

УДК [616.831.31-001.3-092.9:612.017.34] +615.214.2

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОРЫ БОЛЬШОГО МОЗГА
ПРИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ И ИХ КОРРЕКЦИЯ
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЦЕРЕБРОЛИЗИНА**

Э.М. Мамытова, Т.К. Кадыралиев., Э.К. Жолдошев

Представлены результаты экспериментального исследования, целью которого являлось изучение влияния Церебролизина на патоморфологические изменения структур мозга в посттравматическом периоде.

Ключевые слова: Церебролизин; черепно-мозговая травма; патоморфологические нарушения; структуры мозга.

**STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHANGES IN CEREBRUM CORTEX
AFTER TRAUMATIC BRAIN INJURY AND THEIR CORRECTION WITH CEREBROLYSIN**

E.M. Mamytova, T.K. Kadyraliev, E.K. Dzholdoshev

There are presented the results of experimental research aimed at study the influence of Cerebrolysin on pathological changes of brain structure in posttraumatic period.

Key words: Cerebrolysin; traumatic brain injury; brain structure; pathological changes.

Актуальность. В общей структуре травматизма повреждения центральной нервной системы составляют до 30–40 %, а среди причин инвалидизации населения, наступивших вследствие всех травм, они выходят на первое место, составляя 25–30 % [1–4].

Восстановление функции поврежденного головного мозга является чрезвычайно актуальной проблемой. Основные направления современных исследований – поиск возможностей предотвращения вторичного повреждения головного мозга, а также выявление условий регенерации и восстановления функции поврежденных клеток [5, 6].

Несмотря на понимание этих процессов и появление новых фармакологических средств, успешных клинических исследований по терапии черепно-мозговой травмы (ЧМТ) пока невелики [6, 7]. Неудачи объясняются многими причинами. Это и определение времени “терапевтического окна”, и выбор необходимой дозировки препарата и правильной “мишени” для терапии, и упущения в дизайне клинических исследований [8–10]. Исследования, посвященные этой теме, начаты недавно, и в будущем полученные результаты могут помочь в создании новых методов лечения ЧМТ.

Учитывая, насколько сложным с точки зрения патофизиологии является процесс гибели клеток,

включающий самые разные биохимические механизмы, есть основания полагать, что воздействие на эти механизмы может дополнительно повлиять на выживаемость нейронов.

Сейчас выходом из сложившейся ситуации является использование лекарственных препаратов с предполагаемой нейропротективной активностью и известным симптоматическим действием. Такие препараты можно рассматривать также как средства, повышающие эффективность ранней реабилитации пациентов с тяжелым травматическим повреждением головного мозга. Практический врач должен хорошо представлять себе современное состояние дел в области нейропротекции и опираться на эти знания в лечении пациентов.

Целью настоящего исследования явилось изучение морфологических изменений в коре головного мозга травмированных крыс в различные сроки (1-е, 7-е, 14-е, 21-е сутки) после тяжелой черепно-мозговой травмы с последующим использованием нейропротектора Церебролизин.

Материалы и методы исследования. Исследования проводились в условиях хронического эксперимента на 24 половозрелых белых крысах массой от 180 до 220 г, которых содержали в индивидуальных боксах с естественной 12-часовой сменой света и темноты, влажностью

воздуха 60 % и его температурой $22 \pm 1^\circ \text{C}$, со свободным доступом к воде и пище. Работу с лабораторными животными проводили с соблюдением основных нормативных и этических требований к проведению лабораторных и иных опытов с участием экспериментальных животных разных видов. Данная работа была одобрена комиссией по этическому проведению экспериментальных исследований. Для моделирования ЧМТ применяли пружинный ударник, который экспериментальным путем (по последствиям) откалиброван для нанесения крысам тяжелой ЧМТ. В момент нанесения травмы животное кратковременно прижимали к поролоновой прокладке, чем добивались горизонтального расположения поверхности свода черепа. Животным с помощью ударника наносили тяжелую ЧМТ в теменно-затылочной области правого полушария головного мозга. Из 24 животных, у которых была моделирована тяжелая черепно-мозговая травма, погибло 7. Это подтверждается клиническим течением посттравматического периода, а также морфофункциональными изменениями головного мозга. Экспериментальные наблюдения проводили на следующих группах животных. Животных контрольной группы ($n = 12$) фиксировали, наносили травму. Этим животным в течение 10 дней один раз в день утром внутривентриально (в/б) вводили 0,1 мл 0,9%-ного физиологического раствора. Животным основной группы ($n = 12$) с ЧМТ в течение тех же 10 дней в/б вводили Церебролизин в дозе 0,1 мл (Ever Neuro Pharma, Австрия) так же, как и животным контрольной группы 1 раз в день утром. Церебролизин вводился через 30 минут после нанесения травмы.

