

# ТРАНЗИТОРНОЕ ПОВЫШЕНИЕ ПРОНИЦАЕМОСТИ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА ПУТЕМ ИНТРАКАРОТИДНОГО ВВЕДЕНИЯ ОЗОНИРОВАННОГО ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО РАСТВОРА

DOI: 10.17691/stm2017.9.2.09  
УДК 611.81:572.1/4:612.014.464  
Поступила 15.02.2016 г.



**И.А. Медяник**, к.м.н., старший научный сотрудник<sup>1</sup>;  
**Е.И. Яковлева**, к.б.н., старший научный сотрудник отдела электронной микроскопии ЦНИЛ<sup>2</sup>;  
**М.В. Галкина**, к.б.н., старший научный сотрудник отдела электронной микроскопии ЦНИЛ<sup>2</sup>;  
**О.С. Баскина**, к.б.н., старший научный сотрудник отдела морфологии ЦНИЛ<sup>2</sup>;  
**А.П. Фраерман**, д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник<sup>1</sup>;  
**И.В. Мухина**, д.б.н., профессор, ведущий научный сотрудник кафедры биотехнологий<sup>1</sup>; зав. ЦНИЛ;  
зав. кафедрой нормальной физиологии им. Н.Ю. Беленкова<sup>2</sup>; профессор кафедры нейротехнологий  
Института биологии и биомедицины; руководитель Центра трансляционных технологий<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр Минздрава России, Н. Новгород, 603155, Верхне-Волжская набережная, 18;

<sup>2</sup>Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

<sup>3</sup>Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Н. Новгород, 603950, проспект Гагарина, 23

**Цель исследования** — оценить воздействие озонированного физиологического раствора с различной концентрацией в нем озона на динамику проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) в эксперименте.

**Материалы и методы.** Исследование ультраструктуры сенсомоторной зоны коры головного мозга животных для оценки состояния ГЭБ проведено на половозрелых аутбредных крысах линии Wistar (n=93). В контрольной серии интракаротидно вводился 0,9% физиологический раствор, во опытных сериях — озонированный физиологический раствор (ОФР) с концентрацией озона 0,7 и 3,5 мг/л. Морфологически исследовали ткань сенсомоторной коры головного мозга крыс через 15 мин, 1, 14 и 30 сут после введения растворов. Анализ проницаемости ГЭБ оценивали по состоянию астроглии, базальной мембраны и межклеточных контактов эндотелия капилляров.

**Результаты.** Установлено, что после однократного введения ОФР с концентрацией озона 0,7 мг/л через 15 мин происходило транзитное нарушение проницаемости ГЭБ, что проявлялось частичной редукцией межэндотелиальных плотных контактов (tight junction), расширением межклеточных щелей, набуханием базальной мембраны и части отростков астроцитов в перикапиллярной области. Изменения ультраструктуры нейронов носили адаптивный характер в ответ на воздействие окислительного фактора и характеризовались увеличением активности белоксинтезирующих органелл. Через 1 сут после воздействия ОФР нарастало повышение проницаемости ГЭБ, на 14-е сутки структура ГЭБ частично нормализовалась (эндотелий капилляров имел плотные межклеточные контакты), а к 30-м суткам ультраструктура ГЭБ и микроциркуляция восстанавливались. Увеличение концентрации озона до 3,5 мг/л в ОФР, вводимом интракаротидно, также приводило к повышению проницаемости ГЭБ, однако его восстановления к 30-м суткам не наблюдалось. Кроме того, изменения сосудов микроциркуляторного русла, ультраструктуры нейронов и глии были более выражены.

**Заключение.** Однократное интракаротидное введение ОФР с концентрацией озона 0,7 мг/л вызывает увеличение проницаемости ГЭБ на период 1 сут, что сможет обеспечить более эффективное воздействие препаратов на клетки головного мозга во все фазы клеточного цикла.

**Ключевые слова:** гематоэнцефалический барьер; озонированный физиологический раствор; электронная микроскопия; кора головного мозга.

**Как цитировать:** Medyanik I.A., Yakovleva E.I., Galkina M.V., Baskina O.S., Frayerman A.P., Mukhina I.V. Transitory increase of hematoencephalic barrier permeability by intracarotid introduction of ozonized saline solution. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2017; 9(2): 75–82, <https://doi.org/10.17691/stm2017.9.2.09>

**Для контактов:** Медяник Игорь Александрович, e-mail: med\_neuro@inbox.ru

## Transitory Increase of Hematoencephalic Barrier Permeability by Intracarotid Introduction of Ozonized Saline Solution

**I.A. Medyanik**, MD, PhD, Senior Researcher<sup>1</sup>;

**E.I. Yakovleva**, PhD, Senior Researcher, Department of Electronic Microscopy, Central Scientific Research Laboratory<sup>2</sup>;

