

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Коллектив авторов, 2018

УДК 611.16.018:611.813.3:612.65:612.273.2:599.323.4

В. А. Отеллин¹, Л. И. Хожай¹, И. Н. Тюренков³, Т. Т. Шишко¹, В. И. Миронова²,
Э. И. Валькович⁴

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЭЛЕМЕНТАХ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА ГИППОКАМПА У КРЫС ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ПЕРИНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ И ВОЗМОЖНОСТЬ ИХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ

¹ Лаборатория онтогенеза нервной системы (зав. — чл.-кор. РАН проф. В. А. Отеллин), ² лаборатория нейроэндокринологии (зав. — д-р биол. наук Н. Э. Ордян), ФГБУН «Институт физиологии им. И. П. Павлова» РАН, Санкт-Петербург; ³ кафедра фармакологии и биофармации факультета усовершенствования врачей (зав. — чл.-кор. РАН проф. И. Н. Тюренков), ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава РФ; ⁴ кафедра гистологии и эмбриологии имени профессора А. Г. Кнорре (зав. — проф. В. Г. Кожухарь), ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава РФ

Цель — изучение динамики структурных изменений в элементах гематоэнцефалического барьера гиппокампа в ранний постнатальный период и последующем онтогенезе после воздействия перинатальной гипоксии, исследование возможности фармакологической коррекции этих изменений.

Материал и методы. Исследование проведено на лабораторных крысах линии Вистар на модели энцефалопатии недоношенных детей человека с использованием электронной микроскопии.

Результаты. После воздействия перинатальной гипоксии выявлены структурные нарушения в стенке капилляров: увеличение размеров эндотелиоцитов, повышение количества цитоплазматических отростков, изменение диаметра просвета капилляров, задержка формирования базальной мембраны. Обнаружен выраженный эндотелиопротекторный эффект препарата «Салифена» во все исследованные сроки. Показано, что салифен снижает интенсивность реакций элементов гематоэнцефалического барьера на повреждающее воздействие перинатальной гипоксии.

Выводы. Перинатальная гипоксия оказывает значительное повреждающее действие на все элементы гематоэнцефалического барьера гиппокампа, при этом вызванные нарушения регистрируются как на ранних сроках постнатального развития, так и у животных, достигших половозрелого возраста. Применение препарата «Салифена» сразу после воздействия перинатальной гипоксии нивелирует многие структурные нарушения эндотелиоцитов и базальной мембраны уже к ювенильному периоду. Проведенная работа дает основание считать перспективным применение салифена при ишемических повреждениях головного мозга новорожденных и будет продолжена серией дальнейших доклинических исследований.

Ключевые слова: гиппокамп, перинатальная гипоксия, гематоэнцефалический барьер

Многочисленные экспериментальные и клинические исследования свидетельствуют о том, что перинатальная гипоксия, часто встречающаяся в медицинской практике, может инициировать развитие патологий центральной нервной системы, которые проявляются в последующем онтогенезе в виде нервно-психических заболеваний и расстройств. Считают, что в этих процессах может принимать активное участие гиппокамп, имеющий обширные связи со многими формациями головного мозга [2, 8].

В наших предыдущих исследованиях [4] на модели энцефалопатии новорожденных было установлено, что после воздействия перинатальной гипоксии во всех полях гиппокампа имеют место выраженная (в разной мере) гибель нервных клеток, истончение слоев пирамидных нейронов, уменьшение их размеров. В отношении реакций элементов гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) гиппокампа систематические сведения в литературе отсутствуют.

Сведения об авторах:

Отеллин Владимир Александрович (e-mail: v.otellin@mail.ru), Хожай Людмила Ивановна, Шишко Тамара Тимофеевна, лаборатория онтогенеза нервной системы, Миронова Вера Ивановна, лаборатория нейроэндокринологии, ФГБУН «Институт физиологии им. И. П. Павлова» РАН, 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6

Тюренков Иван Николаевич (e-mail: fibfuv@mail.ru), кафедра фармакологии и биофармации факультета усовершенствования врачей, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 400131, г. Волгоград, ул. Пугачевская, 3

Валькович Эрнест Иванович (e-mail: asmcode@mail.ru), кафедра гистологии и эмбриологии имени профессора А. Г. Кнорре, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава РФ, 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2

Целью настоящей работы было, во-первых, изучение динамики структурных изменений в элементах ГЭБ гиппокампа в ранний постнатальный период и последующем онтогенезе после воздействия перинатальной гипоксии и, во-вторых, исследование возможности фармакологической коррекции этих изменений.

