

Преко́ндиционирование как метод нейропротекции при моделировании инфаркта мозга

Р.М. Худоевков, Н.С. Самойленкова, С.А. Гаврилова, Ю.А. Пирогов, В.Б. Кошелев

Научный центр неврологии РАМН, Москва;

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

Преко́ндиционирование ишемического и гипоксического типов исследовали как способ защиты мозга от острого ишемического поражения. Экспериментальных крыс подвергали преко́ндиционированию за 24 часа до моделирования у них локального инфаркта мозга, который вызывали путём окклюзии средней мозговой артерии (ОСМА). Обнаружили, что ишемическое и гипоксическое преко́ндиционирование, приводит к трём главным морфологическим изменениям: 1) размер инфаркта мозга в основной группе животных уменьшается в 2,2–3,8 раза по сравнению с крысами, которых не подвергали преко́ндиционированию перед созданием ОСМА; 2) преко́ндиционирование сохраняло число жизнеспособных нейронов в пенумбре на уровне контрольных животных, в то время как без преко́ндиционирования число нейронов в пенумбре уменьшалось на 29%; 3) число клеток нейроглии в пенумбре после ОСМА увеличивалось на 38% по сравнению с контролем и продолжало увеличиваться под влиянием преко́ндиционирования (до 60%), что предполагает важную роль нейроглии в нейропротекции. Селективные блокаторы АТР-зависимых K⁺-каналов (5-гидроксидеканоат и глибенкламид) полностью устранили нейропротекторное действие преко́ндиционирования.

Ключевые слова: преко́ндиционирование, нейропротекция, инфаркт мозга, ишемическая пенумбра, морфометрия, магнитно-резонансная томография.

Острые нарушения мозгового кровообращения превратились в настоящее время в важнейшую медицинскую и социальную проблему [1, 6, 7, 15]. Поэтому одной из актуальных задач неврологии является поиск путей, способствующих защите ткани мозга от ишемического воздействия, или нейропротекции. В качестве нейропротекции может быть использовано преко́ндиционирование ишемического или гипоксического типа. В современной литературе преко́ндиционирование рассматривают как способ адаптации организма к неблагоприятным факторам [22]. Согласно одной из гипотез [25], оно способно репрограммировать ответ генома на последующее воздействие интенсивной ишемии, что представляется перспективным для использования преко́ндиционирования в клинической практике [14]. При этом ишемическое преко́ндиционирование – умеренную циркуляторную гипоксию головного мозга – можно воспроизвести путем попеременного пережатия и реперфузии сонных артерий [2, 10, 23], а гипоксическое преко́ндиционирование – экзогенную гипоксию – путем периодического дыхания газовой смеси, обеднённой кислородом [5, 20].

При исследовании компенсаторно-восстановительных процессов, развивающихся в нервной ткани при ишемии головного мозга, большое внимание уделяется перифокальной зоне инфаркта, или ишемической пенумбре [1, 8, 13, 17, 18, 21]. В связи с тем, что представления о нейроглии в работе мозга в последние годы претерпели значительные изменения (она рассматривается теперь не только как среда, поддерживающая функцию нейронов, но и во многом как равноправный партнер, взаимодействующий с нейронами на нейротрансмиссивном и метаболическом уровнях) [26], исследование структурно-функциональных особенностей нейро-

нов и нейроглии в зоне пенумбры и изменение их взаимоотношений под влиянием преко́ндиционирования может сыграть важную роль в понимании патогенетических механизмов нейропротекции.

Большую роль в реализации защитных свойств преко́ндиционирования в последние годы отводят АТФ-зависимым K⁺-каналам [9, 22, 24]. Их действие связывают с гиперполяризацией мембраны, активацией системы NO и с участием в работе механизмов, противодействующих апоптозу [16, 19].

Цель работы – на модели острой локальной церебральной ишемии с использованием методов количественной морфометрии изучить структурные изменения, возникающие в области инфаркта мозга и в его перифокальной зоне (пенумбре) под влиянием ишемического и гипоксического преко́ндиционирования, а также оценить роль АТФ-зависимых K⁺-каналов в реализации нейропротекторного эффекта различных типов преко́ндиционирования.

