

Эндогенная нейропротекция при ишемии мозга: эритропоэтин, пре- и посткондиционирование

А.А. Шмонин, И.Ю. Панов, А.В. Симаненкова, М.С. Просвирнина, С.С. Чеканов, Е.В. Мельникова, Т.Д. Власов

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова;
Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В. А. Алмазова;
Институт экспериментальной медицины РАМН (Санкт-Петербурге)

Ишемическое прекондиционирование (ПреКон) — феномен повышения устойчивости головного мозга к ишемическому и реперфузионному повреждению после коротких эпизодов ишемии и реперфузии. Эритропоэтин (ЭПО) рассматривается как один из медиаторов ПреКон и может быть использован как нейропротектор в остром периоде ишемического инсульта. Цель исследования: изучить нейропротективные эффекты ЭПО, одно- и двукратного ПреКон и посткондиционирования (ПостКон) при фокальной ишемии головного мозга у крыс. Транзиторную фокальную ишемию мозга моделировали путем перевязки корковой ветви левой средней мозговой артерии и двусторонней окклюзии обеих общих сонных артерий (ОСА) на 40 мин. ЭПО в дозе 2500 и 5000 МЕ/кг вводили внутривенно за 30 мин до ишемии. Для воспроизведения одно- и двукратного ПреКон использовали одно- и двукратную окклюзию ОСА на 5 мин с пятиминутными интервалами реперфузии. Для воспроизведения ишемического ПостКон использовали десять эпизодов десятисекундной окклюзии ОСА с десятисекундными интервалами реперфузии. После моделирования ишемии развивается инфаркт мозга, расположенный преимущественно в коре левой височной доли. Введение ЭПО в дозе 2500 и 5000 МЕ/кг, одно- и двукратное ПреКон, ПостКон значимо снижают размер инфаркта ($p < 0,05$) по сравнению с особями контрольной группы. Введение ЭПО в дозе 5000 МЕ/кг уменьшает выраженность неврологического дефицита ($p < 0,05$). Двукратное ПреКон, ПостКон и введение ЭПО в дозе 5000 МЕ/кг уменьшают выраженность отека головного мозга ($p < 0,05$). Введение ЭПО в дозе 2500 и 5000 МЕ/кг, одно- и двукратное ПреКон уменьшают выраженность постишемической гипоперфузии. Таким образом, ПреКон и ПостКон, как и предшествующее введение ЭПО приводят к нейропротективному эффекту при фокальной ишемии мозга, при том что ЭПО оказывает дозозависимый защитный эффект. ЭПО и ПреКон уменьшают выраженность постишемической гипоперфузии.

Ключевые слова: фокальная ишемия мозга, инсульт, некроз, прекондиционирование, посткондиционирование, эритропоэтин, нейропротекция

Ишемический инсульт является одной из ведущих причин смертности и инвалидизации в большинстве промышленно развитых стран мира. В связи с этим поиск воздействий, способных ослаблять выраженность ишемического и реперфузионного повреждения мозга, остается одной из важнейших задач современной медицины. Приоритетным направлением в решении задачи борьбы с ишемическим и реперфузионным повреждением считается эндогенная нейропротекция [6, 11].

Эндогенная нейропротекция — это способ повышения устойчивости ткани головного мозга за счет активации собственных механизмов адаптации [6]. Примером может быть ишемическое пре- и посткондиционирование, гипертония, введение фармакологических средств (эритропоэтина, опиоидов, аденозина и др.).

Наиболее выраженным защитным эффектом обладает ишемическое прекондиционирование. Прекондиционирование — это повышение устойчивости ткани к ишемическому и реперфузионному повреждению, возникающее после умеренных повреждающих воздействий [1, 2, 6]. Анализ механизмов ишемического прекондиционирования позволил выделить ряд веществ, способных вызвать эндогенный защитный ответ без умеренного повреждающего воздействия эритропоэтин, аденозин, брадикинин, опиоиды, донаторы NO, активаторы K_{ATP} -чувствительных каналов, ингаляционные анестетики и др. [5, 6, 15].

Другим вариантом эндогенной нейропротекции считается ишемическое посткондиционирование. При посткондиционировании в реперфузионном периоде после ишемии воспроизводят несколько коротких эпизодов ишемии и реперфузии [17, 19]. Впервые эффект посткондиционирования был продемонстрирован китайским автором Н. Zhao в 2006 г. [18, 19].

