

Мамытова Э. М.

Кыргызская ГМА им. И. К. Ахунбаева, г. Бишкек, Кыргызстан

ВЛИЯНИЕ НЕЙРОПРОТЕКТИВНОЙ ТЕРАПИИ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Автор описывает результаты экспериментальных исследований, целью которого являлось изучение влияния Церебролизина на морфофункциональные изменения структур мозга в раннем посттравматическом периоде.

Ключевые слова: Церебролизин, черепно-мозговая травма, морфофункциональные изменения, структуры мозга.

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, 4, 5, 6].

Понимание механизмов гибели нейрона при различных заболеваниях ЦНС и их фармакологическая регуляция является одной из центральных проблем современной неврологии и интенсивно изучается сейчас во всем мире [7]. Несмотря на интенсивность исследований в этой области и определенные успехи, 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 плейотропными 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 восстановления нейрональной клетки.

Материалы и методы. В нашей работе было использовано 24 белых лабораторных крыс. Контрольная группа – интактные животные – 30 животных. Опытные группы:

- 1) ЧМТ без нейропротективной терапии – 12 животных;
- 2) ЧМТ с нейропротективной терапией – 12 животных.

Животным опытной группы моделировали среднетяжелую ЧМТ. Вышеприведенные подгруппы также разделяли на четыре подгруппы (по 3 животных) в зависимости от экспериментальных сроков – 1, 7, 14 и 21 сутки.

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

Mamytova E. M.

IMPACT NEUROPROTECTIVE THERAPY TO CEREBRAL CORTEX MORPHOLOGICAL CHANGES AFTER TRAUMATIC BRAIN INJURY (EXPERIMENTAL STUDY)

The author describes the results of experimental studies, the aim of which was to study the influence of Cerebrolysin on morphological changes of brain structures in the acute posttraumatic period.

Keywords: Cerebrolysin, traumatic brain injury, morphological changes, the structure of the brain.

крысам среднетяжелой ЧМТ. В момент нанесения травмы животное временно прижимали к поролоновой прокладке, чем добивались горизонтального расположения поверхности свода черепа.

В первой подгруппе основной группы животным наносили ЧМТ средней степени тяжести без последующей терапии Церебролизин. Во второй подгруппе основной группы после нанесения средне-тяжелой ЧМТ в качестве экспериментальной нейропротекторной терапии использовался Церебролизин (0,1 мл внутривенно один раз в течение 10 суток). Животных на первые, седьмые, четырнадцатые и двадцать первые сутки после травмы выводили из эксперимента, вскрывали полость черепа и извлекали головной мозг.

Для микроскопического исследования брались участки мозгового вещества из корково-подкорковой области на стороне поражения и из контрлатерального полушария. После декапитации быстро вскрывали череп, удаляли головной мозг, который промывали в физиологическом растворе и помещали в 5-10% 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 прицельного ультрамикротомирования 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).

Проводился морфометрический анализ. Подсчитывали абсолютное количество или процентное соотношение в 100 клетках, наблюдаемое в 10 полях зрения микроскопа интактных, патологически измененных нейронов и глиальных клеток. Индекс нейрон – глия подсчитывали как отношение общего количества нейронов к количеству глиальных клеток.

Для оценки морфофункционального состояния ткани головного мозга мы проводили морфологические и морфометрические исследования.

Все полученные в работе материалы обработаны методами вариационной статистики в пакете Microsoft Excel. Достоверность полученных данных между группами определяли по критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Как видно из таблицы 1, на 1-е сутки при ЧМТ в группе без Церебролизина и в группе Церебролизина количество интактных нейронов в поврежденном и контрлатеральном полушарии практически не отличается по сравнению с контролем ЧМТ.

В группе животных без нейропротекторной и с нейропротекторной терапией в поврежденном и контрлатеральном полушарии на 7-е, 14 сутки после травмы наблюдается достоверное (1,2 раза) уменьшение количества неизмененных нейронов по сравнению с таковым в контроле.

