

ОСОБЕННОСТИ ПАТОГЕНЕЗА ПОРАЖЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ЛОКАЛЬНОГО И ГЛОБАЛЬНОГО НАРУШЕНИЯ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ПЕРФУЗИИ У КРЫС

© М.А. Зелененко¹, В.А. Печатникова², В.А. Заплутанов², Н.В. Цыган³, Н.А. Верлов¹, М.Г. Хотин⁴, А.Г. Васильев⁵, А.П. Трашков¹

¹ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Гатчина;

²ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» РАН, Санкт-Петербург;

³ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академии им. С.М. Кирова» Минобороны России, Санкт-Петербург;

⁴ФГБУН «Институт цитологии» РАН, Санкт-Петербург;

⁵ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России

Для цитирования: Зелененко М.А., Печатникова В.А., Заплутанов В.А., и др. Особенности патогенеза поражения головного мозга при моделировании локального и глобального нарушения церебральной перфузии у крыс // Педиатр. – 2017. – Т. 8. – № 6. – С. 62–71. doi: 10.17816/PED8662-71

Поступила в редакцию: 17.10.2017

Принята к печати: 30.11.2017

Проведено комплексное исследование клинических и лабораторных особенностей патогенеза цереброваскулярной болезни у лабораторных крыс на двух моделях патологического процесса — локальной ишемии, сопровождающейся формированием очага инфаркта головного мозга, и глобальной ишемии, обусловленной острым и хроническим нарушением мозгового кровоснабжения без верифицированного очага поражения мозга. Показано существенное различие исследуемых моделей поражения головного мозга. Образование очага повреждения головного мозга, в среднем составляющего 20–30 % от общей площади коры пораженного полушария, сопровождалось значительным увеличением содержания основных маркеров поражения нервной ткани (нейронспецифическая енолаза и белок S100 β), развитием эндотелиальной дисфункции и гемостазиологических нарушений. Необратимое нарушение мозгового кровообращения путем наложения лигатур на сонные артерии крыс сопровождалось значительно меньшей летальностью подопытных животных, умеренной динамикой нейроспецифических маркеров, но более выраженными, недостаточно корригируемыми проявлениями со стороны системы гемостаза и эндотелия сосудов, обусловленными гипоксией головного мозга крыс.

Ключевые слова: цереброваскулярная болезнь; инсульт; ишемия головного мозга; гипоксия головного мозга; гемостаз; эндотелиальная дисфункция; биомоделирование.

CEREBRAL DAMAGE PATHOGENY PECULIARITIES IN LOCAL AND GLOBAL CEREBRAL PERFUSION IMPAIRMENT MODELS IN RATS

© М.А. Zelenenko¹, V.A. Pechatnikova², V.A. Zaplutanov², N.V. Tsygan³, N.A. Verlov¹, M.G. Khotin⁴, A.G. Vasilev⁵, A.P. Trashkov¹

¹Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of National Research Centre “Kurchatov Institute”, Gatchina, Russia;

²I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia;

³Military Medical Academy n.a. S.M. Kirov, Saint Petersburg, Russia;

⁴Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia;

⁵St. Petersburg State Pediatric Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Russia

For citation: Zelenenko MA, Pechatnikova VA, Zaplutanov VA, et al. Cerebral damage pathogeny peculiarities in local and global cerebral perfusion impairment models in rats. *Pediatrician (St. Petersburg)*. 2017;8(6):62-71. doi: 10.17816/PED8662-71

Received: 17.10.2017

Accepted: 30.11.2017

A complex study of clinical and laboratory pathogenic features of cerebrovascular disease has been performed in rats using two experimental models: local ischemia with cerebral infarction and global ischemia caused by acute or chronic

impairment of cerebral circulation without verified site of brain damage. A pronounced difference has been demonstrated between the two studied models of cerebral impairment. The development of brain damage site constituting 20–30% of the total cortex of the impaired hemisphere was demonstrated to be accompanied by a considerable increase of basic nervous tissue damage markers (neuron-specific enolase, S100 β -protein), development of endothelial dysfunction and hemostasiological disturbances. Irreparable cerebral circulation impairment by ligation of carotid arteries was followed by considerably lower lethality in the experimental animals, neurospecific markers' moderate dynamics but however side by side with pronounced and inadequately compensated manifestations in the hemostasis system and vascular endothelium caused by brain hypoxia.

