

© НАДЕЕВ А.П., ПЕРОВА О.В., ТРАВИН М.А., КОЗЯЕВ М.А.

УДК 616.8-091.8

## **ПЕРИНАТАЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ ПРИ ВРОЖДЕННЫХ ЭНЦЕФАЛИТАХ**

А.П. Надеев, О.В. Перова, М.А. Травин, М.А. Козяев

Новосибирский государственный медицинский университет, ректор – д.м.н., проф. И.О. Маринкин; кафедра патологической анатомии, зав. – акад. РАМН В.А. Шкурупий.

***Резюме.** Исследовали головной мозг 24 плодов человека с признаками врожденного энцефалита. При врожденном энцефалите выявили высокую частоту таких форм перинатального нарушения мозгового кровообращения как субэпендимальные (20,8%) и внутрижелудочковые кровоизлияния (16,67%). При врожденном энцефалите в паравентрикулярной зоне отмечали уменьшение клеточности, количества нейронов и глиальных клеток в таламической области вне зародышевого матрикса, увеличение количества клеток, экспрессирующих глиальный фибриллярный белок, свидетельствующие об ускоренной дифференцировке нейроэпителлия паравентрикулярной зоны и ослаблении поддерживающего каркаса первичной капиллярной сети матрикса, а также увеличенную пролиферативную и проапоптотическую активность клеток паравентрикулярной зоны, являющуюся, вероятно, одним из механизмов ее исчезновения.*

***Ключевые слова:** врожденный энцефалит, мозговые кровоизлияния у плодов, паравентрикулярная зона.*

Надеев Александр Петрович – д.м.н., проф. каф. патологической анатомии НГМУ; e-mail: [nadeevngma@mail.ru](mailto:nadeevngma@mail.ru).

Перова Ольга Валерьевна – врач-невропатолог ГБУЗ «Новосибирский областной детский психоневрологический диспансер»; тел. 8(383) 2248513.

Травин Михаил Андреевич – к.м.н., доцент каф. патологической анатомии НГМУ; e-mail: [mtravin@mail.ru](mailto:mtravin@mail.ru).

Перинатальные нарушения мозгового кровообращения обусловлены четырьмя главными причинами – родовой травмой, асфиксией, инфекциями и токсико-метаболическими факторами [2]. Морфологическая картина энцефалитов характеризуется значительным полиморфизмом [7], что обусловлено как полиэтиологичностью энцефалитов [6], так и гетероформным реагированием нейронов в условиях патологии [5]. Вместе с тем, значение врожденного энцефалита определяется высокой летальностью плодов и новорожденных и развитием инвалидности в последующие периоды жизни, в том числе – детских церебральных параличей [6]. Среди форм перинатальных нарушений мозгового кровообращения наиболее тяжелыми являются субэпендимальные (СЭК) и внутримозговые кровоизлияния (ВЖК). Частота этих форм составляет 11,3% и 12,7%, соответственно [2]. В развитии СЭК и ВЖК выделяют повреждающие и предрасполагающие факторы, к последним относят незавершенность редукции первичной капиллярной сети и зародышевого матрикса [2]. Зародышевый матрикс, или паравентрикулярная зона (ПВЗ) развивающегося мозга в период между 26-40 неделями проходит ряд морфологических изменений, связанных с процессами клеточной миграции и дифференцировки и характеризуется разделением приблизительно равномерно густоклеточной зоны (до 28 недели) на темные и светлые области [3]. ПВЗ – это богато васкуляризованная область, имеющая незрелую сосудисто-капиллярную сеть, перестраивающуюся в зрелую после исчезновения ПВЗ. При гестационном сроке от 24 до 32 недель сосуды, кровоснабжающие ПВЗ, по объему значительно больше сосудов коры головного мозга. Капилляры ПВЗ включают эндотелиоциты на тонкой и прерывистой базальной мембране, которая частично окружена отростками астроцитов [8], для которых характерен глиальный фибриллярный белок промежуточного типа (13), немногочисленные перициты [11]. Такое строение делает сосуды ПВЗ «хрупкими», чувствительными к увеличению давления и местной гипоксии,

ведет к субэпендимальным кровоизлияниям, к прорыву крови в боковые желудочки головного мозга [10]. В этой связи изменения в клеточном составе ПВЗ, а также механизмы исчезновения ПВЗ, формирования зрелой капиллярной сети и, соответственно, кровоизлияний при врожденных энцефалитах у плодов человека остаются малоизученными.

