

Гистологические и иммуногистохимические изменения префронтальной коры головного мозга мышей под действием дексаметазона

Д.К. Соколов¹, Г.М. Казанская¹, А.М. Волков², А.В. Строкотова¹,
Е.Э. Кливер^{2,3}, Э.В. Григорьева¹, С.В. Айдагулова^{1,3}

¹ Институт молекулярной биологии и биофизики ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Новосибирск, Россия

² ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина Минздрава России, Новосибирск, Россия

³ ФГБОУ ВО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Новосибирск, Россия

Резюме. *Введение.* Воздействие синтетического глюкокортикоида дексаметазона на органы-мишени опосредовано взаимодействием с глюкокортикоидным рецептором, но эффекты препарата на интактный мозг исследованы недостаточно. Цель работы – изучить в эксперименте динамику воздействия двух дозировок дексаметазона на тканевые изменения и содержание глюкокортикоидного рецептора в префронтальной коре.

Материалы и методы. Мыши-самцы C57Bl/6 в возрасте 7–8 недель получали однократную или многократные внутривенные инъекции дексаметазона в дозах 1,0 или 2,5 мг/кг. Структурные изменения префронтальной коры изучали в динамике до 90 суток после инъекций на парафиновых срезах. Содержание глюкокортикоидного рецептора (ГР, NR3C1) изучали методом иммуногистохимии с помощью количественного анализа.

Результаты. Гистологическое исследование выявило отсутствие явной дозовой зависимости и обратимость дистрофических и гидропических изменений префронтальной коры, наиболее выраженных при однократном введении препарата на 7-е сутки, а при многократном на 15-е сутки эксперимента, с возвращением к исходной тканевой архитектонике, соответствующей таковой у животных контрольных групп. Содержание глюкокортикоидного рецептора при однократном введении дексаметазона в дозе 2,5 мг/кг статистически значимо ($p < 0,05$) возрастало на 3-и и 10-и сутки по сравнению с контрольной группой, тогда как после многократных инъекций дексаметазона уменьшалось на 15-е сутки эксперимента, но к 30-м суткам возвращалось на исходный уровень.

Заключение. Стереотипные дистрофические и гидропические изменения префронтальной коры в условиях воздействия двух разных режимов и доз дексаметазона развивались на 7-е и на 15-е сутки. При этом выявлен противоположный эффект режимов введения дексаметазона в дозе 2,5 мг/кг на содержание глюкокортикоидного рецептора относительно контрольной группы: при однократном введении на 10-е сутки оно возрастало на 8,1%, а при многократном уменьшалось на 15-е сутки на 9,9%.

Ключевые слова: дексаметазон, глюкокортикоиды, головной мозг, префронтальная кора, глюкокортикоидный рецептор, иммуногистохимия

Для корреспонденции: Светлана Владимировна Айдагулова. E-mail: asvetvlad@yandex.ru

Для цитирования: Соколов Д.К., Казанская Г.М., Волков А.М., Строкотова А.В., Кливер Е.Э., Григорьева Э.В., Айдагулова С.В. Гистологические и иммуногистохимические изменения префронтальной коры головного мозга мышей под действием дексаметазона. Клини. эксп. морфология. 2024;13(3):61–69. DOI: 10.31088/CEM2024.13.3.61-69.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 21-15-00285.

Статья поступила 24.10.2023. Получена после рецензирования 10.11.2023. Принята в печать 01.04.2024.

Histological and immunohistochemical changes in mouse prefrontal cortex exposed to dexamethasone

D.K. Sokolov¹, G.M. Kazanskaya¹, A.M. Volkov², A.V. Strokotova¹, E.E. Kliver^{2,3}, E.V. Grigorieva¹, S.V. Aidagulova^{1,3}

¹ Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia

² E.N. Meshalkin National Medical Research Centre, Novosibirsk, Russia

³ Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

Abstract. *Introduction.* The effects of the synthetic glucocorticoid dexamethasone on target organs are mediated by the interaction with the glucocorticoid receptor, but the effects of the drug on the intact brain have

been poorly studied. We aimed to look at a one-time and repeated exposure to a two-dose dexamethasone on the expression of the glucocorticoid receptor and cellular changes in the prefrontal cortex over time.

Materials and methods. Male C57Bl/6 mice aged 7–8 weeks received a one-time or multiple intraperitoneal injections of dexamethasone in doses of 1.0 or 2.5 mg/kg. Structural changes in the prefrontal cortex were analyzed on paraffin sections stained by hematoxylin and eosin 90 days after the injection. The expression of the glucocorticoid receptor was studied with immunohistochemistry using monoclonal antibodies and quantitative analysis.

Results. A histological study of the prefrontal cortex exposed to a two-dose dexamethasone revealed the absence of an obvious dose dependence and the reversibility of dystrophic and hydropic changes. The most pronounced changes were revealed with a one-time administration of the drug (on day 7) and repeated administration (on day 15) while normal tissue architecture returned to that of the control groups. The expression level of the glucocorticoid receptor after a one-time dexamethasone injection at a dose of 2.5 mg/kg showed a significant growth ($p < 0.05$) on days 3 and 10 compared to that of the control group, while after multiple dexamethasone injections, the GR expression decreased on day 15, but by day 30 it returned to its initial level.

Conclusion. Stereotypical dystrophic and hydropic changes in the prefrontal cortex during exposure to two different regimens and dexamethasone doses developed on days 7 and 15. We revealed an opposite effect of 2.5 mg/kg dexamethasone administration regimens on the expression of the glucocorticoid receptor in the prefrontal cortex of mice relative to the control group: at a one-time administration the expression increased by 8.1% on day 10 and at multiple administration the expression grew by 9.9% on day 15.

Keywords: dexamethasone, glucocorticoids, brain, prefrontal cortex, glucocorticoid receptor, immunohistochemistry

Corresponding author: Svetlana V. Aidagulova. E-mail: asvetvlad@yandex.ru

For citation: Sokolov D.K., Kazanskaya G.M., Volkov A.M., Strokotova A.V., Kliver E.E., Grigorieva E.V., Aidagulova S.V. Histological and immunohistochemical changes in mouse prefrontal cortex exposed to dexamethasone. *Clin. exp. morphology*. 2024;13(3):61–69 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2024.13.3.61-69.

