

ЗАЩИТНЫЕ ЭФФЕКТЫ РАННЕГО ИШЕМИЧЕСКОГО
ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ ПРИ ФОКАЛЬНОЙ ИШЕМИИ
МОЗГА У КРЫС: РОЛЬ КОЛЛАТЕРАЛЬНОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

A. A. Шмонин,^{1,2} A. E. Байса,^{1,2} E. V. Мельникова,¹
B. N. Вавилов,^{1,2} T. D. Власов^{1,2}

¹ Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. акад. И. П. Павлова, Россия, 197022, Санкт-Петербург,
ул. Льва Толстого, 6/8, e-mail: langendorff@gmail.com;

² Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В. А. Алмазова,
Россия, 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2

Целью данного исследования являлась проверка гипотезы о том, что раннее ишемическое прекондиционирование эффективно защищает ткань головного мозга от ишемического повреждения благодаря влиянию на церебральный кровоток. Исследование проводилось на самцах крыс линии Вистар, наркотизированных тиопенталом, с применением двух методик ишемии: 1) перевязка левой общей сонной и левой средней мозговой артерий; 2) эндоваскулярная окклюзия средней мозговой артерии на 30 и 60 мин. Для моделирования прекондиционирования использовалось два эпизода 5-минутной двусторонней окклюзии общих сонных артерий с 5-минутными интервалами реperfузии. Для оценки размера инфаркта использовали окраску трифенилтеразолия хлоридом, для оценки магистрального кровотока — ультразвуковую допплерографию и определение зоны ишемии — окраску синим Эванса. Прекондиционирование приводит к значимому уменьшению размера инфаркта при 30- и 60-минутной ишемии и при ишемии без реperfузии. Прекондиционирование не влияет на показатели магистрального кровотока в средней мозговой артерии по данным ультразвуковой допплерографии. Через 5 мин после окклюзии левой средней мозговой артерии в группах ишемического прекондиционирования не выявлено уменьшения размера зоны ишемии, в то время как через 30—40 мин после начала ишемии отмечено уменьшение зоны ишемии в группах прекондиционирования. Наряду с цитопротективным эффектом ишемическое прекондиционирование уменьшает зону ишемии, оказывая выраженное дополнительное инфаркт-лимитирующее действие при фокальной транзиторной и перманентной ишемии мозга у крыс.

Ключевые слова: раннее ишемическое прекондиционирование, транзиторная и перманентная фокальная ишемия мозга, коллатеральное кровообращение, церебральный кровоток.

Рос. физiol. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 97. № 2. С. 203—213. 2011

A. A. Shmonin,^{1,2} A. E. Baysa,^{1,2} E. V. Melnikova,¹ V. N. Vavilov,¹ T. D. Vlassov.^{1,2} EARLY ISCHEMIC PRECONDITIONING AGAINST FOCAL TRANSIENT AND PERMANENT BREIN ISCHEMIA IN RATS: ROLE OF COLLATERAL CIRCULATION. ¹ Saint-Petersburg I. P. Pavlov State Medical University. 197022/1, Saint-Petersburg, Russian Federation, L. Tolstoy St., 6/8, e-mail: langendorff@gmail.com; ² V. A. Almazov Federal Centre of Heart, Blood and Endocrinology, 197341, St. Petersburg, Russian Federation, Akkuratova St., 2.

We hypothesize that early ischemic preconditioning (IPC) can afford protection against focal brief and prolonged cerebral ischemia with subsequent reperfusion as well as permanent brain is-

chemia in rats by amelioration of regional cerebral blood flow. Adult male Wistar rats ($n = 97$) were subjected to transient (30 and 60 minutes) and permanent middle cerebral artery (MCA) occlusion. IPC protocol consisted of two episodes of 5-min common carotid artery occlusion + 5-min reperfusion prior to test ischemia either followed by 48 hours of reperfusion or not. Triphenyltetrazolium chloride and Evans blue were used for delineation of infarct size and anatomical area at risk (comprises ischemic penumbra and ischemic core), respectively. Blood flow in the MCA vascular bed was measured with use of Doppler ultrasound. The IPC resulted in significant infarct size limitation in both transient and permanent MCA occlusion. Importantly, IPC caused significant reduction of area at risk after 30 min of focal ischemia as compared to controls [med(min-max) 11.4 % (3.59—20.35 %) vs. 2.47 % (0.8—9.31 %), $p = 0.018$] but it failed to influence area at risk after 5 min of ischemia [med(min-max) 7.61 % (6.32—10.87 %) vs. 8.2 % (4.87—9.65 %), $p > 0.05$]. No differences in blood flow were found between IPC and control groups using Doppler ultrasound. This is suggestive of the fact that IPC does not really influence blood flow in the large cerebral arteries such as MCA but it might have some effect on smaller arteries. It seems that, along with well established cytoprotective effects of IPC, IPC-mediated reduction of area at risk by means of improvement in local cerebral blood flow may contribute to infarct size limitation after focal transient and permanent brain ischemia in rats.

Key words: early ischemic preconditioning, transient and permanent focal brain ischemia, collateral circulation, cerebral blood flow.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 97. N 2. P. 203—213. 2011

Эндогенные механизмы защиты от ишемического повреждения чрезвычайно важны для выживания ткани головного мозга. Из них наиболее выраженным защитным эффектом обладает прекондиционирование. Ишемическое прекондиционирование — это способ повышения устойчивости ткани к ишемическому и реперфузионному повреждению, возникающий после одного или нескольких коротких эпизодов ишемии и реперфузии. Эффект ишемического прекондиционирования был впервые показан на сердце [17], а позднее — на мозге [12] и других органах.

