

ФАРМАКОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТКАНЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС В УСЛОВИЯХ ЛОКАЛЬНОЙ ПЕРМАНЕНТНОЙ ИШЕМИИ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ГЕМИСУКЦИНАТА 2-МЕТИЛ-6-ЭТИЛ-3-ГИДРОКСИПИРИДИНА

Н. А. Багдасарян, Н. Г. Хостилян, К. Б. Алиханян, В. С. Меликсетян,
М. Г. Багдасарян, А. Г. Степанян, А. М. Кухтарова, Н. Р. Мирзоян¹

Изучено влияние гемисукцината 2-метил-6-этил-3-гидроксипиридина на морфологическое состояние ткани головного мозга крыс после левосторонней окклюзии средней мозговой артерии. Исследования показали, что курсовое применение в течение 6 и 12 дней гемисукцинатом 2-метил-6-этил-3-гидроксипиридина в дозе 200 мг/кг (внутрибрюшинно) приводило к восстановительным процессам в мозговой ткани. Наиболее выраженные восстановительные процессы наблюдались после 12 дней применения гемисукцинатом 2-метил-6-этил-3-гидроксипиридина.

Ключевые слова: локальная перманентная ишемия головного мозга; морфологические изменения тканей головного мозга; гемисукцинат 2-метил-6-этил-3-гидроксипиридина.

Нарушения мозгового кровообращения являются одной из главных причин смертности и инвалидизации населения. Применяемые в неврологической практике лекарственных средств не отличаются высокой эффективностью. Этим определяется актуальность и социальная значимость проблемы разработки новых эффективных препаратов для лечения цереброваскулярных заболеваний.

В этом аспекте представляет интерес изучение гемисукцината 2-метил-6-этил-3-гидроксипиридина, который обладает способностью улучшать кровоснабжение ишемизированного мозга [1]. Следует также отметить, что мексидол, который также относится к производным оксипиридина, получил широкое распространение при лечении больных с цереброваскулярными заболеваниями.

Поэтому целью нашего исследования явилось изучение влияния гемисукцината 2-метил-6-этил-3-гидроксипиридина на морфологическую картину головного мозга крыс на другой экспериментальной модели цереброваскулярных расстройств — модели локальной перманентной ишемии головного мозга.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проведены на 38 крысах-самцах массой 200 – 250 г (виварий Ереванского медицинского университета им. М. Гераци, Ереван). Животных содержали на общем рационе вивария в соответствии с протоколом № 4 от 18. 12. 2012 Этического комитета Ереванского медицинского университета им. М. Гераци.

¹ Ереванский государственный медицинский университет им. Мхитара Гераци, 0025, Ереван, ул. Корюна, 2.

Модель локальной ишемии воспроизводили по методу Тамуга [4] в модификации А. В. Топчяна [3]. Перевязка левой средней мозговой артерии проводилась у крыс под общей анестезией хлоралгидратом в дозе 400 мг/кг, внутрибрюшинно. Морфологическое состояние ткани головного мозга оценивали на 6-й и 12-й дни после окклюзии средней мозговой артерии, когда, согласно имеющимся литературным данным, в структуре ткани головного мозга крыс наблюдаются наиболее выраженные изменения [2, 3]. Животных забивали путем декапитации, после чего весь мозг фиксировали в 10 % нейтральном формалине. Затем производили сагиттальные срезы мозга с захватом ткани области кровообращения средней мозговой артерии. Ткань заливали в парафиновые блоки, из которых готовили серийные (ступенчатые) гистологические препараты. Эти препараты окрашивали гематоксилин-эозином. В первой (9 крыс) и второй (8 крыс) сериях опытов изучали морфологическое состояние мозга крыс после перевязки средней мозговой артерии на 6-й и 12-й день, которые оценивали как контрольные. В третьей и четвертой (по 11 и 10 крыс, соответственно) сериях опытов исследовали морфологическое состояние мозга крыс, перенесших операцию по перевязке средней мозговой артерии, которым вводили гемисукцинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина (200 мг/кг) внутрибрюшинно через 30 мин после перевязки, а затем ежедневно однократно в течение 6 и 12 дней, соответственно.

