, в основі патогенезу яких лежить демієлінізація, насамперед розсіяного склерозу [1, 8]. Морфологічно при цьому захворюванні в нервовій тканині відбувається не лише демієлінізація та ремієлінізація, важливими є також процеси периваскулярного запалення й інфільтрації, що призводить до порушення гематоенцефалічного бар'єра (ГЕБ), а також процеси дегенерації і загибелі нервових клітин головного мозку [4, 6]. Порушення ГЕБ є типовою ранньою ознакою демієлінізуючих захворювань [11]. Вважається, що відкладення фібрину, наявність запальних інфільтратів у судинній

стінці, фрагментація базальної мембрани – це найбільш ранні прояви запальної реакції судин і порушення проникності ГЕБ [9]. Відомо, що останній не лише забезпечує збереження окремого внутрішнього середовища ЦНС, але і виконує певні імунні функції. За умов функціонування цілісного організму, циркуляції в крові активованих клітин, супресорних і активуючих цитокінів, ГЕБ регулює надходження в мозок циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) і імунокомпетентних клітин [3, 6]. Важливою ланкою патогенезу розсіяного склерозу є ураження нервових клітин (перикаріонів) мозку [7]. Загальновизнаною експериментальною моделлю розсіяного склерозу є експериментальний алергічний енцефаломієліт (ЕАЕ) [5]. Один з типових проявів розсіяного склерозу – це ураження зорового

аналізатора. Питання морфології його змін є, безперечно, важливим питанням сучасної експериментальної медицини. Не менш актуальним є вирішення завдання ефективного лікування оптичної нейропатії при цьому захворюванні.

У неврологічній практиці для лікування загострень розсіяного склерозу і з метою максимального подовження періоду ремісії протягом останніх років застосовуються внутрішньовенні імуноглобуліни. Терапевтичний ефект від їх застосування полягає в протизапальній, протиінфекційній, імунорегуляторній і замісній дії [10].

Метою нашої роботи було дослідження впливу внутрішньовенних імуноглобулінів на морфологію структур потиличної частки кори головного мозку у щурів з індукованим алергічним енцефаломієлітом.

МЕТОДИКА

Дослідження проводили на 30 безпородних щурах масою 200 г. ЕАЕ моделювали одноразовим введенням у подушечки лап гомогенату спинного мозку щурів (50 мг на 100 г маси тіла) з додаванням повного ад'юванту Фрейда [2]. Всі тварини були розділені на 4 групи. До I групи ввійшли 12 щурів, які протягом 5 діб з 12-ї по 16-ту після індукції ЕАЕ отримували внутрішньоочеревинно імуноглобулін людини нормальний для внутрішньовенного введення (ЗАТ “ТККПБП Біофарма”) в дозі 0,5 г/кг. Щурам II групи (8 тварин) також з 12-ї по 16-ту добу внутрішньоочеревинно вводили очищений імуноглобулін щура (0,5 г/кг). III група (8 щурів) була контролем ЕАЕ без лікування. До IV групи (2 щура) ввійшли інтактні тварини. Забій і забір матеріалу (мозкова тканина потиличної частки кори головного мозку) проводили на 17-му і 30-ту добу індукції ЕАЕ.

Парафінові зрізи, товщиною 4–6 мкм, отримували за допомогою роторного автоматичного мікротому НМ360 (“Carl Zeiss Jena GmbH”).

Зрізи фарбували діамантовим креси-

ловим фіолетовим, толуїдиновим блакитним за методом Ніссля.

Морфометричний аналіз препаратів, забарвлених за Нісслем, проводили в інтерактивному режимі за допомогою сканування послідовних зображень усіх перикаріонів, що містять контури ядра. Визначали площу та периметр профільного поля перикаріона, його ядра та співвідношення площ ядра та цитоплазми.

