

Ключові слова: цереброкурин, HSP 70, ішемія головного мозку

Pavlov S.V. INFLUENCE OF THE CEREBROCURINE ON THE HSP 70 LEVEL IN THE BRAIN OF THE RAT'S DURING THE MODELLING OF THE CEREBRAL ISCHEMIA

Summary. Experiments showed that during the first day of the modeling of the cerebral ischemia in rats occurs with big increase of the nitrotyrosine - the main marker of the oxidant protein destruction. The same time the level of the HSP 70 in the brain become decreased. Use of the Cerebrocurine leads to the decrease of the nitrotyrosine concentration and increase of the HSP 70 level in the acute cerebral ischemia.

Keywords: cerebrocurin, HSP 70, brain ischemia

Рецензет: проф. Тананакіна Т.П.

УДК 613.644:616.831-005

ВЛИЯНИЕ ДОНЕПИЗИЛА НА ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МОЗГЕ КРОЛИКОВ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ДЕЙСТВИЯ ОБЩЕЙ ВИБРАЦИИ

Шимкус Ю.Ю., Сапегин И.Д.

ГУ "Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского" МОЗ Украины, Симферополь, Украина

Резюме. В острых экспериментах на бодрствующих кроликах изучено защитное действие центрального антихолинэстеразного средства донепизила (1 мг/кг внутривенно) в отношении гистологических изменений в прецентральной и постцентральной извилинах, а также височной доле коры больших полушарий, таламусе, гипоталамусе и мозжечке, возникающих при моделировании действия общей широкополосной вибрации. Донепизил уменьшает вызванные вибрацией отечно-дистрофические изменения в нейронах и ответную глиальную реакцию, но не устраняет отёк в околососудистых пространствах. Указанный эффект может быть связан с улучшением кровоснабжения в результате усиления и пролонгирования эффектов ацетилхолина в синапсах, церебропротекторного эффекта за счет угнетения глутамат кальциевой эксайтогенности и противоотечного действия в следствие влияния на трансмембранные ионные токи.

Ключевые слова: вибрация, головной мозг, гистологические изменения, антихолинэстеразные средства, донепизил

Введение. Общая вибрация на производстве и транспорте, в отличие от местной, вызывает снижение трудоспособности непосредственно в момент ее действия. При этом снижается преимущественно умственная работоспособность, нарушается зрение, возникают вестибулярные расстройства и другие негативные изменения со стороны центральной нервной системы. Причиной этих расстройств является трудноустраняемый спазм сосудов и замедление мозгового кровотока, ведущие к развитию гипоксии мозга, дополнительно усиливаемой гиперактивностью нейронов [2, 6, 8, 9, 10, 12]. Указанные нарушения кровоснабжения, обмена веществ в нейронах, а также прямое повреждающее действие виброускорений на макромолекулы [1] ведет к развитию гистологических изменений. Согласно литературным данным, в структурах головного мозга общая вибрация вызывает рост кровенаполнения, кровоизлияния, отек нейронов и околососудистых пространств, дегенеративные изменения цитоплазмы клеток в виде гиперхромии и тигролиза, а также зернистого распада миелиновых оболочек нервных волокон [15, 17, 18, 24]. Суживается зона активности астроцитной глии и наблюдается переполнение

синапсов везикулами. Нечеткость контуров нейронов сопровождается гипоксическими изменениями [11]. Аналогичные расстройства выявлены и в коре мозжечка [5].

Анализ литературы показывает, что классические сосудорасширяющие средства не способны устранить возникающие нарушения регуляции кровообращения и для этой цели предлагались ганглиоблокаторы [3]. Средства метаболической коррекции уменьшают гипоксию, но дополнительно усиливают ангиоспазм [13]. Объяснить эти явления можно с позиций жидкокристаллической теории, которая ставит на первое место непосредственное повреждающее действие виброускорение на макромолекулы – белки, мукополисахариды и т.п. [1]. В результате, с одной стороны, нарушется функция мембран сосудистой стенки, с другой стороны, повреждение миелиновых оболочек мембран ведет к нарушению проведения нервных импульсов [15]. О роли срыва нервной регуляции кровообращения свидетельствует также тот факт, что попытка устранения имеющихся на фоне вибрации вестибулярных расстройств скополамином приводит к дополнительному замедлению мозгового кровотока, в то время как приме-

нение эфедрина несколько ускоряет кровоток [9, 14].