Защитные эффекты ишемического прекондиционирования проявляются двумя фазами: ранней (длительность нейропротекции 60—120 мин) и поздней (возникает через 24 ч после ишемического прекондиционирования и сохраняется около 7 суток) [2, 3, 22]. Ранняя фаза ишемического прекондиционирования обусловлена изменениями внутриклеточного метаболизма (активация калиевых АТФ-чувствительных каналов, блокирование митохондриальной проницаемости, ингибирование протеосомы и др.), а поздняя фаза ишемического прекондиционирования — генетически детерминированным ответом нейронов на сублетальное повреждение, вызванное короткой ишемией (увеличением экспрессии супероксидисмутазы, тиоредоксина, каталазы, белков группы шаперонов, антиапоптотических ферментов, индуцируемой NO-синтазы и др.) [3]. Влияние прекондиционирования на регионарный кровоток остается неизученным, так же как и вопрос о его эффективности при различных видах ишемии.

Основным препятствием на пути внедрения ишемического прекондиционирования в клиническую практику является зависимость защитного действия прекондиционирования от продолжительности повреждающей ишемии [22], т. е. восстановление кровотока является обязательным условием для реализации защитных эффектов ишемического прекондиционирования сердца. Так, имеются данные о зависимости инфаркт-лимитирующего эффекта прекондиционирования у крыс от продолжительности повреждающей ишемии в миокарде и полное исчезновение защитного эффекта при ишемии более 60 мин [1, 22]. С другой стороны, исследования при экспериментальной фокальной ишемии мозга у крыс и мышей показали защитные эффекты раннего ишемического прекондиционирования при повреждающей ишемии длительностью 60 [20] и 180 мин [19], а также при перманентной окклюзии артерий (без восстановления кровотока) [5, 20]. Эти данные свидетельствуют о возможных различиях в защитных эффектах ишемического прекондиционирования в сердце и мозгу.

Целью настоящего исследования было изучение защитных эффектов ишемического прекондиционирования, а также его влияние на магистральный кровоток и зону ишемии при фокальной транзиторной (30 и 60 мин) и перманентной (без реперфузии) ишемии мозга у крыс.

МЕТОДИКА

Исследование проводилось на крысах-самцах ($n = 97$) линии Вистар массой 250—300 г под тиопенталовой анестезией (75 мг/кг). На первом этапе исследовали защитный (инфаркт-лимитирующий и противоотечный) эффект прекондиционирования при транзиторной ишемии с реперфузией, а также при постоянной ишемии без реперфузии. На втором этапе изучали влияние прекондиционирования на магистральное кровообращение и формирование зоны нарушения перфузии (зоны ишемии).

Моделирование ишемии мозга. Использовали методику транзиторной и перманентной фокальной ишемии головного мозга крысы. Транзиторную фокальную ишемию головного мозга производили с помощью эндоваскулярной окклюзии левой средней мозговой артерии, которую выполняли по методике J. Koizumi и соавт. [13] в модификации E. Z. Longa и соавт. [14] и L. Belayev и соавт. [7], введением полипропиленовой нити (4-00) (Ethicon, Inc.) с окончанием, обработанным силиконом и поли-L-лизином, в левую наружную сонную артерию с последующим ее проведением к устью левой средней мозговой артерии через внутреннюю сонную артерию (филаментная модель ишемии). В нашем исследовании использовали 30- и 60-минутную эндоваскулярную окклюзию левой средней мозговой артерии. По окончании этого времени для воспроизведения реперфузии нить извлекали. Для моделирования перманентной фокальной ишемии выполняли перевязку левой общей сонной артерии и далее полипропиленовой нитью (7-0 Cardiopoint) перевязку корковой ветви левой средней мозговой артерии, доступ к которой осуществлялся через трепанационное окно в проекции левой средней мозговой артерии.

Моделирование ишемического прекондиционирования. Для воспроизведения ишемического прекондиционирования использовали два 5-минутных эпизода билатеральной окклюзии общих сонных артерий с 5-минутным интервалом реперфузии.

Оценка размера инфаркта. Оценка величины зоны инфаркта производилась с помощью количественного анализа срезов мозга, гистохимически окрашенных хлоридом трифенилтетразолия. Для этого срезы головного мозга толщиной 2 мм инкубировали в 0.1%-ном растворе трифенилтетразолия хлорида (MP Biomed., США) при $t = 37.0^{\circ}\text{C}$ в течение 15 мин. Затем получали цифровые фотографии поверхности срезов. Анализировали 5 срезов мозга толщиной 2 мм, произведенных во фронтальной плоскости. Вычисляли средний относительный показатель площади инфаркта (как в целом, так и отдельно для коры и подкорковых структур) и коэффициент асимметрии полушарий головного мозга (процентное отношение площади пораженного полушария к площади всего среза).

Оценка магистрального кровотока. Магистральный кровоток оценивали в левой средней мозговой артерии, для чего использовали метод высокочастотной ультразвуковой допплерографии при помощи прибора Минимакс-Допплер-К (Минимакс, Санкт-Петербург). В бассейне левой средней мозговой артерии регистрировали систолическую и диастолическую линейные скорости за 30 мин до моделирования ишемии, после прекондиционирования (если оно проводилось), после окклюзии левой общей сонной артерии, после начала ишемии и каждые 10 мин на протяжении ишемии.