Пре- и посткондиционирование имеют много общих механизмов (активация K_{ATP} -чувствительных каналов, блокирование митохондриальной поры, активация RISK-киназ и др.), и, следовательно, их можно рассматривать как единый защитный феномен, наблюдаемый на различных этапах повреждения [6, 15]. Применение ишемического прекондиционирования сопряжено с целым рядом сложностей технического (точное знание времени начала ишемии), и этического плана (необходимость воспроизведения ятрогенной ишемии). Применение посткондиционирования рассматривается как один из перспективных методов нейропротекции, поскольку позволяет осуществлять терапевтические воздействия, когда ишемия уже произошла. Это особенно актуально в связи с развитием методов тромболитической терапии ишемических инсультов во всем мире и в нашей стране. Однако применение посткондиционирования ограничено обязательным условием наличия реперфузии и точного знания времени ее наступления, что в клинической практике встречается не часто.

Отдельно хотелось бы отметить, что существуют две разновидности пре- и посткондиционирования: раннее и позднее [2, 3, 16, 19]. Ранним ишемическим прекодиционированием называется защита, возникающая сразу после эпизодов адаптирующей короткой ишемии, а раннее ишемическое посткондиционирование (по аналогии) воспроизводится в раннем реперфузионном периоде. Особенность данных способов воздействия заключается в вовлечении не связанных с синтезом белка механизмов защиты — тех, которые имеются в клетке на момент воздействия адаптирующих стимулов. Данные варианты защиты перспективно использовать в сосудистой хирургии брахиоцефальных артерий, так как эпизоды короткой ишемии и реперфузии воспроизводятся непосредственно до или после оперативного приема, который может сопровождаться ятрогенной ишемией.

Наравне с ранними методами существует феномены отсроченного пре- и посткондиционирования мозга [2, 16, 19], при которых повреждение и защита разнесены во времени на период от шести часов до семи суток. Особенностью данной адаптации является вовлечение механизмов синтеза белка для защиты мозга. Так, в работе Leconte et al [12] показана роль эритропоэтина в развитии эффекта отсроченного посткондиционирования, а в публикации Malhotra S. et al [13] — его роль в механизмах отсроченного ишемического прекодиционирования. Данные феномены не применимы для хирургической практики во время операций.

В данной статье рассматриваются феномены раннего пре- и посткондиционирования, и раннего введения эритропоэтина. Они не изучены должным образом (основная масса исследователей посвятили свои работы защитным эффектам отсроченных феноменов [16, 19]), хотя могут быть рассмотрены как более перспективные для применения в сосудистой хирургии.

Также причинами проведения исследования стали отсутствие четких данных о сроках ишемии, при которых введение эритропоэтина оказывает нейропротективный эффект, отсутствие комплексной оценки защитного эффекта эритропоэтина в работах других авторов, отсутствие данных о сравнении эффекта эритропоэтина с защитным эффектом «золотого стандарта» — ишемического прекодиционирования при ишемии головного мозга.

Целью нашего исследования была сравнительная оценка нейропротективных свойств эритропоэтина, ишемического пре- и посткондиционирования при фокальной ишемии мозга у крыс.

Материалы и методы

Исследование проводили на самцах крыс линии Вистар ($n = 40$), наркотизированных хлоралгидратом. Для моделирования транзиторной фокальной ишемии выполняли перевязку полипропиленовой нитью (7–0) корковой ветви левой средней мозговой артерии (ЛСМА), доступ к которой осуществляли через трепанационное окно в проекции ЛСМА. Далее, производили 40-минутное клипирование обеих общих сонных артерий (по методике Zhao, 2006) [18].

Для диагностики повреждения мозга при фокальной ишемии использовали оценку размера инфаркта, неврологического дефицита по шкале Гарсия, кровотока в зоне ишемии (с применением высокочастотной ультразвуковой доплерографии) и выраженности отека мозга.

Оценка размера зоны повреждения и выраженности отека мозга производилась с помощью количественного анализа срезов мозга, окрашенных гистохимически хлоридом трифенилтетразолия. Для этого срезы головного мозга толщиной 2 мм инкубировали в 0,1% растворе трифенилтетразолия хлорида (MP Biomed., США) при $t = 37,0^\circ\text{C}$ в течение 15 мин. Затем получали цифровые фотографии поверхности срезов. Анализировалось пять срезов мозга толщиной 3 мм, произведенных во фронтальной плоскости. Вычислялись средний относительный показатель объема инфаркта и коэффициент асимметрии полушарий головного мозга (процентное отношение объемов пораженного и непораженного полушарий).

