

ФАРМАКОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

ВЛИЯНИЕ 5-ГИДРОКСИАДАМАНТАН-2-ОНА НА МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ТКАНЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС В УСЛОВИЯХ ЛОКАЛЬНОЙ ПЕРМАНЕНТНОЙ ИШЕМИИ

Н. Р. Мирзоян¹, Н. Г. Хостилян¹, В. С. Меликсетян¹, К. Б. Алиханян¹,
А. Г. Степанян¹, А. А. Акопян¹, А. М. Кухтарова², Н. А. Багдасарян¹

Изучено влияние 5-гидроксиадамantan-2-она на морфологическое состояние ткани головного мозга крыс после левосторонней окклюзии средней мозговой артерии. Исследования показали, что введение 5-гидроксиадамantan-2-она (100 мг/кг внутривентрикулярно) через 30 мин после проведения операции по окклюзии средней мозговой артерии и в последующие 6 и 12 дней ежедневно приводило к выраженным восстановительным процессам в мозговой ткани. Наблюдающиеся процессы были более выражены после 12 дней применения 5-гидроксиадамantan-2-оном.

Ключевые слова: локальная перманентная ишемия головного мозга; морфологическое состояние тканей головного мозга; 5-гидроксиадамantan-2-он

ВВЕДЕНИЕ

Цереброваскулярные расстройства относятся к одной из наиболее актуальных проблем современной медицины, так как эти заболевания занимают ведущее место среди основных причин смертности и инвалидизации населения. Этим определяется необходимость изыскания и изучения новых средств лечения нарушений мозгового кровообращения. Особый интерес в этом аспекте представляют соединения, воздействующие на систему ГАМК, так как именно ГАМК-ергические механизмы играют важную роль в устранении дисбаланса между возбуждающими и тормозными процессами в ЦНС, так и нарушений регуляции тонуса сосудов, характерных для ишемического поражения мозга. Известно, что активация ГАМК-ергических процессов способствует и усилению тормозных механизмов, и улучшению мозгового кровообращения [4, 6, 7]. В соответствии с этим представляет интерес производное адамантана – 5-гидроксиадамantan-2-он, которое вызывает усиление локального кровотока коры большого мозга крыс в условиях глобальной переходящей ишемии, не влияя на кровоток у интактных животных, и повышает выживаемость крыс при гравитационных перегрузках. При этом у соединения выявлен ГАМК-ергический механизм цереброваскулярного действия [2]. У 5-гидроксиадамantan-2-она обнаружены антиамнестические свойства, не уступающие по выраженности мексаметину [1]

Целью исследования явилось изучение влияния 5-гидроксиадамantan-2-она на морфологическое состояние тканей головного мозга на другой модели ишемического поражения мозга, а именно, локальной перманентной ишемии головного мозга, вызванной окклюзией средней мозговой артерии у крыс.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проводили на 28 нелинейных крысах-самцах массой 250–300 г. Моделирование локальной перманентной ишемии производили по методике Тамуга и соавт. [8] в модификации А. В. Топчяна и соавт. [5]. Перевязку левой средней мозговой артерии проводили у крыс, наркотизированных хлоралгидратом (400 мг/кг внутривентрикулярно). Морфологическое состояние ткани головного мозга оценивали на 6-й и 12-й дни после окклюзии средней мозговой артерии. Указанные интервалы были выбраны на основании имеющихся в литературе данных, согласно которым через 6 и 12 суток имеют место наиболее выраженные изменения в структуре ткани головного мозга крыс после локальной перманентной ишемии [3, 5]. Животных декапитировали на шестой или двенадцатый день после оперативного вмешательства. Для морфологического исследования мозг крыс извлекали и фиксировали в 10% нейтральном формалине, затем производили сагиттальные вырезки мозга с охватом ткани области кровообращения средней мозговой артерии. Ткань мозга заливали в парафиновые блоки. Из парафиновых блоков готовили серийные (ступенчатые) гистологические препараты, которые окрашивали гистологическим универсальным методом гематоксилин-эозином.

¹ Кафедра клинической фармакологии (зав. – Н. Р. Мирзоян) и кафедра патологической анатомии (зав. – проф. Н. Г. Хостилян) Ереванского Государственного Медицинского Университета им. Мхитара Гераци, 0025, Ереван, ул. Корюна, 2.

² ФГБУ НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8.

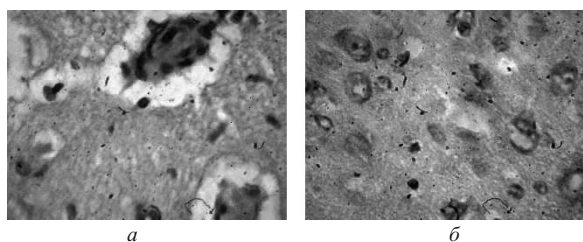


Рис. 1. Морфологическая картина ткани головного мозга крыс, перенесших операцию окклюзии средней мозговой артерии.