В связи с этим представляет интерес изучение средств, усиливающих холинергические влияния, которые призваны компенсировать нарушенное проведение нервных импульсов и, возможно, оказать прямое сосудорасширяющее и церебропротективное действие. Следует отметить, что при вибрационной болезни от действия местной вибрации давно применяются антихолинестеразные средства физостигмин и галантамин, но без достаточного теоретического обоснования [3]. В этой связи наше внимание привлекло центральное антихолинестеразное средство – донепизил, обладающее минимумом побочных эффектов со стороны внутренних органов [20], который хорошо зарекомендовал себя при лечении болезни Альцгеймера и нарушениях мозгового кровообращения [19, 25, 26].

Улучшение межнейронной передачи под действием донепизила обусловлено не только усилением и удлинением действия ацетилхолина, но и с увеличением количества нейротрофинов, таких как фактор роста нервов, что способствует увеличению количества дендритов [21]. Выявлено влияние холинергической системы на активность глутаматергической системы [16], что позволяет говорить о церебропротективном действии центральных антихолинестеразных средств путем угнетения глутамат-кальциевой эксайтотоксичности [22]. Кроме того, донепизил угнетает функцию Ca^{2+} -зависимых K^+ -каналов, снижая Ca^{2+} - и K^+ - токи через мембрану, что можно рассматривать, как один из механизмов угнетения нейродегенерации [23]. Также ацетилхолин обладает противовоспалительным действием в ЦНС за счет угнетения продукции фактора некроза опухоли [27].

Таким образом, целью настоящего исследования явилось изучение влияния донепизила на гистологические изменения в мозге кроликов при моделировании действия общей широкополосной вибрации.

Материал и методы. Опыты проведены на кроликах породы шиншилла обоего пола массой 2,5-3,5 кг. Общую широкополосную вибрацию (ОШВ) моделировали при помощи сконструированного в нашей лаборатории специального стенда [12]. Донепизил (препарат

"Альмер" фирмы "Actavis") в дозе 1 мг/кг вводили в краевую вену уха кролика непосредственно перед началом действия вибрации. Сразу после 8 часов действия вибрации животных забивали путем декапитации. Препараты мозга фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина. Кусочки, содержащие исследуемые структуры после обезжирования, обезжиривания, удаления излишков фиксатора и уплотнения заливали в парафиновые блоки. Гистологические срезы, нарезанные на микротоме МС-2 толщиной до 10 мкм, окрашивали гематоксилин-эозином и толуидиновым синим по Нисслю [7]. Исследованы следующие структуры мозга: 1) прецентральная извилина лобной доли коры больших полушарий, 2) постцентральная извилина лобной доли коры больших полушарий, 3) верхняя, средняя, нижняя извилины и остовок височной доли коры больших полушарий, 4) таламус, 5) гипоталамус, 6) кора мозжечка. Препараты исследовали и фотографировали на цифровом световом микроскопе Olympus CX41.

Результаты и их обсуждение. Гистологические изменения при ОШВ без применения препаратов проявляются в виде спазма артериол и стаза форменных элементов в крупных артериях (рисунок 1).

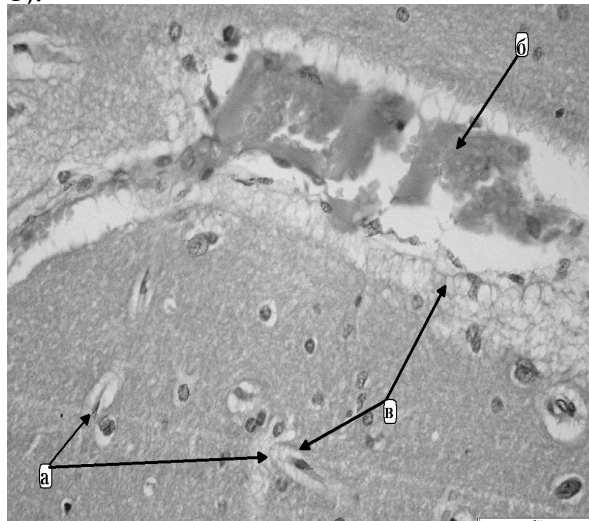


Рис. 1 Кора больших полушарий, постцентральная извилина, ОШВ без применения препаратов. Окраска – гематоксилин + эозин. Линейка – 100 мкм. а – спазм мелких артериол; б – стаз в крупных артериях; в – периваскулярный отёк

При этом наблюдается расширение венул с запустеванием их просвета. Отмечается отек всех тканей мозга, кото который

наиболее выражен в околососудистых пространствах и вокруг нейроцитов (рисунок 2) вплоть до образования лакун, заполненных отечной жидкостью.