**M.V. Galkina**, PhD, Senior Researcher, Department of Electronic Microscopy, Central Scientific Research Laboratory<sup>2</sup>;

**O.S. Baskina**, PhD, Senior Researcher, Department of Morphology, Central Scientific Research Laboratory;

**A.P. Frayerman**, MD, DSc, Professor, Leading Researcher<sup>1</sup>;

**I.V. Mukhina**, DSc, Professor, Leading Researcher, Biotechnology Department<sup>1</sup>;

Head of Central Scientific Research Laboratory; Head of the Department of Normal Physiology named after N.Y. Belenkov<sup>2</sup>; Professor, Department of Neurotechnologies, Institute of Biology and Biomedicine; Head of the Center of Translational Technology<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Privolzhsky Federal Medical Research Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, 18 Verkhne-Volzhskaya Naberezhnaya St., Nizhny Novgorod, 603155, Russian Federation;

<sup>2</sup>Nizhny Novgorod State Medical Academy, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russian Federation;

<sup>3</sup>Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, 23 Prospekt Gagarina, Nizhny Novgorod, 603950, Russian Federation

**The aim of the investigation** was to assess experimentally the effect of ozonized saline solution with various concentrations of ozone on the dynamics of hematoencephalic barrier (HEB) permeability.

**Materials and Methods.** Investigation of the ultrastructure of the sensorimotor zone of animal cerebral cortex to assess HEB state was carried out on mature outbred Wistar rats (n=93). In the control series, 0.9% saline solution was introduced intracarotidly, in the experimental series ozonized saline solution (OSS) at 0.7 and 3.5 mg/L ozone concentration was injected. The tissue of the rat sensorimotor cerebral cortex was examined morphologically 15 min, 1, 14 and 30 days after the solution introduction. The analysis of HEB permeability was evaluated by the state of astroglia, basement membrane, and intercellular junctions of capillary endothelium.

**Results.** It has been established that 15 min after a single introduction of OSS with 0.7 mg/L ozone concentration, a transitory disruption of HEB permeability took place, which was manifested by partial reduction of interendothelial tight junctions, widening of intercellular gaps, swelling of the basement membrane and part of the astrocyte processes in the pericapillary area. Neural ultrastructure alterations were of the adaptive character in response to the effect of the oxidative factor, and were characterized by the increase of protein-synthesizing organelle activity. A day after OSS action, increase of HEB permeability grew, on day 14 the HEB structure was partly normalized (capillary endothelium had tight intercellular junctions), and by day 30 the HEB ultrastructure and microcirculation had been restored. The increase of ozone concentration to 3.5 mg/L in the intracarotidly introduced OSS also resulted in the rise of HEB permeability, however, its restoration by day 30 was not observed. Besides, alterations of the microcirculatory blood vessels, neuron ultrastructure, and glias were more pronounced.

**Conclusion.** A single intracarotid introduction of OSS with 0.7 mg/L ozone concentration increases HEB permeability over 1 day period, which can provide a more effective influence of preparations on the brain cells in all phases of the cell cycle.

**Key words:** hematoencephalic barrier; ozonized saline solution; electron microscopy; cerebral cortex.

Основными условиями проникновения химиопрепаратов через неповрежденный гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) являются малый размер молекул вещества, степень его ионизации и растворимость в жирах [1, 2]. Ряд химиопрепаратов не отвечают как минимум одному из этих требований, и поэтому их эффективность при лечении злокачественных опухолей головного мозга невысокая. Наличие опухоли головного мозга, по данным ряда авторов, вызывает повышение проницаемости церебральных сосудов различной степени в пределах новообразований, однако полного нарушения ГЭБ не наблюдается [3].

Реальным путем достижения препаратами клеток может быть увеличение проницаемости для них ГЭБ. В литературе описаны методы, способные вызвать временное раскрытие ГЭБ: гипертермия, повышение давления в мозговых сосудах выше 90 мм рт. ст., вдыхание газовой смеси с повышенным содержанием двуокси углерода, введение гистамина, блокаторов кальциевых каналов, лейкотриена С<sub>4</sub>, брадикинина, интракаротидное введение гиперосмолярных растворов маннитола, изучаются физиологические транспортные механизмы [4–8]. Но большинство из них имеют ряд недостатков, среди которых наличие

серьезных осложнений и короткое терапевтическое окно — время, на протяжении которого облегчается доставка препаратов к опухоли через нарушенный ГЭБ [1]. Поэтому для повышения эффективности действия препаратов остается актуальной разработка новых эффективных методов, позволяющих длительно, но обратимо изменять проницаемость ГЭБ.

Известно, что свободнорадикальные соединения способствуют нарушению ГЭБ. Исследована возможность использования озона в качестве источника активных форм кислорода для повышения проницаемости ГЭБ [9, 10].