Keywords: cerebrovascular disease; stroke; cerebral ischemia; brain hypoxia; hemostasis; endothelial dysfunction; experimental modeling of diseases.

ВВЕДЕНИЕ

Высокая социально-экономическая значимость проблемы мозгового инсульта требует совершенствования тактики лечения острых нарушений мозгового кровообращения. Во многом успешность решения этой задачи зависит от полноты представлений о патогенезе ишемического повреждения, а также понимания адаптивных реакций организма, развивающихся в ответ на острое нарушение мозгового кровообращения. В середине XX в. были разработаны различные экспериментальные модели церебральной ишемии у лабораторных животных с целью детального изучения механизмов повреждения и самоповреждения нервной ткани, что позволило создать необходимую базу для разработки новых лекарственных препаратов и подходов к лечению пациентов с инсультом. Впервые в научном эксперименте моделирование ишемического инфаркта головного мозга было проведено на собаках путем инъекции аутологичного сгустка крови в сонную артерию животного [7].

Несмотря на все многообразие существующих в настоящее время подходов к моделированию неврологических заболеваний ишемического генеза [5, 8, 9], условно все экспериментальные модели можно разделить на две большие группы — глобальную и фокальную ишемию (с полным/неполным необратимым/обратимым прекращением кровоснабжения различных участков головного мозга). При этом общность и различие механизмов повреждения головного мозга при локальном и глобальном нарушении церебральной перфузии и их прямое сопоставление изучены слабо. Детальное сопоставление патогенеза этих патологических состояний, помимо расширения научных представлений о патогенезе цереброваскулярной болезни, позволит более эффективно осуществлять планирование доклинических и клинических исследований лекарственных препаратов с нейропротективным действием.

Учитывая вышеизложенное, мы сочли интересным в сравнительном аспекте исследовать и описать особенности патогенеза поражения головного

мозга на моделях глобальной и локальной ишемии у лабораторных крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 78 самцов-альбиносов серых крыс, массой тела на момент моделирования заболевания — 220–240 г, разведения ФГУП ПЛЖ «Рапполово» (Ленинградская область). Подопытные животные после поступления из питомника проходили 14-дневный карантин в карантинном блоке вивария с целью исключения из эксперимента животных с соматической и/или инфекционной патологией. После завершения карантина был предусмотрен дополнительный (одни сутки) период адаптации животных к основному помещению вивария. На всем протяжении исследования содержание, питание животных и манипуляции с ними полностью соответствовали требованиям законодательства Российской Федерации и правилам биоэтики. Выведение животных из эксперимента осуществлялось в герметичном боксе путем ингаляции диоксида углерода.

Были обследованы три экспериментальные группы.

Контроль ($n = 12$) — интактные животные, для анализа нормальных («физиологических») показателей.

Локальная ишемия (ЛИ) ($n = 36$) — животные, у которых воспроизводили локальную ишемию головного мозга с последующим анализом показателей в контрольных точках исследования.

Глобальная ишемия (ГИ) ($n = 30$) — животные, у которых воспроизводили глобальную ишемию головного мозга с последующим анализом показателей в контрольных точках исследования.

Модель локальной ишемии головного мозга (инсульта) воспроизводили общепринятым методом оперативного необратимого ограничения кровотока в бассейне левой средней мозговой артерии путем наложения на нее лигатуры. Воспроизведение у животных глобальной ишемии головного мозга (острое и хроническое нарушение мозгового

кровообращения без верифицированного очага инфаркта мозга) осуществляли путем оперативного необратимого ограничения кровотока в бассейнах сонных артерии путем наложения лигатур в сочетании с одновременной массивной кровопотерей (21–27 % от общего объема циркулирующей крови). Кровопотерю воспроизводили методом транскутанной пункции сердца по ранее описанной методике [1]. Гипотензия необходима для моделирования ишемии мозга, так как двусторонняя перевязка общих сонных артерий не обеспечивает понижения мозгового кровотока до величин, при которых гарантированно развивается гипоксическое/ишемическое поражение.

Биологический материал для анализа забирали в контрольных точках исследования (1-е, 3-е и 7-е сутки после моделирования заболевания). Взятие крови у предварительно наркотизированных крыс производили методом, аналогичным методике моделирования гипотензии у подопытных животных, в вакуумные системы в объеме 4,5–6,0 мл. Обработку крови осуществляли сразу после ее взятия. Для получения обогащенной тромбоцитами плазмы (ОТП) кровь центрифугировали с ускорением 240 g в течение 7 минут и затем переносили плазму в другую пробирку. Обогащенную тромбоцитами плазму (БТП) получали из обогащенной путем повторного центрифугирования с ускорением 1200 g в течение 15 минут.