Материал и методы

В эксперименте использовали белых беспородных крыс-самцов с массой тела 250–300 г, которых делили на 8 групп, в каждой – по 3 животных. Первая группа – интактный контроль. У крыс 2-й группы путем окклюзии средней мозговой артерии (ОСМА) воспроизводили церебральный полушарный инфаркт, и его параметры служили контролем для оценки эффективности преко́ндиционирования; эта группа была обозначена как «контрольный инфаркт мозга» (КИИМ). Крыс 3-й и 4-й групп вначале подвергали преко́ндиционированию, используя при этом ишемическое (ИшП) и нормобарическое гипоксическое преко́ндиционирование (НГП), а

затем через 1, 24 и 72 часа у них вызывали инфаркт головного мозга путем ОСМА. Животным, входившим в состав групп с 5-й по 8-ю, за 30 мин до preconditionирования (которое выполняли за 24 ч до ОСМА) внутрибрюшинно вводили блокаторы АТФ-зависимых K^+ -каналов: неселективный блокатор глибенкламид (блокатор Glib) и ингибитор митохондриальной изоформы 5-гидроксидеканоат (блокатор 5-HD). Блокатор 5-HD вводили в дозе 40 мг/кг (растворитель 0,9% NaCl), а блокатор Glib – в дозе 20 мг/кг (растворитель диметилсульфоксид). В результате указанные животные получали следующие комбинации воздействий: 5-я группа – блокатор 5-HD + ИшП + ОСМА; 6-я группа – блокатор Glib + ИшП + ОСМА; 7-я группа – блокатор 5-HD + НГП + ОСМА и 8-я группа – блокатор Glib + НГП + ОСМА.

Ишемическое preconditionирование выполняли под общей анестезией подопытных крыс (внутрибрюшинные инъекции хлоралгидрата в дозе 400 мг/кг), с целью чего у них на протяжении 5 мин попеременно пережимали левую и правую сонные артерии (10 циклов продолжительностью 50 мин). Процедуру НГП проводили в режиме интервальной нормобарической тренировки. Животных строго индивидуально помещали в проточную камеру, в которую с помощью гипоксикатора «Эверест-01» подавали газовую смесь с 10% содержанием кислорода. Животным предъявляли 4 эпизода экзогенной гипоксии по 10 минут с 5-минутными интервалами.

При моделировании локального ишемического инсульта [12] у крыс под общей анестезией (хлоралгидрат в дозе 400 мг/кг) коагулировали, используя прибор «Фотек Е 80», левую ветвь средней мозговой артерии, проксимальнее её разветвления на фронтальную и париетальную ветви, а также коагулировали вену, лежащую рядом с артерией, а затем перевязывали левую сонную артерию. Размер и локализацию ишемического поражения в сенсомоторной коре головного мозга крыс определяли через 72 часа после ОСМА – период формирования очага некроза [3], используя для этого метод магнитно-резонансной томографии (МРТ): применялся ЯМР-спектрометр BioSpec 70/30 USR, Bruker, с напряженностью магнитного поля 7 Тесла. С помощью МРТ (под общей анестезией животных) инфаркт мозга исследовали в двух режимах. Быстрый режим давал ориентировочные параметры пораженной зоны, а точную локализацию и четкие границы очага определяли в основном режиме – на 14 фронтальных изображениях мозга, срезы толщиной 1,5 мм, с периодичностью 2 мм. Размер инфаркта оценивали планиметрически, используя программу Image J, и вычисляли его как процентное отношение площади пораженной ткани к площади всей коры левого полушария головного мозга.

Нейрогистологические характеристики ишемической пенумбры оценивали на 21-й день после ОСМА, к моменту формирования в коре головного мозга глиального рубца вокруг пораженного участка. Исследуемых животных, контрольных и подопытных, декапировали под легким эфирным наркозом, их мозг фиксировали в жидкости Карнуа, заключали в парафин, раскладывали на срезы толщиной 7 мкм и окрашивали крезильным фиолетовым по Нислю. В слое V сенсомоторной коры, в области пенумбры, подсчитывали общее число нейронов, выявляющих сохранную гистологическую структуру, и общее число клеток

нейроглии, включая астроциты и олигодендроциты. С этой целью изображение, получаемое в световом микроскопе Лейка DMLB (объектив $\times 40$, окуляр $\times 10$), выводили на экран монитора и с помощью программы QWin считали нервные и глиальные клетки на площади равной $0,087 \text{ мм}^2$, что соответствует полю зрения при данном увеличении микроскопа. На 15 срезах мозга, взятых от каждого животного, исследовали по 2 поля зрения. Для определения нейроглиального показателя, характеризующего соотношение между нейроглией и нейронами, число первых делили на число вторых.

