

Научная статья

УДК 612.086.2:[615.065:[547.756+547.854.5]:611.813.14]:599.323.45

doi:10.18499/2225-7357-2025-14-1-74-82

1.5.22 – клеточная биология

3.3.2 – патологическая анатомия



Сравнительный патоморфологический анализ токсического воздействия новых спиросочлененных гетероциклических соединений на гиппокамп крыс

Е. Г. Сухорукова¹✉, Г. Ю. Юкина¹, И. В. Половников¹, С. Г. Журавский¹, А. В. Степаков², Е. А. Крыжановская¹, В. М. Бойцов²

¹Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, С.-Петербург, Россия

²Санкт-Петербургский национальный исследовательский академический университет им. Ж.И. Алфёрова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

Аннотация. Цель исследования – провести сравнительный патоморфологический анализ токсического воздействия новых спиросочлененных гетероциклических соединений на гиппокамп крыс. **Материал и методы.** Самцы крыс линии Вистар были разделены на 3 группы. Животным контрольной группы вводили 1 мл физиологического раствора, крысам 1-й экспериментальной группы (ЭГ1) однократно внутрибрюшинно вводили спиросочлененный барбитурат, особям 2-й экспериментальной группы (ЭГ2) – спиросочлененный оксиндол в дозе 12 мг/кг массы тела животного также в объеме 1 мл. Через 2 и 8 нед после введения препаратов животных выводили из эксперимента. Используя стандартную гистологическую методику, срезы толщиной 5 мкм окрашивали толудиновым синим по методу Ниссля. Иммуноцитохимическое выявление астроцитарной глии проводили с помощью антител к белку GFAP. **Результаты.** В обеих экспериментальных группах пирамидные нейроны претерпевают морфологические изменения, характерные для гибнущих клеток. При этом у животных ЭГ2 по сравнению с группой контроля дегенеративные изменения выявлялись у большего числа нейронов и во всех полях гиппокампа, в то время как в ЭГ1 преимущественно поражались поля СА₁ и СА₃. Сравнение между ЭГ1 и ЭГ2 показало, что спиросочлененный оксиндол оказывает большее токсическое действие на поля СА₃ и СА₄. Установлено, что в ЭГ1 морфометрические показатели к 8-й неделе эксперимента нормализуются, в то время как в ЭГ2 они так и не возвращаются к контрольным значениям. Обнаружено, что, несмотря на очевидную гибель нейронов, пролиферации и активации астроглии в пирамидном слое не происходит. Напротив, число астроцитов значительно уменьшается в обеих экспериментальных группах по сравнению с группой контроля. В ЭГ2 число астроцитов в пирамидном слое на 2-й неделе эксперимента значительно отличается от таковых значений в ЭГ1. **Заключение.** Спиросочлененный барбитурат и спиросочлененный оксиндол проникают через гемато-энцефалический барьер, вызывают морфологические изменения пирамидных нейронов во всех областях гиппокампа без астроглиоза. Из двух исследованных, спиросочлененный оксиндол оказывает более выраженное токсическое действие на пирамидные нейроны полей СА₃ и СА₄ гиппокампа и астроцитарную глию.

Ключевые слова: гиппокамп; пирамидные нейроны; астроциты; спиросочлененные соединения; нейротоксичность

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект FSRM-2023-0005).

Для цитирования: Сухорукова Е.Г., Юкина Г.Ю., Половников И.В., Журавский С.Г., Степаков А.В., Крыжановская Е.А., Бойцов В.М. Сравнительный патоморфологический анализ токсического воздействия новых спиросочлененных гетероциклических соединений на гиппокамп крыс // Журнал анатомии и гистопатологии. 2025. Т. 14, №1. С. 74–82. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2025-14-1-74-82>

Original article

Comparative Pathomorphological Analysis of the New Spirofused Heterocyclic Compounds Toxic Effects on the Rat Hippocampus

E. G. Sukhorukova¹✉, G. Yu. Yukina¹, I. V. Polovnikov¹, S. G. Zhuravskii¹,
A. V. Stepanov², E. A. Kryzhanovskaya¹, V. M. Boitsov²

¹Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

²Alferov Saint Petersburg National Research Academic University of Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

Abstract. The aim was to conduct a comparative pathomorphological analysis of the toxic effects of new spirofused heterocyclic compounds on the rat hippocampus. **Material and methods.** Male Wistar rats were divided into 3 groups. Animals of the control group were injected with 1 ml of saline solution, rats of the 1st experimental group (EG1) were given a single intraperitoneal injection of a spirofused barbiturate, animals of the 2nd experimental group (EG2) were administered a spirofused oxindole at a dose of 12 mg/kg of the animal's body weight, also in a volume of 1 ml. 2 and 8 weeks after administration of the drugs, the animals were taken out of the experiment. Using standard histological techniques, 5 µm thick sections were stained with toluidine blue using the Nissl method. Immunocytochemical detection of astrocytic glia was performed using antibodies to the GFAP protein. **Results.** In both experimental groups, pyramidal neurons undergo morphological changes typical for dying cells. Moreover, in animals from EG2, compared to the control group, degenerative changes were detected in a larger number of neurons and in all fields of the hippocampus, while in EG1, fields CA₁ and CA₃ were predominantly affected. Comparison between EG1 and EG2 showed that the spirofused oxindole has a greater toxic effect on the CA₃ and CA₄ fields. It was established that in EG1, morphometric parameters normalized by the 8th week of the experiment, while in EG2 they never returned to control values. It was found that, despite the obvious death of neurons, proliferation and activation of astroglia in the pyramidal layer does not occur. In contrast, the number of astrocytes significantly decreased in both experimental groups compared to the control group. In EG2, the number of astrocytes in the pyramidal layer on the 2nd week of the experiment significantly differed from those in EG1. **Conclusion.** Spirofused barbiturate and spirofused oxindole penetrate the blood-brain barrier, cause morphological changes in pyramidal neurons in all areas of the hippocampus without astrogliosis. Among two studied drugs, spirofused oxindole has a more pronounced toxic effect on pyramidal neurons of the CA₃ and CA₄ fields of the hippocampus and astrocytic glia.