Декапитацию крыс с последующим патоморфологическим изучением ткани мозга проводили на 1-е, 7-е, 14-е и 21-е сутки с момента нанесения ЧМТ (по 12 крыс из каждой группы в отмеченные временные интервалы). Забой животных осуществляли внутривентриальным введением тиопентала натрия (100 мг/кг).

После декапитации быстро вскрывали череп, удаляли головной мозг, который промывали в физиологическом растворе и помещали в 5–10%-ный нейтральный забуференный раствор формалина при pH 7,2–7,4. Приготовленные при помощи микротомы фронтальные срезы головного мозга площадью 0,5–1 см², взятые на уровне брегмы, сначала подвергали действию спиртов с возрастающей концентрацией (70°, 80°, 90°, 96°, 100°), после чего их заливали в парафин в соответствии с требованиями по стандартной методике для световой микроскопии. Из приготовленных блоков готовили в дальнейшем срезы толщиной 5–7 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Наличие

качественных морфологических изменений в тканях головного мозга оценивали при помощи светового микроскопа “Zeiss” (Германия).

Для электронно-микроскопического исследования в течение 5 мин после выведения животных из эксперимента забирали кусочки ткани головного мозга из поврежденного и контралатерального полушарий. Кусочки ткани фиксировали в 2,5%-ном растворе глутаральдегида с последующей дофиксацией в 1%-ном растворе осмиевой кислоты на фосфатном буфере при pH 7,4. Материал обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и заключали в смесь эпоксидных смол эпон-аралдит. Из эпоксидных блоков изготавливали ультратонкие срезы с помощью ультрамикротомов “TeslaBS-490” и ХКВ (Швеция). Для повышения контрастности ультратонкие срезы контрастировали раствором уранил-ацетата и цитрата свинца и просматривали в электронном микроскопе ПЭМ-100 (Япония). Для прицельного ультратомирования и углубленной оценки изучаемых процессов в ткани мозга из эпоксидных блоков изготавливали полутонкие срезы толщиной до 1 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином и толудиновым синим и просматривали в светооптическом микроскопе фирмы “Оптон” (Германия). Идентификацию наблюдаемых в ткани мозга процессов проводили путем морфометрической обработки полутонких срезов (гистологическое исследование) и электронограмм.

Результаты и их обсуждение. У животных обеих групп в коре большого мозга травмированного полушария в раннем посттравматическом периоде (1–7-е сутки) были выявлены структурные признаки нарушения микроциркуляции, которые проявлялись расширением просвета микрососудов, заполненные агрегированными, сладжированными и агглютинированными клетками крови.

Основными структурными типами дистрофически и некробиотически измененных нейронов были гипохромные, гиперхромные несморщенные, сморщенные (пикноморфные) нейроны и клетки апоптозно измененные.

По данным световой и электронной микроскопии, в первые 7 суток у животных с тяжелой ЧМТ основной группы и группы контроля преобладали дистрофические изменения нейронов (острое набухание нейронов, гидropическая дистрофия нервных клеток с умеренной вакуолизацией цитоплазмы, очаговый и тотальный хроматоллиз, гиперхроматоз и гомогенизация цитоплазмы), а также апоптозастроцитов и распад значительного числа околонеуронных астроцитарных терминалей (рисунок 1).

Вокруг очагов травматического повреждения и в отдаленных отделах вещества мозга имели мес-

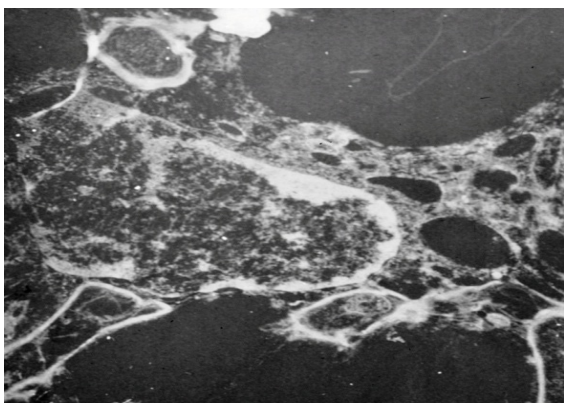
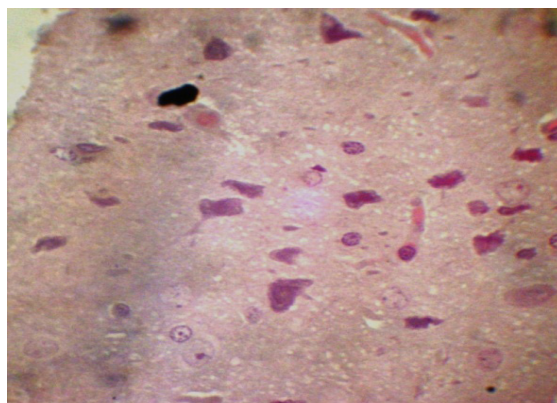