Залежно від ступеня морфологічних змін клітин визначали перикаріони з помірними змінами (характеризуються збільшенням розмірів ядра, зміщенням ядерця до ядерної оболонки та хроматоліз) і з виразними змінами (пікноз і рексит ядра) [7].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Прояви ураження нервових клітин потиличної частки кори головного мозку, а також ураження ГЕБ ми спостерігали в усіх зразках матеріалу. Більш значні зміни відбувалися на ранніх строках дослідження (17-та доба), а на пізніх строках – відновні процеси і зменшення уражених структур.

Порушення ГЕБ спостерігалось у вигляді периваскулярного відкладання білків і набряку. На ранніх строках найбільш значний периваскулярний набряк спостерігався у тварин III групи, в I і II групах він був значно меншим, що свідчить про неістотне ураження мікроциркуляторного русла нервової тканини (рис. а, б). У пізній строк (30-та доба) периваскулярний набряк навколо судин мікроциркуляторного русла потиличної частки головного мозку суттєво зменшувався, причому це більшою мірою спостерігалось у тварин I і II груп, у той час, як у III групі порушення ГЕБ були досить значними.

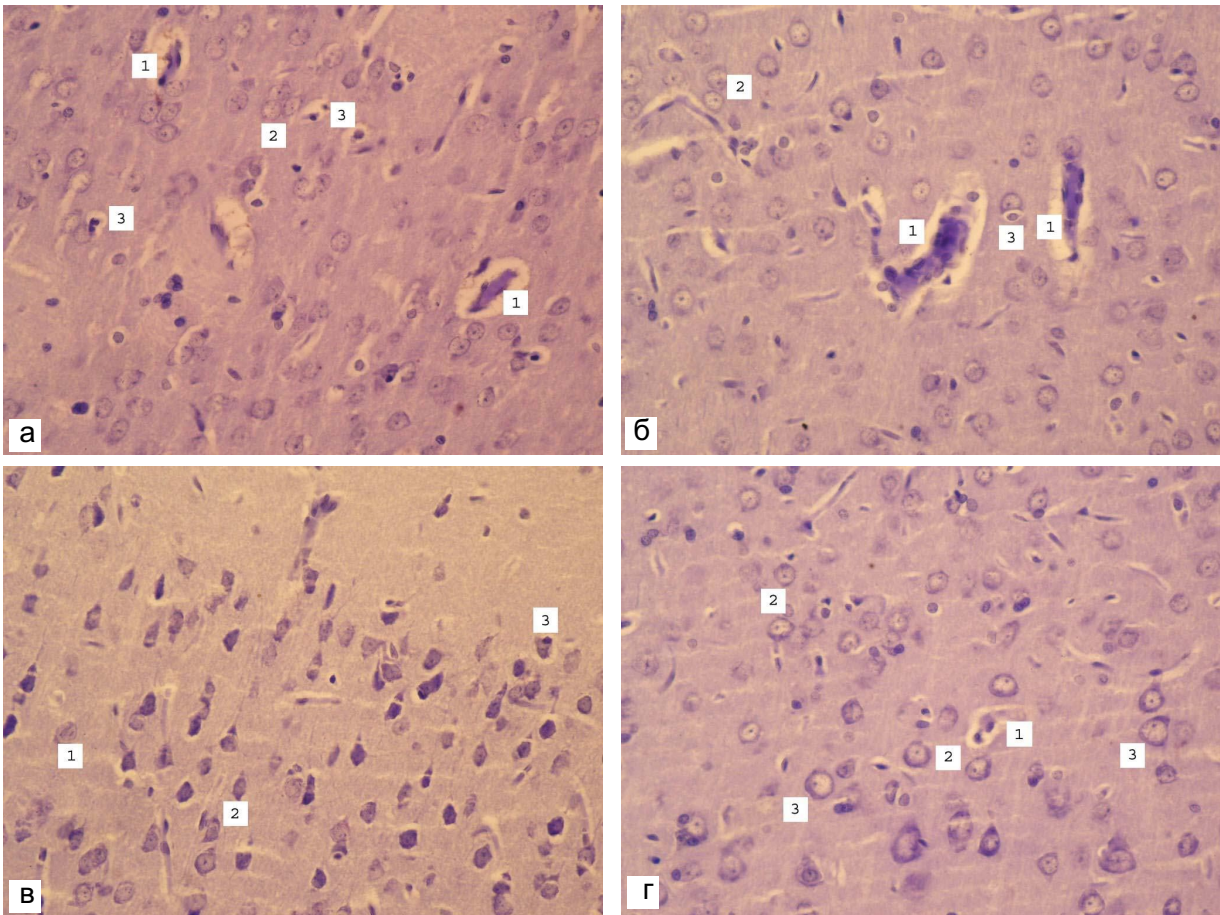
Нами були виявлені морфологічні зміни перикаріонів потиличної частки кори головного мозку щурів з ЕАЕ. У тварин III групи ці зміни були найбільшими. В ранній строк спостереження в цій ділянці кори головного мозку близько 16 % клітин було без ознак морфологічних змін, 74 % перикаріонів було