Статистическую обработку результатов осуществляли при помощи пакетов программ «Excel» и «SPSS 13.0» для Windows. Данные представлены в таблицах в виде средних значений \pm стандартное отклонение (SD), n – объем выборки. При сравнении характеристик массивов данных применяли тест One-Way ANOVA с последующим попарным сравнением тестом Duncan'a и непараметрический критерий Mann-Whitney (U-критерий) для независимых выборок с поправкой на множественность сравнений. Различия признавались значимыми при допустимой вероятности ошибки $p < 0,05$.

Результаты

Моделирование фокального ишемического инсульта путем ОСМА приводило к инфаркту нервной ткани в коре больших полушарий мозга крыс. Методом МРТ обнаружили (табл. 1), что область поражения у животных с КИНМ занимала от 17 до 27% общего объема коры одного полушария. В результате проведения ИшП, выполняемого за 1, 24 и 72 часа до ОСМА, зона поражения, по сравнению с размерами КИНМ, уменьшалась в

таблица 1: Влияние различных условий эксперимента на размеры инфаркта мозга у крыс с окклюзией средней мозговой артерии (ОСМА)

	Промежутки времени (часы) между созданием ОСМА и оценкой объема инфаркта мозга		
	1 ч	24 ч	72 ч
Размеры контрольного инфаркта	17,3 \pm 9,2	17,3 \pm 9,2	27,2 \pm 8,9
	Промежутки времени (часы) между влиянием ИшП и НГП и созданием ОСМА		
	1 ч	24 ч	72 ч
Размеры инфаркта после ИшП	4,7 \pm 1,9**	4,5 \pm 1,1**	7,4 \pm 3,6*
Размеры инфаркта после НГП	10,5 \pm 7,1	7,8 \pm 3,7*	21,0 \pm 9,8
Размеры инфаркта после:	Промежутки времени (часы) между влиянием ИшП и НГП, сочетаемых с действием блокаторов 5-HD и Glib, и созданием ОСМА		
	1 ч	24 ч	72 ч
ИшП + блокатор 5-HD	–	15,7 \pm 4,0	–
ИшП + блокатор Glib	–	13,1 \pm 2,5	–
НГП + блокатор 5-HD	–	17,8 \pm 6,9	–
НГП + блокатор Glib	–	20,5 \pm 11,0	–

Размер инфаркта – это площадь пораженной ткани, вычисленная в процентах, по отношению к площади всей коры левого полушария мозга крысы. Контрольный инфаркт – инфаркт мозга, воспроизводимый без предварительного preconditionирования животных – ИшП или НГП. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ – достоверность различий с размерами контрольного инфаркта.

3,7, 3,8 и 3,7 раза соответственно. Нейропротекторное действие НГП было не столь эффективно – оно уменьшало зону поражения в 2,2 раза по сравнению с КИНМ и положительный эффект наблюдали только при проведении НГП за 24 часа до ОСМА. Поэтому при изучении на клеточном уровне эффективности прекондиционирования как способа нейропротекции животных подвергали действию ИшП и НГП только за 24 часа до ОСМА. Блокаторы АТФ-зависимых К⁺-каналов (5-HD и Glib), вводимые крысам за 30 мин до прекондиционирования (ИшП и НГП), не уменьшали зону поражения по сравнению с размерами КИНМ (табл. 1).

Подсчет нейронов и нейроглии в слое V сенсомоторной коры показал (табл. 2), что на 21-й день после ОСМА число нейронов в зоне пенумбры сокращалось на 29% по сравнению с соответствующей областью мозга интактных крыс. ИшП, проводимое за сутки до ОСМА, предотвращало гибель нейронов в пенумбре, поддерживая их число близким к интактному контролю. Защитное действие ИшП отчетливо проявлялось и при сравнении числа нейронов в пенумбре животных, подвергавшихся и не подвергавшихся прекондиционированию. У первых число нейронов в пенумбре было на 40% больше, чем у вторых. Блокаторы АТФ-зависимых К⁺-каналов, вводимые крысам за 30 мин до прекондиционирования, не способствовали сохранности нейронов в перифокальной зоне очага ни по сравнению с интактным контролем, ни по сравнению с КИНМ (табл. 2).