Funding. The study was supported by the Russian Science Foundation, Project No. 21-15-00285.

Received 24.10.2023. **Received in revised form** 10.11.2023. **Accepted** 01.04.2024.

Введение

Синтетический глюкокортикоид (ГК) дексаметазон (Dexamethasone, Dex) давно применяют в клинической практике для иммуносупрессии при аллергических, воспалительных и аутоиммунных заболеваниях, что влияет на качество жизни пациентов и их ментальный статус [1]. Отмечен негативный эффект препарата на развивающийся мозг и психическое здоровье детей [2]. Свои эффекты ГК опосредуют через глюкокортикоидные рецепторы (ГР), локализующиеся во всех клетках нервной системы [3], но уровень экспрессии ГР варьирует, что определяет структурную пластичность нейронов, макро- и микроглии в условиях стресса и/или влияния экзогенных ГК [4]. Кроме того, ГК модулируют содержание в нейроне головного мозга базовых молекул внеклеточного матрикса, таких как протеогликаны и гликозаминогликаны [5, 6].

Получено множество научных данных о молекулярных механизмах действия ГК на различные клетки интактного головного мозга, однако гистологические исследования сосредоточены в основном на неонатальном этапе развития мозга у грызунов, который служит моделью для тестирования эффектов применения синтетических ГК у недоношенных детей с незрелой легочной тканью. Так, по данным J.D. Jaumotte [7], Dex негативно влияет на мозг новорожденных крысят: после пяти ежедневных инъекций 0,5 мг/кг Dex на 15-е сутки наблюдается уменьшение скорости раз-

вития коры и мозжечка, а также заметное снижение экспрессии основного белка миелина в мозолистом и полосатом теле.

В другом исследовании [8] крысам на 6-й день постнатального развития внутрибрюшинно вводили Dex или гидрокортизон либо однократно, либо в течение 4–6 суток. В отличие от гидрокортизона Dex снижал прирост массы мозга и повышал активность каспазы-3, а также ухудшал способность к обучению и снижал память в ювенильном возрасте. Итак, Dex негативно воздействовал на мозг крысят [8], несмотря на то, что сравнительно низкие дозы Dex повышали содержание фактора роста эндотелия сосудов (VEGF A) [9].

В давнем исследовании E.T. Hedley-Whyte [10] по данным световой и электронной микроскопии Dex вызывал отек мозга у интактных мышшей после одной инъекции 3 мг/кг внутримышечно или 2 мг/кг внутривенно, уменьшая проницаемость сосудов головного мозга для макромолекул.

Несмотря на большое количество и высокий уровень молекулярных, геномных и магнитно-резонансных исследований мозга [11], сохраняется актуальность изучения воздействия ГК на интактную нервную ткань ЦНС. ГК применяют при самых разных заболеваниях, при которых ткань головного мозга не является целевым органом (например, дерматиты, артрит и т.д.) и может поэтому рассматриваться как здоровая, нормальная. Тем не менее в силу системного воздействия ГК это

может иметь негативные последствия в долгосрочной перспективе. Чтобы изучить этот вопрос, мы использовали экспериментальную модель – интактных мышей и исследовали эффекты длительного (до 90 суток) воздействия дексаметазона. Цель настоящего исследования – изучить тканевые изменения префронтальной коры и динамику влияния однократного и многократного воздействия двух дозировок Dex на содержание глюкокортикоидного рецептора у мышей C57Bl/6.

Материалы и методы

Исследования проводили на 125 мышах – самцах линии C57Bl/6 с массой тела 22–30 граммов в возрасте 7–8 недель. Все процедуры с экспериментальными животными проведены в соответствии с директивой Совета Европейского сообщества 2010/63/ЕС и одобрены локальным комитетом по биомедицинской этике Института молекулярной биологии и биофизики ФИЦ ФТМ (протокол № 4/2017 от 23.06.2017). Животных выводили из эксперимента в ходе декапитации с использованием гильотины согласно руководству по эвтаназии животных (National Research Council Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory, 2011).

В эксперименте с однократным введением Dex контрольную группу (n=7) формировали животные с одной внутрибрюшинной инъекцией 0,9% раствора натрия хлорида в объеме 200 мкл. С учетом сравнительной устойчивости мелких млекопитающих однократную инъекцию препарата Dex (KRKA Pharma, Словения) животные получали в дозировках 1,0 мг/кг (n=24) или 2,5 мг/кг (n=25) [12, 13]. Сроки выведения животных из эксперимента составляли 1, 3, 7 и 10 суток.

В эксперименте с многократным введением Dex животных контрольной группы (n=7) физиологический раствор вводили в течение 10 дней. Остальным мышам (n=62) по той же схеме внутрибрюшинно вводили Dex в дозировках 1,0 мг/кг (n=34) или 2,5 мг/кг (n=28). Животных выводили из эксперимента через 15, 30, 60 и 90 суток.

Левое полушарие головного мозга мышей фиксировали в забуференном 10% растворе формалина. Парафиновые срезы толщиной 3–4 мкм получали на расстоянии $5 \pm 0,5$ мм от Bregma и окрашивали гематоксилином и эозином («БиоВитрум», Россия). Иммуногистохимический (ИГХ) анализ проведен для оценки экспрессии ГР с помощью антител (Abcam, каталожный номер ab183127, Великобритания) в разведении 1:1000. Демаскировку антигенов проводили с помощью буфера с pH 9 (Dewax and HIER Buffer N, Thermo Scientific, США). Для визуализации продуктов реакции применяли систему детекции со вторичными антителами, мечеными диаминобензидином (Abcam, каталожный номер ab64264, Великобритания). На каждом препарате фотографировали не менее пяти неперекрывающихся полей зрения при $\times 400$. Иммуногистохимическую реакцию на ГР оценивали количественно (программа ZENblue, Zeiss, Германия):

на панели инструментов выбирали опцию Graphics и далее Rectangle aligned, позволяющую выделить на фото прямоугольник площадью 70249 ± 35 мкм². При одинаковых настройках осветительной системы микроскопа и наборах светофильтров имеющийся в опциях параметр «среднее значение интенсивности сигнала» усредняли по трем каналам (красный, зеленый и голубой) и выражали в условных единицах от 0 до 255.