а – Выраженный периваскулярный, перичеселлюлярный отек мозга, стаз в артериолах, очаги опустошенных нервных и глиальных клеток (окраска гематоксилин-эозином $\times 400$). *б* – На фоне некробиоза выявляются безъядерные клетки-тени нейронов, а также дистрофированные нервные и глиальные клетки (окраска гематоксилин-эозином $\times 400$).

В первой и второй сериях опытов изучали морфологическое состояние ткани головного мозга крыс после перевязки средней мозговой артерии на 6-й и 12-й день соответственно, которые оценивали, как контрольные.

В третьей и четвертой сериях опытов исследовали морфологическое состояние мозга крыс, перенесших операцию по перевязке средней мозговой артерии, которым вводили 5-гидроксиадамantan-2-он (100 мг/кг внутрибрюшинно) через 30 мин после перевязки средней мозговой артерии, а затем ежедневно в течение 6 или 12 дней.

В работе использован 5-гидроксиадамantan-2-он, синтезированный и предоставленный нам сотрудниками опытно-технологического отдела (зав. – проф. Б. М. Пятин) ФГБУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова” РАМН.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В первой и второй сериях опытов проводили морфологическое исследование мозга через 6 и 12 сут после перевязки левой средней мозговой артерии соответственно.

На гистологических препаратах наблюдаются выраженный периваскулярный и перичеселлюлярный отек мозговой ткани. В отечной ткани мозга выявляются клетки с вакуолярной дистрофией цитоплазмы и ядра нейронов, участки кариорексиса, кариопикноза и кариолизиса нервных и глиальных клеток. Наряду с опустошенными сосудами микроциркуляторного русла обнаруживаются капилляры и артериолы в состоянии стаза и микротромбоза. Вокруг таких артериол выявлены очаги опустошения нервных и глиальных клеток (рис. 1, *а*). В гистологических препаратах мозга контрольных крыс обнаруживаются участки некробиоза всех слоев клеток коры с вымыванием, лизисом ядерного вещества нейронов и крупных глиальных клеток. На фоне некробиоза пирамидных клеток коры выявляются также безъядерные некротизированные клетки-тени, а также участки дистрофированных нейросекреторных клеток паравентрикулярного и супра-

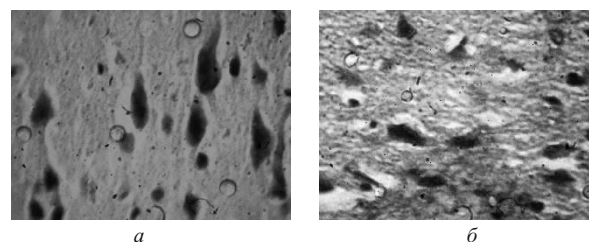


Рис. 2. Морфологическая картина ткани головного мозга крыс, перенесших операцию окклюзии средней мозговой артерии, после проведения курса лечения 5-гидроксиадамantan-2-оном.

а – Гипертрофированные пирамидальные клетки с сохранившимися отростками (окраска гематоксилинэозином $\times 400$). *б* – Наряду с гипертрофированными клетками встречаются клетки без аксонов со сморщенной цитоплазмой и ядром (окраска гематоксилин-эозином $\times 400$).

оптического ядер (рис. 1, *б*). На препаратах выявляется стирание границ всех слоев коры большого мозга. Среди выраженных ишемических очагов или по соседству с ними выявляются единичные гипертрофированные нейроны с гиперхромными ядрами, что свидетельствует о внутриклеточной регенерации отдельных неповрежденных нервных и глиальных клеток. На препаратах мозговой ткани контрольной группы выявляются также очаги пролиферации олигодендроцитарных клеток и астроцитов. Схожие изменения происходят и в нейросекреторных клетках ядер мозговой ткани, расположенных в бассейне средней мозговой артерии. В межклеточном веществе выявляются мелкоочечные кровоизлияния, линейные кровоизлияния, отек мозговых оболочек, стаз в сосудах мягкой и твердой мозговых оболочек. Выявляются также участки гемосидероза.

Полученные данные согласуются с результатами предыдущих исследований, которые выявили билатеральные нарушения мозгового кровотока, гипоксические повреждения нейронов коры, проводящих путей и синаптических терминалей в аналогичные сроки после окклюзии средней мозговой артерии [3, 5].