Фармакологами Волгоградского медицинского университета был выделен новый класс фармакологических препаратов — эндотелиальные протекторы. В модели плацентарной гипоксии ими был продемонстрирован эндотелиопротекторный эффект синтезированного отечественного препарата «Салифена» [1, 7]. Позднее в наших исследованиях в модели энцефалопатии недоношенных детей человека был обнаружен нейропротекторный эффект в отношении ГАМК-ергических нейронов и эндотелиопротекторный в неокортексе у крыс [5, 6].

Было выявлено, что салифен обладает широким спектром действия, по химической структуре являясь производным ГАМК. Салифен оказывает отчетливое протекторное действие при ишемии мозга (снижает смертность животных, улучшает сохранность памятного следа, предупреждает снижение двигательной и ориентировочно-исследовательской активности животных после ишемического повреждения), положительно влияет на гемореологию (уменьшает агрегацию тромбоцитов и эритроцитов), улучшает мозговое кровообращение в условиях ишемии мозга (предупреждает снижение скорости кровотока по средней мозговой артерии в условиях била-теральной окклюзии общих сонных артерий). Данный препарат улучшает развитие сенсорно-двигательных рефлексов и мышечной силы у потомства от крыс с экспериментальным гестозом, способствует увеличению локомоторной и ориентировочно-исследовательской активности, снижению уровня тревожности, оказывает положительное мнемотропное действие [7]. Исходя из приведенных данных, было принято решение изучить протекторные эффекты салифена в отношении элементов ГЭБ гиппокампа на модели энцефалопатии новорожденных и исследовать возможность его терапевтического применения в ранний постнатальный период.

Материал и методы. В работе использованы лабораторные крысы линии Вистар из питомника Института физиологии им. И. П. Павлова РАН. Все процедуры с животными проводились в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» и при соблюдении требований Директив Совета Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) об использовании лабораторных животных. Протоколы опытов были утверждены комиссией по гуманному обращению с животными Института физиоло-

гии им. И. П. Павлова РАН. Воздействие гипоксии на головной мозг новорожденных крысят осуществляли в отдельной камере в течение 1 ч при содержании в дыхательной смеси: кислорода — 7,6–7,8%; углекислого газа — 0,15–0,21%; азота — 91,8%, при температуре 21,3–23,0 °C и нормальном общем атмосферном давлении. Воздействие гипоксии проводилось на 2-е постнатальные сутки. В работе было использовано 3 группы животных: 1-я — крысята, подвергавшиеся в барокамере воздействию гипоксии и получавшие подкожные инъекции салифена через 1 сут после воздействия гипоксии (в течение 14 сут, в дозе 15 мг/кг); 2-я — животные, подвергавшиеся аналогичному гипоксическому воздействию и получавшие инъекции физиологического раствора в те же сроки, что и введение салифена; 3-я — контрольные животные того же возраста, которых помещали в барокамеру без гипоксического воздействия, а через 1 сут водили физиологический раствор в течение 14 сут. Каждая группа содержала по 8–10 крысят, отобранных из разных пометов.

Для ультраструктурного исследования фрагменты гиппокампа (поля CA1–CA4) фиксировали в 2,5% растворе глутаральдегида на 0,1М фосфатном буфере (pH 7,4) с добавлением сахарозы, дополнительно фиксировали 2% раствором тетроксидом осмия и заключали в эпон. Ультратонкие срезы, полученные на ультратоме LKB-III, контрастировали 1,5% раствором уранилацетата и цитратом свинца и просматривали под электронным микроскопом Теснаи G2 Spirit (FEI, Германия) при ускоряющем напряжении 70 кВ. Экспериментальный материал исследовали в ранний постнатальный период (на 5-е и 10-е сутки), в ювенильный (20 сут), пубертатный (60 сут) периоды и у животных, достигших половозрелого возраста (80–90 сут).