Оценка кровотока. Магистральный кровоток оценивали в ЛСА, для чего использовали метод высокочастотной ультразвуковой доплерографии при помощи прибора «Минимакс-Допплер-К» (Минимакс, Санкт-Петербург). В бассейне ЛСА регистрировали систолическую и диастолическую линейные скорости за 30 мин до моделирования ишемии, после прекодиционирования (если оно проводилось), после окклюзии обеих общих сонных артерий, после начала ишемии и каждые 10 мин на протяжении ишемии и реперфузии.

Неврологический дефицит анализировали по шкале Гарсия [8], которая включает балльную оценку общей двигательной активности животного, силы координации движения и чувствительности.

Эритропоэтин («Янссен-Силаг») вводили в дозе 2500 ЕД/кг и 5000 ЕД/кг внутривенно за 30 мин до ишемии. К началу ишемии концентрация препарата достигала необходимой терапевтической. Для воспроизведения ишемического прекодиционирования использовали один или два эпизода пятиминутной окклюзии обеих общих сонных артерий (ОСА) через 5 мин реперфузии, а для посткондиционирования — десять эпизодов десятисекундной окклюзии ОСА через 10 с реперфузии в раннем реперфузионном периоде после ишемии мозга (начало процедуры — через 10 с после начала реперфузии).

Протокол эксперимента включал следующие группы животных (рис. 1):

- № 1 ($n = 6$) — перевязка ЛСМА и 40-минутное клипирование обеих ОСА, определение размера зоны повреждения через 48 часов;
- № 2 ($n = 6$) — так же, как в группе № 1, но с предшествующим введением эритропоэтина в дозе 2500 Ед/кг;
- № 3 ($n = 6$) — так же, как в группе № 1, но с предшествующим введением эритропоэтина в дозе 5000 Ед/кг;
- № 4 ($n = 6$) — так же, как в группе № 1, но с предшествующим однократным ишемическим прекодиционированием (1×5 мин);
- № 5 ($n = 6$) — так же, как в группе № 1, но с предшествующим двукратным ишемическим прекодиционированием (2×5 мин);
- № 6 ($n = 5$) — так же, как в группе № 1, но с ишемическим посткондиционированием (10×10 с) сразу же после восстановления кровотока.

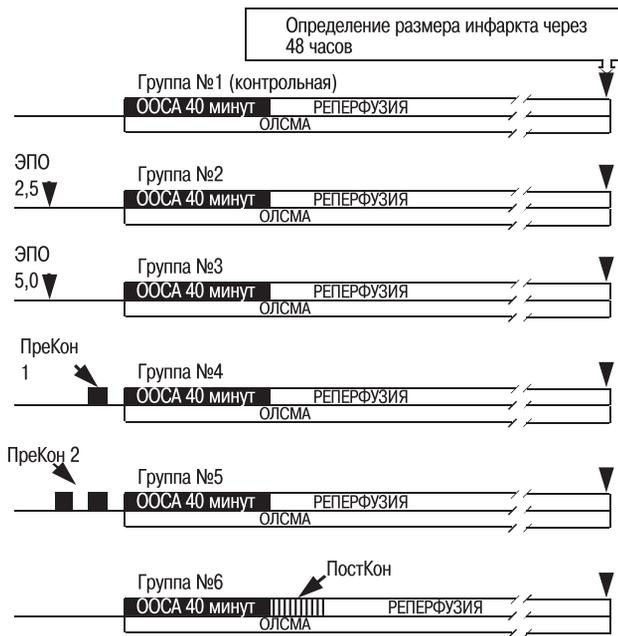


рис. 1: Протокол эксперимента

Обозначения:

ЭПО 2,5 – эритропоэтин в дозе 2500 Ед./кг;
ЭПО 5,0 – эритропоэтин в дозе 5000 Ед./кг;
ООСА – окклюзия обеих общих сонных артерии;
ОЛСМА – окклюзия левой средней мозговой артерии;
ПреКон 1 – однократное ишемическое preconditionирование;
ПреКон 2 – двукратное ишемическое preconditionирование;
ПостКон – ишемическое postconditionирование.

Статистический анализ данных осуществлялся с помощью программного пакета SPSS 12,0. Для статистической оценки двух независимых выборок использовали критерий Манна-Уитни, а для двух зависимых – критерий Вилкоксона. Результаты представляются в виде точечных диаграмм и диаграмм – «ящики и усы».

Результаты

Через 48 часов после моделирования фокальной ишемии мозга путем витальной окраски с применение трифенилтетразолия хлорида выявлялся очаг повреждения в головном мозге, соответствующий бассейну ЛСМА, который распространялся на кору и подкорковые образования. Результат количественной оценки размера инфаркта мозга представлен на рис. 2.

