

© О. У. Муротов, У. К. Ибрагимов

УДК 616.36 + 008.51 + 053

ЛЕЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТОМ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИНСУЛЬТА: МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТКАНЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА*

О. У. Муротов, У. К. Ибрагимов (Ташкент, Узбекистан)

Минимальное нахождение комплексов взаимодействия нейрональных клеток с мечеными Vcl-2 крысиными клетками при морфологическом и гистоиммунологическом исследовании височных долей головного мозга крыс при экспериментальном ишемическом инсульте без лечения свидетельствует о неоспоримом отсутствии процессов апоптоза. Лишь единичные нейроны, которые проявили положительную реакцию с Vcl-2 клетками и были индуцированы в процесс апоптоза, что не является доказательством того, что данные клетки завершат начавшийся процесс и не будут ввергнуты в процессы некроза. Церебролизин будучи антиоксидантом белковой природы обладает пролонгированным действием, тогда как эмоксипин – антиоксидант малой молярной массой оказывает позитивный эффект в ранние сроки экспериментального инсульта.

Ключевые слова: антиоксиданты, эмоксипин, церебролизин, экспериментальный инсульт

Вопросы нейротрофичности, нейропротекции и нейропластичности, их связь с морфологией регенераторных процессов занимает центральное место в проблеме структурных основ адаптации организма к внешним воздействиям и компенсации нарушенных функций.

Накопленные за последние десятилетия данные привели к полной реструктуризации и реорганизации знаний в этой области и к иному пониманию функционирования нервной системы [2].

* Статья подготовлена по результатам работы Международной научно-практической конференции «Свободные радикалы и антиоксиданты в химии, биологии и медицине» (1-4 октября 2013 г.) в рамках реализации Программы стратегического развития ФГБОУ ВПО «Новосибирский государственный педагогический университет» на 2012–2016 гг.

Муротов Облокул Умматович – ассистент кафедры гистологии, Ташкентский педиатрический медицинский институт.

E-mail: uk_ibragimov@rambler.ru

Ибрагимов Уткур Кудратович – доктор медицинских наук, профессор кафедры биохимии, Ташкентский педиатрический медицинский институт

E-mail: uk_ibragimov@rambler.ru

Исследования биохимических и морфологических процессов раскрывающих фундаментальные биологические процессы, происходящие в нервной системе которые вызывают клеточную смерть, и основные аспекты терапевтического контроля являются приоритетными.

Нейротрофичность – естественный процесс, который выражается в пролиферации, миграции, дифференциации и выживании нервных клеток. Нейропротекцию определяют как непрерывную адаптацию нейрона к новым функциональным условиям, и представляют как сумму всех механизмов, направленных против действия повреждающих факторов. Нейропластичность включает в себя восстановление функций после естественных повреждений и других нарушений, вызванных любыми агентами. Эти три фундаментальных биологических процесса не имеют четко выраженных границ. Они накладываются и смешиваются друг с другом. Каждый из них имеет две стороны: абсолютную и относительную. Абсолютные механизмы преимущественно контролируются нейротрофическими факторами и нейротрофноподобными молекулами, а относительные связаны с блокаторами ионных каналов, агонистами и антагонистами определенных рецепторов, ловушками свободных радикалов, хелаторами металлов и др. процессы, вызывающие нарушение функционирования клетки и ее смерть, совпадают. Материалы и методы исследования. Исследования проведены на белых беспородных крысах самцах, исходной массой 120-130 грамм. Модель ишемии головного мозга воспроизводилась методом клипирования левой сонной артерии на протяжении 40 мин. В качестве контроля служили животные «ложнооперированные»,

которым вскрывали общую сонную артерию под эфирным наркозом с последующим послойным ушиванием (n=6). Забой животных проводили в сроки 1,3,6,12,24,72 часа после реперфузии.

