

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НЕЙРОПРОТЕКЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО И НЕФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ

Руководитель темы Галагудза М.М.

Ответственный исполнитель Баутин А.Е.

Объектом исследования являются мелкие лабораторные животные: крысы самцы линии Wistar, весом 220-250 грамм и самцы песчанок монгольских (*Meriones unguiculatus*) весом 60-80 грамм, у которых моделировалось ишемическое и реперфузионное повреждение головного мозга.

Цель работы — изучение механизмов нейропротекции с использованием фармакологического и нефармакологического прекондиционирования и изучение эффективности применения методов нейропротекции с использованием фармакологического и нефармакологического прекондиционирования в клинической практике и в эксперименте.

По итогам проекта на основе проведенных теоретических и прикладных исследований установлено:

1. Разработана и запатентована новая экспериментальная модель глобальной ишемии головного мозга для мелких лабораторных животных, позволяющая путем окклюзии магистральных сосудов моделировать полную ишемию всех отделов головного мозга.
2. Изучен инфаркт-лимитирующий эффект ИПост, а также проведен анализ взаимосвязи между анатомическим вариантом корковой ветви средней мозговой артерии (СМА) и размером формирующегося инфаркта. Показано, что протокол ИПост, состоящий из 5 эпизодов реперфузии/ишемии (10 с/10 с), обладает достоверным инфаркт-лимитирующим эффектом. Для обеспечения лучшей стандартизации результатов экспериментальных исследований в области нейропротекции следует использовать животных, имеющих магистральный вариант анатомического строения СМА.
3. Показано, что применение ИПост способствовало значимому увеличению количества (до 52,9%, $p < 0,01$) жизнеспособных нейронов в поле СА1 гиппокампа, а также сопровождалось повышением активности в них лактатдегидрогеназы.
4. При изучении изменения активности С3 компонента комплемента при глобальной ишемии головного мозга и при применении ИПост показано, что обратимое 10-минутное ишемическое повреждение головного мозга у крыс приводит к повышению активности С3 компонента системы комплемента в первые семь суток после глобальной ишемии с максимально выраженным повышением активности ко вторым суткам.
5. При оценке влияния ишемического посткондиционирования на уровень проапоптотического белка Вах в нейронах зоны СА1 гиппокампа при глобальной ишемии-реперфузии головного мозга у крыс показано, что ИПост приводит к увеличению числа жизнеспособных нейронов в поле СА1 гиппокампа, а также к снижению количества Вах-позитивных нейронов, наблюдаемый нейропротективный эффект, по всей вероятности, связан с ингибированием синтеза проапоптотического белка Вах в пирамидальных нейронах поля СА1.

6. При изучении влияние раннего и позднего ишемического preconditionирования головного мозга на выраженность повреждения нейронов гиппокампа и степень неврологического дефицита у крыс показано, что наибольшей нейропротективной активностью обладает один preconditionирующий эпизод, выполненный за 24 часа до повреждающей ишемии, в то время как применение трех стимулов может приводить к дополнительному повреждению структуры головного мозга. Эти закономерности необходимо учитывать при дальнейшем изучении и внедрении нейропротективных эффектов ИПрек в клиническую практику.
7. Изучено изменение экспрессии HIF-1 α в неокортексе при применении ИПостК при глобальном ишемическом и реперфузионном повреждении головного мозга у крыс. Глобальную ишемию головного мозга моделировали путем окклюзии магистральных сосудов, отходящих от дуги аорты на 10 минут. ИПостК было представлено 3-мя эпизодами по 15-сек/15-сек реперфузии/реокклюзии. Оценивали число жизнеспособных и HIF-1 α -позитивных нейронов неокортекса. Показано, что ИПостК приводит к достоверному увеличению числа жизнеспособных и снижению количества HIF-1 α -позитивных нейронов неокортекса. Полученные результаты показывают, что ИПостК уменьшает выраженность повреждения неокортекса крыс при глобальной ишемии/реперфузии головного мозга, предположительно, за счет предотвращения апоптоза.
8. При изучении совместного применения ИПост и цитиколина на модели глобальной ишемии ГМ у монгольских песчанок было показано, что совместное применение ИПостК и цитиколина приводило к возникновению значимого нейропротективного эффекта, однако его выраженность не отличалась от таковой при отдельном применении указанных воздействий. В эксперименте на крысах изучено влияние ИПост и нейропротектора цитиколина, а также их совместного применения на жизнеспособность нейронов различных слоев коры ГМ и активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и сукцинатдегидрогеназы (СДГ) в их цитоплазме в отдаленном реперфузионном периоде после глобальной ишемии.
9. Введение аминокислоты теанина в дозе 1 и 4 мг/кг через 3-12 часов после реперфузии головного мозга сопровождалось значимым уменьшением размера инфаркта, но введение теанина через 24 часа после моделирования ишемии головного мозга крысы не сопровождалось изменением морфометрических показателей, а размер повреждения и коэффициент асимметрии не уменьшались по сравнению с контрольной группой.
10. Показано, что протезирование аортального клапана в условиях искусственного кровообращения сопровождается повреждением ЦНС, что проявляется достоверным увеличением активности специфичных биомаркеров (протеина S100B и NSE). Проведенное исследование не выявило выраженных нарушений когнитивных функций после перенесенных оперативных вмешательств на сердце в условиях искусственного кровообращения. Дистантное ишемическое preconditionирование не способствовало снижению активности биомаркеров повреждения мозга и улучшению когнитивных функций в послеоперационном периоде.