Изменения клеток характеризуются отёчным набуханием, в результате чего их размеры увеличиваются, а контуры сглаживаются и становятся менее четкими, отростки утолщаются (рис. 2). Это проявляется также утолщением стенок сосудов.

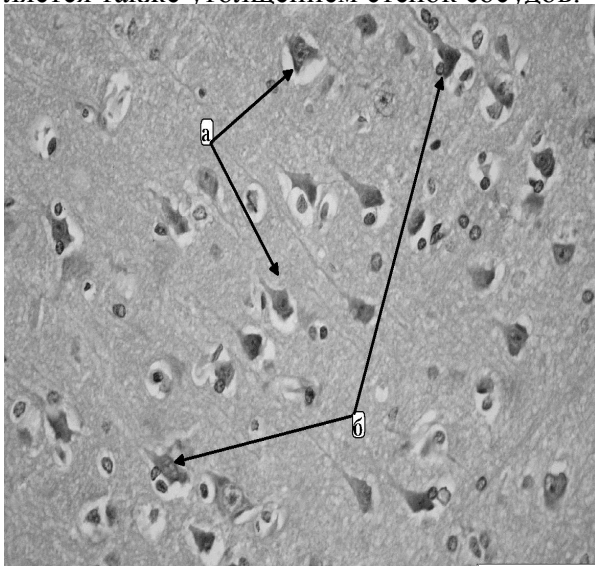


Рис. 2 Кора больших полушарий, пост-центральная извилина, ОШВ без применения препаратов. Окраска – гематоксилин + эозин. Линейка – 100 мкм. а – перичеллюлярный отёк; б – сателлитоз

При окрашивании по Нисслю наблюдаются гипоксические и дистрофические явления в нейронах в виде смещения хроматофильной субстанции в сторону ядра и её мелкоглыбчатого характера (хроматолиза) (рис. 3). Кроме того наблюдается анизохромия нейроцитов – встречаются как гиперхромные, так и гипохромные нейроны (в том числе клетки-тени, почти полностью потерявшие тигроидное вещество) (рис. 3). При этом ламинарность структур мозга сохранена, но отмечаются изменения взаиморасположения нейронов (нейрональные розетки) и глио-нейрональных соотношений в виде сателлитоза и фагоцитоза погибших нейронов глиальными элементами (нейронофагии) (рисунки 2, 3).

Таким образом, прямое поражение жидкокристаллических структур эндотелия сосудов [1] и миелиновых оболочек нервов [15] виброускорениями ведет к нарушению регуляции их тонуса. Морфофункциональная гетерогенность мозговых сосудов предусматривает, в частности, разнонаправленную реакцию на раздра-

жения – крупные и среднемозговые артерии традиционно отвечают спазмом а вены и пиальные артерии – расширением [4]. В следствие прямого поражения стенок сосудов виброускорениями, свободными радикалами, а также влияния избытка ионов HCO_3^- в результате дисциркуляторной гиперкапнии повышается их проницаемость и возникает отёк мозга, который дополнительно усиливает гипоксию. Всё это вызывает дистрофические изменения в нейронах и защитную глиальную реакцию.

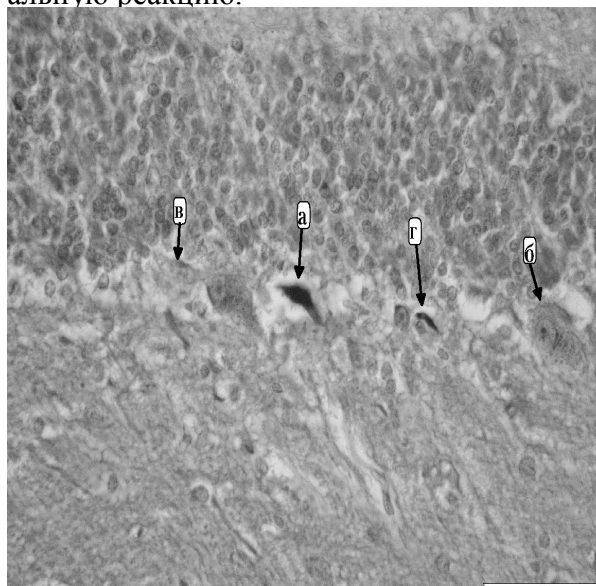


Рис. 3 Кора мозжечка, ОШВ без применения препаратов. Окраска по Нисслю. Линейка – 100 мкм. а – гиперхромный сморщенный нейронит; б – гипохромный нейронит; в – клетка-тень; г – нейронофагия