Keywords: hippocampus; pyramidal cells; astroglia; spirofused compounds; neurotoxicity

Conflict of interests: the authors declare no conflict of interests.

Funding: the study was carried out with the support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (project FSRM-2023-0005).

For citation: Sukhorukova E.G., Yukina G.Yu., Polovnikov I.V., Zhuravskii S.G., Stepanov A.V., Kryzhanovskaya E.A., Boitsov V.M. Comparative pathomorphological analysis of the new spirofused heterocyclic compounds toxic effects on the rat hippocampus. Journal of Anatomy and Histopathology. 2025. V. 14, №1. P. 74–82. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2025-14-1-74-82>

Введение

По данным Федеральной службы государственной статистики, в Российской Федерации заболеваемость населения новообразованиями различной локализации и степени злокачественности с каждым годом увеличивается. Растет показатель инвалидизации населения в связи с наличием злокачественных новообразований, что обуславливает актуальность поиска новых способов их лечения. Клинические рекомендации по лечению онкологических заболеваний любой локализации, предлагаемые Ассоциацией онкологов России, всегда включают 3 раздела: хирургическое лечение, лучевую терапию и химиотерапию. Последний из представленных подходов представляется наиболее универсальным, так как возможен для применения независимо от локализации новообразования. Однако он сопряжен с прямым токсическим действием на неопухолевые структуры вследствие низкой избирательности противоопухолевых

препаратов. Наряду с гепато- и кардиотоксичностью, одним из самых специфических системных осложнений практически любой противоопухолевой химиотерапии, значительно ухудшающим качество жизни пациентов, считается периферическая и центральная нейротоксичность [8, 5]. Неизбежность возникновения и тяжесть перенесения пациентами с заболеваниями онкологического профиля химиоиндуцированных осложнений, обуславливает необходимость поиска новых противоопухолевых препаратов, оказывающих минимальное токсическое воздействие на неопухолевые клетки всего организма и, в частности, нервную ткань. Последние достижения в области синтеза сложных гетероциклических систем привели к значительному росту интереса к разработке эффективных методов получения различных производных и структурных аналогов биологически-активных соединений в качестве потенциальных лекарственных средств или биологических зондов. Особый интерес представляет разработка

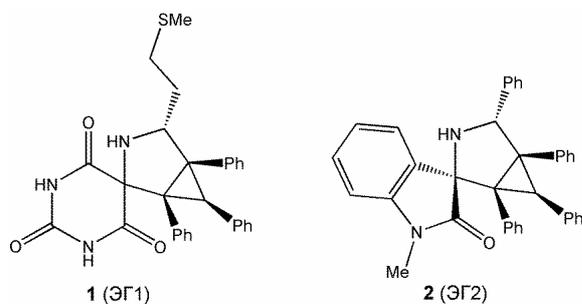


Рис. 1. Химическая формула соединений 1 (ЭГ1) и 2 (ЭГ2), используемых в настоящем исследовании.

Fig. 1. Chemical formula of substances 1 (EG1) and 2 (EG2) used in present study.

производных, содержащих спиросочлененные фармакофорные фрагменты. В последнее время был разработан метод синтеза различных спиросочлененных соединений, обладающих биологической активностью, в том числе оксиндолов и барбитуратов [12, 10, 19].

Наиболее частым и значимым проявлением центральной нейротоксичности противоопухолевых химиопрепаратов является нарушение когнитивных функций, морфологическую основу которых составляют структуры лимбической системы. Среди этих структур особое место занимает гиппокамп. Общеизвестно, что он обеспечивает реализацию механизмов памяти, поведенческих реакций, в том числе избегания стрессовых воздействий, выполняет функцию отбора и фиксации эмоционально значимых событий [6]. Кроме того, гиппокамп – это особая область головного мозга, где в субгранулярной зоне в течение всей жизни продолжается пролиферация клеток и дифференцировка новых нейронов и глиоцитов [7], а астроциты гиппокампа некоторыми учеными позиционируются как нейрогенные [20, 13]. Однако, несмотря на интенсивное изучение функциональных особенностей гиппокампа в норме и при различных патологических состояниях, относительно немного известно о патоморфологических изменениях различных клеточных популяций гиппокампа при противоопухолевой химиотерапии даже широко применяемыми препаратами.

В свете вышеобозначенного целью исследования является сравнительный патоморфологический анализ токсического воздействия новых спиросочлененных гетероциклических соединений на гиппокамп крыс.

