

Кузнецова Т. Е., Арчакова Л. И., Семёник Т. А., Дервянко М. А.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ КРИТЕРИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АКТОВЕГИНА ПРИ РАЗВИТИИ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, г. Минск

Нервная ткань обладает рядом метаболических особенностей, которые обуславливают тяжелые нарушения структуры и функции при ограничениях кровотока. Для клеток коры головного мозга характерна высокая интенсивность аэробных процессов и соответственно чрезвычайная чувствительность к развитию гипоксии. Ишемия приводит к целому ряду общих и локальных метаболических и функциональных нарушений, характеризующих сложность, многофакторность и во многом неясность патогенетической структуры данного процесса. Вследствие набухания митохондрий разобщаются процессы окислительного фосфорилирования и дыхания, подавляются все энергозависимые реакции [3].

По экспериментальным данным, целесообразность терапевтической реперфузии сохраняется в течение 3–6 часов [1]. Чем длительнее дореперфузионный период, тем меньше шанс быстро нормализовать микроциркуляцию в ишемизированной зоне и тем выше риск дополнительного реперфузионного повреждения ткани мозга — оксидантного стресса.

После формирования морфологических изменений в веществе мозга все большее значение приобретает репаративная терапия [4]. Вторичные нейропротекторы, обладающие трофическими и модуляторными свойствами, в частности актовегин, усиливают регенеративно-репаративные процессы, способствуя восстановлению нарушенных функций [5].

Цель настоящего исследования состояла в морфологической и гистохимической оценке действия актовегина на структуры коры головного мозга после острого ишемического повреждения.

Материалы и методы

Эксперименты поставлены на беспородных белых крысах-самцах массой 250–300 г. Ишемическое повреждение мозга моделировали окклюзией общих сонных артерий. Через 3 часа лигатуры снимали, обеспечивая реперфузию мозга. Актотегин в дозе 40 мг/кг вводили внутрибрюшинно 1 раз в сутки в течение 3 дней.

Объектом исследования служили ткань лобной и теменной долей коры головного мозга. По окончании эксперимента крыс выводили из эксперимента декапитацией под легким эфирным наркозом. Оценку функционального состояния пирамидных нейронов в слоях II–IV лобных и теменных долей коры мозга проводили путем гистохимического определения активности ферментов углеводно-энергетического обмена: НАДФН-диафоразы (НАДФН-d), сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в криостатных срезах по методике Лойда [2], выражая результаты в условных единицах оптической плотности. Для морфометрического анализа препараты окрашивали тионином по методу Ниссля, на которых на нескольких срезах (об. 40, ок. 10) подсчитывали количество и площадь пирамидных нейронов и далее определяли их общее число в пересчете на 1 мкм².

Исследование микропрепаратов, морфометрию и изготовление микрофотографий проводили с помощью светового микроскопа MPV-2 («Leitz»), оснащенного цифровой фотокамерой Leica DC300F («Leitz»). Оцифрованные изображения сохраняли с помощью программы Leica IM 1000 («Leitz») и обрабатывали с помощью программного пакета Image J (National Institutes of Health, USA). Статистическую обработку материала осуществляли с использованием пакета программ Statistica 6. О достоверности межгрупповых различий судили по t-критерию Стьюдента.

Электронно-микроскопическое исследование структур головного мозга проводили с учетом общепринятой методики Н. Н. Боголепова. Срезы готовили на ультратоме ЛКВ-III, контрастировали цитратом свинца и просматривали на электронном микроскопе JEM-100CX (Япония).

Результаты и обсуждение

При обзорном светооптическом исследовании срезов теменных долей коры головного мозга после 72-часовой ишемии-реперфузии выявлялись изменения популяции нейронов как обратимые, так и необратимые. Площадь нейронов незначительно возрастала на 5,1 % ($p > 0,05$) по сравнению с контролем, что очевидно связано с набуханием и отеком нейронов. Число пирамидных нейронов на 1 мкм² также не имело существенных различий: $6,2 \pm 1,4$ в контроле и $5,6 \pm 1,2$ после ишемии-реперфузии.

Анализ гистохимических препаратов показал, что в нейронах лобных долей больших полушарий ишемия-реперфузия вызывает угнетение аэробного и анаэробного энергообразования. Так, активность СДГ снижалась на 17,8 %, НАДФН-d — на 51,7 %, ЛДГ — на 43,3 % ($p < 0,05$). Аналогичные изменения активности ферментов выявлены в нейронах теменных долей. Активность СДГ уменьшалась на 24,8 %, НАДФН-d — на 42,7 %, ЛДГ — на 46,9 % ($p < 0,05$).

Анализ электронных микрофотографий показал, что в условиях 72-часовой реперфузии после 3-часовой ишемии происходят структурно-функциональные изменения стенки кровеносных капилляров головного мозга, что выражается

деформацией ядра эндотелиальной клетки, скоплением хроматина преимущественно по периферии ядра, утолщением базального слоя, набуханием и вакуолизацией цитоплазмы эндотелиоцитов (рис. 1, а).