Как видно из рис. 2, введение эритропоэтина в дозе 2500 (группа № 2, $p = 0,025$) и 5000 Ед./кг (группа № 3, $p = 0,004$), однократное preconditionирование (группа № 4, $p = 0,02$) и postconditionирование (группа № 6, $p = 0,017$), привели к достоверному уменьшению размера инфаркта по сравнению с контрольной группой (группа № 1). Однако применение двукратного preconditionирования (группа № 5, $p = 0,465$) не приводило к значимому уменьшению повреждения по сравнению с контрольной группой (группа № 1).

Исходно у крыс всех экспериментальных групп не наблюдалось неврологических нарушений, и они имели максимальное количество баллов (18) по шкале Гарсия. Результат

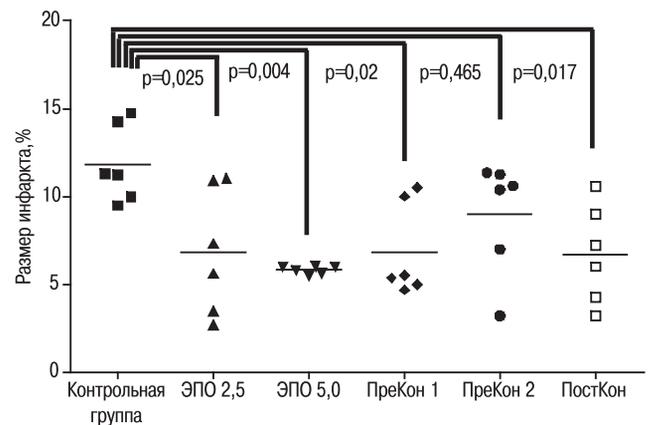


рис. 2: Размер некроза

Обозначения:

ЭПО 2,5 – эритропоэтин в дозе 2500 Ед./кг;
ЭПО 5,0 – эритропоэтин в дозе 5000 Ед./кг;
ООСА – окклюзия обеих общих сонных артерии;
ОЛСМА – окклюзия левой средней мозговой артерии;
ПреКон 1 – однократное ишемическое preconditionирование;
ПреКон 2 – двукратное ишемическое preconditionирование;
ПостКон – ишемическое postconditionирование.

оценки неврологических расстройств на вторые сутки после моделирования ишемии мозга представлен на рис. 3.

После воспроизведения ишемии у крыс контрольной группы возникли неврологические расстройства (медиана – 14,0 баллов). Введение эритропоэтина в дозе 5000 Ед./кг и однократное preconditionирование значимо ($p = 0,010$ и $p = 0,027$, соответственно) уменьшали выраженность неврологического дефицита (медиана – 17,0 и 15,0 баллов соответственно) по сравнению с контрольной группой, а использование эритропоэтина в дозе 2500 Ед./кг значимо

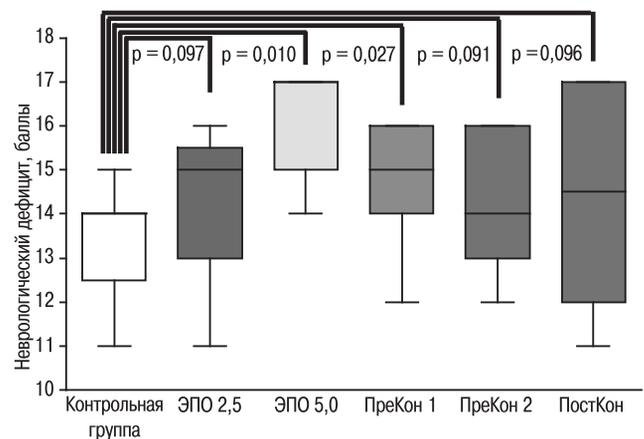


рис. 3: Неврологический дефицит

Обозначения:

ЭПО 2,5 – эритропоэтин в дозе 2500 Ед./кг;
ЭПО 5,0 – эритропоэтин в дозе 5000 Ед./кг;
ПреКон 1 – однократное ишемическое preconditionирование (5 мин ишемии – 5 мин реперфузии);
ПреКон 2 – двукратное ишемическое preconditionирование (два эпизода по схеме «5 мин ишемии – 5 мин реперфузии»);
ПостКон – ишемическое postconditionирование.

