

*Мамытова Э.М., Кадыралиев Т.К., Сулайманов М.Ж., Раимбеков Ж.К., Жолдошев Э.К.*

**ВЛИЯНИЕ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЙ ТЕРАПИИ  
НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТКАНИ ГОЛОВНОГО МОЗГА  
ПРИ ТЯЖЕЛОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ  
(экспериментальное исследование)**

*E.M. Mamytova, T.K. Kadyraliev, M.Zh. Sulaimanov, Zh.K. Raimbekov, E.K. Zholdoshev*

**INFLUENCE OF NEUROPROTECTIVE THERAPY ON BRAIN TISSUE  
MORPHOFUNCTIONAL CHANGES AT SEVERE BRAIN INJURY  
(experimental model)**

*Проведено экспериментальное исследование морфофункционального состояния ткани головного мозга при тяжелой черепно-мозговой травме (ЧМТ), которую моделировали у 24 крыс. По данным морфометрических исследований, тяжелая ЧМТ обуславливает выраженные дистрофически-деструктивные изменения в структуре головного мозга. Изменения в нейронах коры головного мозга животных основной группы при тяжелой ЧМТ стабилизировались на 21-е сутки после ЧМТ и имели тенденцию к восстановлению. Эти изменения достоверно отличались от таковых в контрольной группе. При тяжелой ЧМТ во всех изученных отделах головного мозга, и прежде всего в области поврежденного полушария, преобладали признаки глиоза, что проявлялось увеличением количества глиальных клеток, расположенных преимущественно в зонах измененных микрососудов.*

**Ключевые слова:** *тяжелая черепно-мозговая травма, нейроны коры головного мозга, морфофункциональные изменения, нейропротекция.*

*Experimental trauma was performed for the studying of morphofunctional changes characteristics in the brain tissue after severe brain injury. A marked diffuse lesion of all brain sections was observed in a case of severe brain injury, characterized by dystrophic-destructive changes. These changes in the neurons were normalized by 21 day after trauma and they had tendency to the marked intracellular reparative regeneration. They shown difference from the nontraumatic group of animals. After severe brain injury in the all studied areas of brain especially in ipsilateral hemisphere there were verified signs of progressing brain gliosis, characterized by increase of glial cells number near the altered microvessels areas.*

**Key words:** *severe brain injury, neurons of hemisphere cortex, morphofunctional changes, neuroprotection.*

**Введение**

Травматическое повреждение головного мозга является одной из наиболее частых причин смерти и инвалидности у людей моложе 35 лет. Травматическое повреждение головного мозга - вторая по частоте причина неврологических расстройств после головной боли. Частота встречаемости составляет более чем 200 случаев на 100 000 человек в год. Хронизация расстройств наблюдае-

тся приблизительно у 25% выживших пациентов с ЧМТ (1).

Согласно статистическому исследованию Kraus и Mac Arthur (5), у 80 % госпитализированных пациентов с ЧМТ наблюдается легкая степень травмы, у 10% - средняя степень и у 10% - тяжелая степень тяжести ЧМТ.

ЧМТ инициирует каскад патохимических и патофизиологических изменений в головном мозге, что объективно регистрируется нарушением водно-солевого баланса, углеводно-энергетического метаболизма, электрофизиологических, нейрометаболических и морфофункциональных параметров. В ответ на травматическое воздействие возникают самые разнообразные реакции со стороны нейрогормональных и нейромедиаторных систем мозга. Особенности этих реакций определяют многообразие клинических проявлений ЧМТ и их динамику (3-8).

Курс лечения ЧМТ зависит не только от степени повреждения, но и от типа и тяжести вторичных интра- и экстракраниальных поражений (например, вызванных инфекцией или гипоксией), которых, по сути, можно избежать. Таким образом, снижение частоты осложнений и смертности при тяжелой ЧМТ может быть достигнуто путем предотвращения вторичных поражений головного мозга с помощью адекватного лечения и соответствующего ухода.

Одной из терапевтических стратегий в терапии ЧМТ является ограничение распространенности первичного поражения, раннее определение возможных вторичных осложнений, их предотвращение и лечение. Необходимые терапевтические мероприятия для данной стратегии могут быть охарактеризованы как нейропротекторные.