При гистологическом исследовании ткани головного мозга животных группы без Церебролизина уже в 1-е сутки после нанесения ЧМТ средней тяжести увеличивалось количество дистрофически-измененных нейронов в лобно-теменной области поврежденного полушария – в 3 раза, контрлатерального полушария

Таблица 1

Морфометрические изменения нейронов и глиоцитов при черепно-мозговой травме средней степени

Параметры	Область мозга	Контроль, n=30	Величина показателя (M±m) в сроки, сут							
			1 сутки		7 сутки		14 сутки		21 сутки	
				Церебролизин		Церебролизин		Церебролизин		Церебролизин
Количество нормальных нейронов	Поврежденное полушарие	79±4,5	72±3,6	75±4,2	64±3,7*	66±4,5*	62±3,5*	69±3,6	57±3,4*	71±3,1
	Контрлатеральное полушарие	83±3,4	75±3,5	76±4,1	67±3,6*	70±4,1*	65±3,7*	72±3,7*	68±3,4*	75±3,4
Количество измененных нейронов	Поврежденное полушарие	5±0,38	14±2,1*	15±2,3*	22±2,5*	20±2,4*	21±3,1*	15±2,1*	16±1,7*	13±1,5*
	Контрлатеральное полушарие		12±4,1	11±4,1	15±3,1*	12±1,7*	16±2,3*	14±2,1*	15±3,1*	11±2,3*
Количество Глиальных элементов	Поврежденное полушарие	17±1,2	19±1,1	21±1,2*	20±1,3	16±1,5	25±2,3*	30±2,3*	27±1,7*	31±2,5*
	Контрлатеральное полушарие		15±2,1	16±2,3	18±3,1	21±4,3	22±1,7*	25±1,6*	26±1,7*	27±1,5*
Соотношение нейронглия	Поврежденное полушарие	4,6	4,6	3,5	3,5	4,0	2,5	2,3	2,1	2,2
	Контрлатеральное полушарие		4,8	4,8	3,1	3,3	3,0	2,9	3,0	2,8

Примечание: различия показателей достоверны по сравнению с таковыми: * – в контрольной группе.

рия – в 2,4 раза и составляло соответственно $14 \pm 2,1\%$ и $12 \pm 4,1\%$, в контроле – $5,0 \pm 0,38\%$. В последующие сроки наблюдения (7-е – 14-е сут) количество измененных нейронов увеличивалось в области поврежденного полушария до $22 \pm 2,5\%$, что в 4,4 раза превышало таковое в контроле, в области контралатерального полушария – в 3,2 раза.

При добавлении в экспериментальную схему нейропротектора Церебролизин на 7-е, 14-е сутки посттравматического периода также имеет место рост количества измененных нейронов в обоих полушариях, но более отчетливый, чем в группе без нейропротектора.

Важным показателем в посттравматическом периоде является состояние и количество измененных глиальных клеток. По данным морфометрических исследований уже в 1-е сутки после ЧМТ средней степени тяжести на фоне нейропротекторной терапии по ходу капилляров в лобно-теменной области поврежденного полушария головного мозга достоверно (в 1,2 раза) увеличивалось количество глиальных клеток – с $17 \pm 1,2\%$ до $21 \pm 1,2\%$. Чего не наблюдалось микроскопически у животных группы без Церебролизина. В контралатеральном полушарии обоих опытных групп не отмечается достоверной разницы в общем количестве глиоцитов.

В последующем (на 7-14-е сутки) в группе с Церебролизинном количество глиоцитов в поврежденном полушарии головного мозга увеличивалось почти в 2 раза по сравнению с контрольным уровнем, в группе же без Церебролизина не обнаружено достоверных отличий данного показателя при сравнении с контролем. В контралатеральном полушарии количество глиальных элементов достоверно увеличивалось (в 1,5 раза) при сравнении с контролем только на 14 сутки в обоих испытуемых группах.