Для коррекции пост-ишемических изменений головного мозга использовали эмоксипин (2-группа, производство Россия) и церебролизин (3-группа производство Австрия, АВЕВЕ). Верификацию ишемии проводили на основании морфологических исследований (окраска нитратом серебра по методу Ниссля [1]). Полученные результаты и обсуждение. Ишемические процессы в ткани мозга сопровождаются отеком мозга. Моментом, «запускающим» развитие отека, является проникновение в нейроны воды из экстрацеллюлярного пространства, так называемое набухание и размытость нейрональных клеток, обусловленное нарушением мембранной проницаемости. Набухание клеток вызывает интрацеллюлярный отек, затем к нему присоединяется экстрацеллюлярный (вазогенный) отек из-за нарушения ГЭБ и накопления в поврежденной зоне недоокисленных продуктов, образующихся в условиях анаэробного гликолиза. Следует, прежде всего, отметить, что повреждение клеток выявляется не одновременно с началом кислородного голодания. Это не означает, что морфологические изменения «отстают» во времени от биохимических, физиологических и клинических проявлений кислородного голодания нейронов. При морфологическом исследовании начальных проявлений ишемического инсульта, который характеризовался снижением мозгового кровотока левой височной доли, гистологически регистрировалась первичная реакция, или появлялась так называемая маргинальная зона ишемии, которая в сумме

морфологических критериев была расценена нами как характеристика торможения синтеза белков в нейронах, возможно компенсаторного генеза. Впоследствии снижение мозгового кровотока стимулировало анаэробный гликолиз, что проявлялось образованием в области динамических метаболических изменений, зоны «ишемической полутени» – пенумбра, изменениям в которой мы придавали особое значение, так как состояние пенумбры является прогностическим критерием дальнейшей динамики развивающихся процессов. В структурах головного мозга при этом происходят только функциональные изменения, а морфологических изменений не наступает. Длительность существования пенумбры 3–6 часов. Это временные границы «терапевтического окна» – периода, на протяжении которого лечебные мероприятия наиболее перспективны и могут ограничить объем инфаркта. Окончательное формирование инсульта завершается через 48–56 часов. Не все нейроны при ишемических повреждениях страдают одинаково в равной степени. Так нами отмечено, что верхние слои коры были более чувствительны к гипоксии, чем нижние, заметно поражаются клетки III и IV или клетки III и V слоев коры. Это может объясняться в первую очередь тем, что слои коры, имеют различную между собой степень васкуляризации, а так же различаются по активности многих ферментов энергетического обмена. Различные типы нейронов так же повреждаются неравномерно. Так нами отмечено, что пирамидные клетки страдают меньше, вовлекаются в процесс медленнее и сохраняются дольше по сравнению со звёздчатыми нейронами. Так нами отмечено, что в популяции нервных клеток к 3 часам

влияния эмоксипина в данной группе прослеживались начальные явления хроматолиза и появление единичных участков клеточного разряжения в группе с эмоксипином. В отличие от чего в группе с церебролизином на первый план выступали признаки повышения сосудистой проницаемости – перикапиллярный отек, стаз, сладж и дилатация капилляров которые являлись отличительными признаками первых часов. Сами нейроны по истечении 6-ти часов после окклюзии увеличивались в размерах, становились более округлыми, полихроматофильными. Большинство нейронов становилось бледно окрашенными с нечёткими клеточными границами, другие проявляли выраженность гиперхроматоза с последующей тенденцией к сочетанию гиперхроматоза и вакуолизацией, а так же сочетания гиперхроматоза с элементами гомогенизации цитоплазмы. В любой клетке заложена генетически обусловленная программа, позволяющая при возникновении генетической мутации включить программу самоликвидации, апоптоза. Апоптоз являясь фундаментальным биологическим процессом, необходим для удаления старых повреждённых и инфицированных клеток, с генетическими повреждениями, а так же играет роль в удалении избытка клеток, особенно в нервной и иммунной системе [4]. Процесс апоптоза подразделяют структурно на три независимые фазы: инициация, эффекторная фаза и деградация [6]. Центральным компонентом системы контроля за апоптозом является белок p53, именно на нём сходятся многообразные сигналы, сообщающие о возникновении «нештатной ситуации» и запускается ряд внутриклеточных процессов ведущих к самоубийству клетки [3]. Белок p53 является маркером, эффекторной фазы и фазы