Одним из препаратов, обладающих нейропротекторными свойствами, является церебролизин. Его мультимодальное нейроспецифическое действие установлено в экспериментальных исследованиях, а клиническая эффективность препарата подтверждена в ходе проспективных рандомизированных двойных слепых клинических испытаний (11-26). Экспериментальные данные позволяют предположить, что церебролизин способен

увеличивать плотность синапсов и индуцировать нейрогенез в области гиппокампа (2, 10, 15, 16), при этом у экспериментальных животных отмечено существенное улучшение выполнения тестов, оценивающих мнестические функции и навыки к обучению.

Данный препарат был допущен к применению во многих странах. Высокая частота ЧМТ, высокий уровень смертности и большое количество посттравматических явлений на фоне высокой стоимости терапии обуславливает необходимость введения новых эффективных терапевтических стратегий. Изучение терапии с использованием Церебролизина при ЧМТ представляет интерес, поскольку препарат хорошо переносится и эффективен при ряде других заболеваний.

С учетом важности морфологических изменений в определении характера и выраженности посттравматических проявлений целью настоящей работы явилось изучение влияния препарата "церебролизин" на морфофункциональные изменения структур головного мозга в раннем посттравматическом периоде.

#### Материал и методы

Эксперименты выполнены на 24 беспородных половозрелых белых крысах массой от 180 до 220 г. Все животные содержались 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).

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. Таким образом, у разных животных вызывалась одинаковая по степени тяжести черепно-мозговая травма. 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. В качестве контроля служили крысы без травматического воздействия (n=12).

Животные тяжело переносили полученную травму. В момент нанесения черепно-мозговой травмы в 25% случаев отмечалась кратковременная остановка дыхания. У 20% животных наблюдалось непроизвольные акты дефекации и

мочеиспускания. В 21% случаев после травмы наблюдались тонико-клонические судороги, отсутствовали корнеальные и роговичные рефлексы, в 27% случаев отмечалось угнетение дыхания вплоть до полной остановки. У 90% животных наблюдались очаговая симптоматика в виде левостороннего гемипареза.

Макроскопическое исследование мозга показало, что у 43% погибших и 22% выживших животных обнаруживались локальные или тотальные подбололочные гематомы. Гистологически выявлялся участок некроза мозгового вещества в прилежащей к месту удара области, значительные дистрофические изменения, сопровождавшиеся гибелью нейронов, отеком мозга и циркуляторными нарушениями в сосудистом русле.

Животным контрольной группы (n = 12) в течение 10 дней один раз в день утром внутрибрюшинно (в/б) вводили 0,1 мл 0,9-процентного 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), также как и животным контрольной группы 1 раз в день утром. Церебролизин вводился через 30 минут после нанесения травмы.

Эксперимент проведен совместно с док. мед. наук, профессором Кадыралиевым Т.К..

Мозг забирали у контрольных (интактные) крыс и крыс основной группы через 21 сутки после травмы.

Для световой микроскопии образцы головного мозга фиксировали 10-процентным раствором нейтрального формалина в течение 1-2 суток, заливали в парафин по общепринятой методике. После фиксации в формалине образцы тканей обезвоживали и заливали в парафин. С парафиновых блоков на микротоме "HISTORANGE" (Австрия) готовили фронтальные срезы толщиной 4-5 мкм.

Препараты окрашивали по стандартной методике. 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 метиленовым синим и просматривали в светооптическом микроскопе фирмы "Оптон" (Германия). С этой целью депарафинированные срезы окрашивали 0,2-процентным раствором толуидинового синего, подогревали над пламенем спиртовки, 2-3 минуты охлаждали. Затем споласкивали дистиллированной водой 2-двукратно, дифференцировали чистым 96-процентным спиртом, помещали в абсолютный спирт, просветляли в ксилоле и заключали в бальзам. Микрофотосъемку гисто-

логических препаратов производили на цифровом фотоаппарате фоторазрешением 12 мегапикселей.

Светооптическое исследование проводилось для общей характеристики качественных и количественных изменений нейронов и выявления численной плотности деструктивных форм нейронов в ядрах коры ипсилатерального и контралатерального полушария.