віднесено до клітин з помірними змінами, і близько 10 % – до клітин зі значними змінами. У пізній строк спостереження в III групі ми спостерігали збільшення числа незмінених клітин до 27 %, зменшення клітин з помірними (68 %) і виразними (5 %) змінами, що може свідчити про процеси спонтанного відновлення структури мозкової тканини.

Водночас морфологічні зміни перикаріонів потиличної частки кори головного мозку щурів I і II груп були меншими. В ранній строк

спостереження неушкоджених клітин було 40 і 43 %, а з помірними змінами – 54 і 52 %, і з виразними змінами – 6 і 5 % відповідно. У пізній строк ми спостерігали збільшення числа неушкоджених перикаріонів до 66 і 67 %, зменшення з помірними змінами до 34 і 33 % відповідно, а також відсутність перикаріонів з виразними змінами (рис. в, г).

Як бачимо з наведених результатів, щури з індукованим ЕАЕ, що отримували в процесі експерименту внутрішньоочере-



Гістологічний зріз мозкової тканини потиличної частки кори головного мозку щурів. Забарвлення діамантовим крезіловим фіолетовим за Ніслем. (ок $\times 10$, об $\times 40$): а – контроль експериментального алергічного енцефаломієліту (ЕАЕ), 17 доба індукції без введення імуноглобуліну. 1 – периваскулярний набряк мозкових судин; 2 – помірно змінені перикаріони; 3 – виразно змінені перикаріони, б – контроль ЕАЕ, 30-та доба індукції без введення імуноглобуліну. 1 – периваскулярний набряк мозкових судин; 2 – помірно змінені перикаріони; 3 – виразно змінені перикаріони, в – щури з ЕАЕ, яким вводили імуноглобулін щура, 17-та доба індукції ЕАЕ. 1 – помірно змінені перикаріони; 2 – незмінні перикаріони; 3 – виразно змінені перикаріони; г – щури з ЕАЕ, яким вводили імуноглобулін людини, 30-та доба індукції ЕАЕ. 1 – периваскулярний набряк мозкових судин; 2 – незмінні перикаріони; 3 – помірно змінені перикаріони

винні ін'єкції внутрішньовенних імуноглобулінів, мають менш ушкоджену структуру судин мікроциркуляторного русла потиличної частки кори головного мозку, що, за даними літератури, призводить до зменшення потрапляння імунокомпетентних клітин і ЦІК у тканини мозку, і, як наслідок, до зменшення ураження нервових клітин [6]. Таким чином, за рахунок своєї імуномодулюючої функції внутрішньовенні імуноглобуліни зменшують ступінь ураження структур мозкової тканини при ЕАЕ. Доцільним є подальше вивчення впливу внутрішньовенних імуноглобулінів на морфологію нервової тканини на експериментальному рівні.