В отличие от нейронов количество нейроглии при воспроизведении инфаркта в мозге подопытных крыс увеличивалось (табл. 2). На 21-й день после ОСМА число клеток нейроглии в зоне пенумбры было на 38% больше,

таблица 2: Влияние различных условий эксперимента с ишемическим прекондиционированием на число нейронов, нейроглии и величину нейроглиального показателя (в слое V сенсомоторной коры) в зоне пенумбры, окружающей инфаркт мозга у крыс

Число нейронов			Число клеток нейроглии			Нейроглиальный показатель		
M ± m	Отклонение в % от:		M ± m	Отклонение в % от:		M ± m	Отклонение в % от:	
	интактного контроля	контрольного инфаркта		интактного контроля	контрольного инфаркта		интактного контроля	контрольного инфаркта
Структуры интактного мозга								
58,8 ± 5,3			54,3 ± 7,2			0,9 ± 0,08		
Структуры зоны пенумбры								
Контрольный инфаркт								
41,6 ± 11,0	-29**		74,7 ± 20,5	+38**		1,82 ± 0,29	+102**	
Влияние ИшП								
58,2 ± 12,3	-1	+40**	78,5 ± 17,0	+45**	+5	1,37 ± 0,26	+52**	-25**
Влияние ИшП и блокатора 5-HD								
45,0 ± 11,9	-23*	+8	80,4 ± 16,	+48**	+8	1,82 ± 0,27	+102**	0
Влияние ИшП и блокатора Glib								
37,0 ± 7,1	-37*	-11	81,8 ± 15,1	+51**	+10	2,27 ± 0,52	+152**	+25

* p<0,05, ** p<0,01

чем в мозге интактных животных. И оно продолжало увеличиваться по сравнению с мозгом интактных крыс: под влиянием ИшП – на 45%, под влиянием ИшП, сочетаемого с блокаторами 5-HD и Glib – на 48 и 51% соответственно. В то же время по сравнению с КИНМ количество нейроглии в пенумбре достоверно не менялось ни под влиянием ИшП, ни при сочетании ИшП с исследуемыми блокаторами.

Нейроглиальный показатель (табл. 2) в пенумбре КИНМ был вдвое выше, чем в структурах мозга интактных крыс. ИшП уменьшало его значение почти на 50% по сравнению с интактным контролем и на 25% – по сравнению с КИНМ. Если ИшП сочетали с введением животным исследуемых блокаторов, то нейроглиальный показатель по сравнению с КИНМ или не изменялся (блокатор 5-HD), или увеличился на 25% (блокатор Glib).

Второй способ прекондиционирования – НГП (табл. 3), проводимый за 24 часа до ОСМА, как и ИшП, предотвращал гибель нейронов в зоне пенумбры, поддерживая их численность на уровне интактного контроля. По сравнению с КИНМ применение НГП увеличивало количество нейронов в зоне пенумбры на 45%. Применение НГП в сочетании с блокаторами АТФ-зависимых К⁺-каналов (табл. 3) не способствовало нормализации числа нейронов.

Под действием НГП число клеток нейроглии в пенумбре (табл. 3) возрастало на 66% по сравнению с интактным контролем и на 21% – по сравнению с пенумброй КИНМ. При воздействии НГП + блокатор 5-HD количество нейроглии в пенумбре увеличивалось вдвое по сравнению с интактным контролем и на 1/3 по сравнению с

таблица 3: Влияние различных условий эксперимента с нормобарическим гипоксическим прекондиционированием на число нейронов, нейроглии и нейроглиальный показатель (в слое V сенсомоторной коры) в зоне пенумбры, окружающей инфаркт мозга у крыс