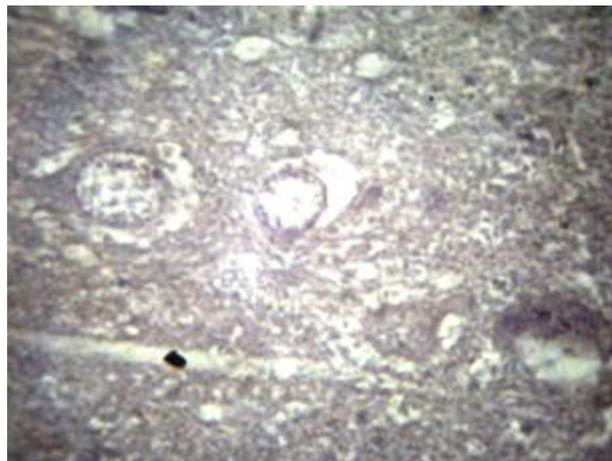
### Результаты и их обсуждение

При светооптическом морфологическом исследовании фронтальных срезов коры мозга, окрашенных гематоксилин-эозином, у крыс оценивались реактивные, дистрофические, некробиотические и компенсаторно-восстановительные изменения нейронов.

У животных группы контроля на протяжении всего изученного посттравматического периода (на 21-е сутки) преобладали обратимые дистрофические изменения нейронов (острое набухание нейронов, гидропическая дистрофия нервных клеток с умеренной вакуолизацией цитоплазмы, очаговый и тотальный хроматолиз, гиперхроматоз и гомогенизация цитоплазмы). Очаговый хроматолиз проявлялся растворением хроматофильной субстанции на периферии или в отдельных участках цитоплазмы нервных клеток. При тотальном хроматолизе в нейронах наблюдалось равномерное измельчение и растворение глыбок вещества Ниссля по всему перикариону и в дендритах, контуры ядра в таких клетках были размыты, ядрышки чаще не выявлялись. В гиперхромных нейронах без признаков сморщивания морфологически определялись более крупные гранулы хроматофильного вещества, и возрастала степень базофилии цитоплазмы.



**Рис 1. а)** Кора головного мозга. ЧМТ тяжелой степени через 21 сутки. Выраженная вакуолярная дистрофия нейронов, перичеселлюлярный отек, сморщивание ядер с конденсацией хроматина. Перинуклеолярный отек олигодендроцита. Полутоноккий срез. Окраска гематоксилин-эозином. X 1000.



**Рис 1. б)** Кора головного мозга. ЧМТ тяжелой степени через 21 сутки. Вакуолярная дистрофия астроцитов. Видны расширенные светлые вакуоли в цитоплазме астроцитов. Конденсация хроматина ядер и их вакуолизация. Полутоноккий срез. Окраска гематоксилин-эозином. X 1000.

На фоне терапии Церебролизином в раннем посттравматическом периоде при световой микроскопии в коре головного мозга в основной группе в травмированном и противоположном полушарии преимущественно выявлялись нейроны с сохранной ультраструктурой ядра и цитоплазмы.

В посттравматическом периоде в коре ипсилатерального полушария преобладали обратимо измененные нейроны. Для этих нейронов были характерны признаки острого набухания, различные проявления гидропической дистрофии нервных клеток, гиперхромия и вакуолизация цитоплазмы без сморщивания и деструкции органелл, незначительная деформация ядра, конденсация гетерохроматина, очаговая деструкция цитоплазмы. В этих участках мозга выявлялось большое количество глиальных клеток и нейронов с продуктами неполной деградации. Все это сочеталось с перичеселлюлярным и периваскулярным отеком с расширением периваскулярных пространств и отеком нейропиля, повреждением дендритов и синапсов преимущественно по светлomu типу.

В противоположном полушарии необратимо измененные нейроны встречались редко (менее 11%) и характеризовались гидропической дистрофией с выраженной вакуолизацией цитоплазмы, распадом ядра и ядрышка, тотальным хроматолизом, гиперхроматозом со сморщиванием клеток, деформацией перикариона.

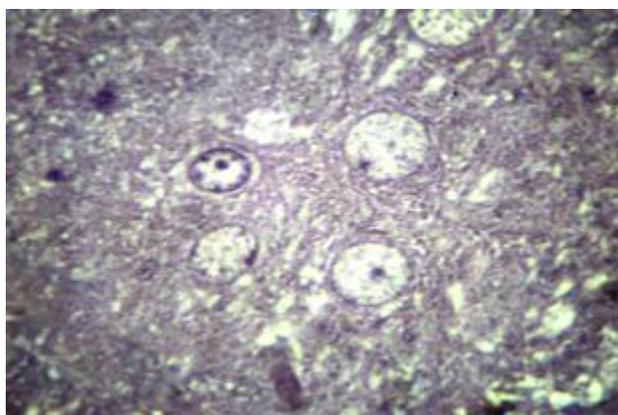
Такие нейроны подвергались фагоцитозу астроцитами.