не изменяло восстановление нарушенных функций (медиана — 15,0 баллов по шкале Гарсия, $p = 0,097$). Степень неврологических нарушений при применении двукратного прекодиционирования (медиана — 15,0 баллов) была недостоверно меньше по сравнению с контрольной группой ($p = 0,91$). Ишемическое посткодиционирование приводило к статистически не значимому ($p = 0,096$) восстановлению нарушенных неврологических функций по сравнению с контрольной группой.

Косвенным признаком отека головного мозга является асимметрия полушарий. Оценка степени асимметрии (рис. 4) показала, что введение эритропозтина в дозировке 5000 Ед./кг, посткодиционирование, двукратное прекодиционирование приводят к уменьшению выраженности отека головного мозга по сравнению с контрольной группой ($p = 0,016$, $p = 0,018$ и $p = 0,018$ соответственно), а однократное прекодиционирование и введение эритропозтина в дозировке 2500 Ед./кг не влияет на выраженность отека мозга ($p = 0,055$ и $p = 0,033$ соответственно).

Исходно кровоток во всех группах не отличался от контрольной группы и в среднем составил $50 \pm 9,0$ см/с. При перевязке ЛСМА и клипировании обеих ОСА происходило снижение систолической линейной скорости, однако кровоток сохранялся на уровне $3,08 \pm 0,61$ см/с (в среднем для всех групп), вероятно, за счет существования развитой сети коллатерального кровообращения.

На этапе ишемии график кровотока по форме характеризовался низкими показателями систолиадиастолической разницы. При снятии клипс кровоток по ОСА восстанавливался, а ЛСМА оставалась перевязанной.

В период реперфузии регистрировали восстановление кровотока во всех группах, однако наблюдался низкий уровень линейных скоростных показателей по сравнению с исходным, что свидетельствует о развитии синдрома постишемической гипоперфузии. Во всех опытных группах линейные показатели кровотока во время ишемии и на пятой

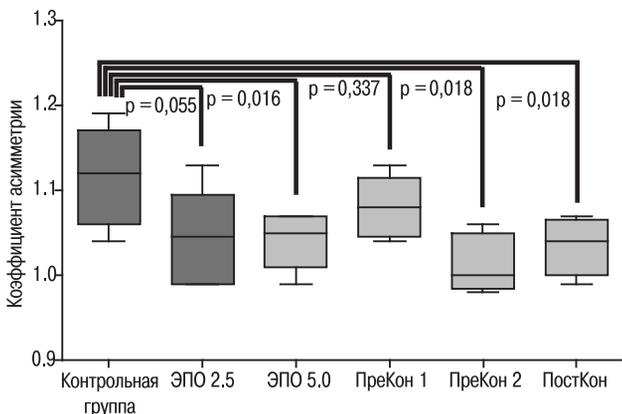


рис. 4: Асимметрия полушарий – выраженность отека головного мозга крыс

Обозначения:

ЭПО 2,5 – эритропозтин в дозе 2500 Ед./кг;

ЭПО 5,0 – эритропозтин в дозе 5000 Ед./кг;

ПреКон 1 – однократное ишемическое прекодиционирование (5 мин ишемии – 5 мин реперфузии);

ПреКон 2 – двукратное ишемическое прекодиционирование(два эпизода по схеме «5 мин ишемии – 5 мин реперфузии»);

ПостКон – ишемическое посткодиционирование.

таблица 1: Оценка кровотока во всех группах эксперимента

№ группы	Систолическая линейная скорость на разных этапах эксперимента; среднее арифметическое и стандартное отклонение, см/с					
	Исходно	Через 30 мин	Начало ишемии	Конец ишемии	Начало реперфузии	20 мин после начала реперфузии
1 (контрольная)	41 ± 18	37 ± 15	2,8 ± 0,8	2,4 ± 0,8	7,3 ± 2,3	8,1 ± 1,8
2 (ЭПО 2500 Ед./кг)	43 ± 21	37 ± 10	3,8 ± 1,7	3,1 ± 1,3	10,9 ± 7,0	15,52 ± 3,6*
3 (ЭПО 5000 Ед./кг)	60 ± 11	38 ± 20	3,2 ± 1,6	2,4 ± 1,1	15,0 ± 4,0*	15,76 ± 6,7*
4 (ПреКон 1)	59 ± 15	36 ± 18	2,2 ± 1,8	2,8 ± 1,7	9,0 ± 2,2	17,0 ± 6,9*
5 (ПреКон 2)	48 ± 11	34 ± 17	3,6 ± 2,2	3,4 ± 1,1	14,16 ± 5,8	16,7 ± 7,1*
6 (ПостКон)	45 ± 19	36 ± 16	2,7 ± 0,5	2,6 ± 0,9	13,33 ± 3,6	11,6 ± 3,69

Обозначения:

ЭПО 2,5 – эритропозтин в дозе 2500 Ед./кг;

ЭПО 5,0 – эритропозтин в дозе 5000 Ед./кг;

ПреКон 1 – однократное ишемическое прекодиционирование (5 мин ишемии – 5 мин реперфузии);

ПреКон 2 – двукратное ишемическое прекодиционирование(два эпизода по схеме «5 мин ишемии – 5 мин реперфузии»);

ПостКон – ишемическое посткодиционирование.