Целью исследования было изучение патоморфологических проявлений СЭК и ВЖК, особенностей структурной организации паравентрикулярной зоны в головном мозге у плодов.

### **Материалы и методы**

Исследовали головной мозг 34 плодов человека. Выделили 2 группы плодов: 1-ю группу составили 24 плодов при сроке гестации 24-27 недель, у которых выявляли признаки врожденного энцефалита и менингоэнцефалита. Прерывание беременности носило самопроизвольный характер (50%) и по медицинским показаниям (50%), в основном при сроке гестации 26-27 недель (50%). Мальчиков было 62,5%, девочек – 37,5% наблюдений. Во 2-й (контрольной) группе было 10 плодов при сроке гестации 26-27 недель, полученных после прерывания беременности по медицинским показаниям со стороны матери (психоневрологические нарушения и др.). Для световой микроскопии и иммуногистохимического исследования забирали фрагменты головного мозга, его таламическую область, фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина и проводили по стандартной методике. Готовили серийные парафиновые срезы толщиной 5-7 мкм и окрашивали гематоксилином и эозином по Нисслю [4]. На парафиновых срезах выявляли методом иммуногистохимического типирования с использованием пероксидазной метки при помощи моноклонального антитела GFAP («Novocastra Laboratories Ltd», Великобритания) глиальные клетки; CD 34 – эндотелий сосудов; определяли пролиферативную активность клеток ПВЗ с помощью антител Ki-67, PCNA («Novocastra Laboratories Ltd», Великобритания); апоптоз – p53, маркер антиапоптоза – bcl-2 клеток ПВЗ. Подсчитывали численную плотность ( $N_{ai}$ ) нейронов, глиальных клеток в таламической области, капилляров ПВЗ в области таламуса, общую клеточность

ПВЗ в тестовой площади 25 мкм<sup>2</sup>; абсолютное и относительное количество клеток ПВЗ, положительных при окрашивании на GFAP, Ki-67, PCNA, p53, bcl-2. Для оценки достоверных различий средних значений применяли t-критерий Стьюдента, при  $p < 0,05$  [1].

### **Результаты и обсуждение**

У плодов 1-й (врожденный энцефалит) группы как при самопроизвольном прерывании, так в случаях прерывания беременности по медицинским показаниям врожденный энцефалит был проявлением генерализованной внутриутробной инфекции. При генерализованной внутриутробной инфекции энцефалит сочетался с портальным гепатитом, интерстициально-десквамативной пневмонией, межлечечным миокардитом, продуктивным энтероколитом, акцидентальной инволюцией тимуса разной степени. Основное заболевание осложнялось геморрагическим синдромом с СЭК в 20,8%, ВЖК – 16,67%, а также лептотимингеальными кровоизлияниями (66,67%) и кровоизлияниями в хориальные сплетения (8,33%). В 12,5% у плодов выявляли признаки задержки развития плода.

Патоморфологические изменения в головном мозге при врожденном энцефалите характеризовались очаговым периваскулярным продуктивным и продуктивно-некротическим воспалением, в том числе с образованием гранул, нередко с вовлечением в воспалительный процесс мягких мозговых оболочек. При морфологическом исследовании в таламической области головного мозга отмечали неравномерное полнокровие, очаги микрокровоизлияний, дистрофические изменения нейронов с вакуолизацией цитоплазмы, хроматолиза, сморщивания тел нейронов. В ядрах нейронов изменения были представлены наличием крупных, гиперхромных или гипохромных ядер, явлениями кариопикноза. Вокруг сосудов наблюдали скопления из макрофагов, лимфоцитов, в ряде случаев с примесью нейтрофилов, периваскулярный и перицеллюлярный отек, деструкцию стенок сосудов. В отдельных случаях отмечали гиперплазию глиальных клеток с образованием очаговых скоплений. Учитывая результаты морфологического исследования головного мозга, а также инфекционного поражения

последа в виде виллузита, интервиллузита, базального децидуита в сочетании с острой и хронической плацентарной недостаточностью, и поражения внутренних органов, можно предположить, что основным путем инфицирования плодов был гематогенный, а этиология была, вероятно, вирусной и/или бактериальной природы [7].

ПВЗ у плодов 2-й (контрольной) группы была представлена равномерно расположенными мелкими герминтативными клетками, отграниченная со стороны боковых желудочков эндимиоцитами, с полнокровными сосудами. У плодов 1-й (врожденный энцефалит) группы ПВЗ была представлена неравномерным скоплением зародышевых клеток с очагами сгущения и просветления, полнокровными сосудами.