После взятия крови у крыс быстро вскрывали черепную коробку. Головной мозг осторожно извлекали и подвергали дальнейшей обработке по методике С.А. Гавриловой и др. [3].

Объем поражения коры полушария головного мозга крыс оценивали планиметрическим способом (по: Гаврилова С.А. и др., 2006) и выражали в процентах к общей площади коры полушария. Состояние функциональной активности клеток нервной ткани определяли по динамике основных маркеров — нейронспецифической енолазы (NSE) и белка s100b, широко используемых в клинической практике. Уровень NSE и s100b в крови животных вычисляли при помощи метода ИФА, используя коммерческие наборы в соответствии с инструкцией производителя.

Показатели системы свертывания крови определяли с помощью наборов реагентов НПО «Ренам» (Россия), а именно: активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновое время (ПВ), тромбиновое время (ТВ), фибриноген. Мануальным методом определяли уровень растворимых комплексов мономерного фибрина (РКМФ, качественный этаноловый тест) и продолжительность зуглобулинового фибринолиза (ЭФ).

Количественный анализ тромбоцитов производили в цельной крови. Агрегационную активность тромбоцитов исследовали при помощи двухканального лазерного анализатора агрегации тромбоцитов BIOLA-230LA фотометрическим методом по G.V.R. Born [6] в модификации З.А. Габасова [2]. В качестве отправной точки агрегации принимали оценку светопропускания $ОТП = 0\%$. Исследование агрегации выполняли в ОТП. В качестве индуктора агрегации использовали АДФ (НПО «Ренам», Россия) в концентрации 2,5 мкМ. Агрегатограммы оценивали по следующим параметрам: максимальная амплитуда агрегации (МА) в процентах и время достижения максимальной агрегации (ВМА) в секундах.

Уровень функциональной активности эндотелия определяли по динамике концентрации основных маркеров — эндотелиальный сосудистый фактор роста, оксид азота и эндотелин 1-го типа. Уровень VEGF, NO и эндотелина-1 в крови животных вычисляли при помощи метода ИФА.

Статистическую обработку осуществляли при помощи пакета программ SPSS for Windows. Данные приведены в виде $M \pm SD$ (средняя арифметическая \pm среднее квадратическое отклонение) или $Me (QQ)$ (медиана и квартили) в зависимости от характера распределения. Проверку характера распределения данных рассчитывали при помощи критерия Колмогорова–Смирнова; сравнение средних данных независимых выборок — при помощи t -критерия Стьюдента (при нормальном характере распределения вариант в выборочной совокупности) и U -критерия Манна–Уитни (при распределении вариант в выборочной совокупности, отличном от нормального). Средние данные зависимых выборок сравнивали при использовании χ^2 -критерия Фридмана. Корреляционный анализ производили с применением критерия Спирмена. Достоверным уровнем отличий считали вероятность не менее 95 % ($p < 0,05$), что является стандартом в медико-биологических исследованиях.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Моделирование острой необратимой сосудистой катастрофы различного объема и интенсивности воздействия (локальная ишемия — инсульт, глобальная ишемия — острое и хроническое нарушение мозгового кровообращения) приводило к значительным структурно-функциональным изменениям в тканях головного мозга крыс и выраженному напряжению защитных и адаптивных систем организма.

Интегральным показателем, позволяющим оценить степень тяжести патологического процесса,

Таблица 1

Летальность подопытных крыс с поражением головного мозга ишемического генеза различной степени тяжести

Группа (n)	Летальность		
	количество павших особей	процент от исходного объема выборки в группе	95 % ДИ
Контроль (12)	Летальности на всем протяжении исследования не было		
Локальная ишемия (36)	13	36	20,8–53,8
Глобальная ишемия (30)	6	20	7,7–38,6

Примечание: n — первоначальное число особей крыс в экспериментальной группе

и, как следствие, показателем напряженности используемой модели является уровень летальности крыс в обследуемых группах (табл. 1).