Для статистической обработки результатов использовали программу MSeXcel 7.0 (Microsoft, США); после проверки на нормальность распределения по Колмогорову–Смирнову вычисляли среднее арифметическое и его ошибку (SD). Статистическую значимость высчитывали с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с апостериорным критерием Бонферрони для определения различий между группами. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

После однократной инъекции Dex в дозировке 1,0 мг/кг умеренные гистологические изменения развивались лишь к 7-му дню эксперимента и включали в себя гиперхромность ядер нейронов наружного зернистого слоя и слабый перичеселлюлярный отек, которые редуцировались к 10-м суткам эксперимента. При введении более высокой однократной дозы Dex (2,5 мг/кг) уже на 3-и сутки появлялись клетки-«тени» – нейроны с гипохромным ядром и бледной цитоплазмой. На 7-е сутки гетерогенность клеточных элементов увеличилась за счет многочисленных нейронов с признаками ацидофилии и кариорексиса, что сопровождалось диффузным перичеселлюлярным и периваскулярным отеком. На 10-й день эксперимента дистрофические изменения нейронов характеризовались вакуолизацией ядер, но сосудистые нарушения нивелировались (рис. 1).

В целом, при однократном введении Dex в дозе 1,0 мг/кг выраженные структурные изменения префронтальной коры не выявлены, но при повышении дозировки препарата до 2,5 мг/кг отмечены очаговые изменения тинкториальных свойств ядер и цитоплазмы нейронов, соответствующие фенотипу дистрофии и сопровождающиеся обратимым перичеселлюлярным и периваскулярным отеком.

При многократном введении Dex дозировка 1,0 мг/кг на 15-е сутки эксперимента индуцировала мозаичность структурных изменений нейронов и в разной степени выраженный очаговый или диффузный периваскулярный и перичеселлюлярный отек (рис. 2). В большинстве нейронов ядра гиперхромны, в эухромных ядрах заметны вакуоли при отсутствии ядрышек.

У мышей, получавших многократные инъекции Dex в дозировке 1,0 мг/кг, на 30-е сутки эксперимента явления перичеселлюлярного и периваскулярного отека заметно редуцировались при сохранении мозаичности тинкториальных свойств цитоплазмы и ядер нейронов. При этом в наружном зернистом слое коры сохранялись скопления гиперхромных клеток с перичеселлюлярным отеком.

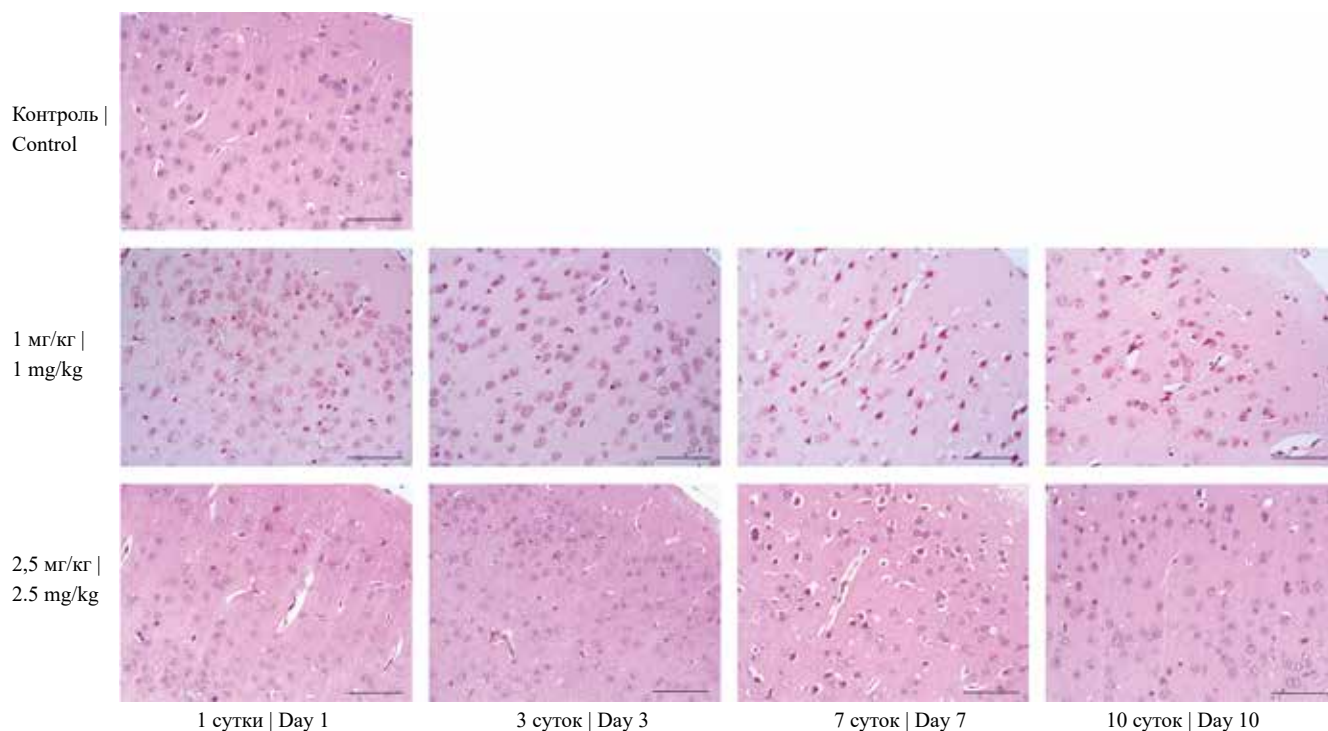


Рис. 1. Гистологические особенности префронтальной коры мышей C57Bl/6 при однократном воздействии двух доз дексаметазона в динамике эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$. Бар 50 мкм

