

УДК 616.714:616.831-001.3/.4]:615.214.2

## ЧЕРЕПНО-МОЗГОВАЯ ТРАВМА И СТРУКТУРНЫЕ МИШЕНИ ЕЕ ПРОТЕКЦИИ

*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.

---

## TRAUMATIC BRAIN INJURY AND STRUCTURAL TARGETS FOR ITS PROTECTION

*E.M. Mamytova, T.K. Kadyraliev, E.K. Joldoshev*

There were presented results of experimental trauma, the purpose of which was to study influence of Cerebrolysin on pathomorphological changes of brain structural in acute posttraumatic period.

*Key words:* Cerebrolysin; traumatic brain injury; pathomorphological changes; brain structure.

**Актуальность.** Показано, что после черепно-мозговой травмы (ЧМТ) в мозге инициируется сложный процесс, который сопровождается выраженными сосудистыми и морфологическими нарушениями [1]. По данным ряда авторов, вследствие травматического повреждения мозга запускаются каскадные необратимые морфофункциональные дистрофические и некротические процессы, которые во многом определяют выраженность моторных и когнитивных нарушений в посттравматическом периоде [2]. Считается, что именно морфологические изменения паренхимы мозга вследствие механического воздействия на его ткань во многом определяют характер и выраженность последствий ЧМТ [3–6].

Понимание механизмов гибели нейрона при различных заболеваниях ЦНС и их фармакологическая регуляция являются одной из центральных проблем современной неврологии во всем мире [7]. Несмотря на интенсивность исследований и определенные успехи в этой области, актуальность данной проблемы не снижается, поскольку нейродеструктивные патологии ЦНС занимают ведущее место в структуре инвалидизации и смертности населения развитых стран.

Большая часть терапевтических средств для лечения ЧМТ, исследованных к сегодняшнему дню, оказалась неэффективной, возможно, из-за того, что все они были нацелены на один патогенетический фактор, в то время как ЧМТ включает

в себя множество клеточных и молекулярных механизмов.

По результатам имеющихся на сегодняшний день доклинических и клинических исследований, пептидергические средства с плейотропным и нейропротективными эффектами и мультимодальной нейрорегенераторной активностью являются наиболее подходящими кандидатами для улучшения острых исходов и долгосрочного восстановления после травматического повреждения головного мозга.

В связи с этим интересным является исследование активности Церебролизина при моделировании травматического повреждения головного мозга и установление способности Церебролизина влиять на процессы гибели нейрональной клетки.

**Материалы и методы исследования.** Эксперименты выполнены на 24 беспородных половозрелых белых крысах массой от 180 до 220 гр в стандартных условиях вивария с учетом требований к работе с экспериментальными животными. В ходе эксперимента соблюдались все правила работы с лабораторными животными (приказ МЗ СССР № 755 от 12.08.77 “О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных”).

Животных содержали в индивидуальных боксах с естественной 12-часовой сменой света и темноты, влажностью воздуха 60 % и его температурой  $22 \pm 1$  °С, со свободным доступом к воде

и пище. С целью приручения перед началом эксперимента крыс держали в руках по 2–3 мин в течение 5 дней, что облегчало последующие экспериментальные исследования с животными. Работу с лабораторными животными проводили с соблюдением основных нормативных и этических требований к проведению лабораторных и иных опытов с участием экспериментальных животных разных видов. Для моделирования ЧМТ применяли пружинный ударник, который экспериментальным путем (по последствиям) откалиброван для нанесения крысам легкой ЧМТ.

В момент нанесения травмы животное временно прижимали к поролоновой прокладке, чем добивались горизонтального расположения поверхности свода черепа. Животным с помощью ударника наносили легкую ЧМТ в теменно-затылочной области правого полушария головного мозга. После нанесения удара крысы, как правило, впадали в легкое бессознательное состояние сознания в течение промежутка времени до 30 секунд или сознание не нарушалось вообще. В течение нескольких минут крысы оставались заторможенными, дезориентированными, вялыми. Затем, в течение первого часа, их состояние улучшалось.

Животным контрольной группы ( $n = 12$ ) 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.

Мозг забирали у контрольных крыс и крыс экспериментальной группы через 1, 7, 14 и 21 сутки после травмы. Забой животных осуществляли внутривентриальным введением тиопентала натрия (100 мг/кг).