Тесные структурно-функциональные взаимоотношения нейронов, глиального ретикулума и сосудистой сети головного мозга в процессе нормального функционирования и патологического воздействия позволяет рассматривать мозг как единую нейро-глио-сосудистую систему [5, 8]. Результаты морфометрического исследования клеток и сосудов таламической области вне ПВЗ свидетельствовали, что у плодов 1-й группы (врожденного энцефалита) увеличивалось количество нейронов и глиальных клеток: численная плотность нейронов и глиальных клеток была большей в сравнении с аналогичными показателями у плодов 2-й (контрольной) группы в 1,2 и 2,5 раза, соответственно. В области ПВЗ таламуса экспрессия клетками глиального фибриллярного белка свидетельствовала о процессах дифференцировки зародышевых клеток на нейроны и глиальные клетки, и этот процесс протекал в 1,4 раза интенсивнее у плодов 1-й (врожденный энцефалит) группы, в сравнении с аналогичным показателем у плодов 2-й (контрольной) группы (табл. 1).

Одновременно, у плодов 1-й группы (врожденный энцефалит) наблюдали редукцию капилляров в ПВЗ: их количество было меньшим в 3,4 раза в сравнении с величиной аналогичного показателя у плодов во 2-й (контрольной) группе. Общая клеточность ПВЗ таламической области у плодов 1-й группы была меньшей в сравнении с аналогичным показателем у плодов 2-й группы контро-

ля в 1,33 раза, а их пролиферативная активность увеличена: для PCNA-положительных клеток – в 1,26 раз, для Ki-67-положительных клеток - в 1,86 раз (табл. 2).

Численная плотность клеток ПВЗ, положительно окрашенных на маркер апоптоза p53, в головном мозге плодов в 1-й (врожденный энцефалит) группе была большей в сравнении с величиной аналогичного показателя у плодов 2-й (контрольной) группы в 1,5 раза. При этом численная плотность клеток ПВЗ, экспрессирующих антиапоптотический белок bcl-2 в исследованных группах, не различалась (табл. 3).

Полученные результаты свидетельствуют, что при врожденном энцефалите количество зародышевых клеток в ПВЗ уменьшается, в ней увеличивается количество клеток экспрессирующих глиальный фибриллярный белок, в таламической области вне ПВЗ увеличивается количество нейронов и глиальных клеток, что отражало ускоренную дифференцировку нейроэпителия ПВЗ в нейроны и глиальные клетки [3], и их миграцию из ПВЗ. При воспалительном процессе и в условиях внутриутробной гипоксии была показана повышенная секреция таких цитокинов как IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 [9, 12, 15], оказывающих регулирующее влияние на процессы пролиферации, дифференцировки и миграции клеток из ПВЗ. Повышенная экспрессия апоптоза в нейроэпителиальных клетках ПВЗ плодов 1-й (врожденный энцефалит) группы является, возможно, следствием инфекционного (вирусного) поражения головного мозга, а также повышенной секреции при воспалительном процессе iNO, что, в свою очередь, ведет к уменьшению экспрессии противоапоптотического белка bcl-2 (14). Кроме того, вероятно, что часть клеток ПВЗ мигрирует в другие части головного мозга, а часть погибает апоптозом, являющимся одним из механизмов исчезновения ПВЗ в период новорожденности. Уменьшение сосудов ПВЗ обусловлено, возможно, усилением миграции нейроэпителиальных клеток из ПВЗ, а также, вероятно, с отеочно-деструктивными изменениями вещества маткриса ПВЗ в результате инфекционного процесса. Преждевременная миграция клеток из ПВЗ и их дифференцировка в нейроны и глиальные клетки, в том числе астро-

циты, содержание неполноценный глиальный фибриллярный белок [13], возможно, обуславливают ослабление поддерживающего каркаса незрелых сосудов ПВЗ, что ведет к разрыву и субэпендиальным кровоизлияниям с последующим прорывом крови в боковые желудочки головного мозга [10].