Fig. 1. Histological features of the prefrontal cortex of C57Bl/6 mice after a one-time exposure to a two-dose dexamethasone over time. H&E stain, $\times 400$. Bar 50 μm

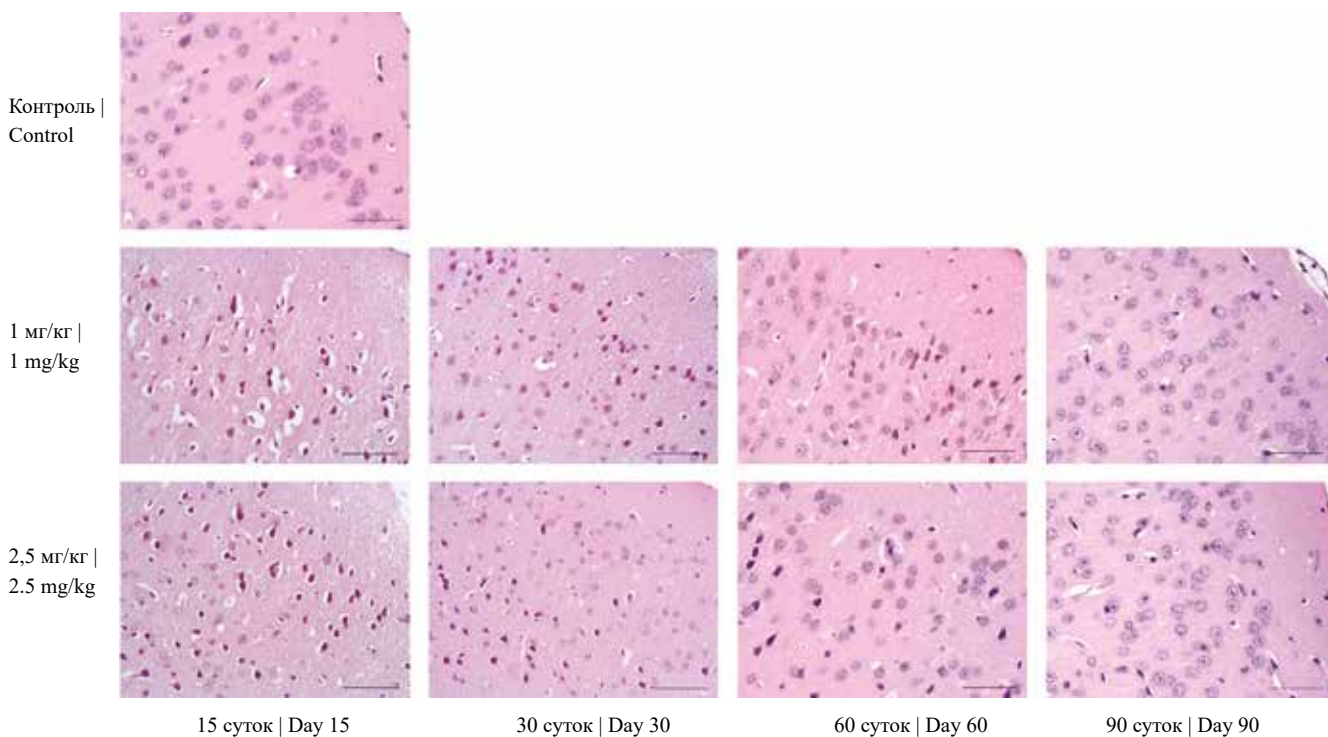


Рис. 2. Гистологические особенности префронтальной коры мышей C57Bl/6 при многократном воздействии двух доз дексаметазона в динамике эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$. Бар 50 мкм

Fig. 2. Histological features of the prefrontal cortex of C57Bl/6 mice after repeated exposure to a two-dose dexamethasone over time. H&E stain, $\times 400$. Bar 50 μm

Через 60 суток после многократного введения Dex в дозе 1,0 мг/кг гистологические особенности сопоставимы с таковыми у животных контрольной группы, за исключением очагового слабо выраженного периваскулярного отека, и по сравнению с предыдущим сроком эксперимента с неполным восстановлением нейронов – с ацидофилией цитоплазмы и ядер, что вносило мозаичность в цитоархитектонику.

На 90-е сутки после многократного введения Dex в дозе 1,0 мг/кг в коре головного мозга мышей признаки сосудистых изменений и отека отсутствовали, и лишь у отдельных животных был отмечен слабый перикапиллярный отек. Тинкториальные свойства ядер и цитоплазмы нейронов не отличались от таковых в клетках контрольной группы, и большинство ядер содержало ядрышки.

После многократного введения Dex в дозировке 2,5 мг/кг на 15-е сутки эксперимента в префронтальной коре мышей отмечались мозаичные структурные изменения, аналогичные обнаруженным в группе с меньшей дозировкой Dex (рис. 2): варьирующие по тинкториальным свойствам цитоплазмы и ядер нейроны с перичеллюлярным отеком на фоне очагового периваскулярного отека.

На 30-е сутки гистологические особенности неокортекса не имели принципиальных отличий от изменений, наблюдаемых в аналогичные сроки эксперимента у мышей, получавших дозу Dex 1,0 мг/кг. Незначительные отличия были связаны лишь с большей выраженностью перинуклеарного отека в некоторых нейронах.

Через 60 суток после многократного введения Dex в дозе 2,5 мг/кг у некоторых мышей отмечены одиночные гиперхромные клетки среди пирамидных нейронов в сочетании со слабым перичеллюлярным отеком; имел место также очаговый периваскулярный отек. На 90-е сутки гистологическая картина была идентична той, которую наблюдали в аналогичные сроки эксперимента у мышей, получавших дозу Dex 1,0 мг/кг, и в целом не отличалась от таковой у животных контрольной группы.

Таким образом, при многократном введении Dex в дозе 1,0 мг/кг гистологическое исследование выявило дистрофию нейронов и явления отека, наиболее выраженные на 15-е сутки и нивелируемые к окончанию эксперимента. Дозировка препарата 2,5 мг/кг при длительном введении индуцировала аналогичные обратимые очаговые изменения тинкториальных свойств ядер и цитоплазмы нейронов, расцениваемые как дистрофические, в сочетании с перичеллюлярным и периваскулярным отеком, которые наиболее выражены на 15-е сутки эксперимента.