Материал и методы исследования

Исследование проведено на 24 самцах крыс стока Wistar соматически здоровых, массой 220–250 г. (ФГУП «ПЛЖ «Рапполово», Россия), содержащихся в стандартных условиях вивария конвенциональной категории. В работе использовались (±)-(1R,4R,5S,6R)-4-(2-(метилтио)этил)-1,5,6-трифенил-1'H-3-азаспиро[бицикло[3.1.0]гексан-2,5'-

пиримидин]-2',4',6' (3'H)-трион (Препарат 1) и (±)-(1R,2R,4R,5S,6R)-1'-метил-1,4,5,6-тетрафенил-3-азаспиро[бицикло[3.1.0]гексан-2,3'-индолин]-2'-он (Препарат 2) (рис. 1).

Животные были разделены на 3 группы: контрольная (n=8) – с введением 1 мл физиологического раствора; 1-я экспериментальная группа (ЭГ1) (n=8) – с введением спиросочлененного барбитурата (Препарат 1); 2-я экспериментальная группа (ЭГ2) (n=8) с введением спиросочлененного оксиндола (Препарат 2). На каждом сроке эксперимента в каждой группе насчитывалось по 4 животных.

Изучаемые препараты из группы 3-азаспиробицикло[3.1.0]гексанов получали в университете им. Ж.И. Алферова РАН. Во всех экспериментальных случаях препараты вводили внутривенно однократно в дозе 12 мг/кг массы тела животного в объеме 1 мл. Через 2 и 8 нед. после введения препарата проводили эвтаназию животных в условиях глубокой общей анестезии с помощью раствора Zoletil 100. При экспериментальных исследованиях руководствовались Приказом Минздрава России от 01.04.2016 г. №199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» и в соответствии с рекомендациями Этического комитета ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России (протокол № ПЖ_21-02#Журавский С.Г. V3. 18 Сентября, 2023).

После иммерсионной формалиновой фиксации, используя атлас “The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates” [16], из мозга вырезали участки на уровне передних теменных областей, содержащие гиппокамп. Используя стандартную гистологическую методику со спиртами возрастающей концентрации, материал заливали в парафиновые блоки. Срезы толщиной 5 мкм готовили с помощью микротомы Accu-Cut SRT 200 (Sakura, Япония). Для иммуноцитохимического выявления астроцитов использовали первичные моноклональные мышиные антитела к белку GFAP, клон 5C10, в разведении 1:1000 (ab 190288, Abcam, Великобритания). Связавшиеся первичные антитела выявляли с помощью мультимерной безбиотиновой системы детекции Reveal-Biotin-Free Polyvalent DAB (Spring Bioscience Corporation, USA). После проведения иммуноцитохимической реакции препараты докрашивали гематоксилином Майера (БиоВитрум, Россия). Для обзорного исследования препаратов использовали окраску толуидиновым синим по методу Ниссля (Биовитрум, Россия). Микроскопический анализ проводили на световом микроскопе Nikon Eclipse Ni (Nikon, Япония) с использованием окуляра 10×, объективов 4×, 10×, 20×, 40×. Запись цифровых изображений выполняли с помощью фотокамеры Nikon DS-Ri2 (Nikon, Япония). На каждом срезе гиппокампа при увеличении 200 в трех полях зрения (240×240 мкм каждое) подсчитывали число пирамидных нейронов

морфологически неизменных (НМН) с 1, 2 и более ядрышками в полях СА₁, СА₂, СА₃ и СА₄ и астроцитарную глию в молекулярном, пирамидном и полиморфном слоях гиппокампа. Нейроны считали морфологически неизменными в соответствии с существующими критериями: наличие отчетливого светлого ядра круглой или эллипсоидной формы, хорошо различимых ядрышек, четких границ перикариона нейронов. Также подсчитывали пирамидные нейроны патологически измененные (НПИ): гиперхромные сморщенные нейроны без ядра, нейроны с деформированным гиперхромным ядром, клетчатки, и определяли общее число нейронов (ОЧН) во всех зонах гиппокампа.

Статистический анализ проводили при помощи программы IBM SPSS Statistica 23 с использованием критерия Колмагорова–Смирнова и непараметрического U-критерия Манна–Уитни. Результаты представлены в виде Me (Q1; Q3). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

В контрольной группе архитектура полей гиппокампа не была нарушена, пирамидные нейроны имели характерное строение, четкие контуры, крупное округлое ядро с одним, двумя четкими ядрышками и хорошо различимыми за счет хроматофильного вещества начальными участками боковых и апикального дендритов. В поле СА₁ пирамидные нейроны были мелкими, плотно расположенными в 3–4 слоя (рис. 2, а). В поле СА₂ тела пирамидных нейронов были крупнее, чем в СА₁, клетки лежали не столь плотно в 3–4 слоя. Пирамидные нейроны в поле СА₃ были самыми крупными, располагались рыхло в 4–5 слоев (рис. 2, б). В поле СА₄ пирамидные нейроны также были крупными, располагались наиболее рыхло по сравнению с другими полями. Численность нейронов в полях гиппокампа в контрольной группе представлена в табл. 1.

Астроциты были представлены звездчатыми клетками с центрально расположенным иммунонегативным ядром и ярким ободком перинуклеарной цитоплазмы, от которой в радиальном направлении отходили 2–4 крупных отростка, распадающихся на более мелкие отростки. Эти клетки располагались между нейронами, нередко окружая их своими телами или отростками (рис. 3), а также вокруг кровеносных сосудов.

Численность астроцитов в слоях гиппокампа в контрольной группе представлена в табл. 2.