Таким образом, морфологические изменения в головном мозге плодов человека при врожденном энцефалите характеризовались продуктивным и продуктивно-некротическим воспалением, и явились, в большинстве случаев, проявлением генерализованной внутриутробной инфекции. При врожденном энцефалите выявили высокую частоту таких форм перинатального нарушения мозгового кровообращения как субэпендимальные кровоизлияния (20,8%) и внутривентрикулярные кровоизлияния (16,67%). При врожденном энцефалите в ПВЗ отмечали уменьшение клеточности, увеличение количества нейронов и глиальных клеток в таламической области вне зоны ПВЗ, увеличение количества клеток, экспрессирующих глиальный фибриллярный белок, свидетельствующие об ускоренной дифференцировке нейроэпителлия ПВЗ, и ослаблении поддерживающего каркаса первичной капиллярной сети матрикса. При врожденном энцефалите у плодов пролиферативная и проапоптотическая активность клеток паравентрикулярной зоны увеличена, с последним, вероятно, связан один из механизмов исчезновения ПВЗ.

## **PERINATAL DISTURBANCES IN BRAIN BLOOD CIRCULATION IN CONGENITAL ENCEPHALITIS**

A.P. Nadeev, O.V. Perov, M.A. Travin, M.A. Kozyaev

Novosibirsk State Medical University

**Abstract.** We examined 24 fetusbrains with sings of congenital encephalitis. The high frequencies of perinatal disturbances in brain blood circulation were revealed (subependymal- 20.8%, intraventricular hemorrhages- 16.67%). Decreased level of cellularity in the paraventricular zone, number of neurons and glial cells in the thalamus area outside germinalmatrix were found out. The number of cells expressed

GFAP increased that indicates higher differentiation of neuroepithelial cells in paraventricular zone and weakening of the carcass of primarily capillary net of the matrix. Enhancement of the proliferative and proapoptotic activities of the cells in paraventricular zone probably is one of the main mechanisms of paraventricular zone disappearance.

**Key words:** congenital encephalitis, brain hemorrhages in fetus, paraventricular zone.

### Литература

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. – М.: Медицина, 1990. – 256с.
2. Власюк В.В. Родовая травма и перинатальные нарушения мозгового кровообращения. – СПб.: Нестор-История, 2009. – 252с.
3. Внутриутробное развитие человека / Под ред. А.П. Милованова, С.В. Савельева– М.: МДВ, 2006. – 384с.
4. Микроскопическая техника / Под ред. Д.С. Саркисова, Ю.Л. Перова– М.: Медицина, 1996. – 544с.
5. Семченко В.В., Степанов С.С., Алексеева Г.В. Постаноксическая энцефалопатия. – Омск: Омская областная типография, 1999. – 448с.
6. Сорокина М.Н., Скрипченко Н.В. Вирусные энцефалиты и менингиты у детей. – М.: Медицина, 2004. – 416с.
7. Цинзерлинг В.А., Чуховина М.Л. Инфекционное поражение нервной системы. Вопросы этиологии, патогенеза, диагностики. – СПб.: ЭЛ-БИ-МПб, 2005. – 448с.
8. Anstrom J.A., Thore C.R., Moody D.M. et al. Germinal matrix cells associate with veins and a glial scaffold in the human fetal brain // Brain Res. Dev. Brain Res. – 2005. – Vol. 160, № 1. – P. 96-100.

9. Barkho B.Z., Song H., Aimone J.B. et al. Identification of astrocyte-expressed factors than modulate neuronal stem/progenitor cell differentiation // *Stem Cells Dev.* – 2006. – Vol. 15, № 3. – P. 407-421.
10. Ballabh P. Intraventricular hemorrhage in premature infants: mechanism of disease // *Pediatr. Res.* – 2010. – Vol. 67, № 1. – P. 1-8.
11. Braun A., Xu H., Hu F. et al. Paucity of pericytes in germinal matrix vasculature of premature infants // *J. Neurosci.* – 2007. – Vol. 27, № 44. – P.12012-12024.
12. Johansson S., Price J., Mado M. Effect of inflammatory cytokines on major histocompatibility complex expression and differentiation of human neural stem/progenitor cells // *Stem Cells.* – 2008. – Vol. 26, № 9. – P. 2444-2454.
13. Liu X., Bolteus A.J., Balkin D.M. et al. GFAP-expressing cells in the postnatal subventricular zone display a unique glial phenotype intermediate between radial glia and astrocytes // *Glia.* – 2006 – Vol. 54, № 5. – P. 394-410.
14. Semmler A., Okulla T., Sastre M. et al. Systemic inflammation induces apoptosis with variable vulnerability of different brain regions // *J. Chem. Neuroanat.* – 2005. – Vol. 30, № 2-3. – P. 144-157.
15. Taga T., Fukuda S. Role of IL-6 in the neural stem cell differentiation // *Clin. Rev. Allergy Immunol.* – 2005. – Vol. 28, № 3. – P. 249-256.