В целом, гистологическое исследование префронтальной коры мышей C57Bl/6

в динамике воздействия двух дозировок Dex выявило отсутствие явной дозовой зависимости и обратимость дистрофических и гидропических изменений, наиболее выраженных при однократном введении Dex, на 7-е сутки, а при многократном на 15-е сутки эксперимента, с возвращением к исходной тканевой архитектонике, соответствующей архитектонике контрольных групп.

Далее исследовано влияние Dex на содержание ГР. После однократной инъекции Dex в дозе 1,0 мг/кг статистически значимые изменения в содержании ГР отсутствовали во все сроки эксперимента. При этом в группе мышей, получавших однократно 2,5 мг/кг Dex, оно было увеличено на 3-и сутки эксперимента (на 7,2%) и 10-е (на 8,1%) по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). При этом на 7-е сутки после инъекции Dex отмечено статистически значимое уменьшение (на 6,2 и 7,5%) ($p < 0,05$) содержания ГР относительно 3-х и 10-х суток эксперимента (рис. 3, табл.), что соответствовало наиболее выраженной дистрофии нейронов в сочетании с явлениями перичеллюлярного отека на 7-е сутки (рис. 1).

После многократных инъекций Dex в дозе 1,0 мг/кг по сравнению с животными контрольной группы в префронтальной коре животных не выявлены статистически значимые изменения содержания ГР во все сроки эксперимента (рис. 4, табл.). Повышение дозировки Dex до 2,5 мг/кг на 15-е сутки эксперимента сопровождалось его уменьшением (на 9,9%) ($p < 0,05$) по сравнению с этим показателем в контрольной группе, что, как и в эксперименте с однократным введением Dex в этой же дозе, совпало с наибольшей выраженностью дистрофических изменений нейронов и отека (рис. 2). Однако на 30-е сутки содержание ГР увеличивалось относительно 15-х суток на 15,9% и возвращалось к по-

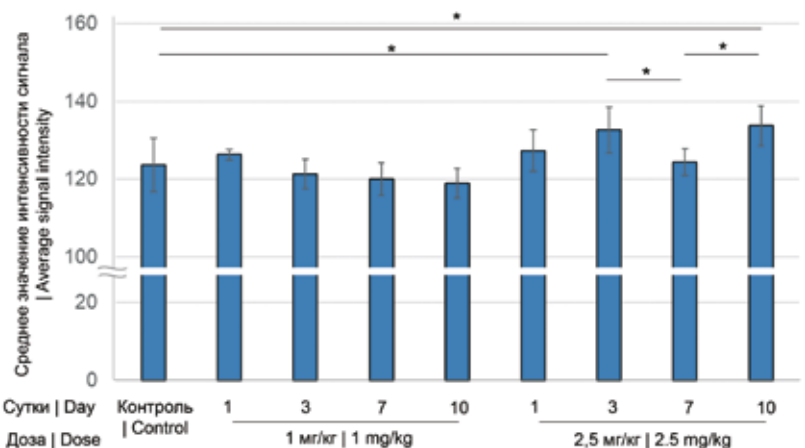


Рис. 3. Динамика содержания глюкокортикоидного рецептора в префронтальной коре мышей C57Bl/6 в условиях однократного введения Dex в дозировках 1,0 или 2,5 мг/кг. Контроль – мыши, получавшие физиологический раствор. * – $p < 0,05$

Fig. 3. Glucocorticoid receptor content in the prefrontal cortex of C57Bl/6 mice exposed to a one-time injection of Dex at dosages of 1.0 or 2.5 mg/kg over time. Control – mice treated with saline solution. * – $p < 0.05$

Содержание ГР в коре больших полушарий мозга мышей при кратко- и долгосрочном введении двух дозировок дексаметазона | Glucocorticoid receptor expression in the cerebral cortex of mice after short- and long-term administration of dexamethasone in two-dose regimens

Краткосрочное введение дексаметазона Short-term dexamethasone administration	Срок эксперимента, дни Experiment duration, days	Содержание глюкокортикоидного рецептора, показатель Glucocorticoid receptor content index	Долгосрочное введение дексаметазона Long-term dexamethasone administration	Срок эксперимента, дни Experiment duration, days	Содержание глюкокортикоидного рецептора, показатель Glucocorticoid receptor content index
Контроль Control		123,71±6,84	Контроль Control		115,17±7,95
Доза 1 мг/кг Dose 1 mg/kg	1	126,35±1,39	Доза 1 мг/кг Dose 1 mg/kg	15	109,86±9,62
	3	121,32±3,81		30	111,73±11,35
	7	120,12±4,21		60	108,75±5,06
	10	119,03±3,80		90	117,92±6,89
Доза 2,5 мг/кг Dose 2.5 mg/kg	1	127,38±5,37	Доза 2,5 мг/кг Dose 2.5 mg/kg	15	103,65±4,26**
	3	132,65±5,82*		30	120,17±8,30
	7	124,37±3,41		60	116,58±5,27
	10	133,75±5,09*		90	119,65±5,65

* – $p < 0,05$ по сравнению с контролем в краткосрочном эксперименте; ** – $p < 0,05$ по сравнению с контролем в долгосрочном эксперименте

* – $p < 0.05$ compared to the control group during the short-term experiment; ** – $p < 0.05$ compared to the control group during the long-term experiment