Летальность животных в группе «Локальная ишемия» составляла 36 %, при этом все животные погибали в первые 72 часа после моделирования заболевания (острейший и острый периоды). Летальность животных в группе «Глобальная ишемия» составляла 20 %, и все случаи гибели крыс регистрировались в первые 24 часа после моделирования (острейший период).

Высокая летальность животных в группе «Локальная ишемия» дополнялась данными клинического наблюдения и патоморфологического исследования. Регистрировались различные проявления неврологического дефицита и когнитивных нарушений — заторможенность, снижение общей локомоторной и поисковой активности, силы хвата конечностей. Указанные нарушения представляли собой отражение глубоких структурно-функциональных нарушений работы головного мозга крыс и практически полностью исчезали через 72 часа от момента моделирования инфаркта мозга, что свидетельствует о значительном напряжении адаптивных и защитных систем организма животных.

У всех крыс группы «Локальная ишемия» был гистологически верифицирован очаг инфаркта мозга в 100 % случаев. В среднем объем поражения коры полушария головного мозга составлял $24,3 \pm 12,04$ % ($Me = 23,0$ %; 1-е сутки после моделирования заболевания).

Патологические процессы, вызванные локальной и глобальной ишемией головного мозга крыс, приводили к определенным изменениям в работе тромбоцитарного компонента крови животных (рис. 1, а, б).

На используемых моделях поражения ЦНС наблюдалось разнонаправленное изменение общего количества тромбоцитов в крови подопытных животных (см. рис. 1, а). Так, при моделировании инфаркта мозга было отмечено незначительное уменьшение изучаемого показателя, тогда как при глобальной ишемии головного мозга отчетливо

прослеживалась тенденция к росту числа тромбоцитов в единице объема крови крыс. На 7-е сутки эксперимента этот показатель у животных группы «Глобальная ишемия» был достоверно в среднем на $234 \text{ кл} \cdot 10^9/\text{л}$ выше, чем в контрольной группе ($p = 0,002$).

Такие изменения можно объяснить существенными различиями в патогенезе обследуемых моделей поражения головного мозга. На модели локальной ишемии общее кровоснабжение органа нарушено в незначительной степени и преимущественно только в бассейне перевязанного сосуда, где сформировался очаг инфаркта мозга. Несмотря на гипоксию тканей мозга в этой области, усиление активности красного костного мозга практически не происходит, а сравнительное умеренное снижение количества тромбоцитов в крови подопытных животных можно объяснить их потреблением при ограничении и санации очага повреждения (см. рис. 1, а).

На модели глобальной ишемии головного мозга крыс, напротив, нарушения кровообращения затрагивали практически все ткани и отделы органа без формирования визуально-определяемого очага поражения. На первый план здесь выходят гипоксические изменения в нервной ткани, обеспечивающие увеличение регенераторного потенциала костного мозга и, как следствие, увеличение продукции форменных элементов (см. рис. 1, а).

Сравнительно небольшие изменения содержания тромбоцитов в единице объема крови животных и их размеров с локальной ишемией головного мозга не сопровождалось существенными изменениями со стороны агрегационной активности форменных элементов. На всем протяжении эксперимента статистически значимых отличий между крысами группы «Локальная ишемия» и показателями интактных животных выявлено не было.

В противоположность этому выраженная положительная динамика количества тромбоцитов в крови у крыс с глобальной ишемией головного мозга сопровождается нарастанием агрегационной активности форменных элементов (см. рис. 1, б). На 7-е сутки эксперимента у животных группы «Гло-