**Цель исследования** — оценить воздействие озонированного физиологического раствора с различной концентрацией в нем озона на динамику проницаемости гематоэнцефалического барьера в эксперименте.

**Материалы и методы.** Исследование проведено на половозрелых аутбредных крысах линии Wistar (n=93) массой тела 320±10 г с соблюдением правил обращения с животными согласно Приказу МЗ РФ №708н от 23.08.2010 «Об утверждении правил лабораторной практики» и в соответствии с этическими принципами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (принятой в Страсбурге 18.03.1986 г. и подтвержденной в Страсбурге 15.06.2006 г.). Получено разрешение Этического комитета Приволжского федерального медицинского исследовательского центра на работу. Выполнено три серии экспериментов, в которых изучалась ультраструктура сенсомоторной зоны коры головного мозга животных. В I (контрольной) серии интракаротидно вводился 0,9% физиологический раствор (ФР), во II серии — озонированный физиологический раствор (ОФР) с концентрацией озона 0,7 мг/л, в III серии — ОФР с концентрацией озона 3,5 мг/л.

Барботаж ФР озоном длительностью 40 мин осуществлялся прибором «Квазар» (КБ «Квазар», Россия). Концентрацию растворенного озона в ФР определяли с помощью анализатора озона в жидких средах ИКОЖ-5 (Россия). ОФР через катетер вводили в общую сонную артерию со скоростью 1 мл/мин в объеме 1 мл на 300 г массы животного под внутривенным нембуталовым наркозом (35 мг/кг). После инфузии растворов сонная артерия перевязывалась. Эвтаназию осуществляли одномоментной декапитацией животного в условиях нембуталового наркоза (45 мг/г).

Для морфологических исследований иссекали ткань сенсомоторной коры головного мозга крыс (по атласу G. Paxinos и C. Watson [11]) на стороне введения ОФР либо ФР. Исследование проводили через 15 мин, 1, 14 и 30 сут после введения ОФР. Методом оценки состояния ГЭБ при введении растворов выбрана трансмиссионная электронная микроскопия. Подготовку

проб для электронной микроскопии выполняли по стандартной методике: фиксация 2,5% раствором глutarового альдегида и 1% раствором осмиевой кислоты. Заливку осуществляли в смеси эпоксидных смол аралдита и эпона 812. Ультратонкие срезы готовили на ультратоме Ultracut (Reichert-Jung, Австрия) и просматривали на трансмиссионном электронном микроскопе Morgagni 268D (FEI, США). Морфометрию выполняли с помощью программы AnalySIS.

Проницаемость ГЭБ оценивали по состоянию астроглии, базальной мембраны и межклеточных контактов эндотелия капилляров, поскольку известно, что в церебральном эндотелии, формирующем ГЭБ, ключевым морфофункциональным элементом, определяющим барьерные, транспортные и сигнальные функции, являются межклеточные плотные контакты. Их мобильность, изменение архитектурной организации позволяют в короткие сроки менять проницаемость ГЭБ [12, 13].

Статистическую обработку проводили с помощью программы Statistica 6.0 с использованием критерия Манна–Уитни для независимых выборок. Достоверными считали различия при уровне значимости  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Электронно-микроскопическое исследование ультраструктуры неокортекса при *интракаротидном введении ФР* не выявило изменений проницаемости ГЭБ. Диаметр капилляров составлял 3,24±0,13 мкм (см. таблицу).

После введения ОФР с концентрацией 0,7 мг/л в неокортексе животных через 15 мин отмечалось очаговое набухание эндотелия капилляров и базальной мембраны. В участках набухания обнаружена редукция межэндотелиальных плотных контактов. Выявлено набухание отдельных отростков астроцитов в перикапиллярной области. Капилляры имели более широкий просвет, чем в контроле (диаметр 4,65±0,38 мкм,  $p < 0,001$ ). В просветах сосудов просматривались тонкодисперсный осмиофильный материал и эритроциты. Значительная часть светлых нейронов

**Диаметр капилляров сенсомоторной зоны неокортекса белых крыс после введения озонированного физиологического раствора, мкм (M±SD)**

Период наблюдения	Физиологический раствор (контроль)	Концентрация озона в растворе, мг/л	
		0,7	3,5
15 мин	3,24±0,13 n=6	4,65±0,38* n=6; $p < 0,01$	3,76±0,25 n=6; $p > 0,05$
1-е сутки	3,16±0,15 n=6	2,04±0,19* n=10; $p < 0,0001$	2,15±0,11* n=11; $p < 0,01$
14-е сутки	3,28±0,17 n=6	3,08±0,18 n=7; $p > 0,05$	2,67±0,13* n=9; $p < 0,01$
30-е сутки	3,31±0,22 n=6	3,93±0,19 n=10; $p > 0,05$	2,94±0,24 n=10; $p > 0,05$

\* — статистическая значимость различий с контрольной группой.

