

УДК [616.831-005.4-092.9:615.015](23.03)

**ВЛИЯНИЕ ГЛИБЕНКЛАМИДА НА СОСУДИСТОЕ СПЛЕТЕНИЕ
И МИКРОЦИРКУЛЯЦИЮ ГОЛОВНОГО МОЗГА
ПРИ СУБТОТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ В ВЫСОКОГОРЬЕ**

М.С. Шувалова, М.В. Балькин, А.С. Шаназаров

Проанализировано влияние глибенкламида на сосудистое сплетение и микроциркуляцию головного мозга при ишемии, возникшей в условиях высокогорья. Установлены факторы положительного влияния препарата на функциональные изменения в структурах мозга.

Ключевые слова: сосудистое сплетение желудочков головного мозга; микроциркуляция; ишемия; глибенкламид; высокогорье.

**БИЙИК ТООЛУУ ШАРТТА СУБТОТАЛДЫК ИШЕМИЯДА
ГЛИБЕНКЛАМИДДИН МЭЭНИН КАН ТАМЫРЛАРЫНЫН ТҮЙҮНДӨРҮНӨ
ЖАНА КАН АЙЛАНУУГА ТИЙГИЗГЕН ТААСИРИ**

М.С. Шувалова, М.В. Балькин, А.С. Шаназаров

Бул макалада глибенкламиддин бийик тоолуу шартта ишемияда мээнин кан тамырларынын түйүндөрүнө жана кан айланууга тийгизген таасири талдоого алынган. Препараттын мээнин түзүмүндөгү функционалдык өзгөрүүлөргө тийгизген оң таасири белгиленди.

Түйүндүү сөздөр: мээнин карынчаларынын кан тамырларынын түйүндөрү; кан айлануу; ишемия; глибенкламид; бийик тоолуу шарт.

**EFFECT OF GLIBENCLAMIDE ON THE VASCULAR PLEXUS
AND MICROCIRCULATION OF THE BRAIN
AND IN SUBTOTAL ISCHEMIA IN THE HIGHLANDS**

M.S. Shuvalova, M.V. Balykin, A.S. Shanazarov

The effect of glibenclamide on the vascular plexus and microcirculation of the brain in high-altitude ischemia was analyzed. Factors of positive influence of the drug on functional changes in brain structures were established.

Keywords: vascular plexus of the ventricles of the brain; microcirculation; ischemia; glibenclamide; highlands.

Актуальность. Жертвами ишемического инсульта и сопряженных с ним дисфункции микрогемодинамики, ионного и вазогенного отеков, микрокровоизлияний ежегодно в мире становятся более 5 млн человек [1]. Рекомбинантный тканевой активатор плазминогена – единственное лекарственное средство, «одобренное национальными регулирующими органами для применения при остром ишемическом инсульте, по многим причинам используется менее чем у 20 % пациентов в развитых странах с передовым здравоохранением» [2].

В этой ситуации во всем мире идет активный поиск эффективных средств, способных предотвратить развитие отека мозга после ишемического инсульта [3]. В этом аспекте особое внимание ученых, начиная с 2001 г., привлекает препарат глибенкламид [4]. На основе полученных за 20 лет результатов сделано заключение, что глибенкламид способен предотвратить развитие ионного и вазогенного отеков головного мозга, развитие кровоизлияния и, тем самым, улучшить исход ишемического инсульта [5, с. 33–42].

После доклинических исследований, установивших эффективность глибенкламида, были проведены и в настоящее время проводятся испытания по применению глибенкламида у людей с ишемическим инсультом. Предварительные данные этих исследований свидетельствуют о том, что блокада SUR1-TRPM4 рецепторов глибенкламидом может привести к значительному уменьшению ишемического отека, снижению частоты геморрагической конверсии и улучшению исходов [6]. При этом нейропротективные эффекты глибенкламида сравнимы с таковыми рекомбинантного тканевого активатора плазминогена [2]. Сравнительные результаты эффектов глибенкламида и декомпрессионной краниэктомии показали, что оба метода лечения в равной степени снижают смертность, «однако неврологическая функция в течение последующих двух недель показала, что глибенкламид превосходит декомпрессионную краниэктомию» [1].

В Кыргызстане глибенкламид широко применяется для лечения сахарного диабета 2 типа [7]. Однако при этом не учитывается, что Кыргызстан – страна высокогорная и есть сведения, говорящие об особенностях действия ряда лекарственных средств в условиях высокогорной гипоксической гипоксии [6, 7].

Целью настоящего сообщения является изложение результатов исследования влияния глибенкламида на реактивность сосудистого сплетения и церебральной гемодинамики при субтотальной ишемии головного мозга (СИГМ) в высокогорье.