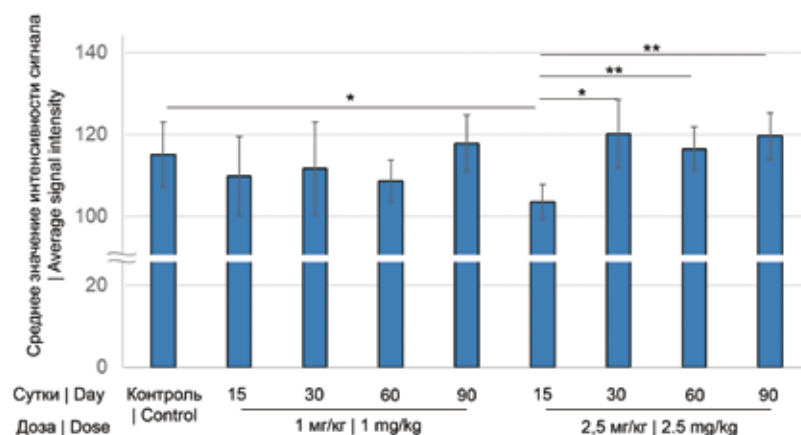


Рис. 4. Динамика содержания глюкокортикоидного рецептора в коре головного мозга мышей C57Bl/6 при воздействии многократного введения Dex в дозировках 1,0 или 2,5 мг/кг. Животных выводили из эксперимента на 15-е, 30-е, 60-е и 90-е сутки. Контроль – мыши, получавшие физиологический раствор. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$

Fig. 4. Glucocorticoid receptor content in the prefrontal cortex of C57Bl/6 mice exposed to repeated administration of 1.0 or 2.5 mg/kg Dex over time. Animals were removed from the experiment on days 15, 30, 60, and 90. Control – mice treated with saline solution. * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$

казателям контрольной группы, сохраняясь таковым на 60-е и 90-е сутки эксперимента.

Таким образом, многократное воздействие Dex оказывало более выраженный эффект на гистологию

префронтальной коры. Выявлено кратковременное влияние на содержание ГР и лишь в более высокой дозировке препарата. При однократном введении Dex в дозе 2,5 мг/кг показатель содержания ГР статистически значимо возрастал на 3-и и 10-и сутки относительно контроля, тогда как после многократных инъекций Dex содержание ГР уменьшалось относительно контрольной группы на 15-е сутки эксперимента, но к 30-м суткам возвращалось на исходный уровень.

Обсуждение

Для уточнения гистологических изменений префронтальной коры при воздействии Dex нами было проведено экспериментальное исследование однократного и многократного эффекта двух дозировок Dex, часто применяемых в клинике. Как известно, при лечении ряда заболеваний нервной системы ГК широко применяют как противоотечное и противовоспалительное средство, например при рассеянном склерозе, травмах и опухолях головного и спинного мозга, несмотря на отсутствие четких показаний и фармакологических стратегий [14–17]. Dex широко используют для лечения пациентов с отеком

головного и спинного мозга, в том числе перитуморальным отеком при глиобластоме, из-за его мощного глюкокортикоидного и минимального минералокортикоидного эффекта. Тем не менее оптимальная доза Dex для лечения или профилактики радиационных повреждений головного мозга не определена [18]. Кроме того, использование ГК может фактически ухудшить исходы, поскольку эффективность препарата непредсказуема в конкретной клинической ситуации и варьирует, поэтому для достижения клинически значимого снижения отека применяют высокие дозы Dex, которые приводят к тяжелым системным побочным эффектам и резистентности к препарату, особенно при длительном применении [19, 20].

Классификация отеков нервной ткани основана на морфологическом профиле распределения жидкости: внутриклеточный (цитотоксический) отек нейронов и внеклеточный (вазогенный) отек, обусловленный повышенной проницаемостью гематоэнцефалического барьера с гидратацией внеклеточного матрикса [16]. В нашей работе выявлены признаки независимого от дозы и сравнительно слабо выраженного цитотоксического и вазогенного отека префронтальной коры, которые были редуцированы в течение месяца даже при многократном воздействии Dex в дозе 2,5 мг/кг.

Относительно отмеченной нами дистрофии нейронов можно заметить, что Dex оказывает системный эффект, по-разному проявляющийся в разных тканях в зависимости от дозы и длительности воздействия. ГК известны своим катаболическим эффектом на клетки и подавлением синтеза белков, поэтому, видимо, применение Dex в сочетании с токсичными препаратами способно уменьшить, в частности, гепатотоксичность антивирусного препарата ремдесивир [21].

По-видимому, воздействие препарата в относительно низких дозах не вызывает существенных структурных изменений тканей-мишеней. Например, при неспецифическом воспалении легких оптимальная доза и продолжительность терапии ГК подбираются эмпирически в зависимости от индивидуального практического опыта врача. При отсутствии дыхательной недостаточности, которую обычно печат импульсными дозами стероидов, разумную начальную дозу преднизолона в размере 0,5–1 мг/кг идеальной массы тела (до 60 мг/день) рекомендовано поддерживать в течение 1 месяца [22, 23].

В целом, данные об эффектах ГК в условиях нормы и патологии противоречивы, и результаты исследований *in vitro* могут не совпадать с клиническими данными, поскольку выраженность положительных и отрицательных эффектов ГК определяется дозой, длительностью воздействия и тканевой специфичностью, которая зависит в том числе от уровня экспрессии ГР в различных отделах мозга [24].

В результате исследования нами выявлен противоположный эффект двух режимов введения Dex в дозе 2,5 мг/кг на показатель содержания ГР в префронтальной коре мышей: при однократном введении на

10-е сутки он возрастал на 8,1%, а при многократном уменьшался на 15-е сутки на 9,9% относительно показателя контрольной группы. Следует также отметить, что к окончанию эксперимента на 90-е сутки Dex оказывал кратковременное влияние на содержание ГР и лишь в более высокой дозировке препарата.

Ранее был изучен краткосрочный (до 10 суток) эффект однократного введения четырех различных доз Dex (0,1; 1,0; 2,5 и 10 мг/кг) на экспрессию ГР, коровых белков протеогликанов и ферментов биосинтеза углеводных цепей гепарансульфата в головном мозге мышей. Показано кратковременное влияние Dex с возвращением экспрессии генов к исходному уровню, однако оно значительно повышало содержание гликозаминогликанов в матриксе головного мозга [25].