При изучении морфологии гиппокампа в ЭГ1 и ЭГ2 во всех полях гиппокампа наблюдалось разрежение структуры нейрональных слоев, часть нейронов имела повреждения в виде дисхромии цитоплазмы, фокального

хроматолиза, изменение формы ядра и цитоплазмы, вплоть до сморщивания клеток с потерей ядра и ядрышек, встречались клетчатки.

В ЭГ1 через 2 недели после введения препарата в поле СА₁ (рис. 2, с) отмечалось уменьшение ОЧН до 62% от числа нейронов в контрольной группе. В поле СА₃ (рис. 2, d) увеличивалось число НПИ до 160%, а ОЧН снижалось до 83% относительно контрольных значений. Однако к 8 неделе эксперимента показатели нормализовались. В полях СА₂ и СА₄ число нейронов статистически значимо не изменялось. Только в пирамидном слое астроциты реагировали на введение Препарата 1 на 2-й и 8-й неделях эксперимента уменьшением их численности до 67% от значений в контрольной группе. В ЭГ1 на всех сроках эксперимента периваскулярного и перичеселлюлярного отека не наблюдалось.

В ЭГ2 морфологические изменения нейронов гиппокампа были более выражены и затрагивали все поля, не возвращаясь к контрольным значениям через 8 недель после введения Препарата 2. В конце эксперимента в поле СА₁ (рис. 2, е) НМН составляли 86%, ОЧН – 91% от контрольных значений. В поле СА₂ НМН составляли 46%, НПИ – 550%, ОЧН снижалось до 60% от значений в контрольной группе. В поле СА₃ (рис. 2, f) число НМН и НПИ статистически значимо не отличалось от контрольных значений, но ОЧН было значимо ниже и составляло 76% от значений в контрольной группе, а также значимо ниже по сравнению с соответствующими показателями в ЭГ1. В поле СА₄ число НМН оставалось сниженным и составляло 83%. Число НПИ практически возвращалось к контрольным значениям на 8-й неделе эксперимента, но на 2-й неделе после введения препарата было статистически значимо больше, чем соответствующее значение в ЭГ1 (табл. 1). Число астроцитов в пирамидном слое на 2-й неделе значимо уменьшалось до 33% от значений в контрольной группе, при этом было также значимо ниже по сравнению с соответствующими показателями в ЭГ1 (табл. 2). В ЭГ2 на всех сроках эксперимента определялся умеренный периваскулярный и перичеселлюлярный отек.

Проведенное исследование показало, что в обеих экспериментальных группах пирамидные нейроны претерпевали морфологические изменения, типичные для гибнущих клеток. Это, вероятно, связано с оказанием Препаратами 1 и 2 прямого токсического действия на нейроны. Данный факт свидетельствует о способности этих препаратов проходить через ГЭБ, что, как известно, характерно для производных барбитуровой кислоты и производных оксиндола [11, 14, 9]. При этом у животных из ЭГ2 при сравнении с контрольной группой дегенеративные изменения выявлялись у статистически большего числа нейронов и в большем количестве полей, чем в ЭГ1.