Таким образом, во всех изученных отделах коры головного мозга частично поврежденные нейроны имели значительные потенциальные возможности восстановления при нормализации микроциркуляции. Об этом свидетельствовала

сохранность субклеточных органелл и ядра у значительного количества нейронов. Кроме того, были выявлены явные признаки компенсаторно-восстановительных реакций сохранившихся нейронов и глиоцитов, которые структурно на уровне нейрона проявлялись восстановлением тинкториальных свойств цитоплазмы, гиперплазией и гипертрофией субклеточных элементов, гипертрофией сомы и ядра при снижении ядерно-цитоплазматического отношения и увеличением количественных и качественных характеристик поддерживающих клеток (астроцитов).



**Рис. 2. а)** Кора головного мозга. ЧМТ тяжелой степени после лечения церебролизином на 21-й день. Отмечается уменьшение вакуолей в цитоплазме нейронов, рядом расположен астроцит со светлым ядром и цитоплазмой. Полутонкий срез. Окраска гематоксилин-эозином. X 1000.



**Рис. 2. б)** Кора головного мозга. ЧМТ тяжелой степени после лечения церебролизином на 21-й день. Увеличение количества астроцитов со светлыми и большими ядрами, хорошо выражены ядрышки. Полутонкий срез. окраска гематоксилином-эозином. X 1000.

#### Выводы:

1. В группе контроля при тяжелой черепно-мозговой травме в коре головного мозга ипсилатерального полушария преобладали нейроны с обратимыми изменениями, которые структурно проявлялись острым набуханием перикариона, гиперхромией и вакуолизацией цитоплазмы без сморщивания и деструкции органелл, очаговым хроматолизом, незначительной деформацией ядра,

конденсацией гетерохроматина, очаговой деструкцией органелл.

2. На фоне терапии церебролизином происходили компенсаторно-приспособительные изменения нейронов (восстановление тинкториальных свойств цитоплазмы, гиперплазия и гипертрофия субклеточных элементов нейронов и глиоцитов (астроцитов), гипертрофия сомы и ядра при снижении ядерно-цитоплазматического отношения), обеспечивающие нейрорегенераторные изменения.

3. Динамика изменения содержания деструктивных форм нейронов как в группе контроля, так и в основной группе, в изученных отделах головного мозга крыс в раннем посттравматическом периоде, несмотря на различия степени выраженности этих изменений, имеет общую направленность во всех изучаемых отделах - как в травмированном, так и в противоположном полушарии, с максимальным увеличением содержания таких нейронов через 24 часа и последующим снижением их количества к 21-м суткам, и носит диффузно-очаговый характер.

#### Литература:

1. McIntosh T.K., Smith D.H., Meaney D.F., Kotapka M.J., Gennarelli T.A., Graham D.I. Neuropathological sequelae of traumatic brain injury: relationship to neurochemical and biomechanical mechanisms. *Lab Invest*, 1996; 74: 315-42.
2. Sosin D.M., Sniezek J.E., Thurman D.J. Incidence of mild and moderate brain injury in the United States, 1991. *Brain Inj*, 1996; 10: 47-54.
3. Schiefer W. Manahmen bei Schdel-Hirntraumen. E. Merck, Darmstadt, 1980.
4. Statistisches Jahrbuch Sterreich. Statistik Austria, Verlag Sterreich, Wien, 2003.
5. Kraus J.V., Mac Arthur D.L. Epidemiologic aspects of brain injury. *Neurol. Clinics*, 1996; 14: 435-50.
6. Greenspan A.I., Wrigley J.M., Kresnow M., Branche-Dorsey C., Fine P.R. Factors in failure to return to work due to traumatic brain injury. *Brain Inj*, 1996; 10: 207-18.
7. Ip R., Dornan J., Schentag C. Traumatic brain injury: factors predicting return to work or school. *Brain Inj*, 1995; 9: 517-32.
8. Whitlock J.A. Jr., Hamilton B.B. Functional outcome after rehabilitation for severe traumatic brain injury. *Arch Phys Med Rehabil*, 1995; 76: 1103-12.
9. Brooks A., Lindstrom J., McCray J. Cost of medical care for a population-based sample of persons surviving traumatic brain injury. *J Health Trauma Rehabil*, 1995; 10: 1-13.
10. Ponsford J., Olver J., Ponsford M., Nelms R. Long-term adjustment of families following traumatic brain injury where comprehensive rehabilitation has been provided. *Brain Inj*, 2003; 17: 453-68.
11. Golden Z., Golden C.J. Impact of brain injury severity on personality dysfunction. *Int J Neurosci*, 2003; 113:733-45.