деградации, т.е. неотвратимой клеточной смерти и является триггером апоптоза. В свою очередь, первым обнаруженным белком, регулирующим апоптоз явился Bcl-2, затем было выявлено целое семейство Bcl-2-генов которые угнетают апоптоз или являются его индукторами. Белок, кодируемый Bcl-2, является интегральным мембранным протеином, который локализован в мембранах клетки. Этот белок защищает клетки от запрограммированной клеточной смерти и имеет онкогенный эффект, так как снижает апоптоз [3]. К сожалению, специфических реакций взаимодействия меченных белком р53 клеток и нейронов ни в одной из исследуемых групп нам не удалось выявить, так как время максимальной индукции апоптоза варьирует для разных клеток, и зависит, по-видимому, от их чувствительности к апоптотическому сигналу, а так же от метода тестирования апоптоза. Различие морфологических и гистоиммунологических реакций в исследуемых тканях, обусловлены фармакологической разностью церебролизина и эмоксипина. Церебролизин является освобождённым от белка гидролизатом содержащим все основные аминокислоты (в том числе предшественники нейромедиаторов), а так же другие компоненты, в частности γ -аминомасляную кислоту, за счёт чего, возможно наиболее дольше вступает в реакции взаимодействия. В отличие от церебролизина, эмоксипин принадлежащий к классу 3-оксипиридинов, структурных аналогов витамина B6, будучи низкомолекулярным антиоксидантом, фармакологические свойства которого обусловлены способностью ингибирования фосфодиэстеразы, свободнорадикального окисления, агрегации тромбоцитов, полимеризацией фибрина, и что наиболее

важно в нашем случае высокой активностью стабилизации структур и функций клеточных мембран, что проявилось в проведённых нами экспериментальных исследованиях резко выраженными интенсивными морфологическими проявлениями комплекса вышеупомянутых свойств только на начальных этапах патологии с последующим «бессилием» к удержанию очередных стадий острого ишемического стресса. В исследуемой группе морфологических и гистоиммунологических событий височных долей крыс при лечении эмоксипином после экспериментального ишемического инсульта головного мозга крыс выявлена ранняя морфологическая динамика резкого отграничения и сужение зоны ишемической пенумбры и начальные проявления гистоиммунологической реакции с чёткими проявлениями только лишь на 3-и сутки. Данное мы расценили как «запоздалую реакцию» рецепторного аппарата контролирующего апоптоз, в результате чего запустившиеся и активно развивающиеся процессы первых часов оказываются упущенными и уже динамика происходящих процессов диктует отрицательный результат в виде преобладания некротических процессов и процессов нейромалации к концу эксперимента. Изучение морфологических и гистоиммунологических процессов в височных долях крыс при лечении церебролизинем после экспериментального ишемического инсульта головного мозга крыс отразило раннюю реактивность исследуемой ткани с мечеными Bcl-2 и р53 клетками. Яркая картина раннего взаимодействия, начиная с 3-6 часов, и бурная стадийность происходящих гистоиммунологических процессов и некоторая «замаскированность» при этом морфологических процессов, ещё раз

подчеркнули важность вопроса изучения процессов апоптоза и некроза их общие начальные пусковые механизмы стадийность и взаимопереход на начальных этапах, которые невозможно рассматривать не во взаимосвязи с естественной морфологией острой ишемии головного мозга и воспалительных процессов. Именно поэтому в своей работе мы придерживались принципа комплексного морфологического исследования нативной ткани мозга и в сочетании с мечеными моноклональными клетками. Выводы. Минимальное нахождение комплексов взаимодействия нейрональных клеток с мечеными Vcl-2 крысиными клетками при морфологическом и гистоиммунологическом исследовании