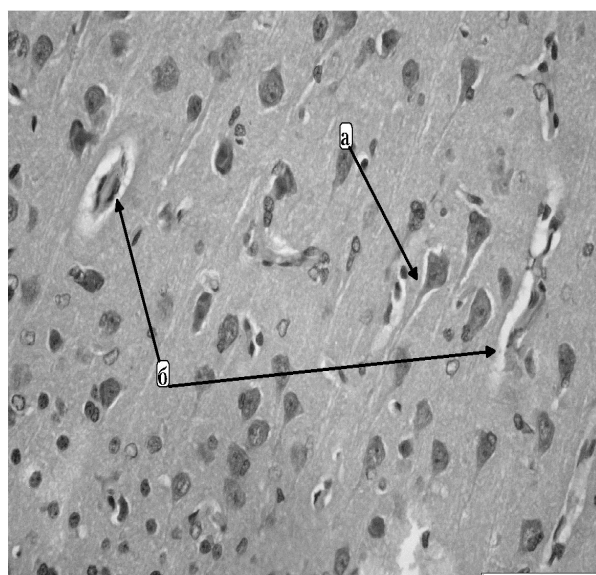


Рис. 4 Кора больших полушарий, пост-центральная извилина, ОШВ + донепизил. Окраска – гематоксилин + эозин. Линейка – 100 мкм. а – перичеллюлярный отёк; б – периваскулярный отёк

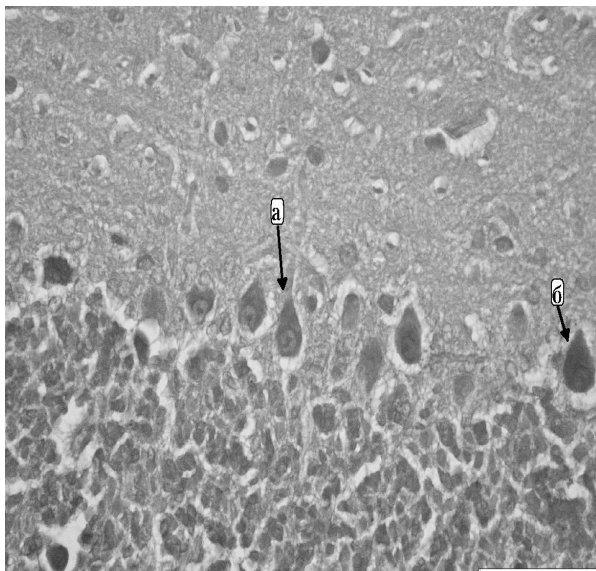


Рис. 5 Кора мозжечка, ОШВ + донепизил. Окраска по Нисслю. Линейка – 100 мкм. а – нормохромный нейронит; б – гиперхромный нейронит

Положительный эффект донепизила обусловлен, с одной стороны, улучшением нервной регуляции кровообращения путем компенсации нарушения проведения импульсов по нервным волокнам за счет усиления и пролонгирования эффектов ацетилхолина в синапсах [19, 20, 25, 26]. В результате лучше проявляется сосудорасширяющий эффект ацетилхолина. С другой стороны, подавление глутамат-кальциевой эксайтотоксичности [22] способствует уменьшению гиперактивности нейронов и потребления ими кислорода. Еще одним механизмом уменьшения отеочно-дистрофических изменений в нейронах является угнетение донепизилом функции Ca^{2+} -зависимых K^+ -каналов [23]. Как следствие, уменьшается ответная глиальная реакция.

Выводы. 1. Гистологическая картина в головном мозге кроликов через 8 часов действия общей широкополосной вибрации характеризуется спазмом сосудов и отеочно-дистрофическими змінами, сопровождающимися гибелью отдельных нейроцитов, развитием глмальной реакции и нейронофагии.