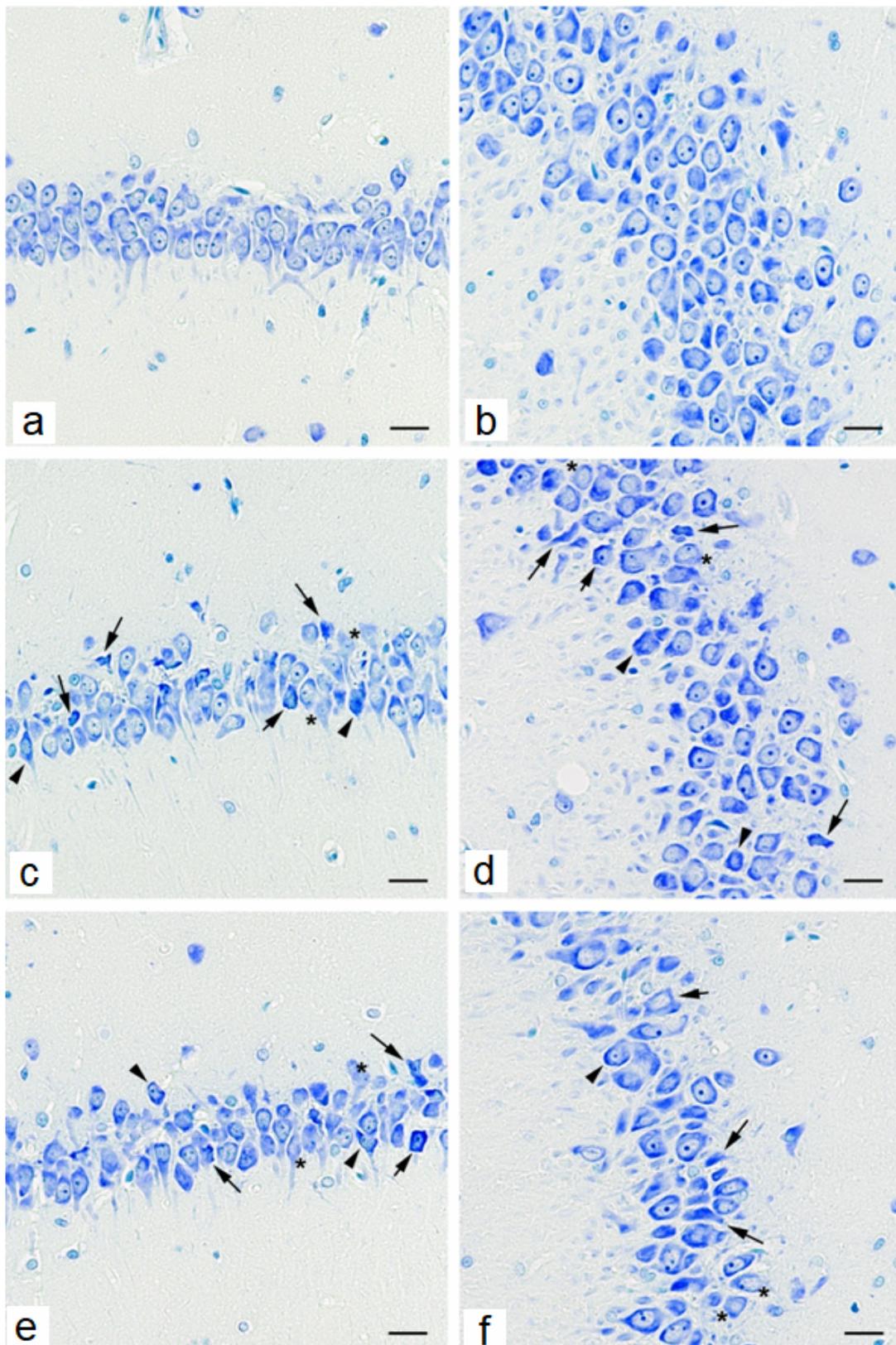


Рис. 2. Патоморфологические изменения пирамидных нейронов полей CA₁ и CA₃ гиппокампа крыс. Обозначения: a, c, e – поле CA₁; b, d, f, – поле CA₃; a, b – контрольная группа; c, d – 1-я экспериментальная группа; e, f – 2-я экспериментальная группа; * – нейроны с фокальным хроматолизом, длинная стрелка – сморщенные нейроны, короткая стрелка – нейроны с измененной формой ядра и цитоплазмы, треугольник – нейроны с гиперхроматозом. Окраска толуидиновым синим по методу Ниссля, ×200, масштабный отрезок – 100 мкм.

Fig. 2. Pathomorphological changes in pyramidal neurons of fields CA₁ and CA₃ of the rat hippocampus. Designations: a, c, e – field CA₁; b, d, f, – field CA₃; a, b – control group; c, d – 1st experimental group; e, f – 2nd experimental group; * – neurons with focal chromatolysis, long arrow – wrinkled neurons, short arrow – neurons with altered shape of nucleus and cytoplasm, triangle – neurons with hyperchromatosis. Staining with toluidine blue according to the Nissl method, ×200, scale bar – 100 μm.

Таблица 1 / Table 1

Динамика содержания нейронов в различных полях гиппокампа в экспериментальных группах через 2 и 8 недель после однократного введения препаратов
Dynamics of neuron content in different hippocampal fields in experimental groups 2 and 8 weeks after a single administration of substances

Показатели	Группы						
	Контроль		ЭГ1		ЭГ2		
	2 недели	8 недель	2 недели	8 недель	2 недели	8 недель	
CA ₁	Неизмененные	38±16	44±5	48±3 ^{*,**} p [*] =0,017 p ^{**} =0,001	44±6	17±9	38±8 [*] p [*] =0,022
	Патологически измененные	7±3	2±1	2±1 ^{*,**} p [*] =0,01 p ^{**} =0,001	1±1	8±3	2±1
	Общее число	47±4	45±5	29±11	45±4	46±6	41±5
CA ₂	Неизмененные	35±12	50±8	29±11	43±5 ^{**} p ^{**} =0,03	17±9	23±4
	Патологически измененные	9±3	2±1	12±4	3±2	25±13	11±2 [*] p [*] =0,041
	Общее число	43±9	51±7	47±8	48±5	44±8	31±2
CA ₃	Неизмененные	26±8	23±10	21±12	33±6 ^{**} p ^{**} =0,001	13±8 [*] p [*] =0,006	20±4
	Патологически измененные	5±2	12±6	8±3	7±3	19±10	8±4
	Общее число	41±8	38±5	34±6	39±7	30±8	29±4 ^{*,**} p [*] =0,017 p ^{**} =0,009
CA ₄	Неизмененные	15±5	18±3	19±5	15±2	7±7 ^{**} p ^{**} =0,001	15±2 [*] p [*] =0,01
	Патологически измененные	2±1	5±2	8±5	3±3	20±8 ^{*,**} p [*] =0,017 p ^{**} =0,033	4±2
	Общее число	20±4	23±3	24±5 [*] p [*] =0,036	21±3	23±3	20±3 [*] p [*] =0,047

Примечание: * – показатели статистически значимо отличаются от таковых в контрольной группе с вероятностью ошибки p<0,05; ** – показатели статистически значимо отличаются при сравнении двух экспериментальных групп с вероятностью ошибки p<0,05.