Рисунок 1 – Кора головного мозга крысы. ЧМТ тяжелой степени. 1-е сутки. Контроль. Нейрон имеет ядро с конденсированным и диффузным хроматом. Отмечается образование крупных гидропических вакуолей в нейропилеastrocyта. В нейропиле видны миелинизированные аксоны. Электроннограмма. Негатив. Увеличение $\times 10000$



то вакуолизация и расширение периваскулярных и перинейрональных пространств, которые отражали явления диффузного отека мозга.

Признаки гидропического набухания выявлялись также в цитоплазме астроцитов и олигодендроцитов.

В более поздние сроки посттравматического периода (14–21-е сутки) в большинстве нейронов дистрофические изменения выражались в виде гомогенизации и сморщивания цитоплазмы, редукции отростков, гипохромии ядер с краевой конденсацией хроматина, что отражает наличие признаков апоптоза (рисунок 2).

На 21-е сутки дистрофически измененные нейроны коры головного мозга характеризовались активацией восстановительных процессов. Об этом свидетельствовало появление признаков репаративных изменений в этих нейронах, которые проявлялись восстановлением тинкториальных свойств цитоплазмы, гиперплазией и гипертрофией субклеточных элементов митохондрии, лизосомы, рибосомы, гипертрофией сомы, ядра, увеличением ядерно-цитоплазматического отношения за счет образования инвагинаций ядерной мембраны, количества ядрышек.

Морфологическое исследование ткани мозга животных на фоне лечения Церебролизином показало, что на 14–21-е сутки по сравнению с нелеченными животными структурные изменения были менее выраженными. Общая микроструктура коры и вещества мозга сохраняла характерную архитектуру. Характер действия Церебролизина на нейроглию при ЧМТ проявлялся значительным

снижением гибели нейронов и глиальных клеток в коре мозга и повышением их морфофункциональной активности (повышение содержания РНК), торможением апоптоза.

Уменьшалось общее содержание гипохромных и гиперхромных нейронов. При этом максимальные различия содержания гиперхромных нейронов отмечалось через 14 суток после ЧМТ. Но, тем не менее, встречались нейроны с гиперхромией ядер и гомогенизацией цитоплазмы.

Общая численная плотность нейронов в группе животных с Церебролизином была выше, чем в группе без Церебролизина, а максимальные различия отмечались через 21 сутки после ЧМТ.

Обращают на себя внимание неповрежденные или вышедшие из патологического состояния нейроны со структурными признаками высокой функциональной активности и проявлениями внутриклеточной репаративной регенерации путем гиперплазии его структурных компонентов.

При использовании Церебролизина значительное количество таких нейронов было выявлено уже через 14 суток после ЧМТ, а без Церебролизина – только через 21 сутки. Для подобных нейронов была характерна гиперплазия органелл цитоплазмы (повышенное содержание рибосом, элементов системы “аппарат Гольджи – эндоплазматический ретикулум – лизосомы”) (рисунок 3). Этот же процесс наблюдался и клетках глиального типа – астроцитах и олигодендроцитах.

Мы полагаем, что именно за счет этих активированных нейронов в посттравматическом периоде осуществлялось структурно-функциональное