Результаты исследования. ГЭБ — сложная многокомпонентная структура, обеспечивающая избирательный двунаправленный транспорт веществ между кровью и мозгом. Считают, что основными барьерными структурами являются медленно обновляющиеся эндотелиальные клетки, имеющие специализированные межклеточные контакты, транспортные везикулы и вакуоли, базальный слой [или базальная мембрана (БМ) по принятой у нас номенклатуре] с внеклеточным компонентом — филаментами, содержащими, главным образом, коллаген IV типа, ламинин и другие филаменты. Снаружи базального слоя барьерные функции выполняют перикапиллярные отростки астроцитов или их тела, а также перициты.

Проведенные эксперименты показали, что все эти элементы в той или иной мере реагируют на воздействие острой гипоксии. Структурные нарушения, вызванные гипоксией, выявляются на всех исследованных сроках. Наиболее значительные изменения в структурах ГЭБ отмечены в ранний постнатальный период. Через 1 сут поле воздействия гипоксии резко повышается электронная плотность ядер и цитоплазмы эндотелиальных клеток капилляров. Плотные контакты между эндотелиоцитами открыты, часто БМ четко не контурируется, внеклеточный компонент

немногочислен и пространственно не организован (рис. 1, а).

Эндотелиоциты обнаруживают разную степень дифференцировки, их ядра обладают разными размерами и электронной плотностью, степенью концентрации хроматина. Эндоплазматический ретикулум представлен расширенными единичными цистернами, цитоплазматические отростки немногочисленны и в просвете капилляров их мало (см. рис. 1, а). Электронная плотность перицитов повышена. В отечном нейропиле резко уменьшается число конусов роста отростков клеток.

На 5-е сутки после воздействия гипоксии ядра большого числа эндотелиальных клеток приобретают лопастную форму, имеют место выраженная конденсация хроматина, повышение его электронной плотности, увеличение объема цитоплазмы и появление множества отростков, что приводит к некоторому сужению просвета микрососудов (см. рис. 1, б). Ширина базальной мембраны увеличивается, однако, внеклеточный материал ее хотя и присутствует в виде сетевидных структур, но пластины (*laminae rara et densa*), как правило, не определяются.

К концу 10-х постнатальных суток происходит увеличение объема более дифференцированной цитоплазмы эндотелиальных клеток, заполняющих и суживающих просвет значительного числа капилляров. БМ приобретает более ровные контуры и практически по всему периметру вклю-

чает в себя волокнистый внеклеточный материал, а в некоторых участках и самые начальные этапы формирования плотной пластинки. Снаружи БМ появляются отечные конечные ножки периваскулярных астроцитов. Обращает на себя внимание большое число митохондрий высокой электронной плотности с измененными кристами, характерными для болезни митохондрий.

В ювенильном периоде (20 сут) увеличивается число крупных сосудов, однако, продолжают формироваться новые капилляры. Объем цитоплазмы эндотелиоцитов по сравнению с предыдущим сроком исследования уменьшается, в ней обнаруживается небольшое число органелл, протяженность плотных контактов увеличивается. В просвете капилляров присутствует мелкие цитоплазматические отростки. Ширина БМ и число волокнистых структур в ней возрастают, но плотный слой остается неразвитым. Наблюдаются расщепления и дубликатуры БМ. Увеличиваются размеры астроцитарных отростков, прилежащих к наружной поверхности БМ (рис. 2, а). Иногда встречаются дегенерирующие перициты.

