

УДК 616-035.1. 616-092.9. 616-018

## ВЛИЯНИЕ ПРОГЕСТЕРОНА НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СОСУДИСТОГО И КЛЕТОЧНОГО КОМПОНЕНТОВ ТКАНИ ГОЛОВНОГО МОЗГА У КРЫС С ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ

© Г.А. Захаров, О.В. Волкович, Г.И. Горохова, А.В. Карамышева

*Ключевые слова:* черепно-мозговая травма; травматический отек головного мозга; нейропротекция; прогестерон; морфометрия.

При черепно-мозговой травме у крыс развивается цитотоксический отек головного мозга, который менее выражен у животных, получавших прогестерон, о чем свидетельствует уменьшение площади сосудов и периваскулярного пространства.

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) является одной из важнейших проблем здравоохранения. По данным ВОЗ, наряду с сердечно-сосудистыми и онкологическими заболеваниями травматизм составляет одну из трех основных причин смертности населения земного шара, особенно среди мужского населения в возрасте от 15 до 24 лет и среди пожилых лиц обоих полов старше 75 лет. В мире при этом ежегодно погибает 1,5 млн человек, а 2,4 млн становятся инвалидами [1]. Частота черепно-мозговых повреждений составляет от 4 до 7,2 на 1000 населения в зависимости от региона. В то же время смертность при ЧМТ составляет 30 человек на 100 тысяч населения [2]. Стойкая утрата трудоспособности, обусловленная выраженным психоневрологическим дефицитом, регистрируется у 18–38 % пациентов, выживших после тяжелой ЧМТ [2].

Результатом ЧМТ является нейрональный дефицит разной степени выраженности. Многочисленные исследования направлены на поиск и развитие нейропротективных стратегий в предупреждении и уменьшении этого дефицита.

Значительный прогресс, происходящий в последние годы, позволил расширить диапазон применяемых средств, включая вещества, воздействующие посредством антагонистов глутаматных рецепторов, блокаторов кальциевых каналов, акценторов радикалов, противовоспалительные субстанции и вещества, имеющие свойства анти-апоптоза. К сожалению, прогресс в понимании механизмов и процессов критического повреждения, разработка и внедрение в клиническую практику различных лекарственных средств принесли незначительный успех в лечении этих групп пациентов. Одним из перспективных лекарственных препаратов, обладающих нейропротективными свойствами, является прогестерон. Его влияние впервые было исследовано группой *D.G. Stein et al.* и основано на наблюдениях за самками крыс, которые восстанавливались после ЧМТ быстрее по сравнению с самцами [3]. Эксперименты продемонстрировали положительную роль эндогенного прогестерона [4]. В настоящее время продолжается поиск молекулярных и физиологических механизмов, лежащих в основе нейропротекции прогестерона и его метаболитов.

Механизмы, вызывающие повреждение ткани мозга в результате ЧМТ, привлекают внимание исследователей в течение более полувека. В последнее время стало очевидным, что формирование отека головного мозга является одним из важнейших факторов, влияющих на неврологический исход и уровень летальности. Так, по данным А. Magraro, отек головного мозга является причиной смерти почти у половины пострадавших с ЧМТ, в т. ч. у пациентов младшей возрастной группы [5].

Патологическая роль процессов, связанных с отеком и набуханием головного мозга, состоит в том, что они усиливают и (или) вызывают компрессию и смещение структур мозга, создают внутричерепную гипертензию, нарушают кровообращение, метаболические процессы и функционирование мозга.

Целью настоящей работы являлось выявление наличия посттравматического отека головного мозга и возможность его коррекции прогестероном.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на 24 половозрелых беспородных крысах-самцах, массой 230–280 г, содержавшихся в условиях вивария на сбалансированном рационе. Животных разделили на 3 группы (по 8 особей в каждой): I группа – интактная, II группа – с ЧМТ и III – с аналогичной травмой и коррекцией прогестероном.

ЧМТ моделировали путем нанесения животному удара грузиком (68 г) с высоты 90 см, в центр теменной области черепа с помощью специального устройства. Энергия воздействия в этом случае составила 0,6 Дж. Прогестерон вводили интраперитонеально через 30 мин. после нанесения травмы в дозе 30 мг/кг массы тела и затем еще в течение 2 суток однократно.