Оценка зоны ишемии. Для оценки степени тканевой перфузии в ишемизированной области исследовалась так называемая «зона ишемии». Зона ишемии [23] (некоторые авторы называют ее зоной риска [1]) включает в себя зоны ядра ишемии и «ишемической пенумбры». Известно, что с увеличением длительности ишемии увеличивается и размер повреждения, которое становится максимальным при окклюзии артерии достаточной длительности. В связи с этим существует понятие «зоны ишемии», которая соответствует области нарушенного кровообращения. С учетом высокой чувствительности нервной ткани к ишемическому повреждению мы исследовали возможность уменьшения зоны ишемии под влиянием прекондиционирования, поскольку невозможно представить сохранение жизнеспособности нейронов в условиях 48-часовой ишемии.

Для определения зоны ишемии использовали введение синего Эванса (Вектон, Россия) в левый желудочек. Через 5 с животное выводили из эксперимента и мозг извлекался для дальнейшего исследования. Синий Эванса попадал в хорошо перфузируемые участки мозга, окрашивая ткани в синий свет. Оставшиеся неокрашенными участки мозга составляли зону ишемии. Анализировалось 5 срезов мозга толщиной 2 мм, произведенных во фронтальной плоскости. Вычисляли средний относительный показатель площади нарушения кровотока (как в целом, так и отдельно для коры и подкорковых структур).

Статистический анализ данных. Статистический анализ данных осуществлялся с помощью программного пакета SPSS 12.0. Для статистической оценки двух независимых выборок использовались критерия Манна—Уитни, а для двух зависимых — критерий Вилкоксона—Манна—Уитни. Результат представлен в виде графиков «ящики и усы» и таблиц.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЗАЩИТНОГО ЭФФЕКТА ИШЕМИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ ПРИ РАЗЛИЧНОЙ ДЛИТЕЛЬНОСТИ ИШЕМИИ

В данной серии экспериментов исследовали следующие группы животных (рис. 1): группа № 1 ($n = 8$) — 30-минутная эндоваскулярная окклюзия левой средней мозговой артерии и определение размера инфаркта через 48 ч; группа № 2 ($n = 6$) — так же, как в группе № 1, но с предшествующим ишемическим прекондиционированием (2×5 мин); группа № 3 ($n = 6$) — 60 мин эндоваскулярной окклюзии левой средней мозговой артерии и определение размера инфаркта через 48 ч; группа № 4 ($n = 6$) — так же, как в группе № 3, но с предшествующим ишемическим прекондиционированием (2×5 мин); группа № 5 ($n = 11$) — перевязка левой средней мозговой артерии и определение размера инфаркта через 48 ч; группа № 6 ($n = 9$) — так же, как в группе № 5, но с предшествующим ишемическим прекондиционированием (2×5 мин).

Продолжительность постишемического периода составляла 48 ч (группа № 2), после чего животных выводили из опыта, головной мозг извлекали.

Результаты исследования эффективности ишемического прекондиционирования при транзиторной ишемии мозга представлены на рис. 2, *a, б* и табл. 1. При 30-минутной эндоваскулярной окклюзии левой средней мозговой артерии и 48-часовой реперфузии развивался инфаркт мозга, расположенный в подкорковых ядрах левого полушария большого мозга. Увеличение продолжительности фокальной ишемии в бассейне средней мозговой артерии до 60 мин приводило к расширению зоны пораженной ткани головного мозга с ее распространением в направлении от подкорковых структур к коре. Ишемическое прекондиционирование уменьшало размер зоны инфаркта в подкорковых ядрах при продолжительности повреждающей ишемии 30 мин (группа № 2 по сравнению с группой № 1, $p = 0.008$). При оценке размера инфаркта в целом мозгу (кора + подкорковые структуры) при 60-минутной ишемии (группа № 3) наблюдалась тенденция к сохранению защитного эффекта ишемического прекондиционирования (группа № 4), хотя разница не была достоверной $p = 0.19$. Однако при более детальном анализе срезов (рис. 2, *б*) было отмечено, что ишемическое прекондиционирование при 60-минутной ишемии уменьшало размер инфаркта подкорковых структур (группа № 4 по сравнению с группой № 3, $p = 0.016$), но не влияло на степень повреждения коры ($p = 0.73$, рис. 2, *б*). Таким образом, установлено, что ишемическое прекондиционирование оказывает выраженный защитный эффект при ишемии длительностью 30 мин. При ишемии продолжительностью 60 мин защитный эффект снижался, сохраняясь исключительно за счет выживания подкорковых структур. Имеются данные, что при фокальной ишемии мозга нарастание размера инфаркта происходит на протяжении 3—4 ч [10]. Возможно, для более детального исследования эффективности ишемического прекондиционирования в будущем при транзиторной фокальной ишемии мозга целесообразно использовать временные точки 2, 3 и 4 ч. Однако на этих сроках есть сложность по обес-