2. Донепизил уменьшает вызванные вибрацией изменения в нейроцитах и межклеточный отёк, но не устраняет отёк в околососудистых пространствах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Значение жидкокристаллического состояния биогенных структур в патогенезе вибрационной болезни (обзор литературы) / В.С.Айзенштадт, Н.П. Карханин, М.С. Есин, А.В. Каришников // Гигиена труда. – 1986. – №6. – С.41-43.
2. Асадулаев М.М. Клинико-реовазографические и реоэнцефалографические параллели при вибрационной болезни // Гигиена труда. – 1985. – №9. – С.39-41.
3. Демидов Н.А. Вибрационная патология у горнорабочих при открытых способах добычи полезных ископаемых (условия труда, клиника, лечение, экспертиза трудоспособности и профилактика). Методические рекомендации. – 1977.
4. Демченко И.Т. Кровоснабжение бодрствующего мозга. – Л.: Наука, 1983. – 173с.
5. Ильин И.И., Насибуллин Б.А., Жеребитский В.А. Изменения в структуре нейронов и активности различных окислительно-восстановительных ферментов в мозжечке после непрерывной длительной низкочастотной вибрации // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1991. – Т.100, №2. – С.9-15.
6. Лагутина Г.Н. Церебральный ангиодистонический синдром в клинической картине вибрационной болезни // Гигиена труда. – 1985. – №7. – С.25-28.
7. Меркулов Г.А. Курс паталогистологической техники. – Л.: Медицина, 1969. – 423 с.
8. Минасян С.М., Баклаваджян О.Г., Саакян С.Г. Влияние общей вибрации на электрическую активность и окислительный метаболизм в различных структурах мозга // Гиг. тр. и проф. забол. – 1989. – №12. – С.22-26.
9. Роль вестибулярных ядер и энцефалической ретикулярной формации в изменении электрической активности головного мозга при вибрации / Минасян С.М. и др. // Гигиена и санитария. – 1990. – №2. – С.14-16.
10. Минасян С.М., Саакян С.Г., Адамян И.И. Влияние вибрации на электрокортикографические сдвиги при выключении специфической и неспецифической афферентных систем мозга // Гигиена труда. – 1991. – №11. – С.28-30.
11. Насибуллин Б.А. Структурно-метаболические основы действия вибрации на таламические структуры мозга // Морфология. – 1994. – Т.107, №7-12. – С.53-62.
12. Сапегин И. Д. Влияние общей широкополосной вибрации на кровообращение, напряжение кислорода и водно-электролитный баланс в тканях мозга бодрствующих кроликов // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения: Тр. Крым. гос. мед. ун-та им. С.И. Георгиевского, 1999. – Т.35, Ч.1. – С.264-271.
13. Сапегин И.Д. Влияние тиотриазолина на кровоснабжение и кислородный мозг при моделировании действия общей вибрации // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2001. – №2. – С.35-37.
14. Сапегин И.Д. Порівняльна оцінка впливу скополаміну та ефедрину на кровопостачання, кисневий та водно-електролітний баланс мозку при моделюванні дії загальної вібрації // Ліки. – 2001. – №5-6. – С.24-27.
15. Vibrational spectra and structure of myelin membranes / G. Ayala, P. Carmona, M. de Cozar, J. Monreal // Eur. Biophys. J. – 1987. – V.14, №4. – P.219-225.
16. Cholinergic-mediated IP_3 -receptor activation induces long-lasting synaptic enhancement in CA₁ pyramidal neurons / Fernández de Sevilla D., Núñez A., Borde M., Malinow R., Buño W. // J. Neurosci. – 2008. – № 28. – P. 1469-1478.
17. Galasinska-Pomykol I., Sopek M., Zalewska H. Charakteristika morfologiczna zmina powstałych w przodowz dimozgowin iwenek morskich pod wpływem ogolonej wibracji // Med. Pr.L 1986.L V.37, №4.L P.209-215.
18. Ho S.T., Yu H.S. Ultrastructural changes of the perphera nerve induced by vibration: An experimental study // Brit. J. Industr. Med. – 1989. – V.46, №3. – P.157-164.
19. The effect of donepezil on increased regional cerebral blood flow in the posterior cingulate cortex of a patient with Parkinson's disease dementia / K. Imamura, K. Wada-Isoe, H. Kowa, Y. Tanabe, K. Nakashima // Neurocase. – 2008. – V. 14, №3. – P.271-275.
20. Malouf R., Birks J. Donepezil for vascular cognitive impairment // Cochrane Database Syst Rev, 2004: CD004395. DOI:10.1002/14651858. CD004395. pub2. PMID 14974068.
21. Donepezil potentiates nerve growth factor-induced neurite outgrowth in PC1₂ cells / Oda T., Kume T., Katsuki H., Niidome T.,

Sugimoto H., Akaike A. // J. Pharmacol. Sci. – 2007. – № 104. – P. 349-354.