В последующих двух сериях опытов исследовали влияние 5-гидроксиадамantan-2-она (100 мг/кг внутрибрюшинно) на морфологическое состояние ткани головного мозга крыс, перенесших операцию окклюзии средней мозговой артерии на 6-й (3-я серия) и 12-й (4-я серия) дни после проведения курса лечения 5-гидроксиадамantan-2-оном.

Морфологические изменения мозговой ткани изучали на сагиттальных срезах мозга, что дало возможность на одном и том же срезе выявить изменения ткани в области левой и правой мозговой артерии и дать сравнительную морфологическую картину поврежденной стороны (левой) и правого полушария, где предварительная окклюзия средней мозговой артерии не была проведена.

На серийных гистологических препаратах третьей серии опытов в левом полушарии выявляются отдельные нейроны или группы нейронов в состоянии нейробиоза, мелкие очаги опустошения нервных и гли-

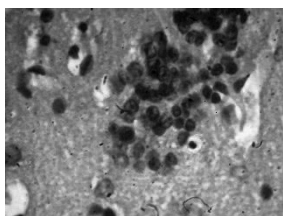


Рис. 3. Морфологическая картина ткани головного мозга крыс, перенесших операцию окклюзии средней мозговой артерии, после курса лечения 5-гидроксиадамantan-2-оном.

В очагах некроза и выраженного отека наблюдается лимфомакрофагальная реакция в ответ на поврежденные мелкокистозные изменения мозговой ткани (окраска гематоксилин-эозином $\times 400$).

альных клеток. Наряду с этим выявляются дистрофические изменения пирамидальных клеток коры. Перипеллюлярный и периваскулярный отек слабо выражен, наблюдается полнокровие сосудов микроциркуляторного русла, очаги экстравазатов, старые мелкие кровоизлияния с наличием пигмента гемосидерина. Встречаются очаги пролиферации глиальных клеток, олигодендроцитов, астроцитов.

В нейросекреторных клетках паравентрикулярного и супраоптического ядер выявляются процессы дистрофии, единичные клетки в состоянии некроза и некробиоза. На фоне описанных изменений выявляются гипертрофированные крупные нейросекреторные клетки в паравентрикулярном и супраоптическом ядрах с наличием множественных нейросекреторных гранул.

Аналогичные изменения и восстановительные компенсаторно-регенераторные процессы наблюдаются во всех пирамидных клетках коры большого мозга (рис. 2, а). У вышеописанных гипертрофированных нейронов нервные аксоны сохранены на всем протяжении.

В бассейне средней мозговой артерии слева выявляются клетки без отростков со сморщенной цитоплазмой и ядром (рис. 2, б). В эндимальных клетках желудочков мозга наблюдается пролиферация, а в сосудах синусоидального типа - полнокровие. В отдельных сохранившихся участках некроза и выраженного отека мозговой ткани наблюдается очаговая лимфомакрофагальная реакция в ответ на поврежденные мелкокистозные изменения (рис. 3). Выявляются микрососуды с облитерирующими белыми тромботическими массами.

В четвертой серии опытов при лечении животных с перевязкой средней мозговой артерии 5-гидроксиадамantan-2-оном в дозе 100 мг/кг в течение 12 дней наблюдавшиеся морфологические изменения мозговой ткани носили более выраженный восстановительно-регенераторный и пролиферативный характер. Расположение слоев нервных клеток коры мозга в основном сохранено. Наблюдается незначительный перипеллюлярный и периваскулярный отек мозговых оболочек и мозговой ткани с полнокровием сосудов мик-

роциркуляторного русла. Выявляются мелкие очаги в мозговой ткани с наличием теней глиальных клеток и нейроцитов. В бассейне левой средней мозговой артерии в основном обширные поля пирамидальных нейросекреторных и глиальных клеток нормальных размеров с четкими границами цитоплазмы и ядра с наличием ядрышек. В нейросекреторных клетках выявляются гранулы нейросекреторного вещества. В отдельных участках вблизи 3-го желудочка мозга выявляются участки ишемии, где контуры нейронов, глиальных клеток, нервных отростков и нейропыли нечетко выражены. Рядом с этими участками выявляются гипертрофированные нейроны с гиперхромными ядрами, а также функционально активные нейросекреторные клетки с множественными секреторными гранулами.