содержала ядрышко, в некоторых из них обнаружено эктопирование его к кариолемме, расширение цистерн комплекса Гольджи, незначительные инвагинации ядерной мембраны.

Через 1 сут после введения ОФР с концентрацией озона 0,7 мг/л состояние ГЭБ свидетельствовало о повышении его проницаемости: эндотелий значительного числа капилляров был набухший, имел неровные контуры, темную цитоплазму, нечеткие клеточные мембраны (рис. 1, а). В цитоплазме наблюдались небольшие вакуоли и пиноцитозные пузырьки в сублеммальной области. Межэндотелиальные щели были расширены (более 20 нм). Базальная мембрана — набухшая, извитая, местами разволокнена, на значительном протяжении расплавлена. Этим зонам, как правило, подлежат набухшие и увеличенные в размерах отростки прилегающих к капилляру астроцитов. Наряду с этим выявлены астроциты обычного вида без признаков набухания. Ухудшалась и микроциркуляция: большинство сосудов имели суженный просвет (см. таблицу), содержали плазму. В части сосудов, содержащих эритроциты, наблюдалась их адгезия к эндотелию. Светлые нейроны имели четкую ультраструктуру: ядро содержало зухроматин, в половине наблюдений нейроны были с хорошо выраженным ядрышком. В некоторых из них ядрышко эктопировано к кариолемме, что сопровождалось активацией комплекса Гольджи (см. рис. 1, б). В отдельных нейронах наблюдалась инвагинация ядра, в цитоплазме этих нейронов отмечено удлинение и расширение цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума и комплекса Гольджи. Митохондрии были с плотным матриксом, наблюдались много рибосом и полисом, первичные и вторичные лизосомы. Наряду со светлыми нейронами встречались гиперхромные нейроны.

На 14-й день после введения ОФР с концентрацией озона 0,7 мг/л у животных этой серии электронномикроскопический анализ показал восстановление структуры ГЭБ: эндотелий капилляров в большинстве своем стал обычного вида, имел плотные межклеточные соединения. В некоторых эндотелиоцитах выявлены набухшие митохондрии. Базальная мембрана четко выражена в большей части наблюдений, местами — набухшая (рис. 1, в). Астроглия была в большинстве случаев без признаков набухания. Отмечалось восстановление микроциркуляции (см. таблицу), в просветах капилляров находился тонкодисперсный осмиофильный материал и эритроциты. В отдельных случаях обнаружены фагоцитирующие перициты. Светлые нейроны — обычного вида: ядра содержали зухроматин, ядрышко, комплексы Гольджи (рис. 1, г), иногда набухшие митохондрии. В то же время встречались единичные дегенеративные формы нейронов.

Через 30 сут после введения ОФР с концентрацией озона 0,7 мг/л не выявлено нарушения проницаемости ГЭБ. Периваскулярное пространство не имело признаков набухания. В единичных случаях в ножках