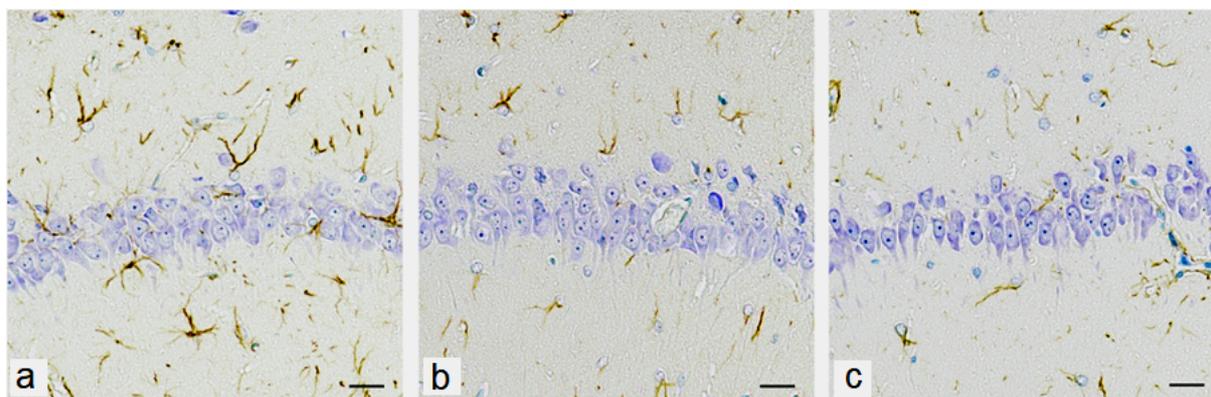


Рис. 3. Астроциты в поле CA1 гиппокампа крыс. Контрольная группа (а), 1-я экспериментальная группа (б), 2-я экспериментальная группа (с). Иммуногистохимическая реакция на маркер астроглии белок GFAP с подкрашиванием гематоксилином Майера, ×200. Масштабный отрезок – 100 мкм.

Fig. 3. Astrocytes in the CA1 field of the rat hippocampus. Control group (a), 1st experimental group (b), 2nd experimental group (c). Immunohistochemical reaction to the astroglial marker protein GFAP with Mayer's hematoxylin post staining, ×200. Scale bar – 100 μm.

В гиппокампе ЭГ1 также выявлены пирамидные нейроны с разной степенью выраженности дегенеративных изменений и с разной локализацией, но преимущественно в полях CA₁ и CA₃. Обнаруженное нами статистически значимое увеличение числа нейронов с признаками повреждения в полях CA₁ и CA₃ указывает на большую уязвимость нейронов этих полей к патологическим воздействиям, что

соотносится с литературными данными о более выраженных морфологических изменениях именно в этих полях гиппокампа [2, 3, 4]. В полях CA₂ и CA₄ как в ЭГ1, так и в ЭГ2 отмечалось меньшее число дистрофически измененных нейронов, что подтверждает большую устойчивость нейронов этих полей к патологическим воздействиям [1]. Однако, в нашем эксперименте сравнение между ЭГ1 и

Таблица 2 / Table 2

Динамика численности астроцитов в слоях гиппокампа через 2 и 8 недель после однократного введения препаратов

Слой гиппокампа	Группа					
	Контроль		ЭГ1		ЭГ2	
	2 недели	8 недель	2 недели	8 недель	2 недели	8 недель
Молекулярный слой	3±1	3±1	2±1	3±1	2±1	3±1
Пирамидный слой	3±2	3±1	2±1* p=0,023	2±1	1±1*,** p*=0,01 p**=0,04	2±1
Полиморфный слой	3±1	3±1	4±1	3±1	3±1	4±2

Примечание: * – показатели статистически значимо отличаются от таковых в контрольной группе с вероятностью ошибки $p < 0,05$; ** – показатели статистически значимо отличаются при сравнении двух экспериментальных групп с вероятностью ошибки $p < 0,05$.

ЭГ2 показало, что Препарат 2 (спиросочлененный оксиндол) оказывает большее токсическое действие не только на поле CA₃, но и на поле CA₄.

Интересным является и то наблюдение, что в ЭГ1 морфометрические показатели к 8-й неделе эксперимента нормализовались, в то время как в ЭГ2 они не возвращались к контрольным значениям. Сохранение пониженного ОЧН в ЭГ2 через 8 недель эксперимента возможно связано с апоптозом стволовых клеток и подавлением нейрогенеза в субгранулярной зоне гиппокампа [18]. В совокупности с вышеотмеченным фактом повреждения всех полей гиппокампа в ЭГ2 по сравнению с контрольной группой, а не преимущественно полей CA₁ и CA₂ как в ЭГ1, а также значимыми статистическими отличиями между ЭГ1 и ЭГ2 в полях CA₃ и CA₄, свидетельствует о большей токсичности Препарата 2 по сравнению с Препаратом 1. Безусловно, снижение числа нейронов и их патоморфологические изменения неизбежно приводят к нарушению связей как между полями внутри гиппокампа, так и с другими структурами головного мозга. Таким образом, следует ожидать, что повреждение нейронов гиппокампа вызовет когнитивные нарушения и развитие неврологических расстройств, а также снижение способности к обучению и формированию памяти [15, 17].

В ходе настоящего исследования было обнаружено, что, несмотря на очевидную гибель нейронов, пролиферации и активации астроглии в пирамидном слое не происходило. Напротив, число астроглиоцитов снижалось в обеих экспериментальных группах по сравнению с контролем, что, по-видимому, объясняется как отсутствием выраженных очагов нейронального опустошения и относительно небольшим дефицитом нейронов, так и токсическим действием на них изучаемых препаратов. Межгрупповое сравнение показало, что число астроцитов в пирамидном слое в ЭГ2 на 2-й неделе эксперимента статистически значимо отличалось от таковых значений в ЭГ1. Это также можно трактовать как более

выраженный токсический эффект Препарата 2.