Изучали также морфологическую картину правого полушария мозга в бассейне правой средней мозговой артерии на тех же гистологических препаратах и проводили сравнительную оценку морфологической картины мозговой ткани (картина вторичного контроля у тех же животных). Во всех сериях опытов (в контрольных группах и в группах, получающих 5-гидроксиадамantan-2-он в течение 6 и 12 дней) в правой половине мозга наблюдаются незначительный периваскулярный и перипеллюлярный отек, полнокровие микроциркуляторного русла. В самих нейрональных клетках, аксонах, глиальных клетках, особенно в поздние сроки третьей серии эксперимента, наблюдаются компенсаторно-регенераторные процессы в виде внутриклеточной регенерации органелл, гипертрофии пирамидных клеток, крупных глиальных клеток, увеличение количества сосудов микроциркуляторного русла. Данный процесс характерен для мозговой ткани мозга, когда при повреждении отдельных очагов другие участки мозга или другого полушария, в данном случае правая сторона, в какой-то степени компенсируют и восстанавливают морфофункциональное равновесие ЦНС (мозговой ткани).

Таким образом, проведенные опыты установили, что перманентная окклюзия средней мозговой артерии у крыс вызывает изменения морфологического состояния тканей мозга, которые свидетельствуют об их ишемическом поражении. 5-гидроксиадамantan-2-он, который вводили ежедневно в дозе 100 мг/кг в течение всего срока наблюдений, способствовал выраженным восстановительным процессам в мозговой ткани, что свидетельствует о нейропротекторной активности препарата. Защитное действие препарата усиливается при его более продолжительном применении – в течение 12 дней.

Полученные данные согласуются с результатами исследований, полученных в лаборатории фармакологии цереброваскулярных расстройств ФГБУ «НИИ фармакологии имени В. В. Закусова» РАМН, согласно которым 5-гидроксиадамantan-2-он усиливал крово-

снабжение мозга, подвергнутого глобальной переходящей ишемии [2].

ВЫВОДЫ

1. Через 6 и 12 суток после левосторонней окклюзии средней мозговой артерии у крыс выявлены нарушения мозгового кровообращения, гипоксические повреждения нейронов коры большого мозга, проводящих путей и синаптических терминалей.

2. 5-гидроксиадамантан-2-он при ежедневном введении в дозе 100 мг/кг в течение 6 и 12 дней приводит к выраженным восстановительным процессам мозговой ткани. Наблюдающиеся процессы более выражены после 12 дней лечения 5-гидроксиадамантан-2-оном.

ЛИТЕРАТУРА

1. С. А. Литвинова, *Автореф. дисс. канд. биол. наук.*, Москва (2008).
2. Р. С. Мирзоян, Т. С. Ганьшина, Д. В. Масленников и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **75**(6), 27 – 30 (2012).
3. Р. С. Мирзоян, А. В. Топчян, А. С. Канаян, М. Г. Баласанян, *Вестн. РАМН*, **11**, 46 – 51 (1998).
4. Н. Д. Сорокина, Г. В. Селицкий, Н. С. Косицын, М. М. Свинов, *Журн. высш. нервн. деят.*, **52**(6), 656 – 664 (2002).
5. А. В. Топчян, Р. С. Мирзоян, М. Г. Баласанян, *Экспер. и клин. фармакол.*, **59**(5), 62 – 64 (1996).
6. A. R. Green, A. H. Hainsworth, D. M. Jackson, *Neuropharmacol.*, **39**, 1483 – 1494 (2000).
7. R. D. Schwartz-Bloom, R. Sah, *J. Neurochem.*, **77**(2), 353 – 371 (2001).
8. A. Tamura, et al., *J Cereb Blood Flow Metab.*, **1**, 53 (1981).

Поступила 18.04.13

THE EFFECT OF 5-HYDROXYADAMANTAN-2-ONE ON MORPHOLOGICAL STATUS OF RATS' BRAIN TISSUES IN LOCAL PERMANENT ISCHEMIA CONDITIONS

N. R. Mirzoyan¹, N. G. Khostikyan¹, V. S. Meliksetyan¹, C. B. Alikhanyan¹, A. G. Stepanyan¹, A. A. Hakobyan¹, A. M. Kukhtarova², and N. A. Baghdasaryan¹

¹ Yerevan State Medical University after M. Heratsi, 2 Koryun Str., 0025, Yerevan, Republic of Armenia

² Institute of pathology and pathophysiology Russian Academy of Medical Sciences, Baltiyskaya ul. 8, Moscow, 117485, Russia

The effect of 5-hydroxyadamantane-2-one was studied on morphological state of brain tissue of rats after the occlusion of left middle cerebral artery. It was shown that intraperitoneal administration of 5-hydroxyadamantane-2-one at dose 100mg/kg, in 30 minutes after occlusion and once daily for the following 6 and 12 days leads to significant regenerative processes in brain tissue. These processes were more profound after the 12-day treatment with 5-hydroxyadamantane-2-one.

Keywords: local cerebral ischemia; 5-hydroxyadamantane-2-one