Список научной продукции, полученной в ходе выполнения темы государственного задания

1. Shcherbak N. S., Galagudza M. M., Kuzmenkov A. N., Ovchinnikov D. A., Mitrofanova L. B., Barantsevich E. R., Shlyakhto E. V. A new rat model of reversible global cerebral ischemia // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2012. – Vol. 152. – № 5. – P. 656–658.
2. Щербак Н. С., Галагудза М. М., Овчинников Д. А., Кузьменков А. Н., Юкина Г. Ю., Баранцевич Е. Р., Томсон В. В., Шляхто Е. В. Активность лактатдегидрогеназы в коре головного мозга и гиппокампе монгольских песчанок при ишемическом и реперфузионном повреждении // *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*. – 2012. – Т. 98. – № 2. – С. 126–133.
3. Щербак Н.С., Выболдина Т.Ю., Галагудза М.М., Митрофанова Л.Б., Нифонтов Е.М., Баранцевич Е.Р., Шляхто Е.В. Влияние раннего и позднего ишемического preconditionирования головного мозга на выраженность повреждения нейронов гиппокампа и степень неврологического дефицита у крыс // *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*. – 2012. – Т. 98. – № 8. – С. 990-999.
4. Шляхто Е. В., Баранцевич Е. Р., Щербак Н. С., Галагудза М. М. Молекулярные механизмы формирования ишемической толерантности головного мозга. Часть 1 // *Вестник Российской академии медицинских наук*. – 2012. – № 6. – С. 42–50.
5. Шляхто Е. В., Баранцевич Е. Р., Щербак Н. С., Галагудза М. М. Молекулярные механизмы формирования ишемической толерантности головного мозга. Часть 2 // *Вестник Российской академии медицинских наук*. – 2012. – № 7. – С. 20–29.
6. Щербак Н. С., Галагудза М. М., Кузьменков А. Н., Овчинников Д. А., Юкина Г. Ю., Баранцевич Е. Р., Томсон В. В., Шляхто Е. В. Морфофункциональные изменения зоны СА1 гиппокампа у монгольских песчанок при применении ишемического postconditionирования // *Морфология*. – 2012. – Т. 142. – № 5. – С. 12-16.
7. Щербак Н. С., Бельтюков П. П., Овчинников Д. А., Кузьменков А. Н., Гордеева М. С., Галагудза М. М., Баранцевич Е. Р., Шляхто Е. В. Влияние ишемического postconditionирования на активность С3 компонента комплемента при ишемическом и реперфузионном повреждении головного мозга // *Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова*. – 2012. – Т. 19. – № 3. – С. 29–32.
8. Shmonin A., Melnikova E., Galagudza M., Vlasov T. Characteristics of cerebral ischemia in major rat stroke models of middle cerebral artery ligation through craniectomy // *International Journal of Stroke*. – 2014. – Vol. 9. – № 6. – P. 793–801. doi: 10.1111/j.1747-4949.2012.00947.x.
9. Щербак Н.С., Бещук О.В., Галагудза М.М., Овчинников Д.А., Кузьменков А.Н., Митрофанова Л.Б., Баранцевич Е.Р., Шляхто Е.В. Влияние ишемического postconditionирования на уровень проапоптотического белка Вах в нейронах зоны СА1 гиппокампа при глобальной ишемии-реперфузии головного мозга у крыс // *Бюллетень ФЦСКЭ им. В. А. Алмазова*. – 2012. – № 5(16). – С. 82–86.
10. Щербак Н. С., Галагудза М. М., Митрофанова Л. Б., Баранцевич Е. Р., Шляхто Е. В. Совместное применение ишемического postconditionирования и цитиколина при ишемии-реперфузии головного мозга у монгольских песчанок // *Артериальная гипертензия*. – 2012. – Т. 18. – № 6. – С. 540–546.
11. Shcherbak N., Popovetsky M., Galagudza M., Barantsevitch E., Shlyakhto E. The infarct-limiting effect of cerebral ischaemic postconditioning in rats depends on the middle cerebral artery branching pattern // *International Journal of Experimental Pathology*. – 2013. – Vol. 94. – № 1. – P. 34–38. doi: 10.1111/iep.12003.
12. Zukhurova M, Prosvirina M, Daineko A, Simanenкова A, Petrishchev N, Sonin D, Galagudza M, Shamtsyan M, Juneja LR, Vlasov T. L-theanine administration results in neuroprotection and prevents glutamate receptor agonist-mediated injury in the rat model of