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с группой № 1.

минуте реперфузии не отличались от контрольной группы (табл. 1).

На 20-й минуте реперфузии в группах, где вводился эритропозтин по 2500 Ед./кг ($15,52 \pm 3,6$ см/с) или эритропозтин по 5000 Ед./кг ($15,76 \pm 6,7$ см/с), воспроизводилось однократное ($17,0 \pm 6,9$ см/сек) или двукратное прекодиционирование ($16,7 \pm 7,1$ см/с), выявлены статистически более высокие ($p < 0,05$) показатели кровотока по сравнению с контрольной группой ($8,1 \pm 1,8$ см/с). В группе, где воспроизводилось посткодиционирование, выявлено незначимое повышение уровня систолической линейной скорости ($11,6 \pm 3,69$ см/с) по сравнению с контрольной ($8,1 \pm 1,8$ см/с). Таким образом, применение с защитной целью эритропозтина в двух дозировках, моделирование прекодиционирования приводило к уменьшению выраженности постишемической гипоперфузии, но применяемые методики не влияли на магистральный кровоток во время ишемии и на 10-й минуте реперфузии.

В табл. 2 представлены данные статистической обработки (уровень значимости) по всем группам. Статистически значимые показатели выделены жирным шрифтом (значимым считалось $p < 0,05$). Серии экспериментов расположены соответственно степени выявленного защитного эффекта.

таблица 2: Уровень значимости во всех группах по сравнению с контрольной (на основании критерия Манна-Уитни)

Группа	Некроз	Кровоток на 20-й минуте реперфузии	Неврологический дефицит	Выраженность отека мозга
ЭПО 5,0	0,003	0,010	0,010	0,016
ПреКон 1	0,020	0,006	0,027	0,337
ЭПО 2,5	0,024	0,006	0,097	0,055
ПостКон	0,017	0,100	0,096	0,018
ПреКон 2	0,465	0,028	0,091	0,018

Обозначения:

ЭПО 2,5 – эритропоэтин в дозе 2500 Ед./кг;

ЭПО 5,0 – эритропоэтин в дозе 5000 Ед./кг;

ПреКон 1 – однократное ишемическое прекодиционирование (5 мин ишемии – 5 мин реперфузии);

ПреКон 2 – двукратное ишемическое прекодиционирование (два эпизода по схеме «5 мин ишемии – 5 мин реперфузии»);

ПостКон – ишемическое посткодиционирование.

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с группой № 1.**Обсуждение**

«Золотым стандартом» изучения нейропротективных эффектов является оценка инфаркт-лимитирующего эффекта [2]. Все предложенные нейропротективные методы, за исключением двукратного прекодиционирования, способны уменьшить размер некроза мозга, что согласуется с данными литературы [1, 14, 18, 19]. По-видимому, один эпизод окклюзии обеих ОСА вызывает умеренное повреждение, которое способно запустить защитные механизмы. Два эпизода окклюзии обеих ОСА приводят к суммированию повреждений, а не к адаптации. Похожие эффекты были продемонстрированы в работах по изучению кардиопротективного эффекта ишемического прекодиционирования [3]. На основании этих данных можно заключить о наличии порога умеренного повреждения. Эти данные могут быть важны при разработке методов интраоперационной защиты мозга человека от ишемии с применением прекодиционирования.

Защитный эффект может проявляться уменьшением размера некроза. При этом причиной защиты может быть влияние на метаболизм нейронов, уменьшение выраженности отека мозга и изменение кровотока в магистральных артериях во время ишемии и реперфузии.