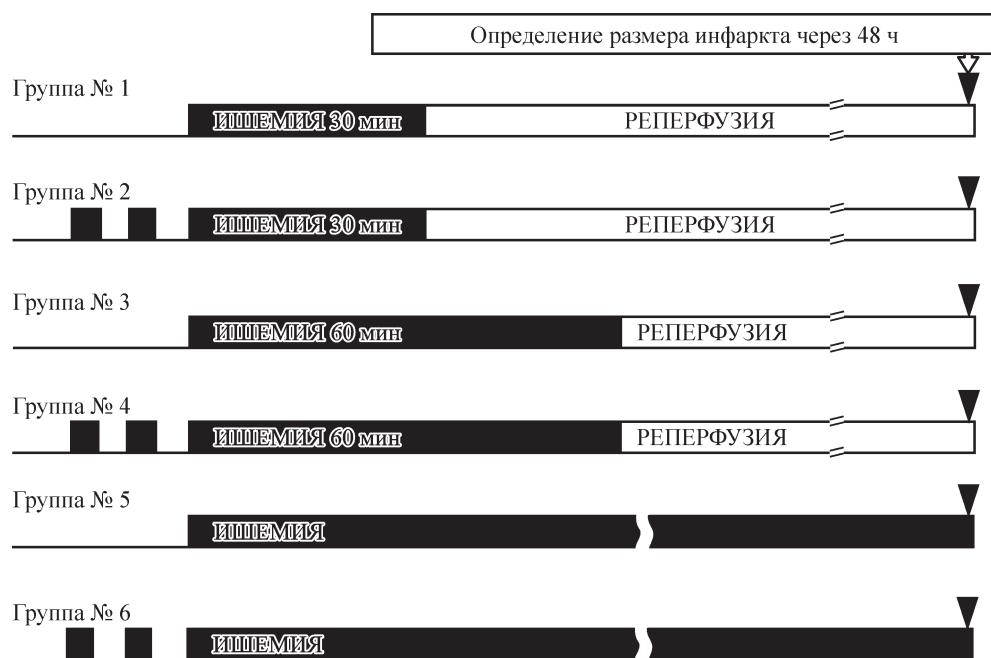


Рис. 1. Протокол первого этапа исследования.

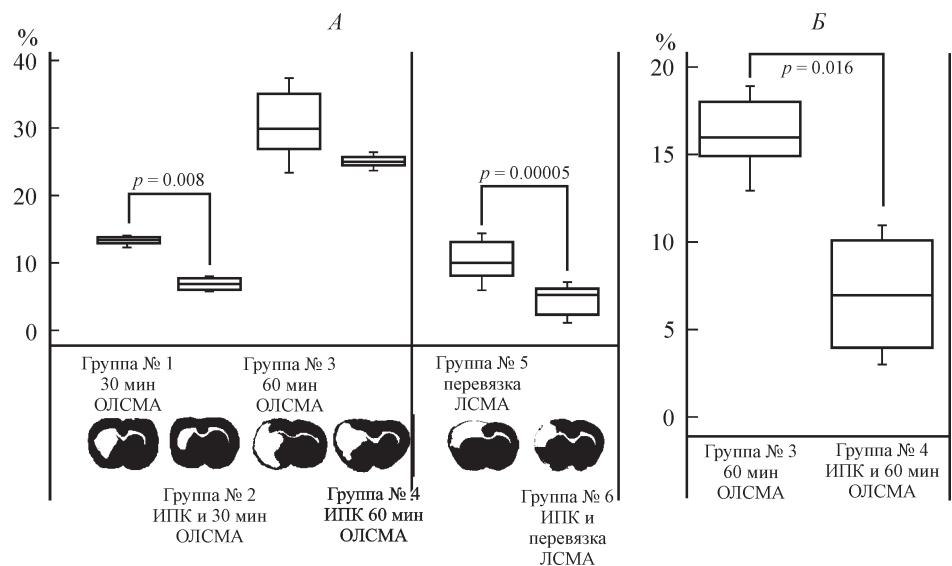


Рис. 2. Влияние прекондиционирования на размер зоны инфаркта (по площади повреждения большого мозга) при транзиторной и перманентной ишемии вследствие эндоваскулярной окклюзии или перевязки левой средней мозговой артерии соответственно (A); влияние прекондиционирования на размер зоны инфаркта (по площади повреждения подкорковых ядер) при транзиторной 60-минутной ишемии вследствие эндоваскулярной окклюзии левой средней мозговой артерии (Б).

ОЛСМА — окклюзия левой средней мозговой артерии. ИПК — ишемическое прекондиционирование.

Таблица 1

Влияние прекондиционирования на размер зоны инфаркта по отношению к площади большого мозга и выраженность отека мозга при транзиторной и перманентной ишемии вследствие эндоваскулярной окклюзии или перевязки левой средней мозговой артерии соответственно

№ группы	Размер зоны инфаркта; медиана (минимум—максимум), %	Коэффициент асимметрии полушарий (показатель выраженности отека мозга); медиана (минимум—максимум), %
1	13.54 (12.32—14.11)	52.5 (51.19—53.77)
2	7.03 (5.78—8.13)*	50.42 (48.9—52.03) [#]
3	29.88 (23.42—37.4)	55.62 (52.67—58.52)
4	25.02 (23.75—26.4)	55.78 (54.28—56.94)
5	9.5 (6.6—12.2)	55.31 (53.4—57.0)
6	5.4 (2.92—6.14)**	52.02 (51.1—53.9)***

Примечание. * $p < 0.01$ — группа № 2 по сравнению с группой № 1; ** $p < 0.0001$ — группа № 6 по сравнению с группой № 5; [#] $p < 0.05$ — группа № 2 по сравнению с группой № 1; *** $p < 0.005$ — группа № 6 по сравнению с группой № 5.