височных долей головного мозга крыс при экспериментальном ишемическом инсульте без лечения свидетельствует о неоспоримом отсутствии процессов апоптоза. Лишь единичные нейроны, которые проявили положительную реакцию с Vcl-2 клетками и были индуцированы в процесс апоптоза, что не является доказательством того, что данные клетки завершат начавшийся процесс и не будут ввергнуты в процессы некроза. Церебролизин будучи антиоксидантом белковой природы обладает пролонгированным действием, тогда как эмоксипин – антиоксидант с малой молярной массой оказывает позитивный эффект в ранние сроки экспериментального инсульта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Пирс Э.** Гистохимия. – М., 1962. – 648 с.
2. **Muresanu D. F.** Neurotrophic factors. – Bucuresti: Libripres, 2003. – 268p.
3. **Ergashev J. D., Sigatullina M. I., Ibragimov U.K.** Neuropsychic growth of children with hypoxi – ischemic encephalopathy // The 2th World Congress of Neonatology. – 6th – 9th January, 2010, – Luxor, Egypt. – p.19.
4. **Ibragimov U. K.** Hypoxi-ishemic encephalopathy in children //The 2th World Congress of Neonatology. -6th – 9th January, 2010. – Luxor, Egypt. – p.18.
5. **Sloviter R.** Apoptosis: a guide for perplexed // Trends Pharmacol Sci. – 2002. – Vol. 23. – pp. 19–24.
6. **Ибрагимов У. К., Хайбуллина З. Р.** Апоптоз. Учебное пособие. – Ташкент. – 2007. – 81 с.

© O. U. Murotov, U. K. Ibragimov

UDC 616.36 + 008.51 + 053

**THE TREATMENT WITH ANTIOXIDANT DRUGS OF EXPERIMENTAL STROKE:
MORPHOLOGICAL CHANGES IN TISSUE OF BRAIN**

O. U. Murotov, U. K. Ibragimov (Tashkent, Uzbekistan)

The minimum finding complex interactions neuronal hatches with complexes Bcl-2 rat hatches under morphological and histoimmunological study of the cerebrum of the rats under experimental stroke without treatment is indicative of unchallengeable absence of the processes apoptosis. Only single neurons, which have shown the positive reaction with Bcl-2 hatches and were indicured in process apoptosis that is not proof that that hatch data terminate; complete begun process and will not be started in processes of the necrosis. Cerebrolizin being antioxidant protein nature possesses the prolonged action then amoxipin – antioxidant small molar by mass renders the positive effect at early period's experimental stroke.

Keywords: antioxidant, amoxipin, cerebrolizin, experimental stroke.

REFERENCES

1. **Pirs E.** Histochemistry. – M., 1962. – 648 p.
2. **Muresanu D. F.** Neurotrophic factors. – Bucuresti: Libripress, 2003. – 268p.
3. **Ergashev J. D., Sigatullina M. I., Ibragimov U. K.** Neuropsychic growth of children with hypoxi – ischemic encephalopathy // The 2th World Congress of Neonatology. – 6th – 9th January, 2010, – Luxor, Egypt. – p.19.
4. **Ibragimov U. K.** Hypoxi-ishemic encephalopathy in children //The 2th World Congress of Neonatology. -6th – 9th January, 2010. – Luxor, Egypt. – p.18.
5. **Sloviter R.** Apoptosis: a guide for perplexed // Trends Pharmacol Sci. – 2002. – Vol. 23. – pp. 19–24.
6. **Ibragimov U. K., Haibullina Z. R.** Apoptosis. The Manual. – Tashkent. – 2007. – 81 p.

Murotov Oblokul Ummatovich – the assistant to faculty of histology, Tashkent pediatric medical institute.

E-mail: uk_ibragimov@rambler.ru

Ibragimov Utkur Kudratovich – the doctor of medical sciences, the professor of faculty of Biochemistry, Tashkent Pediatric Medical Institute

E-mail: uk_ibragimov@rambler.ru