К пубертатному периоду (60 сут) микроциркуляторное русло и структурные элементы ГЭБ сформированы, в участках БМ чаще определяется плотная пластинка. Воздействие перинатальной гипоксии однотипно сказывается на состоянии элементов ГЭБ в препубертатном и пубертатном периодах и различается только интенсивностью. Пролиферативная активность

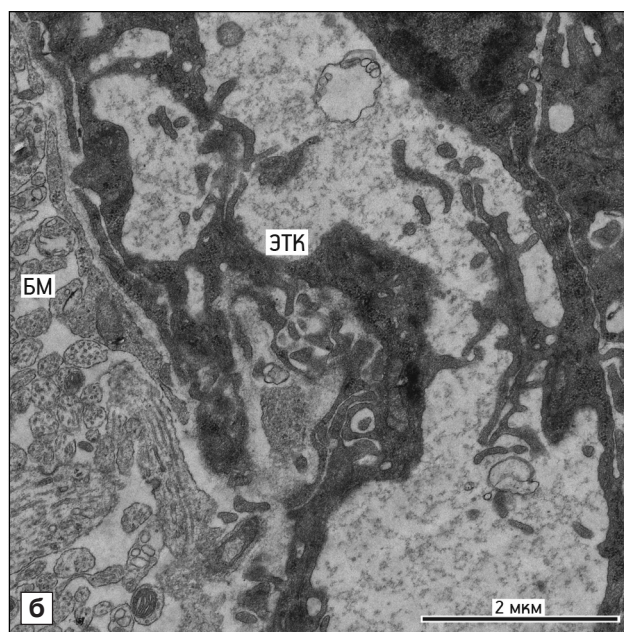
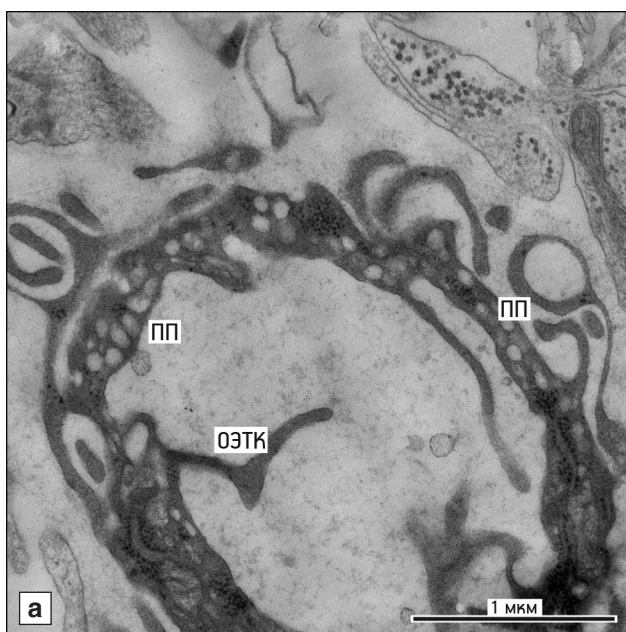


Рис. 1. Капилляры поля СА4 гиппокампа периода ранней новорожденности после воздействия гипоксии.

а — капилляр 3-дневного крысенка через 1 сут после гипоксии. Обилие пиноцитозных пузырьков в цитоплазме ЭТК и единичные ее отростки; б — капилляр 5-суточного крысенка после гипоксии, повышенная электронная плотность ЭТК, ее ядра, цитоплазмы и многочисленных отростков в просвете сосуда (ПП — пиноцитозные пузырьки, ОЭТК — отростки цитоплазмы эндотелиальных клеток; БМ — недифференцированная базальная мембрана)