На 15 сутки после травмы мозг экспериментальных и контрольных животных, извлекали из полости черепа целиком, фиксировали в 10 %-ном растворе формалина. После фиксации вырезали участки сенсомоторной коры (пре- и постцентральные извилины), а также частично лобной и височной коры (Сильвиева борозда), и после стандартной гистологической проводки готови-

Таблица 1

Размеры нейронов, сосудов, перичеллюлярных и перивазальных пространств у крыс при черепно-мозговой травме ( $M \pm m$ )

Группа	Клетки, мкм <sup>3</sup>	ПЦП, мкм <sup>3</sup>	Сосуды, мкм <sup>2</sup>	ПВП, мкм <sup>2</sup>
I	104,3 ± 16,8	527,7 ± 97,0	41,9 ± 5,3	124,2 ± 12,8
II	161,9 ± 16,3*	348,5 ± 52,9	106,5 ± 14,5**	210,6 ± 34,1**
III	155,9 ± 16,5*	384,0 ± 77,9	37,3 ± 1,4++	102,4 ± 3,5+

Примечание: \* – статистически значимое различие величин контрольной и основных групп; + – статистически значимое различие величин основных групп (\* и + –  $P < 0,05$ ; \*\* и ++ –  $P < 0,01$ ).

лись парафиновые блоки. Срезы окрашивались гематоксилином и эозином и изучались.

Морфологические измерения проводили на препаратах под микроскопом, снабженным окуляр-микротром (окуляр 10×, объектив 9×0,2).

На гистологических срезах подсчитывали объем ( $V$ ) клеточных и перичеллюлярных пространств (ПЦП), площади ( $S$ ) сосудистых элементов и периваскулярных пространств (ПВП) [6].

Измеряли большие и малые диаметры (оси) преимущественно звездчатых нейронов и их ПЦП (отражающих выраженность цитогенного отека), большие и малые диаметры кровеносных сосудов преимущественно эллипсоидного сечения и их ПВП пространств (вазогенный отек) в 4–5 слоях коры головного мозга. Для исключения ошибок при изменении фрагментов клеток использовали каждый 4-й срез, и в расчет принимались только те нейроны, в которых четко контурировалось ядрышко.

Объемы нейронов и ПЦП вычисляли по формуле:

$$V = \frac{\pi}{6} ab \sqrt{a^2 - b^2}.$$

Площадь сечения сосудов и ПВП вычисляли по формуле:

$$S = \pi ab,$$

где  $a$  и  $b$  – большие и малые оси (диаметры) соответствующих структур.

Статистическую обработку материала проводили с помощью программы SPSS13. Вычисляли среднее значение ( $M$ ), стандартное отклонение ( $\delta$ ), ошибку средней величины ( $m$ ). Разницу средних величин оценивали по критерию Стьюдента и вероятности  $P$ , которую признавали статистически значимой при  $P < 0,05$ . Соответствие полученных данных Гауссовому распределению оценено с использованием визуальной проверки с помощью гистограммы с наложением кривой нормального распределения и критерия согласия Колмогорова–Смирнова, результаты которого показали, что отклонение от нормального распределения не существенно –  $P$  во всех случаях значительно больше 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из табл. 1, размеры клеток головного мозга после моделирования травматического воздействия статистически значимо увеличились в обеих опытных группах, составляя во II группе  $161,9 \pm 16,3$  мкм<sup>3</sup> и

в III группе (получавшей прогестерон)  $155,9 \pm 16,5$  мкм<sup>3</sup> ( $P < 0,05$ ). Статистически значимых различий в размерах клеток между опытными группами выявлено не было.

Следует отметить, что перичеллюлярный объем в опытных группах имел тенденцию к снижению. Просвет сосудов в опытных группах претерпел весьма значительное и разнонаправленные, статистически значимые изменения. Так, во II группе выявлено резкое увеличение, в 2,5 раза, площади сечения сосудов до  $106,5 \pm 14,5$  мкм<sup>2</sup>. В то же время в III группе, животные которой получали прогестерон, эти размеры несколько уменьшились ( $37,3 \pm 1,4$  мкм<sup>2</sup>). Размер ПВП также значительно изменился. Во II группе он увеличился по сравнению с интактными животными в 1,7 раза и составил  $210,6 \pm 34,1$  мкм<sup>2</sup> ( $P < 0,01$ ). А в третьей группе крыс, получавших прогестерон, он уменьшился до  $102,4 \pm 3,5$  мкм<sup>2</sup>. Необходимо отметить статистически значимую разницу между II и III группами ( $P < 0,01$ ).