Число нейронов			Число клеток нейроглии			Нейроглиальный показатель		
M ± m	Отклонение в % от:		M ± m	Отклонение в % от:		M ± m	Отклонение в % от:	
	интактного контроля	контрольного инфаркта		интактного контроля	контрольного инфаркта		интактного контроля	контрольного инфаркта
Структуры интактного мозга								
58,8 ± 5,3			54,3 ± 7,2			0,9 ± 0,08		
Структуры зоны пенумбры								
Контрольный инфаркт								
41,6 ± 11,0	-29**		74,7 ± 20,5	+38**		1,82 ± 0,29	+102**	
Влияние НГП								
60,4 ± 14,1	+3	+45**	90,4 ± 17,7	+66**	+21**	1,50 ± 0,16	+67**	-18*
Влияние НГП и блокатора 5-HD								
53,0 ± 12,6	-10	+27	100,8 ± 22,2	+86**	+35**	1,90 ± 0,24	+111**	+4
Влияние НГП и блокатора Glib								
46,3 ± 20,8	-21	+11	76,4 ± 30,8	+41	+2	1,71 ± 0,32	+90**	-6

* p < 0,05, ** p < 0,01

КИнМ, а под влиянием НГП + Glib оно достоверно не менялось.

Нейроглиальный показатель (табл. 3) в зоне пенумбры демонстрировал высокие значения. У крыс с КИнМ он был вдвое выше (1,82), чем у интактных крыс (0,9), но действие НГП уменьшало его величину на 30% по сравнению с интактным контролем и на 18% по сравнению с КИнМ. Нейроглиальный показатель, сохраняя высокие значения под действием исследуемых блокаторов, мало чем отличался от КИнМ.

Обсуждение

Проведенная работа показала, что прекодиционирование животных по ишемическому или гипоксическому типу, осуществляемое за несколько часов до моделирования локального ишемического инсульта, способствует эффективной защите структур головного мозга в случае возникновения острой церебральной ишемии.

С помощью МРТ было обнаружено, что прекодиционирование, проводимое за сутки до воспроизведения инфаркта в коре головного мозга, значительно уменьшает его размеры: в 3,8 раз – под влиянием ишемического и в 2,2 раз – под влиянием гипоксического прекодиционирования. Эффективность ИшП оказалась выше и на других сроках его применения, за 1 и 72 часа до создания острой ишемии головного мозга.

Нейропротекция, осуществляемая с помощью прекодиционирования, не только уменьшала размеры инфаркта мозга, но и сохраняла в его перифокальной зоне большое количество жизнеспособных нейронов (подсчеты проводили на 21-й день после моделирования инсульта), число которых было близко таковому в мозге интактных крыс. Без нейропротекции, по сравнению с мозгом интактных крыс, в пенумбре гибло около 1/3 нервных клеток. Столь же эффективное действие прекодиционирования обнаружили и при сопоставлении числа нейронов между животными, которые получали и не получали (КИнМ) нейропротекцию. В этом случае защитное действие прекодиционирования сохраняло в пенумбре около 40% жизнеспособных нейронов.

Еще одна особенность структурно-функциональных изменений в мозге животных, подвергавшихся острому ишемическому воздействию – резкий рост нейроглии вокруг ишемического очага. При продуцировании инфаркта число клеток нейроглии в зоне пенумбры увеличивалось на 38% по сравнению с мозгом интактных животных и её количество в указанной зоне поддерживалось на высоком уровне, несмотря на применение нейропротекции.

По данным литературы, нейроглия создает не только постоянную, стабильную внутреннюю среду для нервной ткани, обеспечивая тканевый гомеостазис и нормальное функционирование нервных клеток [4], но она взаимодействует с нейронами через химические и электрические синапсы и участвует в межклеточных связях путем

перемещения ионов, метаболитных факторов и вторичных мессенджеров [26]. В связи с этим повышенный уровень нейроглии, выявленный нами в зоне пенумбры, можно расценить как компенсаторно-восстановительную реакцию структур мозга, направленную на поддержание функции нейронов при ишемическом процессе. Об активации нейроглии вокруг ишемического очага и возможном её участии в репаративных процессах сообщается в отдельных работах [8, 18]. О нарастании репаративных процессов под влиянием нейропротекции свидетельствуют и наши данные, касающиеся уменьшения на 18–25% значений нейроглиального показателя в зоне пенумбры по сравнению с животными, не получавшими прекодиционирование.