Материалы и методы. Работа выполнена на базе Лаборатории экспериментального моделирования патологических процессов (ЛЭМПП) Объектом исследования послужили белые беспородные лабораторные крысы-самцы весом 210–310 г, а материалом – сосудистые сплетения желудочков головного мозга (ССЖГМ) и микроциркуляторное русло (МЦР) головного мозга при его экспериментальной ишемии субтотального типа (СИГМ). СИГМ моделировалась путем билатеральной окклюзии общих сонных артерий (БООСА) на Высокогорной экспериментальной базе Института горной физиологии Национальной академии наук Кыргызской Республики (перевал Туя-Ашуу – 3200 м над ур. моря) и в низкогорье в условиях ЛЭМПП (г. Бишкек, 760 м над ур. м). БООСА проводилась в условиях общего наркоза (Калипсол 0,6 мл в/м). Через 1 час после перевязки общих сонных артерий животным вводился глибенкламид в микронизированной форме *per os* в дозе 1 мг/кг веса животного. После воспроизведения БООСА в высокогорье животные возвращались в предгорье. Животных выводили из эксперимента на 3-и сутки путем передозировки хлороформа.

Кровеносное русло головного мозга изучали после инъекции взвеси черной туши в 10%-м растворе нейтрального формалина через брюшную аорту. Срезы окрашивались гематоксилином-эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону. Готовые просветленные и гистологические препараты изучались под микроскопом OlympusB×40 (Япония). Одновременно проводили серийное микрофотографирование и протоколирование результатов.

Морфометрию компонентов ССГМ проводили с помощью приложения для измерения микроскопических объектов TopView.

Математическая и статистическая обработка полученных данных осуществлялась в программах Excel и SPSS 16.0.

Содержание, экспериментальные вмешательства и выведение животных из эксперимента осуществлялись согласно «Правилам лабораторной практики в Российской Федерации» (Приказ МЗ РФ от 19 июня 2003 № 267). Протокол исследования одобрен этическим комитетом при НПО «Профилактическая медицина» МЗ КР.

Результаты и обсуждение. Результаты морфометрии компонентов ССГМ показывают, что глибенкламид оказывает существенное влияние на их количественные показатели, по сравнению со значениями, полученными в опытах без применения глибенкламида. Такие показатели, как высота, ширина, объем клетки, ядра и цитоплазмы снижены соответственно на 21,4; 14,8; 43,5; 42,4 % за счет снижения отека. В результате равномерного снижения отека ядра и цитоплазмы величина клеточно-ядерного и ядерно-цитоплазматических индексов не отличается от величин, полученных при БООСА без применения глибенкламида.

Высота и объем эпендимоцитов в предгорье превышают, в высокогорье не достигают исходных величин. Это связано с тем, что в условиях высокогорья даже у здоровых животных отмечается увеличение размеров эпендимоцитов вследствие отека по сравнению с данными здоровых животных в предгорье. В предгорье размеры эпендимоцитов нарастают, главным образом, за счет цитоплазмы, и в высокогорье – за счет ядра. Поэтому значения ядерно-цитоплазматических индексов эпендимоцитов у животных с ИГМ в высокогорье значительно превышают данные, полученные в предгорье. Изложенное позволяет предположить, что рецептор сульфонилмочевины 1 (SUR1) в высокогорье становится более чувствительным к препарату, чем в предгорье.

По-другому интерпретировать особенности действия глибенкламида на эпендимоциты ССГМ при ИГМ в высокогорье в настоящее время невозможно.

Кровеносная сеть ССГМ включает все звенья кровеносного русла, но наиболее богата она синусоидальными капиллярами. Стенка синусоидальных капилляров состоит из фенестрированного эндотелия, базальной мембраны и перицитов (гладкомышечных клеток). По ходу капилляров располагаются расширения различной формы и величины. Поэтому даже у одного и того же животного на одном и том же гистологическом срезе разброс диаметра капилляров значителен.

В среднем диаметр капилляров у здоровых животных в предгорье равен $24,83 \pm 1,29$ нм, после БООСА – $42,4 \pm 3,6$ нм. Диаметр капилляров после БООСА на фоне применения глибенкламида в предгорье равен $26,5 \pm 2,9$ нм, в высокогорье – $28,3 \pm 1,3$ нм. На основании этих данных правомочно заключение, что направленность изменения диаметра капилляров при СИГМ с применением и без применения препарата не зависит от высоты местности. Это первое. Второе – изменение диаметра, а следовательно, и просвета синусоидальных капилляров ССГМ не пассивный, а активно регулируемый процесс. На это указывает наличие в стенке синусоидальных капилляров гладкомышечных клеток и богатая сеть периадвентициальных нервных сплетений, состоящих из миелиновых и безмиелиновых волокон [2, 6]. Кроме того, сосудистое сплетение обильно снабжено рецепторными структурами [7], которые могут служить мишенью нейрогуморального влияния на кровоток в ССГМ [5–7]. Возможно, поэтому при СИГМ без применения глибенкламида наблюдается резкое расширение кровеносных сосудов ССГМ и замедление органного кровотока, а в сочетании с применением глибенкламида этого не отмечается. Структурной основой функциональных нарушений кровотока в ССГМ после БООСА являются дистрофия эпендимоцитов, вакуолизация цитоплазмы, глыбчатый распад ядер, усиление апоптоза, нарушение проницаемости капилляров, кровоизлияния в строму, которые в опытах с применением глибенкламида встречаются значительно реже.