- cerebral ischemia-reperfusion // *Phytotherapy Research*. – 2013. – Vol. 27. – № 9. – P. 1282-1287. doi:10.1002/ptr.4868.
13. Щербак Н. С., Галагудза М. М., Овчинников Д. А., Кузьменков А. Н., Юкина Г. Ю., Баранцевич Е. Р., Томсон В. В., Шляхто Е. В. Активность сукцинатдегидрогеназы в неокортексе и гиппокампе монгольских песчанок при ишемическом и реперфузионном повреждении головного мозга // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2013. – Т. 155. – № 1. – С. 17-20.
 14. Щербак Н. С., Галагудза М. М., Юкина Г. Ю., Баранцевич Е. Р., Томсон В. В., Шляхто Е. В. Влияние ишемического посткондиционирования головного мозга на жизнеспособность нейронов гиппокампа и цитоплазматическую активность сукцинатдегидрогеназы // *Морфология*. – 2013. – Т. 143. – № 3. – С. 7–13.
 15. Ташханов Д. М., Баутин А. Е., Даценко С. В., Яковлев А. С., Галагудза М. М. Исследование церебропротективного эффекта фармакологического и дистантного ишемического прекондиционирования у кардиохирургических больных // *Сборник докладов и тезисов V Беломорского симпозиума, г. Архангельск, 20-21 июня 2013 г.* С.76.
 16. Щербак Н.С., Галагудза М.М., Бещук О.В., Овчинников Д.А., Митрофанова Л.Б., Баранцевич Е.Р., Шляхто Е.В. Эффект ишемического посткондиционирования на экспрессию HIF-1 α при глобальной ишемии-реперфузии головного мозга у крыс // *Бюллетень ФЦСКЭ им. В. А. Алмазова*. – 2013. – № 6(23). – С. 62–68.
 17. Shcherbak N. S., Vyboldina T. Yu., Galagudza M. M., Mitrofanova L. B., Nifontov E. M., Barantsevich E. R., Shlyakhto E. V. Effects of Early and Late Ischemic Preconditioning of the Brain on the Severity of Hippocampal Neuron Injury and the Degree of Neurological Deficit in Rats // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2014. – Vol. 44. – № 4. – P. 415-420.
 18. Щербак Н. С., Галагудза М. М., Шляхто Е. В. Роль индуцируемого гипоксией фактора-1 (HIF-1) в реализации цитопротективного эффекта ишемического и фармакологического посткондиционирования // *Российский кардиологический журнал*. – 2014. – № 11(115). – С. 70–75.
 19. Щербак Н.С., Галагудза М.М., Овчинников Д.А., Щербакова Е.О., Юкина Г.Ю., Баранцевич Е.Р., Томсон В.В., Шляхто Е.В. Влияние глобальной ишемии-реперфузии головного мозга на активность окислительно-восстановительных ферментов в нейронах различных слоев неокортекса // *Ученые записки*. – 2014. – № 3. – С. 25–28.