Таким образом, в группе крыс, получавших после ЧМТ прогестерон, не выявлено значимых изменений в объеме клеток головного мозга и перичеллюлярного объема по сравнению с группой животных, не получавших препарат. В то же время у крыс III группы выявлено уменьшение площади сечения сосудов и ПВП, тогда как у животных II группы, наоборот, наблюдалась значительное их увеличение. Выраженность отека нарастала в глубоких слоях коры и в перивентрикулярной зоне мозга.

На основании вышеизложенного можно сделать следующее заключение: на 15-е сутки после травмы развивается цитотоксический отек головного мозга в обеих опытных группах, который менее выражен в группе животных, получавших прогестерон. Это свидетельствует, что применение прогестерона воздействует на развитие вазогенного посттравматического отека и гиперемии, что, возможно, связано с модуляцией проницаемости гемато-энцефалического барьера и сосудистого тонуса.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Lu J., Marmarou A., Choi S. et al. Mortality from traumatic brain injury // Acta neurochirurgica. 2005. V. 95. P. 281-285.
2. Старченко А.А. Клиническая нейрореаниматология: руководство для врачей. М.: МЕДпресс-информ, 2004. С. 944.
3. Roof R.L., Duvdevani R., Stein D.G. Gender influences outcome of brain injury: progesterone plays a protective role // Brain Research. 1993. V. 607. P. 333-336.
4. Roof R.L., Duvdevani R., Braswell L., Stein D.G. Progesterone facilitates cognitive recovery and reduced secondary neuronal loss caused by cortical contusion injury in male rats // Experimental Neurology. 1994. V. 29. P. 64-69.

5. *Marmarou A.* Pathophysiology of traumatic brain edema: current concepts // *Acta Neurochirurgica Supplement.* 2003. V. 86. P. 7-10.
6. *Авандилов Г.Г., Яблучанский Н.И., Губенко В.Г.* Системная стереометрия в изучении патологического процесса. М.: Медицина, 1981. С. 191.

Поступила в редакцию 11 марта 2014 г.

Zakharov G.A., Volkovich O.V., Gorokhova G.I., Karamysheva A.V. INFLUENCE OF PROGESTERONE ON MORPHOMETRIC PARAMETERS OF VASCULAR AND CELLULAR COMPONENTS OF BRAIN TISSUE OF RATS WITH TRAUMATIC BRAIN INJURY

In the rats' traumatic brain injury a cytotoxic edema of the brain, which is less expressed in rats obtaining progesterone, as evidenced by the reduction of the vessels' area and perivascular space, is developed.

*Key words:* traumatic brain injury; traumatic brain edema; neuroprotection; progesterone; morphometry.

Захаров Геннадий Алексеевич, Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина, г. Тамбов, Российская Федерация, доктор медицинских наук, профессор кафедры патологии, e-mail: gaz41@mail.ru

Zakharov Gennadiy Alekseyevich, Tambov State University named after G. R. Derzhavin, Tambov, Russian Federation, Doctor of Medicine, Professor of Pathology Department, e-mail: gaz41@mail.ru

Волкович Олег Викторович, Чуйская областная объединенная больница, г. Бишкек, Кыргызская Республика, кандидат медицинских наук, врач, e-mail: volkovich\_oleg@mail.ru

Volkovich Oleg Viktorovich, Chui regional hospital, Bishkek, Kyrgyz Republic, Candidate of Medicine, Doctor, e-mail: volkovich\_oleg@mail.ru

Горохова Галина Ивановна, Кыргызско-Российский Славянский университет, г. Бишкек, Кыргызская Республика, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ведущий методист лаборатории экспериментального моделирования патологических процессов, кафедра нормальной и патологической физиологии, e-mail: gaz41@mail.ru

Gorokhova Galina Ivanovna, Kyrgyz-Russian Slavic University, Bishkek, Kyrgyz Republic, Candidate of Biology, Senior Researcher, Leading Methodologist of Experimental Modeling of Pathological Processes Laboratory, Normal and Pathological Physiology Department, e-mail: gaz41@mail.ru

Карамышева Алла Викторовна, Кыргызско-Российский Славянский университет, г. Бишкек, Кыргызская Республика, кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии и судебной медицины, e-mail: gaz41@mail.ru

Karamysheva Alla Viktorovna, Kyrgyz-Russian Slavic University, Bishkek, Kyrgyz Republic, Candidate of Medicine, Associate Professor of Pathological Anatomy and Forensic Medicine Department, e-mail: gaz41@mail.ru