печению длительной адекватной анестезии, что имеет самостоятельное значение в устойчивости головного мозга к ишемическому и реперфузионному повреждению.

При постоянной перевязке левой средней мозговой артерии через двое суток выявлялось повреждение, расположенное в корковом отделе левого полушария большого мозга (рис. 2, а и табл. 1). Ишемическое прекондиционирование приводило к уменьшению размера инфаркта в 2 раза (группа № 6 по сравнению с группой № 5, $p = 0.00005$, табл. 1). Таким образом, мы получили данные об эффективности ишемического прекондиционирования при длительности тестовой ишемии 48 ч. Наши результаты, полученные на мозге крысы, соответствуют данным, полученным на мышах другими исследователями, которые показали, что ишемическое прекондиционирование при постоянной ишемии мозга также обладает инфаркт-лимитирующим эффектом [5, 20].

Ишемическое прекондиционирование статистически значимо уменьшало выраженность асимметрии полушарий, а следовательно, и степени отека мозга при ишемии длительностью 30 мин и перманентной ишемии (без реперфузии). Эти данные также подтверждают защитный эффект ишемического прекондиционирования мозга при различной длительности тестовой ишемии.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ ИЗУЧЕНИЯ ВЛИЯНИЯ ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ НА ЦЕРЕБРАЛЬНЫЙ КРОВОТОК

По результатам нашего исследования было выявлено, что прекондиционирование обладало защитным действием не только при ишемии короткой продолжительности, но и при длительной ишемии в течение 48 ч. Это отличает эффекты ранней эндогенной цитопротекции в головном мозгу от таковой в миокарде. Для объяснения полученных результатов мы провели исследование влияния прекондиционирования на магистральный кровоток и размер зоны ишемии в головном мозгу.

Протокол второго этапа исследования (рис. 3): группа № 7 ($n = 5$) — эндоваскулярная окклюзия левой средней мозговой артерии и определение размера зоны ишемии через 5 мин после эндоваскулярного введения нити; группа № 8 ($n = 5$) — так же, как в группе № 7, но с предшествующим ишемическим прекондиционированием (2×5 мин); группа № 9 ($n = 5$) — эндоваскулярная окклюзия

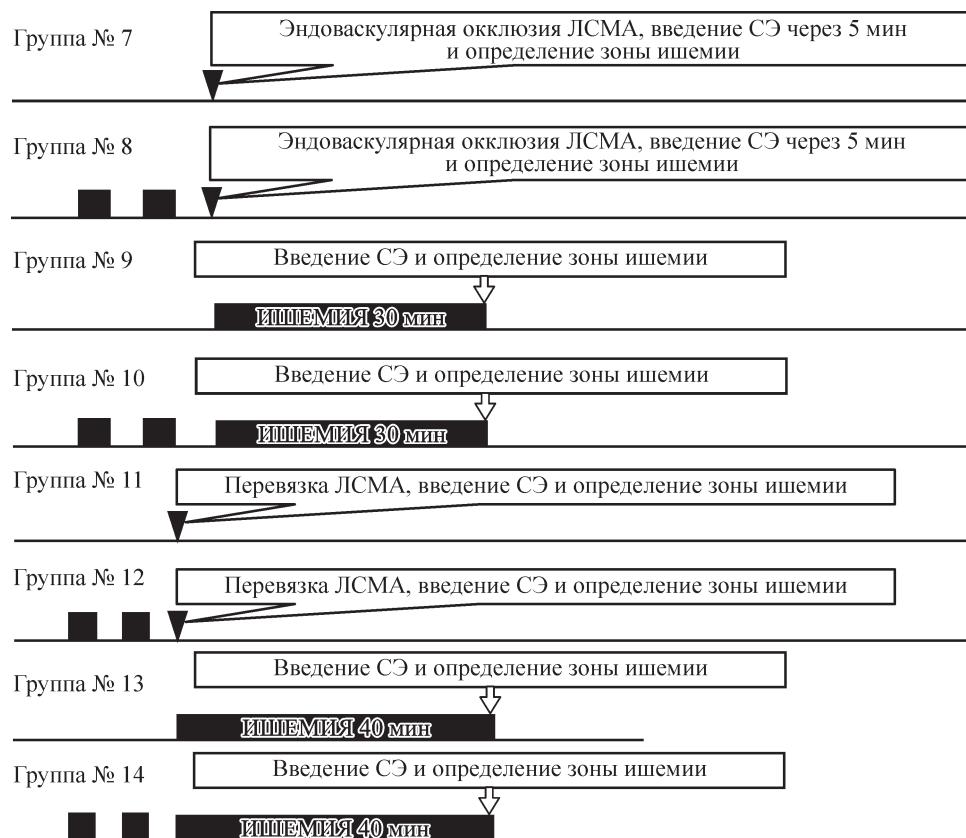


Рис. 3. Протокол второго этапа исследования.

СЭ — синий Эванса, ЛСМА — левая средняя мозговая артерия.

левой средней мозговой артерии и определение размера зоны ишемии через 30 мин после эндоваскулярного введения нити; группа № 10 ($n = 5$) — так же, как в группе № 9, но с предшествующим ишемическим прекондиционированием (2×5 мин); группа № 11 ($n = 13$) — перевязка левой средней мозговой артерии и определение размера зоны ишемии через 5 мин после перевязки артерий; группа № 12 ($n = 11$) — так же, как в группе № 11, но с предшествующим ишемическим прекондиционированием (2×5 мин); группа № 13 ($n = 7$) — перевязка левой средней мозговой артерии и определение размера зоны ишемии через 40 мин после перевязки артерий; группа № 14 ($n = 5$) — так же, как в группе № 13, но с предшествующим ишемическим прекондиционированием.