В работе был использован гемисукцинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина, синтезированный и любезно предоставленный нам сотрудниками опыт-

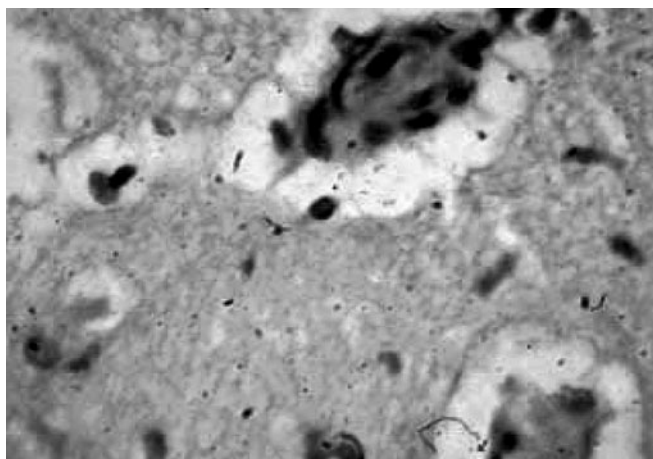


Рис. 1. Выраженный периваскулярный, перичеселлюлярный отек мозга, стаз в артериолах, очаги опустошенных нервных и глиальных клеток (окраска гематоксилин-эозином $\times 400$).

но-технологического отдела (зав. – проф. Б. М. Пятин) ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В. В. Закусова”.

В работе использованы стандартные методы статистической обработки результатов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В первых 2 сериях опытов было проведено морфологическое исследование мозга через 6 и 12 сут после перевязки левой средней мозговой артерии.

На гистологических препаратах первой серии (6-й день, $n = 9$) наблюдаются выраженный перичеселлюлярный и периваскулярный отек мозговой ткани. Среди опустошенных сосудов микроциркулярного русла обнаруживаются артерии и капилляры в состоянии стаза и микротромбоза. Вокруг таких артериол выявлены очаги опустошения нервных и глиальных клеток. В отечной мозговой ткани видны клетки с вакуолярной дистрофией цитоплазмы и ядра нейронов, нервные и глиальные клетки с участками кариорексиса, кариолизиса и кариопикноза (рис. 1). Кроме этого, обнаруживаются участки некробиоза всех слоев клеток коры, с вымыванием, лизисом ядерного вещества крупных глиальных клеток и нейронов. Выявляются также безъядерные некротизированные клетки-тени, участки дистрофированных нейросекреторных клеток паравентрикулярного и супраоптического ядер, некробиоз пирамидных клеток. Наряду с выраженными ишемическими очагами выявляются отдельные гипертрофированные нейроны с гиперхромными ядрами. Это свидетельствует о внутриклеточной регенерации единичных неповрежденных нервных и глиальных клеток. Похожие изменения наблюдаются и в нейросекреторных клетках ядер мозговой ткани в бассейне средней мозговой артерии. В межклеточном веществе видны мелкоочечные и линейные кровоизлияния, отек мозговых оболочек, стаз в сосудах мягкой и твердой мозговых оболочек. Видны участки гемосидероза (рис. 2).



Рис. 2. Стаз в микрососудах, облитерирующие тромбы, выраженный периваскулярный и перичеселлюлярный отек, очаги некроза и некробиоза в мозговой ткани (окраска гематоксилин-эозином $\times 100$).

Во второй группе контрольных животных, декапированных на 12 день после перевязки левой средней мозговой артерии ($n = 8$), на фоне вышеперечисленных патологических изменений мозговой ткани в виде повреждения, дистрофии, некроза нервных клеточных элементов и нейроглии, в большинстве случаев наблюдаются процессы начинающейся регенерации по типу внутриклеточной гипертрофии органелл. Гипертрофированные нейроны, единичные или в виде мелких очагов, встречаются в участках нервной ткани, где наблюдается разрастание анастомозов мелких коллатералей артериол, или в области сохранившихся сосудов с полнокровием артериол. Во всех наблюдениях контрольных животных выявляются линейные кровоизлияния, отек мягкой и твердой мозговой оболочки.

В правом полушарии головного мозга в области бассейна правой средней мозговой артерии наблюдаются незначительные дистрофические изменения нейроцитов, полнокровие сосудов и гипертрофия, выраженная активность нервных и нейросекреторных клеток. Данная картина со стороны правого полушария нами рассценивается как компенсаторно-репаративный процесс.

В последующих 2 сериях опытов исследовали влияние гемисукцината 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина (200 мг/кг, внутривентриально) 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 начала применения гемисукцината 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина. Морфологическое исследование тканей головного мозга крыс при локальной ишемии дало следующую картину.

На гистологических препаратах мозговой ткани после шестидневного внутривентриального применения препарата (3-я серия, $n = 11$) наблюдался невыраженный перичеселлюлярный отек ткани мозга, очаги стаза и

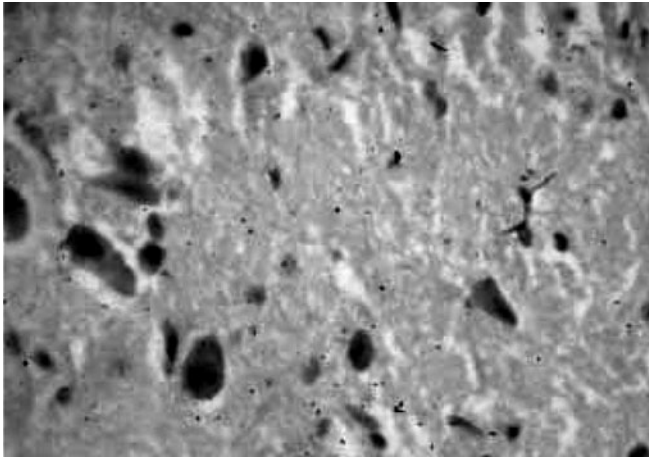


Рис. 3. Вокруг очагов микроинфаркта выявлялись нормальные и гипертрофированные нейроны с хорошо выраженными ядрами и ядрышком (окраска гематоксилин-эозином $\times 400$).