Вопрос о механизме действия глибенкламида на ССГМ в литературе не обсуждается и однозначного ответа на него нет. В связи с этим можно лишь выдвинуть ряд предположений.

Первое – глибенкламид блокирует располагающиеся в гладких мышцах сосудов К-АТФ-каналы, состоящие из Kir6.1 и SUR2 β -субъединиц, каналы в эндотелиальных клетках, состоящие из SUR1 и TRPM4 субъединиц. Это предотвращает развитие цитотоксического отека и морфофункционального нарушения сосудистой стенки. Препарат также ингибирует KATP (SUR1-Kir6.2) каналы эпендимоцитов и оказывает благотворный эффект.

Второе – глибенкламид оказывает нейротропный эффект, что вторично положительно отражается на ССГМ.

В макроциркуляторной подсистеме кровеносного русла мозга редукция кровотока после БООСА вызывает утолщение интимы, пролиферацию субэндотелиального слоя, переориентацию пространственной организации гладкомышечных клеток. Эти изменения, по сути своей, являются компенсаторно-приспособительными, направленными на сбалансирование емкости кровеносного русла и объема протекающей по нему крови.

Однако чрезвычайное напряжение компенсаторно-приспособительных сосудистых реакций приводит к формированию щелей, вакуолей в меди, заполненных отечной жидкостью, их можно отнести к разряду патологических проявлений (рисунок 1). Механизм их развития связан с деятельностью каналов, состоящих из Kir6.1 и SUR2 β субъединиц. Под действием комбинации высотной гипоксической и циркуляторной гипоксией эти каналы мембран гладкомышечных клеток стенки кровеносных сосудов раскрываются, что создает условия потоку Na⁺ в клетки, отеку последних и цитотоксическому повреждению.

Глибенкламид ингибирует раскрытие каналов и предотвращает переход компенсаторно-приспособительных реакций в разряд патологических. Относительно эффективное функционирование сосудистой стенки поддерживает адекватное создавшимся условиям кровотока в макроциркуляторной подсистеме мозгового кровообращения.

В подсистеме микроциркуляции на уровне гематоэнцефалического барьера или нейрососудистого блока эффект глибенкламида связан с деятельностью SUR1-Trpm4 каналов. Канал SUR1-Trpm4 образуется путем коассоциации SUR1 с АТФ и кальцийчувствительным неселективным катионным каналом, транзитным рецепторным потенциалом меластанина 4 (Trpm4). Активация деятельности SUR1-Trpm4 каналов является основным молекулярным механизмом «случайной некротической гибели клеток» в ЦНС [1], которая наблюдается в опытах с моделированием СИГМ в высокогорье (рисунок 2).

Эндотелиальные клетки капилляров набухают, их проницаемость нарастает, повышается «утечка» воды, ионов, макромолекул из капиллярного просвета в паренхиму головного мозга. Развивается вазогенный отек. Нарушение целостности капиллярной стенки способствует деструкции ГЭБ и развитию геморрагий. Все это в наших экспериментах приводит к гибели 60 % животных в низкогорье и 71 % животных, у которых ишемическое событие в головном мозге случилось на высоте.

Полученные результаты с определенными допущениями можно интерпретировать следующим образом. SUR1-TRPM4 канал в здоровом головном мозге не экспрессируется. При ИГМ он раскрывается, что приводит к деполяризации клеток, чтобы затормозить патологический поток Ca⁺ внутрь клеток и уберечь их от повреждения. Однако при этом истощается запас внутриклеточного АТФ. Происходит неконтролируемое раскрытие каналов SUR1-TRPM4, через которые идет интенсивный поток Na⁺ в клетки. Это приводит к вышеизложенным патологическим событиям.

SUR1 содержит сайты связывания глибенкламида в терапевтических дозах [1]. Поэтому препарат является мощным ингибитором SUR1-TRPM4 каналов, чем и объясняется положительный эффект глибенкламида при субтотальной ИГМ в условиях высокогорья.