При оценке магистрального кровотока в группах № 7—10 было выявлено, что при эндоваскулярной окклюзии левой средней мозговой артерии происходит снижение систолической линейной скорости кровотока в средней мозговой артерии до значений 3.1 ± 2.0 см/с ($p = 0.002$) по сравнению с исходным 35.0 ± 12.3 см/с. У крыс с ишемическим прекондиционированием (группы № 8 и 10) линейные показатели кровотока на всех этапах эксперимента не отличались от таковых в контрольных группах (группы № 7 и 9 соответственно, табл. 2). При моделировании ишемии в группах № 11—14 оказалось, что окклюзия левой общей сонной артерии приводила к значимому снижению кровотока в средней мозговой артерии до 23 ± 7 см/с по сравнению с исходным уровнем 37 ± 14 см/с. При перевязке левой средней мозговой артерии на этой же модели происходило даль-

Таблица 2
Влияние прекондиционирования на магистральный кровоток
и размер зоны ишемии по отношению к площади большого мозга в группах № 7—14

№ группы	Систолическая линейная скорость на разных этапах эксперимента; среднее арифметическое и стандартное отклонение, см/с					Размер зоны ишемии; медиана (минимум— максимум), %
	исходно	через 30 мин	5 мин после начала ишемии	3 мин после начала ишемии	конец опыта	
7	33 ± 12	35 ± 12	3.0 ± 1.0	Оценка зоны ишемии	—	38.03 (34.98—39.32)
8	35 ± 10	38 ± 11	2.2 ± 2.1	То же	—	37.1 (32.35—39.66)
9	34 ± 11	33 ± 10	3.1 ± 2.0	3.1 ± 1.3	Оценка зоны ишемии	23.84 (22.94—25.12)
10	36 ± 11	40 ± 9	3.5 ± 2.0	3.4 ± 2.1	То же	22.6 (18.63—24.55)
11	33 ± 12	30 ± 13	11 ± 6	Оценка зоны ишемии	—	7.61 (6.32—10.87)
12	35 ± 9	40 ± 12	11 ± 6.5	То же	—	8.2 (4.87—9.65)
13	33 ± 11	31 ± 14	12 ± 6	11 ± 6	Оценка зоны ишемии	11.4 (3.59—20.35)
14	36 ± 10	40 ± 12	10 ± 7	11.5 ± 6.5	То же	2.47 (0.8—9.31)*

Примечание. * $p < 0.05$ — группа № 14 по сравнению с группой № 13.

нейшее снижение систолической линейной скорости в группах № 11—14, однако кровоток сохранялся на уровне 10 ± 4 см/с ($p = 0.00002$ по сравнению с исходным уровнем), вероятно, за счет существования развитой сети коллатерального кровообращения. В группах № 12 и 14, где проводилось ишемическое прекондиционирование, линейные показатели кровотока также не отличались от контрольных групп (группы № 11 и 13 соответственно, табл. 2), где прекондиционирование не проводилось. Таким образом, прекондиционирование не влияло на показатели магистрального кровотока в средней мозговой артерии.

Исследование зоны нарушения перфузии ткани мозга (рис. 4, *a, б* и табл. 2) показало, что ишемическое прекондиционирование не изменяло ее размер, выявленный через 5 мин после эндоваскулярной окклюзии левой средней мозговой артерии (группа № 8 по сравнению с группой № 7, $p = 0.69$), но при введении синего Эванса через 30 мин после начала ишемии у крыс с предшествующим ишемическим прекондиционированием отмечалось уменьшение зоны ишемии в области подкорковых ядер (группа № 8 по сравнению с группой № 7, $p = 0.032$). Исследование зоны ишемии на модели перевязки левой средней мозговой артерии показало (рис. 4, *a*) аналогичную зависимость: не выявлено уменьшения размера зоны ишемии при введении синего Эванса через 5 мин после перевязки левой средней мозговой артерии в группе ишемического прекондиционирования (группа № 13 по сравнению с группой № 12, $p = 0.99$), в то время как через 40 мин после начала ишемии отмечено уменьшение зоны ишемии в группе прекондиционирования (группа № 14 по сравнению с группой № 13, $p = 0.018$).

Полученные нами данные свидетельствуют об эффективности ишемического прекондиционирования для коры и подкорковых ядер при ишемии в бассейне средней мозговой артерии длительностью 30 и 60 мин, а также при перманентной ишемии мозга в том же сосудистом бассейне крысы. В наших исследованиях эффект ишемического прекондиционирования был связан с изменением зоны ишемии. Иными словами, ишемическое прекондиционирование стимулирует открытие коллатералей в области нарушения кровотока. Данные о возможном влиянии прекондиционирования на мозговой кровоток в целом согласуются с данными других авторов. Так L. Zhao и соавт. [23] на модели перманентной фокальной