Заключение

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что оба изученных препарата проникают через ГЭБ и оказывают прямое токсическое влияние на пирамидные нейроны и астроциты гиппокампа. При этом очевидно, что спиросочлененный оксиндол имеет более выраженную токсичность по сравнению со спиросочлененным барбитуратом, о чем свидетельствует выраженное повреждение полей CA₃ и CA₄ во 2-й экспериментальной группе, сохраняющееся до конца эксперимента, а также значимое уменьшение числа астроцитов в данной группе на 2-й неделе эксперимента по сравнению с соответствующими показателями в 1-й экспериментальной группе.

Эти результаты необходимо учитывать при проведении как поисковых фундаментальных исследований, так и доклинических работ по оценке эффективности разрабатываемых препаратов.

Список источников / References

1. Демяшкин Г.А., Григорян М.С., Ветров И.В., Раужева В.П., Зорин И.А., Шаповалова Е.Ю. Особенности нейрональной потери в гиппокампе при остром генерализованном припадке (экспериментальное исследование). Медицинский академический журнал. 2023;23(2):75–85. Demyashkin GA, Grigoryan MS, Vetrov IV, Rauzheva VP, Zorin IA, Shapovalova EYu. Osobennosti neuronal'noi poteri v gippokampe pri ostrom generalizovannom pripadke (eksperimental'noe issledovanie). Meditsinskii akademicheskii zhurnal. 2023;23(2):75–85. (In Russ.). doi:10.17816/Maj340939
2. Надей О.В., Иванова Т.И., Суфиева Д.А., Агалакова Н.И. Морфологические изменения нейронов гиппокампа крыс как результат избыточного потребления фтора. Журнал анатомии и гистопатологии. 2020;9(2):53–60. Nadei OV, Ivanova TI, Sufieva DA, Agalakova NI.

- Morfologicheskie izmeneniya neuronov gippokampa krysa kak rezul'tat izbytochnogo potrebleniya ftora. *Zhurnal anatomii i gistopatologii*. 2020;9(2):53–60. (In Russ.).
3. Смирнов А.В., Медников Д.С., Тюренков И.Н., Куркин Д.В., Волотова Е.В., Бакулин Д.А. Особенности экспрессии AIF в гишпокампе крыс при экспериментальном моделировании стеноза общих сонных артерий. *Волгоградский научно-медицинский журнал*. 2020;2:36–40. Smirnov AV, Mednikov DS, Tyurenkov IN, Kurkin DV, Volotova EV, Bakulin DA. Osobennosti ekspressii AIF v gippokampe krysa pri eksperimental'nom modelirovanii stenoza obshchikh sonnykh arterii. *Volgogradskii nauchno-meditsinskii zhurnal*. 2020;2:36–40. (In Russ.).
 4. Buchtová H, Fajnerová I, Stuchlík A, Kubík Š. Acute systemic MK-801 induced functional uncoupling between hippocampal areas CA3 and CA1 with distant effect in the retrosplenial cortex. *Hippocampus*. 2016;27(2):134–144. doi: 10.1002/hipo.22678.
 5. da Costa R, Passos GF, Quintão NLM, Fernandes ES, Maia JRLCB, Campos MM, Calixto JB. Taxane-induced neurotoxicity: Pathophysiology and therapeutic perspectives. *Br J Pharmacol*. 2020 Jul;177(14):3127–3146. doi: 10.1111/bph.15086.
 6. Eichenbaum H. On the Integration of Space, Time, and Memory. *Neuron*. 2017;95(5):1007–1018. doi: 10.1016/j.neuron.2017.06.036.
 7. Encinas JM, Sierra A, Valcárcel-Martín R, MartínSuárez S. A developmental perspective on adult hippocampal neurogenesis. *Int. J. Dev. Neurosci*. 2013;31(7):640–645. doi: 10.1016/j.ijdevneu.2013.04.001.
 8. Ewertz M, Qvortrup C, Eckhoff L. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy in patients treated with taxanes and platinum derivatives. *Acta Oncologica*. 2015;54(5):587–591. doi: 10.3109/0284186X.2014.995775.
 9. Ezelarab HAA, Ali TFS, Abbas SH, Sayed AM, Beshr EAM, Hassan HA. New antiproliferative 3-substituted oxindoles inhibiting EGFR/VEGFR-2 and tubulin polymerization. *Mol Divers*. 2024 Apr;28(2):563–580. doi: 10.1007/s11030-023-10603-z.
 10. Filatov AS, Selivanov SI, Shmakov SV, Larina AG, Boitsov VM, Stepakov AV. An experimental and theoretical study of the 1,3-dipolar cyclo-addition of alloxan-derived azomethine ylides to cyclopropenes. *Synthesis*. 2022;54(07):1803–1816. doi: 10.1055/a-1700-3115.
 11. Ingrand S, Barrier L, Lafay-Chebassier C, Fauconneau B, Page G, Hugon J. The oxindole/imidazole derivative C16 reduces in vivo brain PKR activation. *FEBS Lett*. 2007 Sep 18;581(23):4473–8. doi: 10.1016/j.febslet.2007.08.022.
 12. Knyazev NA, Shmakov SV, Pechkovskaya SA, Filatov AS, Stepakov AV, Boitsov VM, Filatova NA. Identification of Spiro-Fused [3-azabicyclo[3.1.0]hexane]oxindoles as Potential Antitumor Agents: Initial In Vitro Evaluation of Anti-Proliferative Effect and Actin Cytoskeleton Transformation in 3T3 and 3T3-SV40 Fibroblast. *Int J Mol Sci*. 2021 Jul 31;22(15):8264. doi: 10.3390/ijms22158264.
 13. Kriegstein A, Alvarez-Buylla A. The glial nature of embryonic and adult neural stem cells. *Annu. Rev. Neurosci*. 2009;32:149–184. doi: 10.1146/annurev.neuro.051508.135600.
 14. Kushida H, Fukutake M, Tabuchi M, Katsuhara T, Nishimura H, Ikarashi Y, Kanitani M, Kase Y. Simultaneous quantitative analyses of indole and oxindole alkaloids of *Uncaria Hook* in rat plasma and brain after oral administration of the traditional Japanese medicine *Yokukansan* using high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Biomed Chromatogr*. 2013 Dec;27(12):1647–56. doi: 10.1002/bmc.2974.
 15. O'Reilly KC, Alarcon JM, Ferbinteanu J. Relative contributions of CA3 and medial entorhinal cortex to memory in rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2014;8:292. doi: 10.3389/fnbeh.2014.00292.
 16. Paxinos G, Watson C. *The rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 6th edition. Academic Press; 2007. 456.
 17. Rebola N, Carta M, Mulle C. Operation and plasticity of hippocampal CA3 circuits: implications for memory encoding. *Nature Reviews Neuroscience*. 2017;18 (4):208–220. doi: 10.1038/nrn.2017.10.
 18. Seigers R, Schagen SB, Van Tellingen O, Dietrich J. Chemotherapy related cognitive dysfunction: current animal studies and future directions. *Brain Imaging Behav*. 2013;7(4):453–459. doi: 10.1007/s11682-013-9250-3.
 19. Shmakov SV, Latypova DK, Shmakova TV, Rubinshtein AA, Chukin MV, Zhuravskii SG, Knyazev NA, Stepakov AV, Galagudza MM, Boitsov VM. Biological Evaluation of 3-Azasp[ro]Bicyclo[3.1.0]Hexane-2,5'-Pyrimidines] as Potential Antitumor Agents. *Int J Mol Sci*. 2022 Sep 15;23(18):10759. doi: 10.3390/ijms231810759.
 20. Steinler DA, Laywell ED. Astrocytes as stem cells: nomenclature, phenotype, and translation. *Glia*. 2003;43(1):62–69. doi: 10.1002/glia