тромбоза мелких артерий, вокруг которых выявлялись микроочаги некроза и некробиоза нервных и глиальных клеток. В более отдаленных от микроочагов некроза участках, наряду с нормальными клетками в единичных полях зрения, выявлялись нейроны нормальных размеров и единичные гипертрофированные клетки с хорошо сохранившимся ядром и ядрышком (рис. 3), а также хорошо сохранившиеся на всем протяжении отростками. Нейросекреторные клетки паравентрикулярного и супраоптического ядер находятся в различных функциональных состояниях. Выявляются поля выраженной пролиферации малых и больших глиальных клеток. В основном (за редким исключением) все 6 слоев коры мозга сохранены. Со стороны мягкой мозговой оболочки выявлены явления отека и полнокровия сосудов. Сосудистое сплетение 3-го желудочка, в основном, без видимых изменений, местами выявляются пролиферативные процессы со стороны эпендимальных клеток. Во всех участках грануляр-

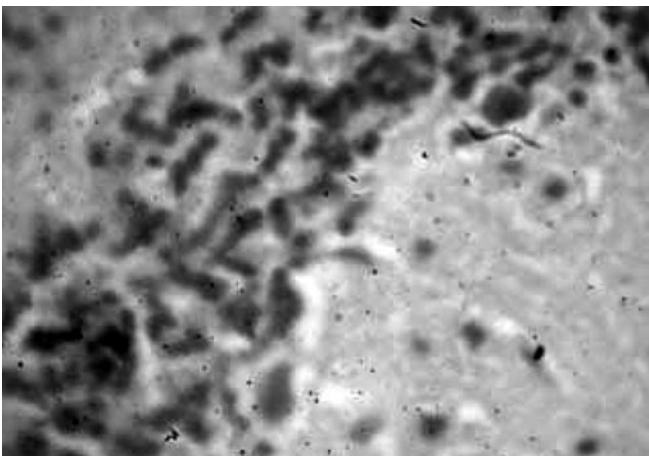


Рис. 5. На участках ишемии мозговой ткани выражена пролиферация мелких и крупных глиальных клеток, олигодендроцитов и астроцитов (окраска гематоксилин-эозином $\times 400$).

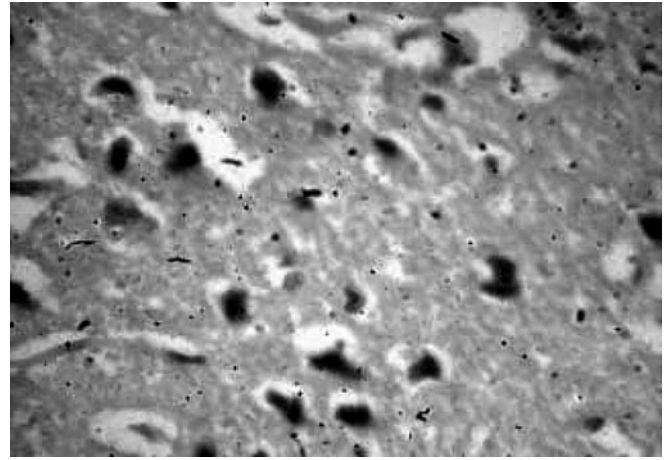


Рис. 4. Мелкокистозные изменения и отек мозговой ткани с наличием крупных глиальных клеток и нейроцитов (окраска гематоксилин-эозином $\times 400$).

ного слоя наблюдаются очаги гидропической дистрофии клеток на фоне стаза и ишемии. Наряду с этим выявляются поля во внутреннем пирамидальном и ганглионарном слое с крупными нервными клетками с мультиполярными дендритами и одним аксоном. На всех обзорных гистологических препаратах в большом количестве встречаются олигодендроциты и астроциты. На гистологических препаратах выявляются мелкокистозные изменения мозговой ткани, часть которых изнутри окантована глиальной тканью, вокруг кистозных полостей наблюдается пролиферация глиальных клеток и нейроцитов более крупных размеров (рис. 4). Таким образом, после шестикратного применения гемисукцината 2-этил-6-метил-3-гидрокси-пиридина в морфологической картине мозговой ткани у экспериментальных животных выявляются определенные сдвиги в сторону нормализации структурной картины нервных и глиальных клеток в виде процессов внутриклеточной гипертрофии нейронов и проли-



Рис. 6. Нейросекреторные клетки паравентрикулярного ядра (PV) гипоталамуса с гранулами нейросекрета в цитоплазме, клетки в состоянии повышенной функциональной активности (окраска гематоксилин-эозином $\times 400$).