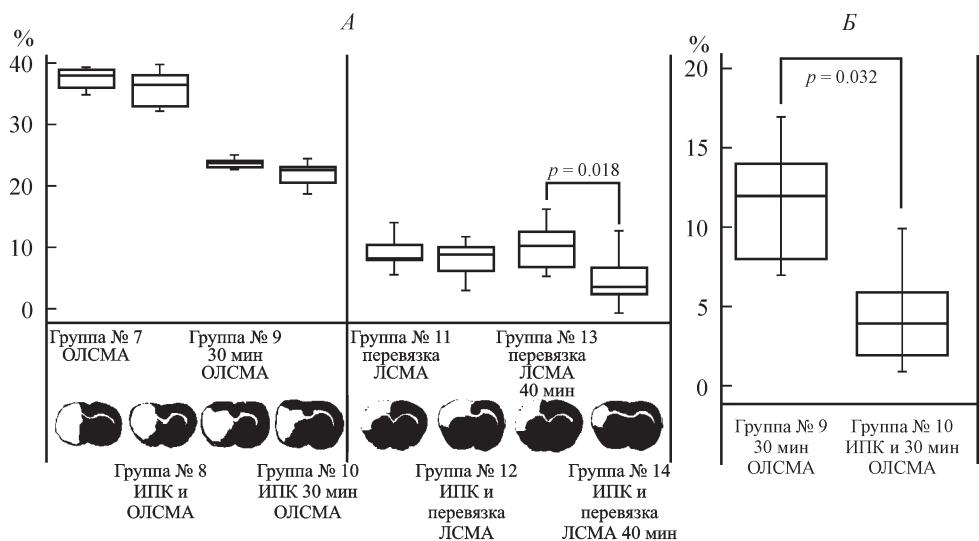


Рис. 4. Влияние прекондиционирования на размер зоны ишемии по отношению к площади большого мозга при исследовании на модели эндоваскулярной окклюзии левой средней мозговой артерии и на модели перевязки левой общей сонной артерии и корковой ветви левой средней мозговой артерии (*A*); влияние прекондиционирования на размер зоны ишемии по отношению к площади подкорковых ядер поврежденного полушария через 30 мин после начала ишемии при исследовании на модели эндоваскулярной окклюзии левой средней мозговой артерии в группах № 9 и 10.

Обозначения те же, что и на рис. 1.

ишемии у крыс с гипертензией (SHR) показали уменьшение зоны ишемии при моделировании «второго окна» ишемического прекондиционирования. Аналогичные данные были получены и на мышах [10] с помощью перфузионно-взвешенной магниторезонансной томографии. Позднее ишемическое прекондиционирование не только уменьшает зону ишемии, но улучшает восстановление кровотока в реперфузионном периоде после глобальной ишемии у крыс [2] и монгольских песчанок [18]. Однако некоторые авторы [4–6] с использованием метода лазерной допплерографии показали отсутствие влияния раннего и позднего ишемического прекондиционирования на церебральный кровоток. Эти данные согласуются с нашими результатами об отсутствии влияния раннего ишемического прекондиционирования на магистральный кровоток в средней мозговой артерии. Изменение же зоны ишемии после раннего ишемического прекондиционирования, вероятнее всего, связано с перестройкой кровообращения в сосудах мелкого диаметра, кровоток в которых находится за пределами разрешающей способности ультразвуковой допплерографии. Так, в работе J. Woitzik и соавт. [21] при использовании метода латексной перфузии показано увеличение количества и диаметра лептоменингиальных анастомозов и анастомозов основания мозга через 72 ч после гипоксического прекондиционирования. В статье M. Brozici и соавт. [8] говорится о возможности выживания нервной ткани в зоне так называемой «ишемической пенумбры» (область пограничной гипоперфузии) благодаря наличию лептоменингиальных анастомозов, которые обеспечивают коллатеральный кровоток из передней, задней мозговых артерий и контраполатерального полушария. Показано, что лептоменингиальные артерии присутствуют у крыс линии Вистар [9], и для начала их полноценного функционирования необходимо около одного часа [16].

При исследовании раннего ишемического прекондиционирования при перманентной фокальной ишемии мозга на мышах было отмечено, что прекондициони-

рование уменьшает размер зоны повреждения у нормальных мышей, но у нокаутов по гену эндотелиальной и нейрональной NO-синтазе не приводит к уменьшению повреждения [5]. Это свидетельствует о возможной роли NO-синтаз как эффекторного механизма обеспечивающего ответ церебральных сосудов при раннем ишемическом прекондиционировании.

Таким образом, эффективность раннего ишемического прекондиционирования отчасти связана с изменением зоны ишемии (зоны ядра ишемии и ишемической пограничной гипоперфузии — пенумбры) через 30 мин после окклюзии артерии за счет более раннего открытия коллатерального кровообращения других бассейнов, по-видимому, через лептоменигиальные анастомозы, что отличает механизмы прекондиционирования головного мозга от механизмов прекондиционирования миокарда.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Раннее ишемическое прекондиционирование эффективно при фокальной ишемии мозга у крыс длительностью 30 или 60 мин, а также при 48-часовой ишемии, что проявляется уменьшением размера повреждения и выраженности отека мозга.

Защитные эффекты прекондиционирования распространяются на кору и подкорковые ядра. Наравне с известными цитопротективными механизмами раннее ишемическое прекондиционирование способно улучшать регионарный кровоток в головном мозгу через 30—40 мин после начала ишемии, что приводит к уменьшению размера зоны ишемии.