22. Neuroprotection by donepezil against glutamate excitotoxicity involves stimulation of $\alpha 7$ nicotinic receptors and internalization of NMDA receptors / Shen H., Kihara T., Hongo H., Wu X., Kem W.R., Shimohama S., Akaike A., Niidome T., Sugimoto H. // Br. J. Pharmacol. – 2010. – V. 161, № 1. – P. 127-139.

23. Donepezil is a strong antagonist of voltage-gated calcium and potassium channels in molluscan neurons / E.I. Solntseva, J.V. Bukanova, E. Marchenko, V.G. Skrebitsky // Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol. – 2007. – № 144. – P. 319-326.

24. Morfologiczny obraz swojow rdzeniowych swinek morskich poddanych oddziaływaniu odelney vibracyi / Sopek M., Galasin-

ska-Pomykol I., Finkiewicz-Murawiejska L., Zalewska H. // Med. Pr. – 1983. – V.34, №5-6. – P.361-367.

25. Prediction of psychiatric response to donepezil in patients with mild to moderate Alzheimer's disease / M. Tanaka, C. Namiki, D.H. Thuy, H. Yoshida, K. Kawasaki, K. Hashikawa, H. Fukuyama, T. Kita // J. Neurol Sci. – 2004. – V. 15. №225. – P. 135-141.

26. Quantitative analysis of the effects of donepezil on regional cerebral blood flow in Alzheimer's disease by using an automated program, 3DSRT / M. Tateno, S. Kobayashi, K. Utsumi, H. Morii, K. Fujii // Neuroradiology. – 2008. – V. 50. – №8. – P. 723-727.

27. Cholinergic agonists inhibit HMGB1 release and improve survival in experimental sepsis / Wang H., Liao H., Ochani M., Justiniani M., Lin X., Yang L., Al-Abed Y., Wang H., Metz C., Miller E. J., et al. // Nat. Med. – 2004. – № 10. – P. 1216-1221.

Шимкус Ю.Ю., Сапегін І.Д. ВПЛИВ ДОНЕПІЗІЛУ НА ГІСТОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В МОЗКУ КРОЛИКІВ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ДІЇ ЗАГАЛЬНОЇ ВІБРАЦІЇ

Резюме. В гострих експериментах на ненаркотизованих кроликах вивчено захисну дію центрального антихолінестеразного засобу донепізілу (1 мг/кг внутрішньовінно) щодо гістологічних змін у прецентральної та постцентральної звивинах, а також скроневій частці кори великих півкуль, таламусі, гіпоталамусі та мозочку, що виникають при моделюванні дії загальної широкосмугової вібрації. Донепізіл зменшує викликані вібрацією набряково-дистрофічні зміни в нейронах та відповідну гліальну реакцію, але не усуває набряк в навколосудинних просторах. Зазначений ефект може бути пов'язаний з покращенням кровопостачання в результаті посилення та пролонгування ефектів ацетилхоліну в синапсах, церебропротекторного ефекту за рахунок пригнічення глутамат кальцієвої ексайтотоксичності та протинабрякової дії в наслідок впливу на трансмембранні йонні струми.

Ключові слова: вібрація, головний мозок, гістологічні зміни, антихолінестеразні засоби, донепізіл

Shimkus Y.Y., Sapegin I.D. DONEPEZIL INFLUENCE ON HISTOLOGICAL CHANGES IN RABBIT'S BRAIN IN CASE OF MODELING OF WHOLE BODY WIDE-FREQUENCY VIBRATION

Summary. In acute experiments in conscious rabbits there were studied protective action of central anticholinesterase drug donepezil (1mg/kg i/v) against histological changes in precentral and postcentral gyrus, as well as in temporal lobe of cerebral cortex, thalamus, hypothalamus, and cerebellum, arising in case of modeling of whole body wide-frequency vibration. Donepezil attenuates edematous and degenerative changes in neurocytes and reciprocal glial reaction, caused by vibration, but does not eliminate edema in perivascular spaces. This effect may be related to the improvement of blood supply as a result of increasing and prolonging acetylcholine effects in synapse, cerebroprotective effect through inhibition of calcium glutamate excitotoxicity and antiedematous effect due to influence on transmembrane ion currents.

Keywords: vibration, brain, histological changes, anticholinesterase drugs, donepezil

Рецензент: проф. Смирнов С.М.