В связи с увеличением количества глиальных клеток изменялся индекс нейронглиа, который был более отчетливым на 14-е сутки. Так на 14-е сутки в поврежденном полушарии группы с Церебролизинном индекс нейронглиа составлял 2,3, в контроле – 4,6, в группе без Церебролизина – 2,5, т. е. почти в 2 раза меньше. В контралатеральном полушарии индекс нейронглиа на 7-14-е сутки снижался относительно контрольного значения в 1,6 раза и составлял в среднем 3,0. Это свидетельствовало о значительной активации глиальных клеток в раннем посттравматическом периоде.

В стадии восстановления и регенерации (21-е сутки) на фоне нейропротективной терапии после моделирования ЧМТ средней степени тяжести в обоих полушариях отмечается рост нормальных нейронов, который выражается в отсутствии достоверной разницы данного показателя при сравнении с контролем. Такая же тенденция отмечается на 14-е сутки после травмы, хотя имеет место только в поврежденном полушарии.

На 21-е сутки по сравнению отмечается снижение общего количества измененных нейронов, значения

данного показателя приближаются к значениям 1-х суток после травмы. Так у животных обоих испытуемых групп количество измененных нейронов во всех отделах головного мозга в 2,5-3,2 раза превышало таковое в контроле, а количество глиальных клеток также через 21-е сутки наблюдения было в среднем в 1,7 раза больше, чем в контроле. При этом индекс нейронглиа в пораженном полушарии в 2,2 раза выше такового в контроле, а контралатеральном – в 1,6 раза.

Таким образом, при ЧМТ средней степени тяжести в группе без нейропротектора на протяжении всего изучаемого периода (1-е, 7-е, 14-е, 21-е сутки) имеет место диффузное поражение всех изученных отделов головного мозга преимущественно поврежденного полушария, которое проявлялось стойкими дистрофически-деструктивными изменениями значительной части нейронов без признаков выраженной репаративной регенерации в восстановительном посттравматическом периоде. При применении нейропротектора Церебролизина отмечен рост интактных нейронов, который отмечался не только в поврежденном, но и в контралатеральном полушарии на 21-е сутки эксперимента. При этом также отмечалось увеличение количества глиальных клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Карахан В. Б., Крылов В. В., Лебедев В. В. Травматические поражения центральной нервной системы // *Болезни нервной системы*. Под ред. Н. Н. Яхно, Д. Р. Штульман. М.: Медицина, 2001. 744 с.
2. Курако Ю. Л., Букина В. В., Пьеркова А. В. Морфофункциональные соотношения в патогенезе сотрясения головного мозга // *Неврология и психиатрия*. Киев: Здоров'я. 1989. С. 9-11.
3. Лихтерман Л. Б., Потапов А. А., Кравчук А. Д. и др. Клиническая классификация и концептуальные подходы к лечению последствий ЧМТ // *Вопр. нейрохирургии*. 1999. № 3. С. 3-6.
4. Макаров А. Ю. Последствия ЧМТ и их классификация // *Неврол. журн*. 2001. Т. 6. № 2. С. 38-42.
5. Мякотных В. С., Тачанкина Н. З., Боровкова Т. А. Клинические, патофизиологические и морфологические аспекты отдаленного периода закрытой ЧМТ // *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). P. 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.

Контактная информация

Мамытова Эльмира Миталиповна – тел.: +996 (551) 325-314, +996 (312) 620-311, e-mail: elmiramamytova@yahoo.com, petruha_w@mail.ru.

Сведения об авторе

Мамытова Эльмира Миталиповна – к. м. н., доцент кафедры неврологии с курсом медицинской генетики Кыргызской Государственной Медицинской Академии имени И. К. Ахунбаева, г. Бишкек, Кыргызская Республика.