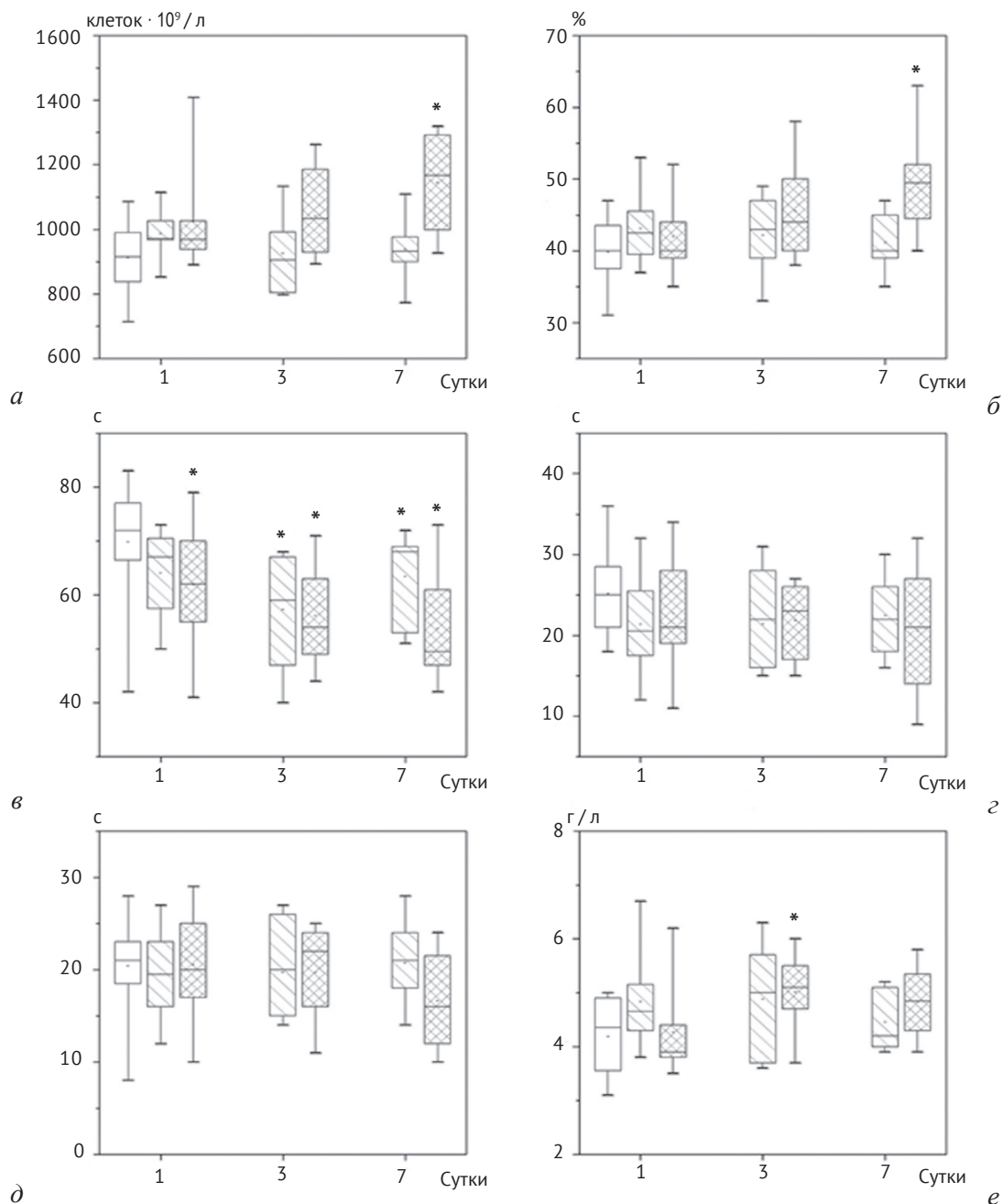


Рис. 1. Характеристика параметров гемостаза при моделировании локального и глобального нарушения церебральной перфузии у крыс:

а – количество тромбоцитов в крови крыс; *б* – максимальная амплитуда агрегации тромбоцитов крыс; *в* – продолжительность теста АЧТВ; *г* – продолжительность протромбинового времени; *д* – продолжительность тромбинового времени; *е* – концентрация фибриногена в крови крыс.

Примечание: без штриховки – группа «Контроль», односторонняя штриховка – группа «Локальная ишемия», двусторонняя штриховка – группа «Глобальная ишемия», *значимое отличие от группы «Контроль».

Область в фигуре – диапазон значений между верхним квартилем Q3 (75 %) и нижним квартилем Q1 (25 %), поперечная линия – медиана распределения, засечки – проценти 5 и 95 (5~95 %)

бальная ишемия» АДФ-индуцированная максимальная амплитуда агрегации тромбоцитов была в среднем на 9,54 % выше, чем в группе интактных крыс ($p = 0,004$).

Напряженность используемых моделей поражения головного мозга крыс подтверждается значительной вовлеченностью в патогенез воспроизводимых патологических процессов защитных и адаптивных систем организма животных, в частности системы свертывания крови.

Патогенез гиперкоагулопатии развивается преимущественно по механизмам внутреннего каскада свертывания, что отражается в динамике теста АЧТВ у крыс и при локальной, и при глобальной ишемии головного мозга (рис. 1, в). Длительность АЧТВ у этих животных достоверно снижалась уже в первые дни после моделирования заболевания и не восстанавливалась для контрольных значений на всем протяжении эксперимента.