По данным литературы, в постшемический период уменьшаются повреждающее действие активных форм кислорода на ткань мозга, воспалительные процессы и проницаемость капилляров, ослабевает вазомоторная дисфункция и активируется репарация ДНК [11, 16, 22], что в целом способствует усилению компенсаторно-восстановительных реакций в зоне пенумбры. Можно предположить, что нейропротекция, осуществляемая с помощью прекодиционирования, предотвращает гибель нейронов в перифокальной зоне инфаркта и поддерживает их жизнеспособность за счет увеличения численности глиальных клеток.

Введение крысам за 30 мин до прекодиционирования блокаторов АТФ-зависимых К⁺-каналов не сопровождалось уменьшением размеров инфаркта мозга и, несмотря на поддержание высокой численности клеток нейроглии в перифокальной зоне, не способствовало предотвращению гибели нейронов (по существу, имело место нивелирование защитного действия прекодиционирования). Если принять во внимание, что АТФ-зависимых К⁺-каналам отводится значительная роль в механизмах прекодиционирования как способа нейропротекции [9, 24, 27], полученные нами данные свидетельствуют о том, что защитное действие прекодиционирования сопряжено с активацией этого типа каналов.

Таким образом, церебральная нейропротекция, достигаемая с помощью ишемического или гипоксического прекодиционирования, проводимого за сутки до моделирования инфаркта мозга, морфологически характеризуется сокращением размеров инфаркта и структурно-функциональными изменениями в зоне пенумбры, что выражается в значительном сохранении в ней числа жизнеспособных нейронов и поддержании в пенумбре высокого числа клеток нейроглии, способствующих сохранению жизнеспособности нейронов. В настоящей работе также было показано, что нейропротекторное действие прекодиционирования сопряжено с активацией митохондриальных АТФ-чувствительных К⁺-каналов.

Выполнение данной работы частично поддержано Государственным контрактом № 02.512.12.2013 Федеральной целевой программы «Исследование и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники» на 2007–2012 годы.