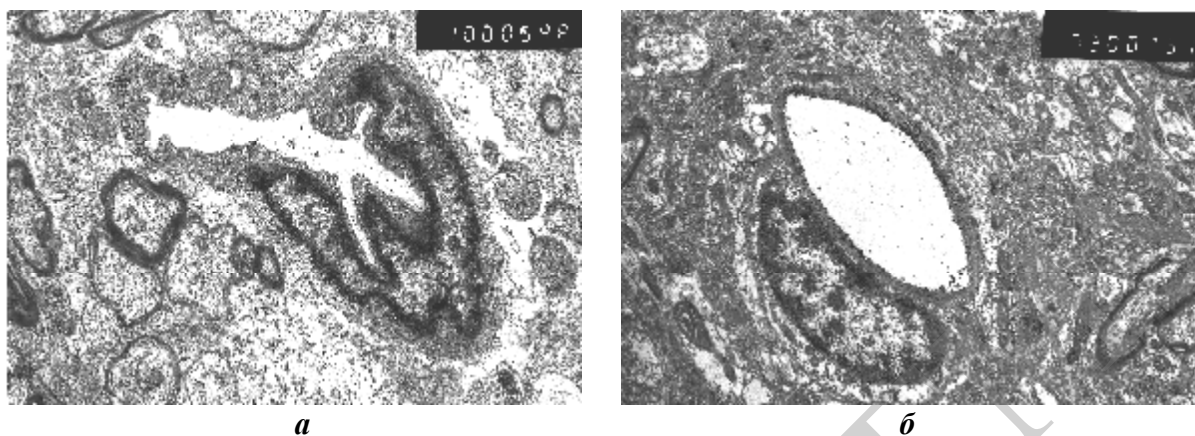


Рис. 1. Ультраструктурная организация гематоэнцефалического барьера в коре лобной доли головного мозга крысы:

а — ишемия-реперфузия, б — ишемия-реперфузия + актовегин

Морфометрический анализ гистологических препаратов теменных долей коры после введения актовегина на фоне ишемии-реперфузии выявил увеличение площади пирамидных нейронов на 17,4 % ($p < 0,05$), также возросло число неизмененных нейронов в 1 $\mu\text{м}^2$ на 16,2 % ($p < 0,05$).

Курсовое применение актовегина вызывало в нейронах лобных долей активизацию ферментов аэробного окисления глюкозы: активность СДГ увеличивалась на 33,1 %, НАДФН-d — на 29,8 % ($p < 0,05$). Активность ЛДГ практически не изменялась по сравнению с ишемией-реперфузией. В нейронах теменных долей выявлено повышение активности ферментов аэробного окисления глюкозы СДГ и НАДФН-d на 37,7 % и 17,3 % ($p < 0,05$) соответственно на фоне угнетения гликолиза, о чем свидетельствовало снижение активности ЛДГ на 12,4 % ($p < 0,05$).

Перикапиллярный отек, который возникает в результате нарушения эндотелия микрососудов головного мозга в условиях 72-часовой реперфузии после 3-часовой ишемии, при введении актовегина либо отсутствовал, либо зона отека была незначительна. При этом эндотелиальная выстилка кровеносных капилляров головного мозга имела вид тонкого ровного контура с отсутствием инвагинаций и цитоплазматических отростков в просвет капилляра. Просвет капилляров указанных областей головного мозга крыс в большинстве случаев встречался открытым, и на протяжении всего просвета капилляра сохранялась умеренная толщина неклеточного компонента базального слоя. В нейропиле выявлено равномерное распределение митохондрий с незначительным уплотнением электронно-плотного матрикса с сохранением мембраны органелл (рис. 1. б).

Таким образом, локальная ишемия с последующей реперфузией сопровождалась деструктивными изменениями в клеточных структурах и сосудах коры головного мозга, глубокими нарушениями окислительно-восстановительных реакций энергетического метаболизма в нейронах исследуемых структур. Действие актовегина на фоне ишемии-реперфузии характеризовалось увеличением площади и числа неизмененных нейронов, активизацией немитохондриального

аэробного энергообразования и процессов в цикле Кребса, а также значительной сохранностью гематоэнцефалического барьера.

Полученные данные свидетельствуют об эффективности применения актовегина, его выраженном протекторном эффекте при развитии деструктивных изменений и возникновении вторичных метаболических расстройств в структурах коры головного мозга при острых нарушениях локального регионарного кровотока.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Гусев, Е. И.* Ишемия головного мозга / Е. И. Гусев, В. И. Скворцова. М. : Медицина, 2001. 327 с.
2. *Лойда, З.* Гистохимия ферментов / З. Лойда, Р. Госсрау, Т. Шиблер. М. : Мир, 1982. 270 с.
3. *Чеснокова, Н. П.* Типовые патологические процессы / Н. П. Чеснокова. Саратов : Изд-во Саратовского медицинского университета, 2004. 400 с.
4. *Lipton, S. A.* Pathologically activated therapeutics for neuroprotection / S. A. Lipton // Nat. Rev. Neurosci. 2007. Vol. 8, № 10. P. 803–808.
5. *Pleiotropic neuroprotective and metabolic effects of Actovegin's mode of action / F. Machi-cao [et al.] // J. Neurol. Sci. 2012. Vol. 322, № 1–2. P. 222–227.*