Наші результати можуть стати підставою для обґрунтування доцільності застосування імуноглобуліну людини нормального для внутрішньовенного введення в клінічній практиці лікування оптичної нейропатії при розсіяному склерозі.

ВИСНОВКИ

1. У лабораторних щурів з індукованим ЕАЕ спостерігається ураження структур нервової тканини потиличної частки кори головного мозку у вигляді змін судин мікроциркуляторного русла та перикаріонів.

2. Внутрішньоочеревинні ін'єкції внутрішньовенних імуноглобулінів у дозі 0,5 г/кг з 12-ї по 16-ту добу після індукції ЕАЕ зменшують ступінь ураження судин мікроциркуляторного русла і перикаріонів потиличної частки кори головного мозку щурів.

3. Не спостерігається значної різниці у морфології структур потиличної частки головного мозку щурів, що отримували нормальний імуноглобулін людини для внутрішньовенного введення ЗАТ "ТККПБП Біофарма" і очищений імуноглобулін щура.

V.O. Melnick

IMMUNOGLOBULINE INFLUENCE ON MORPHOLOGICAL STRUCTURE OF BRAIN OCCIPITAL PART UNDER EXPERIMENTAL ALLERGIC ENCEPHALOMYELITIS

We studied the structure of the occipital part of brain in rats with experimental allergic encephalomyelitis (EAE), which were treated with intraperitoneal injections of intravenous immunoglobulin from 12th to 15th day after EAE induction. All rats were divided on three groups: the first group and the second group received human intravenous immunoglobulin and rat immunoglobulin, respectively and the third group serves as a control group. We observed more expressed vascular edema and nervous cells alterations in control group in comparison to the treated groups. Therefore intravenous immunoglobulin improves the state of the occipital part of brain in rats with EAE.

Kyiv city hospital "Centre of eye microsurgery"

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Віничук С.М., Мяловицька О.А. Розсіяний склероз. – Мед. вид-во. – К., 2001. – 55 с.
2. Давыдова Г.С. Применение адьюванта с различным количеством БЦЖ для воспроизведения ЭАЭ у крыс. – В кн.: Острый энцефаломиелит в эксперименте и клинике. – Минск. Наука и техника, 1969. – С. 32–37.
3. Гусев Е.И., Демина Т.А., Бойко А.Н. Рассеянный склероз. – М., 1997. – 485 с.
4. Завалишин И.А., Головкин В.И. Рассеянный склероз. – Детская книга. – М., 2000. – 640 с.
5. Заргарова Т.А., Фаворові О.О. Экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит – модель рассеянного склероза // Иммунология. – 1999. – №2. – С. 5–8.
6. Лисяный Н.И. Иммунология и иммунотерапия рассеянного склероза, ЗАТ „Випос”. – К., 2003. – 252 с.
7. Мельник Н.О., Шобат Л.Б., Чайковський Ю.Б. Морфология органов центральной нервной системы при экспериментальном аллергическом энцефаломиелите та в умовах алопластики сідничного нерва// Буковин. мед. вісник. – 2001. – 5, №1–2. – С. 121–123.
8. Соколова Л.И. Демиелинизирующие заболевания нервной системы // Doctor. – 2002. – №4. – С. 64–70.
9. Adams C., Poston R., Buk S. Inflammatory vasculitis in multiple sclerosis // J.Neural.Sci. – 1985. – 69. – P. 269–283.
10. Fasekas F., Strasser-Fuchs S., Srensen P. Intravenous immunoglobulin trials in multiple sclerosis // Int. MSJ. – 1999. – 5, №1. – P. 14–21.
11. Wakefield A., More L., Difford J., Mc Laughlin J. Immunohistochemical study of vascular injury in acute multiple sclerosis // J.Clin. Pathol. – 1994. – 47. – P. 129–133.

Київ. міська лікарня „Центр мікрохірургії ока”

Матеріал надійшов до редакції 23.06.2005