ферации глиальных клеток мозга. Периваскулярный и перичеселлюлярный отек менее выражен. Очаги некроза замещаются глиальной тканью или образованием мелкокистозных полостей.

Результатами четвертой серии экспериментов (n=10) показано, что морфологические изменения мозговой ткани экспериментальных животных, получивших после окклюзии средней мозговой артерии в течение 12 дней гемисукцинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина, по сравнению с шестидневным применением этого вещества, более приближены к картине нормальной ткани мозга. Выявляются редкие микроочаги некроза, некробиоза. На местах ранее выявленных (у контрольных животных) обширных участков ишемии дистрофии нервных клеток наблюдаются множественные очаги с выраженной пролиферацией глиальных клеток (мелких и больших) олигодендритоцитов и астроцитов (рис. 5). Явления стаза и тромбоза в просветах мелких артерий и капилляров менее выражены. В подкорковых узлах встречаются сморщенные, дистрофированные нейроны. Через 12 дней после применения гемисукцината 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина, наряду с пролиферативными процессами в нейроглии, наблюдаются и восстановительно-гипертрофические процессы в нервных клетках, их отростках, и особенно наглядно — полное восстановление морфологической структуры нейросекреторных клеток гипоталамуса. Нейросекреторные клетки паравентрикулярного и супраоптического ядер — крупные с хорошо выраженными ядрами и ядрышком. В их цитоплазме выявляются гранулы нейросекрета в большом количестве, что свидетельствует о повышении функциональной активности этих клеток (рис. 6).

Следовательно, в группе животных, получавших препарат гемисукцинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипи-

ридина в течение 12 дней, выявляется более выраженное нейропротекторное действие препарата, которое выражается пролиферацией глиальных клеток, гипертрофией нервных и нейросекреторных клеток, отсутствием выраженных ишемических очагов в мозговой ткани, уменьшением отека мозговых оболочек и периваскулярным и перичеселлюлярным отеком стромы, нейропилия.

Полученные данные согласуются с результатами исследований, полученных в лаборатории фармакологии цереброваскулярных расстройств ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В. В. Закусова”, согласно которым гемисукцинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина проявляет цереброваскулярную активность на модели глобальной преходящей ишемии головного мозга [1].

ВЫВОД

Гемисукцинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридин (200 мг/кг внутривентрикулярно) обладает нейропротекторной активностью, особенно выраженной при 12-и суточном введении крысам с экспериментальной ишемией головного мозга.

ЛИТЕРАТУРА

1. Т. С. Ганьшина, А. А. Горбунов, А. В. Гнездилова и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **74**(8), 17 – 22 (2011).
2. Р. С. Мирзоян, А. В. Топчян, А. С. Канаян, и др., *Вестн. РАМН*, **11**, 46 – 51 (1998).
3. А. В. Топчян, Р. С. Мирзоян, М. Г. Баласанян, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **59**(5), 62 – 64 (1996).
4. A. Tamura, I. D. Graham, J. McCulloch, G. M. Teasdale, *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **1**(1), 53 – 60 (1981).

Поступила 31.10.14

MORPHOLOGICAL CHANGES IN BRAIN TISSUES OF RAT WITH LOCAL PERMANENT ISCHEMIA MODEL UNDER THE ACTION OF 2-METHYL-6-ETHYL-3-HYDROXYPYRIDINE HEMISUCCINATE

N. A. Bagdasaryan, N. G. Khostikyan, C. B. Alikhanyan, V. S. Meliksetyan, M. G. Bagdasaryan, A. G. Stepanyan, A. M. Kukhtarova, and N. R. Mirzoyan

M. Heratsi Yerevan State Medical University, Koryun Str. 2, 0025 Yerevan, Armenia

The influence of 2-methyl-6-ethyl-3-hydroxypyridine hemisuccinate on the morphological state of rat brain tissue after the occlusion of left middle cerebral artery has been studied. It was found that 6- and 12-day treatment with 2-methyl-6-ethyl-3-hydroxypyridine hemisuccinate at a dose of 100 mg/kg (intraperitoneal) led to regenerative processes in ischemic brain tissue. The latter treatment duration was most effective.

Keywords: local permanent cerebral ischemia; morphological changes in brain tissues; 2-methyl-6-ethyl-3-hydroxypyridine hemisuccinate