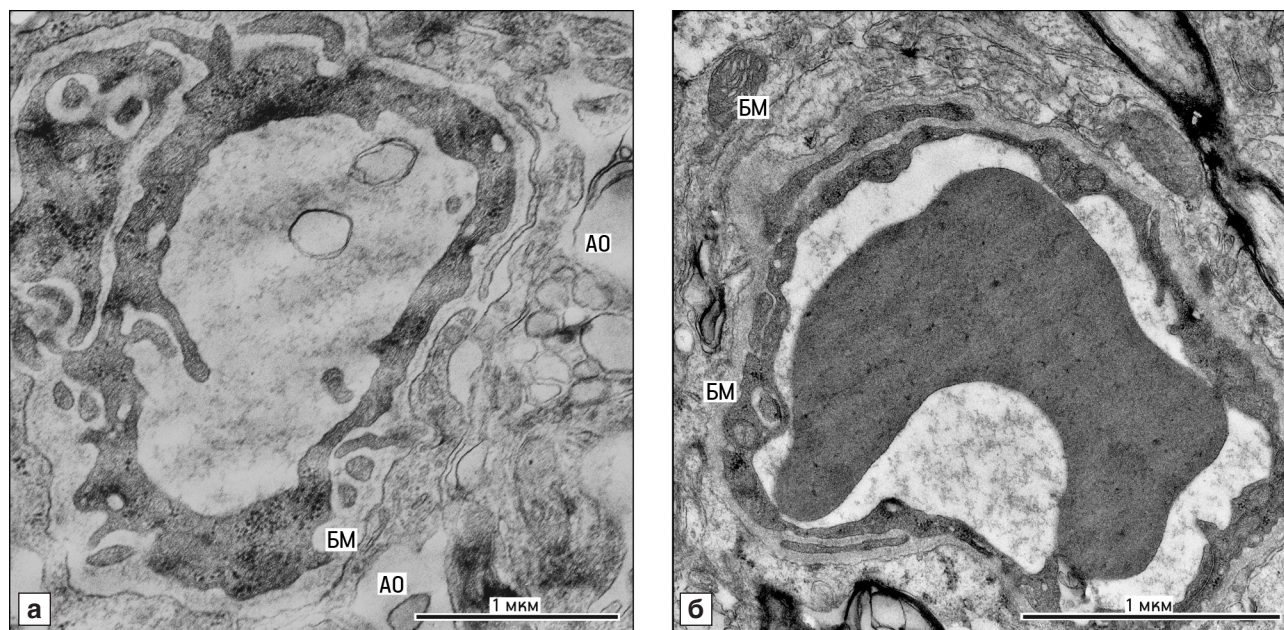


Рис. 2. Капилляры гиппокампа ювенильного периода онтогенеза.

а — после перинатальной гипоксии. Неравномерное распределение филаментов в недифференцированной базальной мембране (БМ), АО — отростки астроцитов, отставание в созревании нейропиля; б — после перинатальной гипоксии и применения салифена, заполнение БМ филаментами без формирования пластин, отсутствие астроглиальной реакции

эндотелиоцитов снижается, объем цитоплазмы уменьшается, а их отростки не заполняют просвет капилляров так, как это имело место на более ранних сроках постнатального и ювенильного периодов.

У животных, достигших половозрелого возраста (80–90 сут), после воздействия перинатальной гипоксии отмечены: умеренное расширение просвета капилляров, высокая пиноцитозная активность цитоплазмы, увеличение числа отростков фибриллярных перикапиллярных астроцитов. У части капилляров наблюдались повышенная электронная плотность цитоплазмы отдельных эндотелиальных клеток, неравномерность БМ (ее расширение или сужение, появление дубликатуры), обилие в ней рыхлых расположенных, хаотично ориентированных филаментов.

Изучение экспериментального материала от животных, подвергавшихся воздействию перинатальной гипоксии и получавших терапевтическую дозу салифена, выявило положительное его действие на состояние всех элементов ГЭБ на всех сроках исследования.

В ювенильном, препубертатном, пубертатном периодах и у животных, достигших половозрелого возраста, уменьшались размеры эндотелиоцитов, их цитоплазма выглядела более дифференцированной, число цитоплазматических отростков в просвете капилляров существенно уменьшалось, поэтому выраженные деформации просветов микрососудов были немногочисленными.

БМ по всему периметру состояла из внеклеточного материала, организованного в пластины, однако плотная пластина присутствовала только в отдельных сегментах периметра. Отмечена высокая дифференцировка протоплазматических астроцитов (см. рис. 2, б).

Обсуждение полученных данных. В настоящем исследовании впервые выявлена динамика ультраструктурных изменений в клеточных и неклеточных элементах ГЭБ в гиппокампе после воздействия перинатальной гипоксии на модели энцефалопатии недоношенных детей. Считают, что в развитии энцефалопатий значительную роль играют различные нарушения структуры стенки капилляров мозга, которая включает уникальные элементы (эндотелиоциты, БМ, перициты), от согласованной работы которых зависит не только проницаемость ГЭБ, но и кровоснабжение головного мозга в целом [8]. Последнее обстоятельство определяет большое внимание исследователей к изучению роли эндотелия в развитии сосудистых заболеваний, а также поиск и разработку препаратов нового поколения, обладающих эндотелиопротекторными свойствами. Существует мнение, что защита и протекция элементов ГЭБ является определяющей стратегией лечения церебральной ишемии [11, 12].