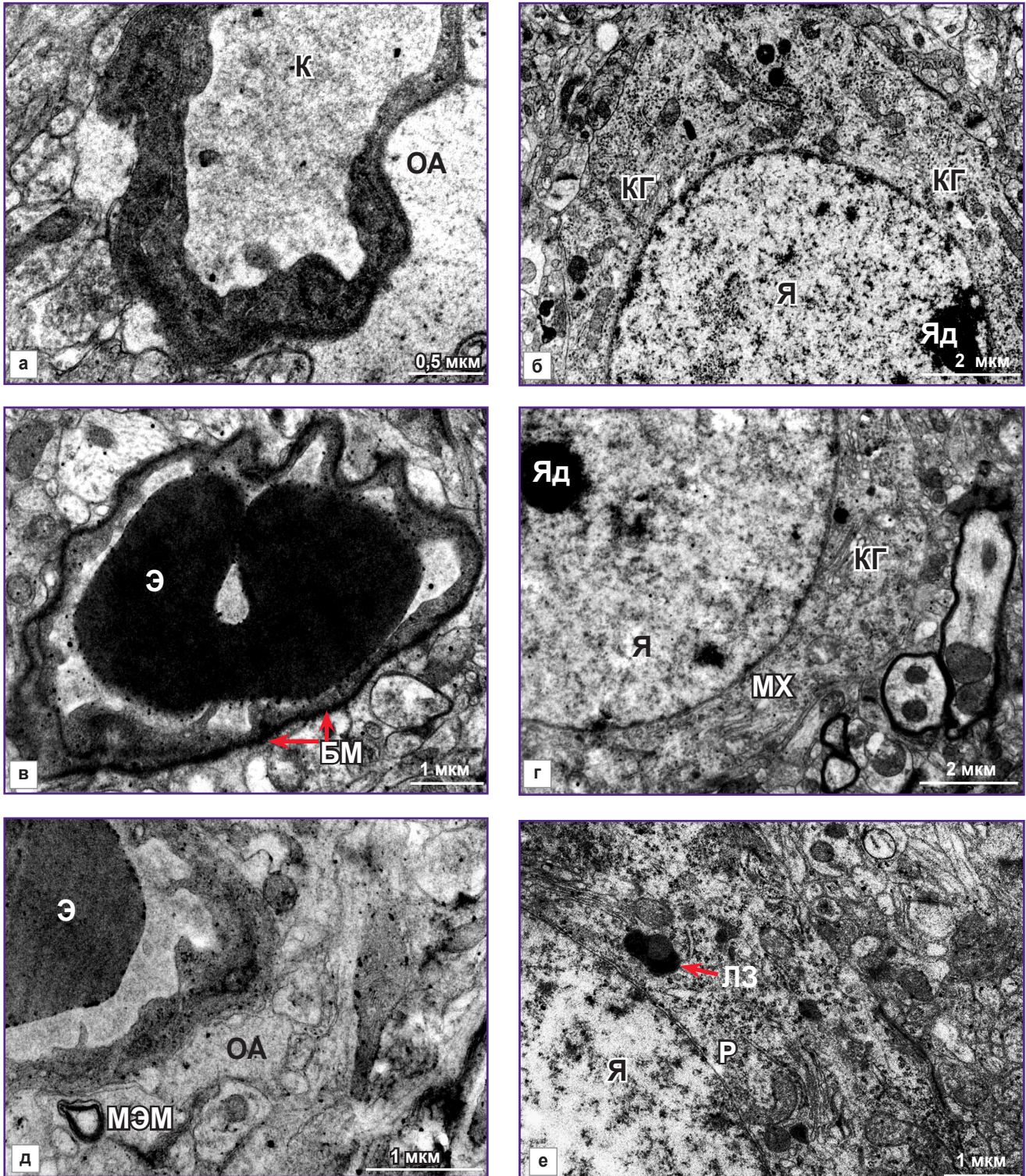
астроглии отмечались миелоноподобные мембраны (рис. 1, д). Значительное большинство микрососудов имело широкий просвет и содержало тонкодисперсный осмиофильный материал и эритроциты. Светлые нейроны находились в разной степени активности и изменения ультраструктуры: большинство ядер содержали зухроматин, в цитоплазме наблюдалось много рибосом и полисом, комплекс Гольджи был хорошо выражен, встречались первичные и вторичные лизосомы (рис. 1, е).

Анализ ультраструктуры ГЭБ капилляров сенсорной коры головного мозга крыс линии *Wistar* после введения ОФР с концентрацией озона 3,5 мг/л через 1 сут показал набухание эндотелия капилляров и базальной мембраны (рис. 2). В эндотелиоцитах наблюдалось повышенное содержание пиноцитозных пузырьков, набухшие митохондрии. Межэндотелиальные щели были расширены (около 25 нм).

Отмечено увеличение периваскулярных отростков астроглии, их набухание и вакуолизация (рис. 2, а). В ряде случаев увеличенные отростки астроцитов, как футляр, окружали капилляр, сдавливая его. У большинства капилляров диаметр был существенно меньше, чем у животных, получавших физиологический раствор ( $p < 0,01$ ). В капиллярах находилась как обычная кровь, так и плазма, микроагрегаты эритроцитов, в единичных наблюдениях выявлена адгезия эритроцитов к эндотелию. Перициты были с признаками фагоцитоза. Часть светлых нейронов была обычного вида, часть имела признаки незначительного диффузного хроматолиза (редукция части органелл, набухание митохондрий, удлинение цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума, уменьшение рибосом и полисом), отмечались нейроны с признаками активации белоксинтезирующих органелл (увеличение ядрышка, эктопирование его к кариолемме, пролиферация и гипертрофия комплекса Гольджи, увеличение рибосом и полисом) (рис. 2, б). Наряду с этим встречались пикнотичные и гиперхромные нейроны.