Извлеченный из полости черепа целый мозг фиксировали в 20%-ном растворе формалина. Из фиксированного мозга вырезали фронтальные блоки, которые обрабатывали по стандартной методике. Из полученных блоков готовили серийные срезы толщиной 5–7 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином. Окрашенные препараты просматривали на светоптическом микроскопе “Zeiss” (Германия). Для электронно-микроскопического исследования после умерщвления животных (в течение 5 минут) забирали кусочки ткани головного мозга из поврежденного и контрлатерального полушарий. Кусочки ткани фиксировали в 2,5%-ном растворе глутаральдегида с последующей фиксацией в 1%-ном растворе осмиевой кис-

лоты на фосфатном буфере при pH 7,4. Материал обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и заключали в аралдит. Из эпоксидных блоков готовили ультратонкие срезы на ультратомах “TeslaBS-490” и ХКВ (Швеция). Ультратонкие срезы после контрастирования цитратом свинца и уранилацетатом просматривали на электронном микроскопе ПЭМ-100. Для прицельного ультрамикротомирования и углубленной оценки процессов, происходящих в ткани мозга, из эпоксидных блоков готовили полутонкие срезы толщиной 1 мкм, которые окрашивали толуидиновым синим и гематоксилин-эозином и просматривали их на светоптическом микроскопе.

**Результаты и их обсуждение.** В ранние сроки после экспериментальной ЧМТ (первые 7 суток) в обеих исследуемых группах морфологические изменения в нейронах идентичны. В нейронах коры головного мозга животных обеих групп преобладали гидропические изменения. В осветленной нейроплазме обнаруживались губчатая пенистость и отдельные вакуоли, ядра обычно были эктопированы, измененной формы, осветленные либо пикнотичные, некоторые из них утратили ядрышко. Встречались гиперхромные нейроны с признаками пикноморфного набухания, реже начинающегося сморщивания, с плохо различимым ядром и ядрышком, с извитыми, деформированными отростками. Обнаруживались также единичные нейроны с нечеткими контурами, прогрессирующим кариоплазмоцитоллизом, практически утратившие ядро. Возле измененных нейронов обнаруживались единичные сателлиты. Рядом с ними выявлялись гипохромные нейроны, количество которых было больше у крыс контрольной группы. В контрольной группе наблюдалось нарастание деструктивных процессов в нейронах. Усиливается гипохромия, вакуолизация цитоплазмы, деформация клеточной мембраны, перичеллюлярный и периваскулярный отек (рисунок 1). Описанные изменения в группе контроля наблюдались в сроки до 14 суток.

По данным электронно-микроскопического исследования нейронов коры головного мозга животных контрольной группы с учетом морфометрического состояния внутриклеточных органелл, наблюдали обратимые изменения, которые выражались в вакуольном перерождении эндоплазматического ретикулума и незначительном уменьшении количества рибосом. Площадь, занимаемая хроматином и митохондриями в пределах нормальных величин (рисунок 2).

И лишь на 21-е сутки эксперимента у животных группы контроля в контрлатеральном полушарии

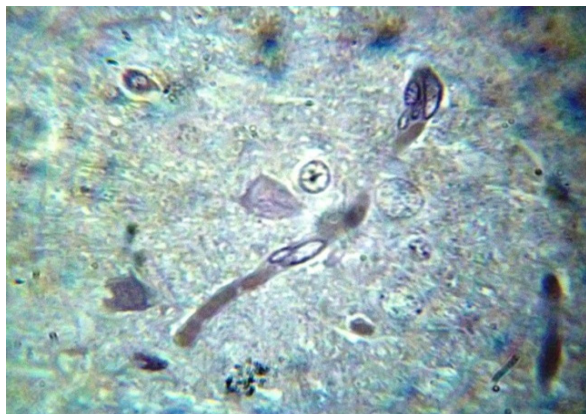


Рисунок 1 – Кора головного мозга крысы. ЧМТ легкой степени через 14 суток. Контроль (без лечения). Отмечается полнокровие микрососудов. Отек интерстициальной ткани вещества мозга. Очаговый хроматолиз нейронов. Клетки глии сохранены. Окраска толуидиновым синим. Увеличение  $\times 480$