12. Markgraf C.G., Velayo N.L., Johnson M. P., McCarty D.R., MedhiS, Koehl J.R., Chmielewski P.A., Linnik M.D., Clemens J.A. Six-hour window of opportunity for calpain inhibitions in focal cerebral ischemia in rats. *Stroke*, 1998; 29: 152-8.
13. National Institute of Mental Health. 12-CGI. Clinical global impressions. In: Guy W (ed). EDCEU Assessment in psychopharmacology. Rev ed. Chevy Chase, Rockville, Maryland, 1970; 217-22.
14. Overall J.E., Schaltenbrand R. The SKT neuropsychological test battery. *J Geriat Psychiatry Neurol*, 1992; 5:220-7.
15. Erzigkeit H. SKT, ein Kurztest zur Erfassung von Gedächtnis und Auf-merksamkeitsstrungen. Manual. 4. Auff. Beltz, Weinheim, 1989.
16. Beneke M., Rasmus W. Clinical global impressions (EDCEU): Some critical comments. *Pharmacopsychiatry*, 1992; 25: 172-6.
17. Pruessler F. In-vitro E ekte potentiell neurotropher Substanzen bei Zy-tostatika-induzierter Neurotoxizitdt. Dissertation Univ. Graz, Klassi-effikation G0803, 2000.
18. Rockenstein E., Mallory M., Mante M., Alford M., Windisch M., Mssler H., Masliah E. Effects of Cerebrolysin on amyloid-beta deposition in a transgenic model of Alzheimer's disease. *J Neurol Transm*, 2002; 62 (Suppl): 327-36.
19. Sugita Y., Kondo T., Kanazawa A., Itou T., Mizuno Y. Protective effect of FPF 1070 (Cerebrolysin) on delayed neuronal cell death in the ger-bil-detection of hydroxyl radicals with salicylate. *No To Shinkei*, 1993; 45: 325-31.
20. Tatebayashi Y., Lee M.H., Li L., Iqbal K., Grundke-Iqbal I. The dentate gyrus neurogenesis. A therapeutic target for Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol (Berlin)*, 2003; 105: 225-32.
21. Wakonigg G. Untersuchung der Wirkung des peptidergen Medika-mentes Cerebrolysin auf verschiedene transgene Modelle der Neurodegeneration. Dissertation Univ. Graz, Klassifikation G0646, 2000.
22. Haninec P., Dubovy P., Samal F., Houstava L., Stejskal L. Reinnervation of the rat musculocutaneous nerve stump after direct reconnection with the C5 spinal cord segment by the neuronal graft following avulsion of the ventral spinal roots: a comparison after intrathecal administration of brain-derived neurotrophic factors in Cerebrolysin. *Exp Brain Res*, 2004; 159: 425-32.
23. Haninec P., Houstava L., Stejskal L., Dubovy P. Rescue of rat spinal motoneurons from avulsion-induced cell loss by intrathecal administration of IGF-I and Cerebrolysin. *Ann Anat*, 2003; 185: 233-8.
24. Ruether E., Ritter R., Apecechea M. E. cacy of the peptidergic noo-tropic drug Cerebrolysin in patients with senile dementia of the Alzheimer type (SDAT). *Pharmacopsychiatry*, 1994; 27: 32-40.
25. Ruether E., Ritter R., Apecechea M. Sustained improvements in patients with dementia of Alzheimer's type (DAT) 6 months after termination of Cerebrolysin therapy. *J Neural Trans*, 2000, 107: 815-29.
26. Ruether E., Husmann R., Kinzler E. A 28-week, double-blind, placebo-controlled study with Cerebrolysin in patients with mild to moderate Alzheimer's disease. *Int Clin Psychopharm* 2001; 16: 253-63.