В нашей работе экспрессия ГР имела место почти в 100% нейронов с небольшими различиями интенсивности ИГХ реакции, что подчеркивает важную роль кортикостероидов для мозга. Как натуральные ГК (кортизол, гидрокортизон), так и синтетические (Dex, бета-метазон) могут проникать через гематоэнцефалический барьер. При введении даже в невысоких дозах молекула Dex не расщепляется и продолжает стимулировать ГР в большей степени, чем кортизол [2].

Заключение

Гистологическое исследование префронтальной коры мышей C57Bl/6 в динамике воздействия двух дозировок дексаметазона выявило отсутствие явной дозовой зависимости, умеренную выраженность и обратимость дистрофических и гидропических изменений префронтальной коры, наиболее выраженных при однократном введении препарата на 7-е сутки, а при многократном на 15-е сутки эксперимента, с возвращением к исходной тканевой архитектонике, соответствующей таковой в контрольных группах. Колебания содержания глюкокортикоидных рецепторов синхронизируются с переходящими гистологическими изменениями префронтальной коры, что, на наш взгляд, свидетельствует об относительной безопасности для головного мозга применения дексаметазона в дозах 1,0 и 2,5 мг/кг в широкой клинической практике.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Э.В. Григорьева.
Сбор и обработка материала – Д.К. Соколов, Г.М. Казанская, А.М. Волков, А.В. Строкотова, Е.Э. Кливер, С.В. Айдагулова.
Написание текста – С.В. Айдагулова, Г.М. Казанская.
Редактирование – Э.В. Григорьева, А.М. Волков.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – E.V. Grigorieva.
Collected the data and performed the analysis – D.K. Sokolov, G.M. Kazanskaya, A.M. Volkov, A.V. Strokotova, E.E. Kliver, S.V. Aidagulova.
Wrote the paper – S.V. Aidagulova, G.M. Kazanskaya.
Edited the manuscript – E.V. Grigorieva, A.M. Volkov.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

1. *Deploey N, Van Moortel L, Rogatsky I, Peelman F, De Bosscher K.* The biologist's guide to the glucocorticoid receptor's structure. *Cells.* 2023;12(12):1636. DOI: 10.3390/cells12121636.
2. *Malaeb SN, Stonestreet BS.* Steroids and injury to the developing brain: net harm or net benefit? *Clin Perinatol.* 2014;41(1):191–208. DOI: 10.1016/j.clp.2013.09.006.
3. *Meijer OC, Buurstedde JC, Viho EMG, Amaya JM, Koning ACAM, van der Meulen M et al.* Transcriptional glucocorticoid effects in the brain: finding the relevant target genes. *J Neuroendocrinol.* 2023;35(2):e13213. DOI: 10.1111/jne.13213.
4. *Madalena KM, Lerch JK.* The effect of glucocorticoid and glucocorticoid receptor interactions on brain, spinal cord, and glial cell plasticity. *Neural Plast.* 2017;2017:8640970. DOI: 10.1155/2017/8640970.
5. *Tsidulko AY, Bezier C, de la Bourdonnaye G, Suhovskih AV, Pankova TM, Kazanskaya GM et al.* Conventional anti-glioblastoma chemotherapy affects proteoglycan composition of brain extracellular matrix in rat experimental model *in vivo*. *Front Pharmacol.* 2018;9:1104. DOI: 10.3389/fphar.2018.01104.
6. *Strokotova AV, Grigorieva EV.* Glucocorticoid effects on proteoglycans and glycosaminoglycans. *Int J Mol Sci.* 2022;23(24):15678. DOI: 10.3390/ijms232415678.
7. *Jaumotte JD, Franks AL, Bargerstock EM, Kisanga EP, Menden HL, Ghersi A et al.* Ciclesonide activates glucocorticoid signaling in neonatal rat lung but does not trigger adverse effects in the cortex and cerebellum. *Neurobiol Dis.* 2021;156:105422. DOI: 10.1016/j.nbd.2021.105422.
8. *Feng Y, Kumar P, Wang J, Bhatt AJ.* Dexamethasone but not the equivalent doses of hydrocortisone induces neurotoxicity in neonatal rat brain. *Pediatr Res.* 2015;77(5):618–24. DOI: 10.1038/pr.2015.19.
9. *Feng Y, Rhodes PG, Liu H, Bhatt AJ.* Dexamethasone induces neurodegeneration but also up-regulates vascular endothelial growth factor A in neonatal rat brains. *Neuroscience.* 2009;158(2):823–32. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2008.10.024.
10. *Hedley-Whyte ET, Hsu DW.* Effect of dexamethasone on blood-brain barrier in the normal mouse. *Ann Neurol.* 1986;19(4):373–7. DOI: 10.1002/ana.410190411.
11. *Процина А.Е., Харламова А.С., Кривова Ю.С., Савельев С.В.* Современные тенденции картирования головного мозга. Клиническая и экспериментальная морфология. 2023;12(1):15–23. DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.15-23.
Proshchina AE, Kharlamova AS, Krivova YuS, Saveliev SV. Modern trends in brain mapping and atlas. *Clinical and experimental morphology.* 2023;12(1):15–23 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.15-23.
12. *Yao YY, Liu DM, Xu DF, Li WP.* Memory and learning impairment induced by dexamethasone in senescent but not young mice. *Eur J Pharmacol.* 2007;574(1):20–8. DOI: 10.1016/j.ejphar.2007.07.021.
13. *Drakulić D, Veličković N, Stanojlović M, Grković I, Mitrović N, Lavrnja I et al.* Low-dose dexamethasone treatment promotes the pro-survival signaling pathway in the adult rat prefrontal cortex. *J Neuroendocrinol.* 2013;25(7):605–16. DOI: 10.1111/jne.12037.
14. *Michinaga S, Koyama Y.* Pathogenesis of brain edema and investigation into anti-edema drugs. *Int J Mol Sci.* 2015;16(5):9949–75. DOI: 10.3390/ijms16059949.
15. *Dos Santos N, Novaes LS, Dragunas G, Rodrigues JR, Brandão W, Camarini R et al.* High dose of dexamethasone protects against EAE-induced motor deficits but impairs learning/memory in C57BL/6 mice. *Sci Rep.* 2019;9(1):6673. DOI: 10.1038/s41598-019-43217-3.
16. *Cook AM, Morgan Jones G, Hawryluk GWJ, Mailloux P, McLaughlin D, Papangelou A et al.* Guidelines for the acute treatment of cerebral edema in neurocritical care patients. *Neurocrit Care.* 2020;32(3):647–66. DOI: 10.1007/s12028-020-00959-7.
17. *Seblani M, Decherchi P, Brezun JM.* Edema after CNS trauma: a focus on spinal cord injury. *Int J Mol Sci.* 2023;24(8):7159. DOI: 10.3390/ijms24087159.
18. *Tada E, Matsumoto K, Kinoshita K, Furuta T, Ohmoto T.* The protective effect of dexamethasone against radiation damage induced by interstitial irradiation in normal monkey brain. *Neurosurgery.* 1997;41(1):209–19. DOI: 10.1097/00006123-199707000-00033.
19. *Murayi R, Chittiboyna P.* Glucocorticoids in the management of peritumoral brain edema: a review of molecular mechanisms. *Childs Nerv Syst.* 2016;32(12):2293–302. DOI: 10.1007/s00381-016-3240-x.
20. *Spies LL, Verhoog NJD, Louw A.* Acquired glucocorticoid resistance due to homologous glucocorticoid receptor downregulation: a modern look at an age-old problem. *Cells.* 2021;10(10):2529. DOI: 10.3390/cells10102529.
21. *Liu K, Stern S, Heil EL, Li L, Khairi R, Heyward S et al.* Dexamethasone mitigates remdesivir-induced liver toxicity in human primary hepatocytes and COVID-19 patients. *Hepatol Commun.* 2023;7(3):e0034. DOI: 10.1097/HC9.0000000000000034.
22. *Hauber HP, Bittmann I, Kirsten D.* Non-specific interstitial pneumonia (NSIP). *Pneumologie.* 2011;65(8):477–83. DOI: 10.1055/s-0030-1256284.
23. *Amratia DA, Viola H, Ioachimescu OC.* Glucocorticoid therapy in respiratory illness: bench to bedside. *J Investig Med.* 2022;70(8):1662–80. DOI: 10.1136/jim-2021-002161.
24. *Егорова А.В., Воронков Д.Н., Федорова Е.Н., Баранич Т.И., Глинкина В.В., Сухоруков В.С.* Особенности строения и функции митохондрий в нейронах и глиоцитах различных отделов головного мозга лабораторных грызунов. Клиническая и экспериментальная морфология. 2023;12(2):5–13. DOI: 10.31088/CEM2023.12.2.5-13.
Egorova AV, Voronkov DN, Fedorova EN, Baranich TI, Glinkina VV, Sukhorukov VS. Structural and functional features of mitochondria in neurons and gliocytes of various cerebral regions of laboratory rodents. *Clinical and experimental morphology.* 2023;12(2):5–13 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2023.12.2.5-13.
25. *Аладьев С.Д., Соколов Д.К., Строкотова А.В., Казанская Г.М., Волков А.М., Политко М.О. и др.* Влияние дексаметазона на экспрессию и содержание гликозилированных компонентов в ткани головного мозга мышей. Успехи молекулярной онкологии. 2023;10(1):25–39. DOI: 10.17650/2313-805X-2023-10-1-25-39.
Aladev SD, Sokolov DK, Strokotova AV, Kazanskaya GM, Volkov AM, Politko MO et al. Dexamethasone effects on the expression and content of glycosylated components of mouse brain tissue. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2023;10(1):25–39 (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2023-10-1-25-39.