Выявленные в данном исследовании нарушения в стенке микрососудов после воздействия гипоксии (увеличение размеров эндотелиоцитов, повы-

шение количества цитоплазматических отростков, изменение диаметра просвета капилляров и т.д.) находят свою функциональную оценку в обзоре G. Distefano и A. Pratico [9], посвященном изучению молекулярных основ патогенеза энцефалопатий и восстановительных процессов в мозгу после воздействия перинатальной гипоксии—ишемии. Авторы приводят данные о нарушении механизмов авторегуляции церебрального кровообращения, которые в нормальных условиях поддерживают стабильность объемного кровотока у доношенных новорожденных. У недоношенных особей процессы авторегуляции изменяются из-за дисбаланса гуморальных сосудосуживающих и сосудорасширяющих факторов, синтезируемых эндотелиальными клетками, перицитами, астро- и олигодендроглией. Нарушение микроциркуляции становится достаточно продолжительным индуктором задержки дифференцировки всех клеточных и неклеточных составляющих нервной ткани, что отмечено и в нашем материале.

В настоящее время многими авторами значимая роль в барьерной функции отводится базальной мембране [10, 13]. В проведенном исследовании подтверждено мнение о том, что, во-первых, БМ окончательно дифференцируется после рождения и, во-вторых, что воздействие перинатальной гипоксии задерживает становление этого элемента ГЭБ. Полученные фактические данные позволяют предположить, что показателем дифференцированности БМ является формирование ее пластин, laminae densa et rara, при этом у контрольных животных первая из них появляется на 5-е постнатальные сутки не по всему периметру капилляра, а после воздействия перинатальной гипоксии — только к 20-м суткам. Следует отметить, что пластины формируются филаментами (преимущественно образованными коллагеном IV типа и ламинином), которым также отводится важная роль в регуляции проницаемости ГЭБ.

В нашей работе продемонстрирован выраженный эндотелиопротекторный эффект препарата «Салифена» на всех исследованных сроках. Показано, что введение салифена снижает интенсивность реакций элементов ГЭБ на повреждающее воздействие гипоксии и, вероятно, способствует развитию адаптивных реакций, что делает возможным реализацию программы гистогенетического развития. Подтверждением этому могут служить физиологические данные, свидетельствующие об улучшении ряда поведенческих тестов у животных, подвергавшихся воздействию перинатальной гипоксии и получавших салифен [3].

Приведенные выше факты дают основание считать, что после повреждающего воздействия гипоксии салифен дает выраженный протекторный эффект на элементы ГЭБ в гиппокампе, который, вероятно, может инициировать развитие адаптивных процессов, приводящих к нормализации дифференцировки как нейронов, так и глиальных элементов.

Таким образом, на модели энцефалопатии недоношенных детей человека показано, что перинатальная гипоксия оказывает значительное повреждающее действие на все элементы ГЭБ гиппокампа, при этом вызванные нарушения регистрируются как на ранних сроках постнатального развития, так и у животных, достигших половозрелого возраста. Применение препарата «Салифена» сразу после воздействия перинатальной гипоксии нивелирует многие структурные нарушения эндотелиоцитов и БМ уже к ювенильному периоду. Проведенная работа дает основание считать перспективным использование салифена при ишемических повреждениях головного мозга у новорожденных и будет продолжена серией дальнейших доклинических исследований.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-04-00207.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013–2020 годы (ГП-14, раздел 65)». Заявка на патент ФИПС № 2017138764.

Вклад авторов:

Концепция и дизайн исследования: В. А. О., И. Н. Т.

Сбор и обработка материала: Т. Т. Ш., Л. И. Х.

Статистическая обработка данных: Т. Т. Ш., В. И. М.

Анализ и интерпретация данных: В. А. О., Л. И. Х., Э. И. В.

Написание и редактирование текста: В. А. О., Л. И. Х.