Различные методы эндогенной нейропротекции обладают разными механизмами защиты, что проявляется возможностью влиять на постишемическую гипоперфузию, но не на выраженность отека головного мозга. Это может быть

связано с различной чувствительностью нейронов, глиальных клеток и эндотелиоцитов к ишемии и, соответственно, к адаптации. Постишемическая гипоперфузия развивается из-за повреждения эндотелия и локальной эндотелиальной дисфункции. Отек мозга — из-за повреждения глиальных клеток, которые регулируют ионный баланс и содержание влаги. Вероятно, этим объясняется отсутствие инфаркт-лимитирующего эффекта у двукратного прекодиционирования, но при этом оно уменьшает выраженность постишемической гипоперфузии и отек мозга. Два эпизода окклюзии обеих ОСА вызывают запуск механизмов адаптации в глиальных клетках и эндотелиоцитах, но, по-видимому, приводят к повреждению нейронов. Напротив, однократное прекодиционирование способно вызвать адаптацию как нейронов, так и эндотелиоцитов и глиальных клеток, приводя к более выраженному защитному эффекту.

Защитные эффекты прекодиционирования и эритропоэтина развиваются как за счет непосредственно цитопротективного эффекта, так и влияния на постишемическую гипоперфузию. Посткодиционирование оказало меньший защитный эффект — ведь оно проводится, когда ишемия уже состоялась. Посткодиционирование защищает от реперфузионного повреждения и не влияет на циркуляторные нарушения, которые развиваются во время ишемии и проявляют себя на 20-й минуте реперфузии. Эти данные не согласуются с результатами других авторов [16, 19]. Основной причиной несоответствия является отсутствие сравнения обсуждаемых феноменов в одном исследовании.

Неврологический дефицит способны уменьшить те способы протекции, которые вызывают только выраженную защиту от гибели нейронов, отека и постишемической гипоперфузии.

Таким образом, нами продемонстрирован комплексный нейропротективный эффект раннего пре- и посткодиционирования и раннего введения эритропоэтина при фокальной транзиторной ишемии головного мозга. При сопоставлении различных методов эндогенной нейропротекции, эритропоэтин продемонстрировал наилучший защитный эффект. Учитывая, что эритропоэтин является разрешенным препаратом и его введение не связано с техническими сложностями либо этическими проблемами, его использование для эндогенной нейропротекции при ишемическом инсульте и защиты от ятрогенной ишемии при операциях на сосудах мозга может быть рассмотрено как наиболее перспективное [7, 10, 14].

Авторы выражают благодарность директору Института экспериментальной медицины ФЦ сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова М.М. Галаудзе за помощь при проведении исследования.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Правительства Санкт-Петербурга для студентов в 2009 г.

Список литературы

1. Власов Т.Д., Байса А.Е., Шмонин А.А. и др. Защитный эффект ишемического preconditionирования при фокальной ишемии головного мозга крысы различной продолжительности. Клиническая патофизиология 2008; 1: 54–57.
2. Власов Т.Д., Коржевский Д.Э., Полякова Е.А. Ишемическая адаптация головного мозга крысы как метод защиты эндотелия от ишемического/реперфузионного повреждения. Росс. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. 2004. 90: 40–48.
3. Галагудза М.М. Сравнительная оценка кардиопротективной эффективности локальной и дистантной ишемической адаптации миокарда. Дис. ... канд. мед. наук. СПб, 2001.
4. Захаров Ю.М. Негемопоэтические функции эритропоэтина. Росс. физиол. журн. им. И.М.Сеченова 2007; 93: 592–608.
5. Строев С.А., Самойлов М.О. Эндогенные антиоксиданты и гипоксическая толерантность мозга. СПб: Институт физиологии им. И.П.Павлова РАН, 2006.
6. Dirnagl U., Meisel A. Endogenous neuroprotection: mitochondria as gateways to cerebral preconditioning? Neuropharmacology 2008; 55: 334–344.
7. Ehrenreich H. Erythropoietin therapy for acute stroke is both safe and beneficial. Mol. Med. 2002; 8: 495–505.
8. Garcia J.H., Wagner S., Liu K.-F., Hu X.-J. Neurological deficit and extent of neuronal necrosis attributable to middle cerebral artery occlusion: statistical validation. Stroke 1995; 26: 627–635.
9. Gross E.R., Gross G.J. Ligand triggers of classical preconditioning and postconditioning. Cardiovasc. Res. 2006; 70: 212–221.
10. Erythropoietin and the nervous system novel therapeutic options for neuroprotection (ed. A. Höke) NY: Springer, 2006.
11. Labiche L.A., Grotta J.C. Clinical trials for cytoprotection in stroke. NeuroRx: The Journal of the American Society for Experimental Neurotherapeutics 2004; 1: 46–70.
12. Leconte et al. Delayed hypoxic postconditioning protects against cerebral ischemia in the mouse, Stroke 2009; 40: 3349–3355.
13. Malhotra S., Savitz S.I., Ocava L., Rosenbaum D.M. Ischemic preconditioning is mediated by erythropoietin through PI-3 kinase signaling in an animal model of transient ischemic attack. J. Neurosci. Res. 2006; 83: 19–27.
14. Minnerup J. The efficacy of erythropoietin and its analogues in animal stroke models: a meta-analysis. Stroke 2009; 40: 3113–3120.
15. Pignataro G., Scorziello A., Di Renzo G., Annunziato L. Post-ischemic brain damage: effect of ischemic preconditioning and postconditioning and identification of potential candidates for stroke therapy. FEBS J. 2009; 276: 46–57.
16. Ren C., Gao X., Niu G. et al. Delayed Postconditioning protects against focal ischemic brain injury in rats. PLoS ONE 2008; 3 (12): 1–12.
17. Wang J.Y., Shen J., Gao Q. et al. Ischemic postconditioning protects against global cerebral ischemia/reperfusion-induced injury in rats. Stroke 2008; 39: 983–990.
18. Zhao H., Sapolsky R.M., Steinberg G.K. Interrupting reperfusion as a stroke therapy: ischemic postconditioning reduces infarct size after focal ischemia in rats. J. Cereb. Blood. Flow. Metab. 2006; 26: 1114–1121.
19. Zhao H. Ischemic postconditioning as a novel avenue to protect against brain injury after stroke. J. Cereb. Blood Flow Metab. 2009; 29: 873–885.