Информация об авторах

Дмитрий Константинович Соколов – младший научный сотрудник лаборатории гликобиологии Научно-исследовательского института молекулярной биологии и биофизики ФИЦ ФТМ.

Галина Михайловна Казанская – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории гликобиологии Научно-исследовательского института молекулярной биологии и биофизики ФИЦ ФТМ.

Александр Михайлович Волков – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальной хирургии и морфологии НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина.

Анастасия Владимировна Строкотова – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории гликобиологии Научно-исследовательского института молекулярной биологии и биофизики ФИЦ ФТМ.

Евгений Эдуардович Кливер – доктор медицинских наук, заведующий патологоанатомическим отделением НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина, профессор кафедры патологической анатомии Новосибирского государственного медицинского университета.

Эльвира Витальевна Григорьева – доктор биологических наук, заведующая лабораторией гликобиологии Научно-исследовательского института молекулярной биологии и биофизики ФИЦ ФТМ.

Светлана Владимировна Айдагулова – доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории гликобиологии Научно-исследовательского института молекулярной биологии и биофизики ФИЦ ФТМ, заведующая лабораторией клеточной биологии и фундаментальных основ репродукции Центральной научно-исследовательской лаборатории Новосибирского государственного медицинского университета.

Author information

Dmitry K. Sokolov – Junior Researcher, Laboratory of Glycobiology, Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine.

<https://orcid.org/0000-0002-4145-5277>

Galina M. Kazanskaya – Cand. Sci. (Biol.), Researcher, Laboratory of Glycobiology, Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine.

<https://orcid.org/0000-0003-2598-1805>

Alexander M. Volkov – Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher, Laboratory of Experimental Surgery and Morphology, E.N. Meshalkin National Medical Research Center.

<https://orcid.org/0000-0001-9697-7091>

Anastasia V. Strokotova – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Glycobiology, Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine.

<https://orcid.org/0000-0001-5336-8552>

Evgenii E. Kliver – Dr. Sci. (Med.), Head of Pathology Department, E.N. Meshalkin National Medical Research Center; Professor, Pathological Anatomy Department, Novosibirsk State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0002-3915-3616>

Elvira V. Grigorieva – Dr. Sci. (Biol.), Head of Laboratory of Glycobiology, Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine.

<https://orcid.org/0000-0003-2457-9179>

Svetlana V. Aidagulova – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Leading Researcher, Laboratory of Glycobiology, Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine; Head of the Laboratory of Cellular Biology and Fundamentals of Reproduction, Central Research Laboratory, Novosibirsk State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0001-7124-1969>