Авторы сообщают об отсутствии в статье конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иванова Л.Б., Карамышева В.И., Перфилова В.Н., Тюренков И.Н. Влияние производных ГАМК на функцию эндотелия крыс с экспериментальным гестозом // Проблемы репродукции. 2012. № 1. С. 28–30 [Ivanova L.B., Karamysheva V.I., Perfilova V.N., Tiurenkov I.N. The effect of GABA-derivatives on endothelial function in rats with experimental preeclampsia // Problemy reproduksii. 2012. № 1. P. 28–30. In Russ.].
2. Моргун А.В., Кувачева Н.В., Таранушенко Т.Е., Хилажева Е.Д., Малиновская Н.А., Горина Я.В., Пожиленкова Е.А., Фролова О.В., Салмина А.Б. Современные представления о патогенезе перинатального ишемического повреждения клеток нейроваскулярной единицы головного мозга: молекулы-мишени для нейропротекции // Вестник РАМН. 2013. Т. 68, № 12. С. 26–35 [Morgun A.V., Kuvacheva N.V., Taranushenko T.E., Khilazheva E.D., Malinovskaya N.A.,

- gorina Ya.V., Pozhilenkova E.A., Frolova O.V., Salmina A.B. Current concepts of perinatal ischemic injury in the brain neurovascular unit: molecular targets for neuroprotection // *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2013. Vol. 68, № 12. P. 26–35. In Russ.].
3. Ордян Н.Э., Акулова В.К., Миронова В.И., Отеллин В.А. Вызванные перинатальной гипоксией поведенческие нарушения у ювенильных крыс и их коррекция производным ГАМК // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2017. Т. 164, № 8. С. 140–144 [Ordyan N.E., Akulova V.K., Mironova V.I., Otellin V.A. Behavior disorders caused by perinatal hypoxia in juvenile rats and their correction with GABA derivative // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2017. Vol. 164, № 2. P. 118–122. In Russ.].
 4. Отеллин В.А., Хожай Л.И., Ватаева Л.А., Шишко Т.Т. Отдаленные последствия воздействия гипоксии в перинатальный период развития на структурно-функциональные характеристики мозга у крыс // *Российский физиологический журнал им. И.М.Сеченова*. 2011. Т. 97, № 10. С. 1092–1100 [Otellin V.A., Khozhaj L.I., Vataeva L.A., Shishko T.T. The remote consequences of hypoxia influence in perinatal development period on structurally functional characteristics of the rat brain // *Russ. Fiziol. Zh. im. I.M. Sechenova*. 2011. Vol. 97, № 10. P. 1092–1100. In Russ.].
 5. Отеллин В.А. Хожай Л.И., Тюреньков И.Н. Воздействие перинатальной гипоксии на структуры гематоэнцефалического барьера у крыс при введении салифена // *Морфология*. 2015. Т. 148, вып. 6. С. 34–37 [Otellin V.A., Khozhaj L.I., Tyurenkov I.N. The effect of perinatal hypoxia on the structure of blood-brain barrier in rats treated with salifen // *Morfologiya*. 2015. Vol. 148, № 6. P. 34–37. In Russ.].
 6. Отеллин В.А., Хожай Л.И., Шишко Т.Т. Реакция структурных элементов гематоэнцефалического барьера новорожденных крысят на нормобарическую гипоксию // *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*. 2015. Т. 51, № 5. С. 377–382 [Otellin V.A., Khozhaj L.I., Shishko T.T. Reaction of the blood-brain barrier structural elements to normobaric hypoxia in newborn rats // *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2015. Vol. 51, № 5. P. 428–434. In Russ.].
 7. Тюреньков И.Н., Воронков А.В., Слиецанс А.А., Волотова Е.В. Эндотелиопротекторы – новый класс фармакологических препаратов // *Вестник РАМН*. 2012. № 7. С. 50–57 [Tyurenkov I.N., Voronkov A.V., Slietsans A.A., Volotova E.V. Endothelial protection drugs – a new class of pharmacological agents // *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2012. № 7. P. 50–57. In Russ.].
 8. Чехонин В.П., Баклаушев В.П., Юсубалиева Г.М., Волгина Н.Е., Гурина О.И. Фундаментальные и прикладные аспекты изучения гематоэнцефалического барьера // *Вестник РАМН*. 2012. № 8. С. 66–78 [Ghehonin V.P., Baklaushev V.P., Yusubaliyeva G.M., Volgina N.E., Gurina O.I. Fundamental and applied aspects of the blood-brain barrier research // *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2012. № 8. P. 66–78. In Russ.].