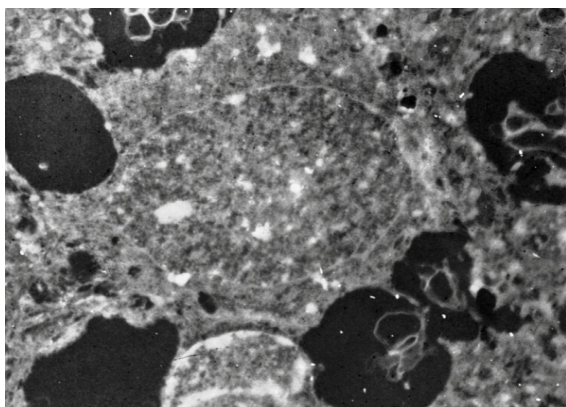


Рисунок 3 – Кора головного мозга крысы. ЧМТ тяжелой степени. 14-е сутки. Основная группа (Церебролизин). Отмечается увеличение количества рибосом в цитоплазме нейрона. Ядро с диффузным хроматином и отчетливо выраженным ядрышком. Электроннограмма. Негатив. Увеличение $\times 10000$

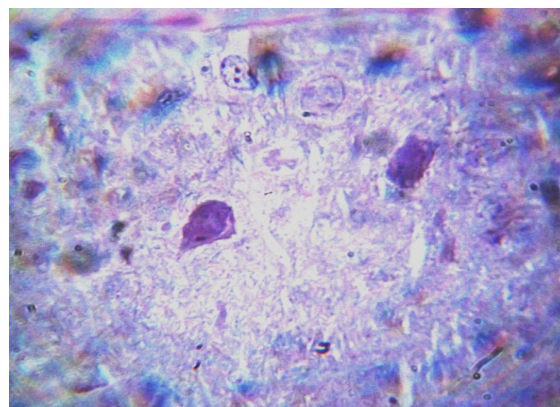


Рисунок 4 – Кора головного мозга крысы. ЧМТ тяжелой степени. 14-е сутки. Основная группа (Церебролизин). Структуры нейронов отчетливо выражены. Диффузный и конденсированный без заметных изменений. Имеются явления интерстициального отека. Олигодендроциты и клетки глии сохранены. Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим. Увеличение $\times 900$

восстановление функциональных систем мозга и существовала возможность формирования новых объемных локальных и мультимодульных нейронных сетей путем реорганизации межнейронных отношений.

Следует отметить также значительное уменьшение количество апоптотных клеток (рисунок 4).

Выводы

1. Показано, что в результате лечения Церебролизином у крыс с тяжелой ЧМТ объем некротических изменений и количество дистрофированных нейронов и клеток глии в коре травмированного полушария меньше, чем у контрольных крыс, не получавших лечения нейропротектором.

2. Наряду с деструктивными процессами в посттравматическом периоде продолжают репаративные процессы, которые более активно протекали в основной группе. Репарация частично пораженного нейрона, глиальных клеток и аксона осуществляется путем внутриклеточной регенерации. В основе усиленного функционирования этих систем лежат гипертрофия нейронов и гиперплазия глии.

Литература

1. Боева Е.М. Врачебно-трудовая экспертиза, социально трудовая реабилитация инвалидов вследствие черепно-мозговой травмы: метод. рекоменд. для врачей ВТЭК / Е.М. Боева, Л.П. Гришина. М., 1991. 22 с.

2. Коришонов А.Г. Прогностическое значение онкоассоциированных белков и апоптоза в глиобластомах больших полушарий головного мозга / А.Г. Коришонов, А.В. Голанов, Р.В. Сычева и др. // Вопр. нейрохирургии. 1999. № 1. С. 3–7.
3. Борохов Д.З. Прогностический медико-социальный потенциал трудоспособности как показатель здоровья населения / Д.З. Борохов // Советское здравоохранение. 1990. № 9. С. 38–41.
4. Зяблов В.И. Проблемные вопросы регенерации нервной системы / В.И. Зяблов. Симферополь, 1986. 38 с.
5. Jackson I.M. The thyroid axis and depression // Thyroid. 1998. Vol. 8. P. 951–958.
6. Лиознер Л.Д. Регенерация и развитие / Л.Д. Лиознер. М.: Наука, 1982. 167 с.
7. Wronski R., Tompa P., Hutter-Paier B. et al. Inhibitory effect of a brain derived peptide preparation on the Ca-dependent protease, calpain // J Neural Transm 2000; 107: 145–157.
8. Гусев Е.И. Ишемия головного мозга / Е.И. Гусев, В.И. Скворцова. М.: Медицина, 2001. 327 с.
9. Chacon M.R., Jensen M.B., Sattin J.A., Zivin J.A. Neuroprotection in cerebral ischemia: emphasis on the SAINT trial // Curr Cardiol Rep 2008; 10 (1): 37–42.
10. Tolia C., Bullock R. Critical appraisal of neuroprotection trials in head injury: What have we learned? The Journal of the American Society for Experimental Neuro Therapeutics 2004; 1: 71–79.