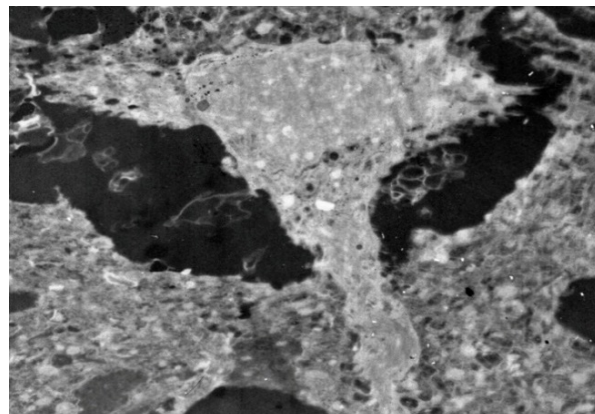


Рисунок 2 – Кора головного мозга крысы. ЧМТ легкой степени через 7 суток. Контроль (без лечения). Нейрон имеет темно-окрашенное ядро и цитоплазму. Отмечается вакуолизация цитоплазмы. Ядро нечетко выражено. Хроматин конденсирован. Вокруг нейрона и в нейропиле имеются крупные вакуоли с электронно-плотным содержимым. Электроннограмма. Негатив. Увеличение  $\times 10000$

отмечено восстановление ткани головного мозга. В поврежденном полушарии все еще преобладали нарушения внутримозгового кровообращения, а в большинстве нейронов выявляли гиперхроматоз, дистрофические изменения отростков.

По данным гистологического исследования, у животных основной группы в правом полушарии в области первичной травмы в зоне ушиба через 24 часа выявлены дистрофически измененные нейроны и глиальные клетки, основная масса которых располагалась в области расширенных и полнокровных сосудов. При этом преобладали гиперхромные нейроны, но состояние ядер и ядрышек в них различно (хорошо сохранившиеся ядра с четко выраженной ядерной мембраной и четко контурированным ядрышком, уменьшение размеров ядра и едва различимое ядрышко). Церебролизин через 24 часа с момента нанесения крысам ЧМТ существенно не изменял микроскопическую картину головного мозга, а также не влиял на соотношения нейронов основных структурно-функциональных типов.

На 7-е сутки после применения Церебролизина начинают появляться репаративные изменения с тенденцией к нормализации их структуры. По данным морфометрического исследования клеточных элементов (нейронов и глиоцитов) уже на 7-е сутки после ЧМТ у животных основной группы в поврежденном полушарии головного мозга наблюдали уменьшение количества измененных нейронов, максимальное на 21-е сутки после трав-

мы по сравнению с таковым в контроле. В контрлатеральном полушарии количество измененных нейронов также было меньше, чем в контроле. Проявлением компенсаторного характера изменений является гипертрофия отдельных нейронов. При этом характерно укрупнение глыбок базофильного вещества цитоплазмы, крупное, светлое ядро, окруженное утолщенной ядерной мембраной, гипертрофированное ядрышко с эмиссией ядрышковых глыбок (рисунок 3).

Восстановление структурной целостности нейроцитов во всех изученных отделах головного мозга – поврежденном и контрлатеральном полушариях по данным электронно-микроскопического исследования наблюдали на 21-е сутки. Показатели отношения площади, занимаемой хроматином, в ядрах нейроцитов и площади, занимаемой интактными митохондриями, выше контрольных. Необходимо отметить, что уже на 21-е сутки в основной группе в отдельной части нейронов наблюдались процессы репаративной регенерации различной степени выраженности, что проявлялось гиперплазией аппарата Гольджи и всей системы эндоплазматического ретикулума, активацией рибосом. Наиболее активные процессы репаративной регенерации наблюдали в контрлатеральном полушарии (рисунок 4).

В ходе патологического процесса функциональные изменения нервных клеток перерастают, с одной стороны, в дистрофические, атрофические и некробиотические, а с другой – в репаративные.

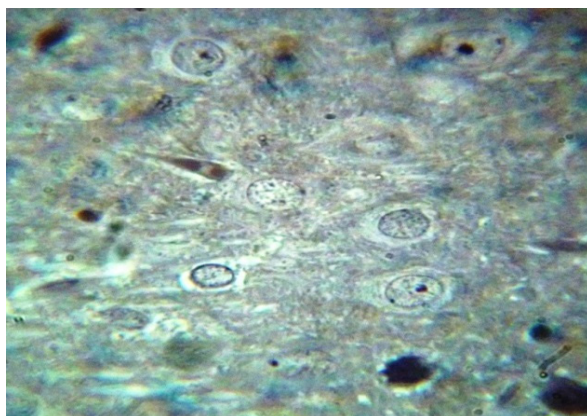


Рисунок 3 – Кора головного мозга крысы. ЧМТ легкой степени через 7 суток. Основная группа (Церебролизин). Нейроны с хорошо выраженными ядрами и ядрышками. Клетки глии сохранены. Интерстициальный отек вещества мозга выражен незначительно. Окраска толуидиновым синим. Увеличение  $\times 480$