Endogenous neuroprotection during focal brain ischemia in rats: erythropoietin, ischemic pre- and postconditioning

A.A. Shmonin, I.Y. Panov, A.V. Simanenkova, M.S. Prosvirina, S.S. Chekanov, E.V. Melnikova, T.D. Vlasov

Saint-Petersburg I.P. Pavlov State Medical University;

V.A. Almazov Federal Centre of Heart, Blood and Endocrinology;

Institute of Experimental Medicine, Russian Academy of Medical Sciences (Saint-Petersburg)

Key words: focal brain ischemia, stroke, necrosis, preconditioning, postconditioning, erythropoietin, neuroprotection

The aim of the present study was to investigate neuroprotective effects of erythropoietin (EPO), and ischemic pre- and postconditioning in a rat model of focal cerebral ischemia. Adult male Wistar rats were subjected to a 40-min bilateral common carotid artery (CCA) occlusion and permanent ligation of the cortical branch of the middle cerebral artery (MCA). Preconditioning protocol consisted of either one or two episodes of 5-min CCA occlusion with 5-min reperfusion prior to test ischemia (PreCon 1 and PreCon 2). Postconditioning (PostCon) protocol comprised 10 episodes of 10-s CCA occlusion followed by 10-s reperfusion intervals. After modelling of ischemia, brain infarct occurred predominantly in the left temporal cortex. EPO administration at

doses of 2500 and 5000 U/kg 30 minutes prior to ischemia, PreCon 1 and PostCon reduced significantly the infarct size ($p < 0.05$) compared to controls. EPO at dose of 5000 U/kg reduced the severity of neurological deficit ($p < 0.05$). EPO at both doses, PreCon 1 and PreCon 2 were shown to ameliorate postischemic cerebral blood flow. Brain edema was significantly smaller in the EPO arm at dose of 5000 U/kg, and in PreCon 2 and PostCon groups. Thus, PreCon and PostCon, as well as prior administration of EPO result in neuroprotective effect in focal cerebral ischemia, and EPO has a dose-dependent protective effect. EPO and PreCon reduce the severity of postischemic hypoperfusion.

Контактный адрес: Шмонин Алексей Андреевич – ст. лаб. каф. неврологии с клиникой СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, мл. науч. сотр. Института экспериментальной медицины Федерального центра сердца, крови и эндокринологии им. В. А. Алмазова. Санкт-Петербург 197022, ул. Льва Толстого, д. 6/8. Тел.: +7 (921) 356-81-36; факс: +7 (812) 234-16-25; e-mail: langendorff@gmail.com

И.Ю. Панов – ст. лаб. кафедры неврологии с клиникой СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова;

А.В. Симаненкова – студ. V курса СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова;

М.С. Просвирнина – студ. V курса СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова;

С.С. Чеканов – студ. VI курса СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова;

Е.В. Мельникова – докт. мед. наук, проф. кафедры неврологии с клиникой СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова;

Т.Д. Власов – докт. мед. наук, проф., зав. кафедры патофизиологии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова (Санкт-Петербург)