Выводы

Наши эксперименты с моделированием субтотальной ИГМ путем БООСА в высокогорье на фоне применения глибенкламида показали, что препарат снижает степень развития ионного, цитотоксического, вазогенного отеков, геморрагической конверсии «случайной гибели клеток» и улучшает исходы опытов. ЦНС у животных с субтотальной ИГМ в высокогорье более чувствительна к действию глибенкламида, чем в предгорье. Иначе говоря, с точки зрения экспериментальной и клинической физиологии глибенкламид в высокогорье обладает выраженным нейротропным эффектом, чем в предгорье.

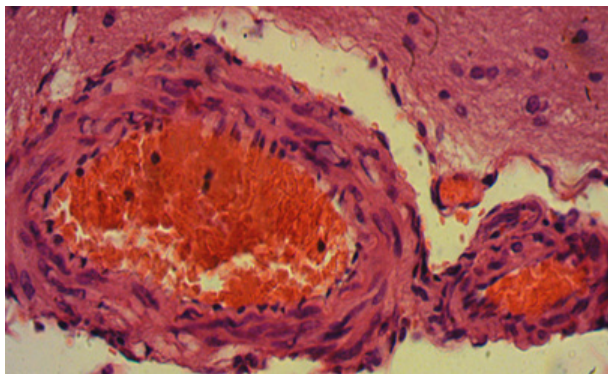


Рисунок 1 (микрофото) – Сосуды макроциркуляторной подсистемы мозга при его СИГМ на фоне применения глибенкламида в условиях высокогорья.

Утолщение интимы, пролиферация подэндотелиального слоя, периориентация ядер гладкомышечных клеток, формирование щелей в меди (гематоксилин-эозин, ув. 400)

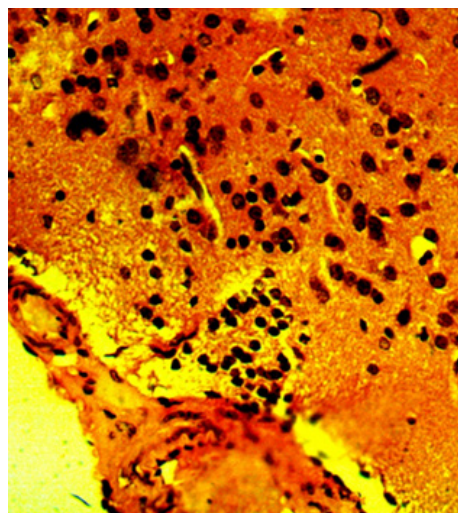


Рисунок 2 (микрофото) – Паравазальный отек, клеточная инфильтрация, воспалительная реакция, микронекротоз вещества мозга (гематоксилин-эозин, ув. 400)

Литература

1. Simard, J.M., Sheth, K.N., Kimberly, W.T., Stern, B.J., Del Zoppo, G.J., Jacobson, S., Gerzanich, V. Glibenclamide in cerebral ischemia and stroke // *Neurocritical care*. 2014. № 20 (2).
2. Tosun C., Kurland D.B., Mehta R., Castellani R.J., de Jong J.L., Kwon M.S., Woo S.K., Gerzanich V., Simard J.M. Inhibition of the Sur1-Trpm4 channel reduces neuroinflammation and cognitive impairment in subarachnoid hemorrhage // *Stroke*. 2013; 44: 3522–3528.
3. Wang L., Zhang Z., Wang Y., Zhang R., Chopp M. Treatment of stroke with erythropoietin enhances neurogenesis and angiogenesis and improves neurological function in rats // *Stroke*. 2004 Jul; 35 (7):1732–7.
4. Ortega F.J., Gimeno-Bayon J., Espinosa-Parrilla J.F., Carrasco J.L., Batlle M., Pugliese M., Mahy N., Rodriguez M.J. ATP-dependent potassium channel blockade strengthens microglial neuroprotection after hypoxia-ischemia in rats // *Exp. Neurol*. 2012; 235: 282–296.
5. Ахметов А.С. Возможности клинического применения глибенкламида в XXI веке / А.С. Ахметов // *Эндокринология: новости, мнения, обучение*. 2017. № 4.
6. Ortega F.J., Jolkkonen J., Rodriguez M.J. Microglia is an active player in how glibenclamide improves stroke outcome // *J. Cereb. Blood Flow Metab*. 2013; 33: 1138–1139.
7. Simard J.M., Geng Z., Silver F.L., Sheth K.N., Kimberly W.T., Stern B.J., Colucci M., Gerzanich V. Does inhibiting Sur1 complement rt-PA in cerebral ischemia? // *Ann. N.Y. Acad. Sci*. 2012; 1268:95–107.