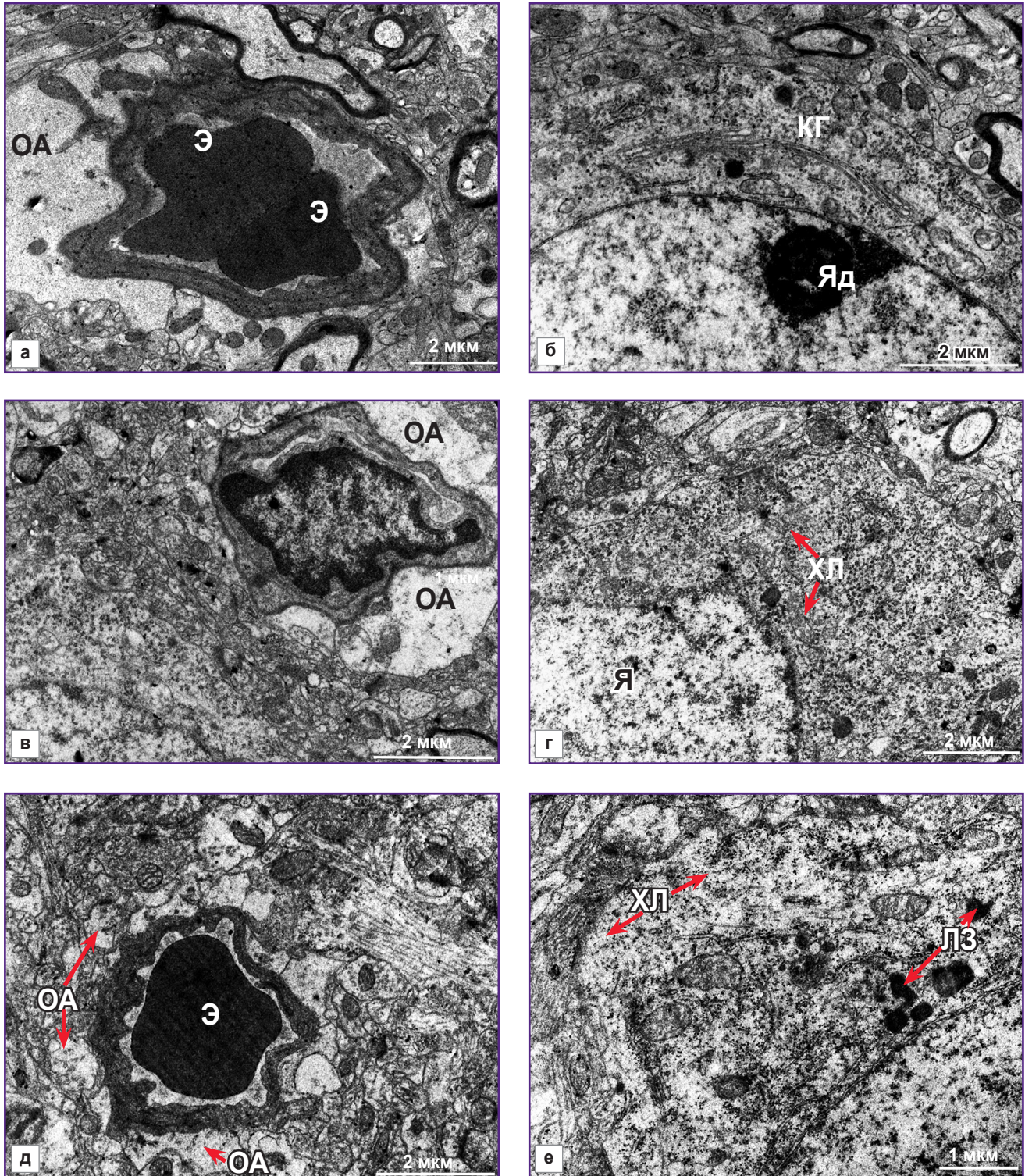
Через 14 сут у животных после введения ОФР с концентрацией озона 3,5 мг/л нарушение проницаемости ГЭБ сохранялось и проявлялось набуханием эндотелия капилляров, базальной мембраны, лизисом отдельных ее участков и извитым контуром, отеком периваскулярной глии (рис. 2, в). Просвет сосудов оставался более узким, чем в контроле ( $p < 0,01$ ). 1/3 светлых нейронов содержали ядрышки, ядра с инвагинациями, иногда глубокими. Отмечался диффузный хроматолиз отдельных нейронов (рис. 2, г).

На 30-е сутки у этих животных нарушение структуры ГЭБ все еще сохранялось в виде набухания эндотелия, базальной мембраны, периваскулярной астроглии (рис. 2, д), очагового расплавления базальной мембраны, что вызывало изменения ультраструктуры нейронов (рис. 2, е) — появление дегенеративных форм (хроматолиз цитоплазмы, темных нейронов).



**Рис. 1. Ультраструктура неокортекса белых крыс после введения озонированного физиологического раствора с концентрацией озона 0,7 мг/л:**

через 1 сут: **а** — набухание эндотелия и расширение межэндотелиальных щелей до 20 нм,  $\times 28\ 000$ ; **б** — светлый нейрон с ядрышком, эктопированным к ядерной мембране, активный комплекс Гольджи,  $\times 8900$ ; на 14-е сутки: **в** — капилляр с четкой базальной мембраной,  $\times 14\ 000$ ; **г** — часть светлого нейрона с хорошо выраженным ядрышком и комплексом Гольджи,  $\times 8900$ ; на 30-е сутки: **д** — капилляр, содержащий эритроцит и плазму, отростки астроцита — без признаков отека, содержат миелиноподобные мембраны,  $\times 22\ 000$ ; **е** — часть светлого нейрона, в перикарионе много рибосом и полисом,  $\times 14\ 000$ . Здесь: К — просвет капилляра; ОА — отросток астроцита; КГ — комплекс Гольджи; Я — ядро; Яд — ядрышко; Э — эритроцит; БМ — базальная мембрана; МХ — митохондрии; МЭМ — миелиноподобные мембраны; ЛЗ — лизосомы; Р — рибосомы