Авторы благодарят за поддержку в выполнении данной работы ЗАО Вертекс.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Блохин И. О., Галагудза М. М., Власов Т. Д., Нифонтов Е. М., Петрищев Н. Н. Зависимость инфаркт-лимитирующего эффекта ишемического прекондиционирования миокарда от продолжительности тестовой ишемии миокарда. Рос. физiol. журн. им. И. М. Сеченова. 94 (7) : 785—789. 2008.
- [2] Власов Т. Д., Коржевский Д. Э., Полякова Е. А. Ишемическая адаптация головного мозга крысы как метод защиты эндотелия от ишемического/реперфузионного повреждения. Рос. физiol. журн. им. И. М. Сеченова. 90 (1) : 40—48. 2004.
- [3] Строев С. А., Самойлов М. О. Эндогенные антиоксиданты и гипоксическая толерантность мозга. СПб. Ин-т физиологии им. И. П. Павлова РАН. 2006.
- [4] Alkayed N. J., Goyagi T., Joh H.-D., Klaus J., Harder D. R., Traystman R. J., Hurn P. D. Neuroprotection and P450 2C11 upregulation after experimental transient ischemic attack. Stroke. 33 (6) : 1677—1684. 2002.
- [5] Atochin D. N., Clark J., Demchenko I. T., Moskowitz M. A., Huang P. L. Rapid cerebral ischemic preconditioning in mice deficient in endothelial and neuronal nitric oxide synthases. Stroke. 34 (5) : 1299—1303. 2003.
- [6] Barone F. C., White R. F., Spera P. A., Ellison J., Currie R. W., Wang X., Feuerstein G. Z. Ischemic preconditioning and brain tolerance: temporal histological and functional outcomes, protein synthesis requirement, and interleukin-1 receptor antagonist and early gene expression. Stroke. 29 (9) : 1937—1950. 1998.
- [7] Belayev L. , Alonso O. F., Busto R., Zhao W., Ginsberg M. D. Middle cerebral artery occlusion in the rat by intraluminal suture: neurological and pathological evaluation of an improved model. Stroke. 27 (9) : 1616—1622. 1996.
- [8] Brozici M., van der Zwan A., Hillen B. Anatomy and functionality of leptomeningeal anastomoses: a review. Stroke. 34 (11) : 2750—2762. 2003.

- [9] Herz R. C., Hillen B., Versteeg D. H., De Wildt D. J. Collateral hemodynamics after middle cerebral artery occlusion in Wistar and Fischer-344 rats. *Brain Res.* 793 (1—2) : 289—296. 1998.
- [10] Hoyte L. C., Papadakis M., Barber P. A., Buchan A. M. Improved regional cerebral blood flow is important for the protection seen in a mouse model of late phase ischemic preconditioning. *Brain Res.* 1121 (1) : 231—237. 2006.
- [11] Kaplan B., Brint S., Tanabe J., Jacewicz M., Wang X. T., Pulsinelli W. Temporal thresholds for neocortical infarction in rats subjected to reversible focal cerebral ischemia. *Stroke*. 22 : 1032—1039. 1991.
- [12] Kitagawa K., Matsumoto M., Tagaya M., Hata R., Ueda H., Niinobe M., Handa N., Fukunaga R., Kimura K., Mikoshiba K. «Ischemic tolerance» phenomenon found in the brain. *Brain Res.* 528 : 21—24. 1990.
- [13] Koizumi J., Yoshida Y., Nakazawa T., Ooneda G. Experimental studies of ischemic brain edema. I. A new experimental model of cerebral embolism in rats in which recirculation can be introduced in the ischemic area. *Jpn. J. Stroke*. 8 : 1—8. 1986.
- [14] Longa E. Z., Weinstein P. R., Carlson S., Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke*. 20 (1) : 84—91. 1989.
- [15] Matsushima K., Hakim A. M. Transient forebrain ischemia protects against subsequent focal cerebral ischemia without changing cerebral perfusion. *Stroke*. 26 (6) : 1047—1052. 1995.
- [16] Meyer J. S., Denny-Brown D. The cerebral collateral circulation. I. Factors influencing collateral blood flow. *Neurology*. 7 (7) : 447—458. 1957.
- [17] Murry C. E., Jennings R. B., Reimer K. A. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*. 74 (5) : 1124—1136. 1986.
- [18] Nakamura H., Katsumata T., Nishiyama Y., Otori T., Katsura K., Katayama Y. Effect of ischemic preconditioning on cerebral blood flow after subsequent lethal ischemia in gerbils. *Life Sci.* 78 (15) : 1713—1719. 2006.
- [19] Nakamura M., Nakakimura K., Matsumoto M., Sakabe T. Rapid tolerance to focal cerebral ischemia in rats is attenuated by adenosine A1 receptor antagonist. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 22 (2) : 161—170. 2002.
- [20] Stagliano N. E., Pérez-Pinzón M. A., Moskowitz M. A., Huang P. L. Focal ischemic preconditioning induces rapid tolerance to middle cerebral artery occlusion in mice. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 19 (7) : 757—761. 1999.
- [21] Woitzik J., Hecht N., Schneider U. C., Peña-Tapia P. G., Vajkoczy P. Increased vessel diameter of leptomeningeal anastomoses after hypoxic preconditioning. *Brain Res.* 1115 (1) : 209—212. 2006.
- [22] Yellon D. M., Downey J. M. Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology. *Physiol. Rev.* 83 (4) : 1113—1151. 2003.
- [23] Zhao L., Nowak T. S., jr. CBF changes associated with focal ischemic preconditioning in the spontaneously hypertensive rat. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 26 (9) : 1128—1140. 2006.

Поступила 24 IV 2009