Информация об авторах

✉ Сухорукова Елена Геннадьевна – канд. мед. наук, старший научный сотрудник научной лаборатории патоморфологии Научно-клинического центра патоморфологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова; ул. Льва Толстого, 6–8, 197022, Санкт-Петербург, Россия; len48@inbox.ru

<https://orcid.org/0000-0001-5521-7248>

Юкина Галина Юрьевна – канд. биол. наук, доцент, зав. научной лаборатории патоморфологии Научно-клинического центра патоморфологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова; pipson@inbox.ru <https://orcid.org/0000-0001-8888-4135>

Information about the authors

✉ Elena G. Sukhorukova – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher of Scientific Laboratory of Pathomorphology of the Scientific and Clinical Center of Pathomorphology; Pavlov First Saint Petersburg State Medical University; ul. L'va Tolstogo, 2, 197022, St. Petersburg, Russia len48@inbox.ru <https://orcid.org/0000-0001-5521-7248>

Galina Yu. Yukina – Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor, Head of Scientific Laboratory of Pathomorphology of the Scientific and Clinical Center of Pathomorphology; Pavlov First Saint Petersburg State Medical University; pipson@inbox.ru <https://orcid.org/0000-0001-8888-4135>

Половников Илья Вячеславович – старший лаборант кафедры патологической анатомии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова; policrats@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8633-8496>

Журавский Сергей Григорьевич – д-р мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории слуха и речи Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова; s.jour@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5960-068X>

Степаков Александр Владимирович – д-р хим. наук, старший научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологий Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова; alstepakov@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9470-1710>

Крыжановская Елена Александровна – младший научный сотрудник научной лаборатории патоморфологии Научно-клинического центра патоморфологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова; elena777.05@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3791-8256>

Бойцов Виталий Михайлович – канд. хим. наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологий Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова; bovitalli@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4857-2046>

Ilya V. Polovnikov – Senior Laboratory Assistant, Department of Pathological Anatomy; Pavlov First Saint Petersburg State Medical University;
policrats@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-8633-8496>

Sergei G. Zhuravskii – Doct. Sci. (Med.), Senior Rresearcher of Hearing and Speech Laboratory; Pavlov First Saint Petersburg State Medical University;
s.jour@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-5960-068X>

Aleksandr V. Stepakov – Doct. Sci. (Chem.), Senior Rresearcher of Nanobiotechnology Laboratory; Pavlov First Saint Petersburg State Medical University;
alstepakov@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0001-9470-1710>

Elena A. Kryzhanovskaya – Junior Rresearcher of Scientific Laboratory of Pathomorphology of the Scientific and Clinical Center of Pathomorphology; Pavlov First Saint Petersburg State Medical University;
elena777.05@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0003-3791-8256>

Vitalii M. Boitsov – Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor, Leading Rresearcher of Nanobiotechnology Laboratory; Pavlov First Saint Petersburg State Medical University;
bovitalli@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0002-4857-2046>

Статья поступила в редакцию 8.10.2024; одобрена после рецензирования 21.02.2025; принята к публикации 24.03.2025.
Submitted 8.10.2024; Revised 21.02.2025; Accepted 24.03.2025.