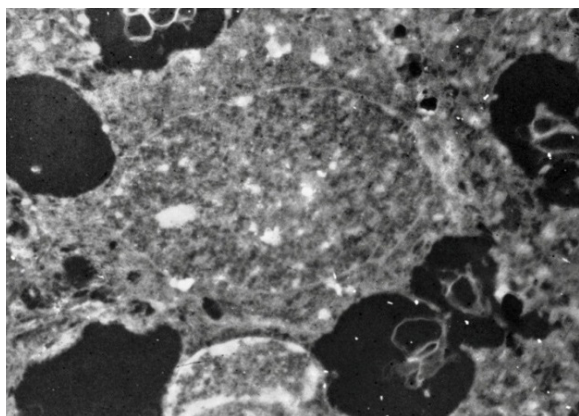


Рисунок 4 – Кора головного мозга крысы. ЧМТ легкой степени через 21 сутки. Основная группа (Церебролизин). Отмечается увеличение количества рибосом в цитоплазме нейрона. Ядро с диффузным хроматином и отчетливо выраженным ядрышком. Электроннограмма. Негатив. Увеличение  $\times 10000$

В настоящем исследовании отмечено, что структурные изменения нейронов при ЛЧМТ проявлялись не только в пределах участка травматического повреждения, но распространялись и на контрлатеральное полушарие. Зарегистрированное в настоящей работе синхронное или почти синхронное течение процесса в обоих полушариях свидетельствует о том, что в патологический процесс вовлекается весь мозг за счет включения согласующих и пока не очень хорошо известных механизмов.

Таким образом, процесс раннего восстановления протекал по-разному, хотя наблюдался как в контрольной, так и в опытной группах. При легкой степени ЧМТ структурные изменения в нейронах были незначительно выражены. У животных, получавших Церебролизин явления репаративной регенерации отмечались начиная с 7-х суток, тогда как в группе контроля этот процесс имел место только на 21-е сутки. Уменьшенное содержание пикнотически измененных нейронов в основной группе при сравнении с группой контроля в течение периода исследования свидетельствует о цитопротективном действии Церебролизина.

#### Литература

1. Карахан В.Б. Травматические поражения центральной нервной системы / В.Б. Карахан, В.В. Крылов, В.В. Лебедев // *Болезни нервной*

системы; под ред. Н.Н. Яхно, Д.Р. Штульман. М.: Медицина, 2001. 744 с.

2. Курако Ю.Л. Морфофункциональные соотношения в патогенезе сотрясения головного мозга / Ю.Л. Курако, В.В. Букина, А.В. Перькова // *Неврология и психиатрия*. Киев: Здоров'я, 1989. С. 9–11.
3. Лихтерман Л.Б. Клиническая классификация и концептуальные подходы к лечению последствий ЧМТ / Л.Б. Лихтерман, А.А. Потапов, А.Д. Кравчук и др. // *Вопр. нейрохирургии*. 1999. № 3. С. 3–6.
4. Макаров А.Ю. Последствия ЧМТ и их классификация / А.Ю. Макаров // *Неврол. журн*. 2001. Т. 6. № 2. С. 38–42.
5. Мякотных В.С. Клинические, патофизиологические и морфологические аспекты отдаленного периода закрытой ЧМТ / В.С. Мякотных, Н.З. Тачанкина, Т.А. Боровкова // *Журн. неврол. и психиатр. им. Корсакова*. 2002. Т. 102. № 4. С. 61–65.
6. Andelic N., Anke A., Skandsen T. et al. Incidence of hospital-admitted severe traumatic brain injury and in-hospital fatality in Norway: a national cohort study // *Neuroepidemiology*. 2012. 38 (4): 259–267.
7. Babb T.L. Metabolic, morphologic and electrophysiologic profiles of human temporal lobe foci: An attempt at correlation // *Adv. Exp. Med. Biol*. 1986. Vol. 203. P. 115–125.