Список литературы

1. *Верещагин Н.В., Моргунов В.А., Гулевская Т.С.* Патология головного мозга при атеросклерозе и артериальной гипертензии. М.: Медицина, 1997.
2. *Власов Т.Д., Коржевский Д.Э., Полякова Е.А.* Ишемическая адаптация головного мозга крысы как метод защиты эндотелия от ишемического/реперфузионного повреждения. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2004; 90: 40–48.
3. *Гусев Е.И., Скворцова В.И.* Ишемия головного мозга. М.: Медицина, 2001.
4. *Данилов Р.К.* Гистология. Эмбриология. Цитология. М.: Медицинское информационное агентство, 2006.
5. *Кошелев В.Б., Крушинский А.Л., Рясина Т.В. и др.* Влияние кратковременной адаптации к гипоксии на развитие острых нарушений мозгового кровообращения у крыс, генетически предрасположенных к эпилепсии. Бюлл. эксп. биол. и мед. 1987; 103: 373–376.
6. *Суслина З.А., Варакин Ю.Я.* Эпидемиологические аспекты изучения инсульта. Время подводить итоги. Анн. клин. эксперим. неврол. 2007; 1: 22–28.
7. *Суслина З.А., Пирадов М.А., Танащян М.М.* Принципы лечения острых ишемических нарушений мозгового кровообращения. В кн.: Суслина З.А. (ред.) Очерки ангионеврологии. М.: Атмосфера, 2005: 206–215.
8. *Back T.* Pathophysiology of the ischemic penumbra – revision of a concept. Cellular and Molecular Neurobiology. 1998; 18: 621–638.
9. *Ballanyi K.* Protective role of neuronal KATP channels in brain hypoxia. J. Exp. Biol. 2004; 207: 3201–3212.
10. *Barone F.C., White R.F., Spera P.A. et al.* Ischemic preconditioning and brain tolerance. Temporal histological and functional outcomes, protein synthesis requirement, interleukin-1 receptor antagonist and early gene expression. Stroke. 1998; 29: 1937–1951.
11. *Cadet J.L., Krasnova I.N.* Cellular and molecular neurobiology of brain preconditioning. Mol. Neurobiol. 2009; 39: 50–61.
12. *Chen S.T., Hsu C.Y., Hogan E.L. et al.* A model of focal ischemic stroke in the rat: reproducible extensive cortical infarction. Stroke. 1986; 17: 738–743.
13. *Davis S.M., Donnan G.A.* Using mismatch on MRI to select thrombolytic responders an attractive hypothesis awaiting confirmation. Stroke. 2005; 36: 1100–1101.
14. *Dirnagl U., Becker K., Meisel A.* Preconditioning and tolerance against cerebral ischemia: from experimental strategies to clinical use. Lancet Neurol. 2009; 8: 398–412.
15. *Hinkle J.L., McKenna Guanci M.* Acute ischemic stroke review. Journal of neuroscience nursing. 2007; 39 (5): 285–310.
16. *Hossmann K.A.* Pathophysiology and therapy of experimental stroke. Cellular and Molec. Neurobiol. 2006; 26: 1057–1083.
17. *Ito U., Kuroiwa T., Nagasao J. et al.* Temporal profiles of axon terminals, synapses and spines in the ischemic penumbra of the cerebral cortex: ultrastructure of neuronal remodeling. Stroke. 2006; 37: 2134–2139.
18. *Mabuchi T., Kitagawa K., Ohtsuki T. et al.* Contribution of microglia / macrophages to expansion of infarction and response of oligodendrocytes after focal cerebral ischemia in rats. Stroke. 2000; 31: 1735–1743.
19. *Manuchina E.B., Downey H.F., Mallet R.T.* Role of nitric oxide in cardiovascular adaptation to intermittent hypoxia. Exp. Biol. Med. 2006; 231: 343–365.
20. *Miller B.A., Perez R.S., Shah A.R. et al.* Cerebral protection by hypoxic preconditioning in the murine model of focal ischemia-reperfusion. Neuroreport. 2001; 12: 1663–1669.
21. *Nedergaard M., Vorstrup S., Astrup J.* Cell density in border zone around old small human brain infarcts. Stroke. 1986; 17: 1129–1137.
22. *Obrenovitch T.P.* Molecular physiology of preconditioning-induced brain tolerance to ischemia. Physiol. Rev. 2008; 88: 211–247.
23. *Racay P., Tatarcova Z., Drgova A. et al.* Effect of ischemic preconditioning on mitochondrial dysfunction and mitochondrial P53 translocation after transient global cerebral ischemia in rats. Neurochem. Rec. 2007; 32: 1823–1832.
24. *Raval A.P., Dave K.R., DeFazio R.A. et al.* ϵ PKC phosphorylates the mitochondrial K^+ ATP channel during induction of ischemic preconditioning in the rat hippocampus. Brain Res. 2007; 1184: 345–353.
25. *Stenzel-Poore M.P., Stevens S.L., King J.S., et al.* Preconditioning reprograms the response to ischemic injury and primes the emergence of unique endogenous neuroprotective phenotypes: a speculative synthesis. Stroke 2007; 38: 680–685.
26. *Verkhartsy A., Butt A.* Glial neurobiology. John Wiley & Sons, 2007.
27. *Watanabe M., Katsura K., Ohsawa I. et al.* Involvement of $mitoK^+$ ATP channel in protective mechanisms of cerebral ischemic tolerance. Brain Res. 2008; 1238: 199–207.

Preconditioning as a method of neuroprotection in a model of brain infarct

R.M. Khudoerkov, N.S. Samojlenkova, S.A. Gavrilova, Yu. A. Pirogov, V.B. Koshelev

Research Center of Neurology, Russian Academy of Medical Sciences;
M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow

Key words: preconditioning, neuroprotection, brain infarct, ischemic penumbra, morphometry, magnetic resonance tomography.

Preconditioning of ischemic and hypoxic type was investigated as a method of protecting brain against acute ischemic injury. The preconditioning methods were applied to experimental rats 24 h before the time when local brain infarct was done by middle cerebral artery occlusion (MCAO). It was found that the ischemic and hypoxic preconditioning resulted in three general morphological changes: 1) the size of infarct zone was reduced by 2.2–3.8 times compared with rats that had not been treated with the preconditioning before MCAO; 2) the preconditioning treatment retained the number of

living neurons in penumbra at the level of control rats, while without the preconditioning neuronal count in the penumbra after MCAO was 29% lower; 3) the number of glial cells in penumbra was increased after MCAO by 38% compared with the control level, and continued to increase under the preconditioning treatment up to 60%, that suggests an important role of neuroglia in neuroprotection. Selective blockers of ATP-dependant K^+ -channels (5-hydroxydecanoate and glibenclamide) completely abolished the neuroprotective effects of the preconditioning.