**Рис. 2. Ультраструктура неокортекса сенсомоторной области белых крыс после введения озонированного физиологического раствора с концентрацией озона 3,5 мг/л:**

через 1 сут: **а** — в просвете капилляра — микроагрегат из двух эритроцитов, эндотелий набухший, базальная мембрана местами не просматривается, перикапиллярный отек отростков астроглии,  $\times 8900$ ; **б** — светлый нейрон с признаками активации: ядрышко хорошо выражено, содержит фибриллярный и гранулярный компоненты, эктопировано к кардиолементе; в цитоплазме — гипертрофированный комплекс Гольджи, набухшие митохондрии, лизосомы,  $\times 11\,000$ ; на 14-е сутки: **в** — отек перикапиллярной глии,  $\times 11\,000$ ; **г** — диффузный хроматолиз цитоплазмы светлого нейрона,  $\times 8900$ ; на 30-е сутки: **д** — отек перикапиллярных отростков астроцита,  $\times 11\,000$ ; **е** — периферический хроматолиз цитоплазмы нейрона, редукция эндоплазматической сети, значительное количество лизосом,  $\times 14\,000$ . Здесь: ОА — отросток астроцита; Э — эритроцит; КГ — комплекс Гольджи; Яд — ядрышко; ХЛ — хроматолиз; ЛЗ — лизосомы

**Обсуждение.** Анализ ультраструктуры ГЭБ проводили, основываясь на данных литературы, согласно которым признаками нарушения проницаемости ГЭБ являются увеличение размеров отростков астроцитов, прилежащих к капиллярам, неровность контура и неравномерная толщина базальной мембраны, увеличенное количество пиноцитозных пузырьков в эндотелии, нарушение межэндотелиальных контактов.

Результаты исследования показали, что после однократного введения ОФР с концентрацией озона 0,7 мг/л через 15 мин происходило нарушение проницаемости ГЭБ, которое проявлялось частичной редуцией межэндотелиальных плотных контактов (tight junction), расширением межклеточных щелей, набуханием базальной мембраны и части отростков астроцитов в перикапиллярной области. Контакты — это динамичные структуры, способные за счет ремоделирования цитоскелета изменять размеры межклеточных щелей в течение минут, а перикапиллярная реакция астроцитов, прилежащих к капиллярам, свидетельствует о повышении проницаемости стенок капилляров [14, 15]. Изменения ультраструктуры нейронов носили адаптивный характер в ответ на воздействие окислительного фактора и характеризовались увеличением активности белоксинтезирующих органелл. Отмечалось улучшение микроциркуляции по сравнению с контрольными животными, о чем свидетельствовало расширение просвета капилляров.

Через 1 сут после воздействия ОФР нарастало повышение проницаемости ГЭБ: расширение межэндотелиальных щелей до 20 нм, выраженное набухание перикапиллярной астроглии. На фоне повышения проницаемости ГЭБ отмечалось ухудшение микроциркуляции. На 14-е сутки структура ГЭБ частично нормализовалась: эндотелий капилляров имел плотные межклеточные контакты. Сохранялось небольшое набухание отростков астроцитов. Отмечалось восстановление микроциркуляции. К 30-м суткам ультраструктура ГЭБ и микроциркуляция восстанавливались.

Повышение концентрации озона в ОФР, вводимом интракаротидно, до дозы 3,5 мг/л также приводило к повышению проницаемости ГЭБ, однако его восстановление не наблюдалось к 30-м суткам. Кроме того, изменения микроциркуляции, ультраструктуры нейронов и глии были более выражены.

Таким образом, интракаротидное введение ОФР в концентрации 0,7 мг/л вызывает длительное (до суток) транзитное повышение проницаемости ГЭБ с последующим его частичным восстановлением к 14-м суткам и полным восстановлением к 30-м суткам. Временное повышение проницаемости ГЭБ имеет перспективы широкого клинического применения как в нейроонкологии при химиотерапии опухолей головного мозга, так и в неврологии в плане направленной доставки лекарственных препаратов, плохо проникающих через интактный ГЭБ в очаги поражения головного мозга.

**Заключение.** Интракаротидное введение озонированного физиологического раствора с концентрацией озона 0,7 мг/л вызывает длительное (до суток) транзитное повышение проницаемости ГЭБ, что может обеспечить более эффективное воздействие лекарственных препаратов на клетки головного мозга во все фазы клеточного цикла, улучшить результаты лечения опухолей головного мозга и ряда неврологических заболеваний.