 9. Distefano G., Pratico A.D. Actualities on molecular pathogenesis and repairing processes of cerebral damage in perinatal hypoxic-ischemic encephalopathy // *Ital. J. Pediatr.* 2010. Vol. 36. P. 63–73.
 10. Morris A. W., Sharp M.M., Albargothy N.J., Fernandes R., Hawkes C.A., Verma A., Weller R.O., Carare R.O. Vascular basement membranes as pathways for the passage of fluid into and out of the brain // *Acta Neuropathol.* 2016. Vol. 131, № 5. P. 725–736.
 11. Niu F., Song X.Y., Hu J.F., Zuo W., Kong L.L., Wang X.F., Han N., Chen N.H. IMM-H004, A new coumarin derivative, improved focal cerebral ischemia via blood-brain barrier protection in rats // *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* 2017. Vol. 26, № 10. P. 2065–2073.
 12. Sifat A.E., Vaidya B., Abbruscato T.J. Blood-brain barrier protection as a therapeutic strategy for acute ischemic stroke // *AAPS J.* 2017. Vol. 19, № 4. P. 957–972.
 13. Thomsen M.S., Routh L.J., Moos T. The vascular basement membrane in the healthy and pathological brain // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2017. Vol. 37, № 10. P. 3300–3317.
- Поступила в редакцию 17.05.2018
Получена после доработки 20.06.2018
- ### STRUCTURAL CHANGES IN BLOOD-BRAIN BARRIER ELEMENTS IN THE RAT HIPPOCAMPUS FOLLOWING PERINATAL HYPOXIA AND THE POSSIBILITY OF THEIR PHARMACOLOGICAL CORRECTION
- V. A. Otellin¹, L. I. Khozhaj¹, I. N. Tyurenkov³, T. T. Shishko¹, V. I. Mironova², E. I. Valkovich⁴
- Objective** — to study the dynamics of structural changes in the elements of the hippocampal blood-brain barrier in the early postnatal period and during subsequent ontogenesis after the exposure to perinatal hypoxia, and to examine the possibility of pharmacological correction of these changes.
- Material and methods.** The study was performed on laboratory Wistar rats on the model of encephalopathy of premature human infants using the method of electron microscopy.
- Results.** After the exposure to perinatal hypoxia, structural disturbances in the capillary wall were detected which included the increase of endotheliocyte size and cytoplasmic process number, the change in capillary luminal diameter, and the delay in the formation of the basal membrane. The significant endothelioprotective effect of the saliphene preparation was demonstrated at all time intervals investigated. It was shown that saliphene reduced the intensity of reactions of the hippocampal blood-brain barrier elements to the damaging effect of perinatal hypoxia.
- Conclusions.** Perinatal hypoxia has a significant damaging effect on all the elements of the hippocampal blood-brain barrier, resulting in disorders which were found both at the early stages of postnatal development, and in animals that have reached sexual maturity. The use of saliphene immediately after the exposure to perinatal hypoxia reversed many structural disorders of endotheliocytes and the basal membrane already in the juvenile period. The study performed suggests the application of saliphene in ischemic brain injuries of newborns as promising and will be continued by a series of further preclinical studies.
- Key words:** *hippocampus, perinatal hypoxia, blood-brain barrier, saliphene*
- ¹ Laboratory of Ontogenesis of Nervous System; ² Laboratory of Neuroendocrinology, RAS I. P. Pavlov Institute of Physiology, 6 Makarova Emb., St. Petersburg 199034; ³ Department of Pharmacology and Biopharmacy, College of Advanced Medical Studies, Volgograd State Medical University, 3 Pugachev Str., Volgograd 400131; ⁴ A. G. Knorre Department of Histology and Embryology, St. Petersburg State Pediatric Medical University, 2 Litovskaya Str., St. Petersburg 194100