**Финансирование исследования.** Исследование не финансировалось какими-либо источниками.

**Конфликт интересов,** связанный с данным исследованием, у авторов отсутствует.

#### Литература/References

1. Blanchette M., Tremblay L., Lepage M., Fortin D. Impact of drug size on brain tumor and brain parenchyma delivery after a blood-brain barrier disruption. *J Cereb Blood Flow Metab* 2014; 34(5): 820–826, <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2014.14>.
2. Shilo M., Sharon A., Baranes K., Motiei M., Lellouche J.P., Popovtzer R. The effect of nanoparticle size on the probability to cross the blood-brain barrier: an in-vitro endothelial cell model. *J Nanobiotechnology* 2015; 13: 19, <https://doi.org/10.1186/s12951-015-0075-7>.
3. Шамаев М.И. Изменение мозговых сосудов при глиомах полушарий головного мозга. Автореф. дис. ... докт. мед. наук. Киев; 1983. Shamaev M.I. *Izmenenie mozgovykh sosudov pri gliomakh polushariy golovnogo mozga*. Avtoref. dis. ... dokt. med. nauk [Change of cerebral vessels in gliomas of cerebral hemispheres. PhD Thesis]. Kiev; 1983.
4. Chen Y., Liu L. Modern methods for delivery of drugs across the blood-brain barrier. *Adv Drug Deliv Rev* 2012; 64(7): 640–665, <https://doi.org/10.1016/j.addr.2011.11.010>.
5. Kiviniemi V., Korhonen V., Kortelainen J., Rytty S., Keinänen T., Tuovinen T., Isokangas M., Sonkajärvi E., Siniluoto T., Nikkinen J., Alahuhta S., Tervonen O., Turpeenniemi-Hujanen T., Myllylä T., Kuittinen O., Voipio J. Real-time monitoring of human blood-brain barrier disruption. *PLoS One* 2017; 12(3): e0174072, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174072>.
6. Leuthardt E.C., Duan C., Kim M.J., Campian J.L., Kim A.H., Miller-Thomas M.M., Shimony J.S., Tran D.D. Hyperthermic laser ablation of recurrent glioblastoma leads to temporary disruption of the peritumoral blood brain barrier. *PLoS One* 2016; 11(2): e0148613, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148613>.
7. Li C.H., Shyu M.K., Jhan C., Cheng Y.W., Tsai C.H., Liu C.W., Lee C.C., Chen R.M., Kang J.J. Gold nanoparticles increase endothelial paracellular permeability by altering components of endothelial tight junctions, and increase blood-brain barrier permeability in mice. *Toxicol Sci* 2015; 148(1): 192–203, <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfv176>.
8. Patel M.M., Patel B.M. Crossing the blood-brain barrier: recent advances in drug delivery to the brain. *CNS Drugs* 2017; 31(2): 109–133, <https://doi.org/10.1007/s40263-016-0405-9>.
9. Jung Y.S., Lee S.W., Park J.H., Seo H.B., Choi B.T., Shin H.K. Electroacupuncture preconditioning reduces ROS generation with NOX4 down-regulation and ameliorates

blood-brain barrier disruption after ischemic stroke. *J Biomed Sci* 2016; 23: 32, <https://doi.org/10.1186/s12929-016-0249-0>.

10. Rochfort K.D., Collins L.E., McLoughlin A., Cummins P.M. Tumour necrosis factor- $\alpha$ -mediated disruption of cerebrovascular endothelial barrier integrity in vitro involves the production of proinflammatory interleukin-6. *J Neurochem* 2016; 136(3): 564–572, <https://doi.org/10.1111/jnc.13408>.

11. Paxinos G., Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 4th edition. San Diego: Academic Press; 1998.

12. Чехонин В.П., Баклаушев В.П., Юсубалиева Г.М., Волгина Н.Е., Гурина О.И. Фундаментальные и прикладные аспекты изучения гематоэнцефалического барьера. *Вестник Российской академии медицинских наук* 2012; 8: 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. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk* 2012; 8: 66–78.

13. Erdő F., Hutka B., Dénes L. Function, aging and dysfunction of blood-brain barrier. Crossing the barrier. *Orv Hetil* 2016; 157(51): 2019–2027.

14. Cabezas R., Avila M., Gonzalez J., El-Bachá R.S., Báez E., García-Segura L.M., Jurado Coronel J.C., Capani F., Cardona-Gomez G.P., Barreto G.E. Astrocytic modulation of blood brain barrier: perspectives on Parkinson's disease. *Front Cell Neurosci* 2014; 8: 211, <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00211>.

15. Liu X., Sui B., Sun J. Blood-brain barrier dysfunction induced by silica NPs in vitro and in vivo: involvement of oxidative stress and Rho-kinase/JNK signaling pathways. *Biomaterials* 2017; 121: 64–82, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.01.006>.