Вовлеченность механизмов внешнего каскада системы свертывания на используемых моделях поражения мозга оказалась неожиданно низкой. На всем протяжении экспериментов как на модели локальной ишемии, так и на модели глобальной ишемии головного мозга крыс показатели ТВ у животных были статистически сопоставимы и клинически значимо не отличались от нормальных показателей (рис. 1, г).

Низкая активность процессов внешнего каскада системы свертывания, являющегося основным индуктором и локомотивом механизмов коагуляции, приводит к слабой активации общего пути свертыва-

ния, отраженного в тесте «тромбиновое время», что особенно ярко прослеживалось на модели локальной ишемии головного мозга у крыс (рис. 1, д). На всем протяжении исследования существенных, клинически значимых изменений продолжительности ТВ у животных с локальной ишемией не наблюдалось.

При этом патогенез глобальной ишемии головного мозга в значительно большей степени включает в себя нарушения работы общего каскада системы свертывания. У крыс группы «Глобальная ишемия» в ходе эксперимента наблюдалась умеренная тенденция к уменьшению продолжительности теста ТВ (см. рис. 1, д), не достигающая, однако, статистически значимого уровня отличий с показателями контрольной группы даже на 7-е сутки от момента моделирования заболевания ($p = 0,163$).

Анализ содержания в крови подопытных животных фибриногена не выявил клинически значимых изменений этого показателя. Статистически значимое увеличение концентрации фибриногена в крови крыс группы «Глобальная ишемия» на 3-е сутки эксперимента представляет собой транзиторный феномен, во многом обусловленный вариативностью изучаемого показателя и общим увеличением фибриногенемии в послеоперационный период (рис. 1, е). При этом на всем протяжении исследования на обеих используемых моделях поражения ЦНС наблюдались существенные различия в динамике содержания в крови животных РКМФ — маркеров распада полимерного фибрина (табл. 2).

Аналогичные тенденции была отмечена при анализе результатов теста «продолжительность зу-

Таблица 2

Частота обнаружения растворимых комплексов мономерного фибрина у подопытных крыс с поражением головного мозга ишемического генеза различной степени тяжести

Группа (n)	Частота обнаружения РКМФ			
	сутки	кол-во положительных проб	процент от исходного объема выборки в группе	95 % ДИ
Контроль (12)	1	2	17	2,09–48,41
Локальная ишемия (8)	1	8 ¹	→ 100	
Локальная ишемия (7)	3	6 ¹	86	42,13–99,64
Локальная ишемия (8)	7	4 ²	50	15,70–84,30
Глобальная ишемия (9)	1	9 ¹	→ 100	
Глобальная ишемия (7)	3	6 ¹	86	42,13–99,64
Глобальная ишемия (8)	7	8 ^{1,3}	→ 100	

Примечание: РКМФ — растворимые комплексы мономерного фибрина; n — число особей крыс в экспериментальной группе; ¹отличия от группы «Контроль» достоверны на принятом уровне значимости ($p < 0,05$); ²отличия от группы «Локальная ишемия (1-е сутки)» достоверны на принятом уровне значимости ($p < 0,05$); ³отличия от группы «Локальная ишемия (7-е сутки)» достоверны на принятом уровне значимости ($p < 0,05$)

глобулинового фибринолиза». В группе крыс с локальной ишемией головного мозга динамика анализируемого показателя — интегрального показателя активности фибринолитической системы была незначительной (рис. 2, а).

Более выраженная картина нарушений работы фибринолиза наблюдалась при анализе этого показателя у животных с глобальной ишемией (см. рис. 2, а). Происходило постепенное достоверное увеличение длительности ЭФ, что указывает на хронический характер заболевания, ослабление фибринолитического потенциала крови и нарастание риска гемостазиологических нарушений. Уже на 3-и сутки эксперимента изучаемый показатель превышал контрольные значения в среднем на 47,6 мин ($p = 0,006$), на 7-е сутки — на 39,2 мин ($p = 0,034$).

Неотъемлемым компонентом патогенеза поражения головного мозга ишемического генеза служит развитие эндотелиальной дисфункции, проявляющейся нарушением баланса между вазодилатирующими и вазоконстрикторными соединениями и продукции факторов — регуляторов клеточного цикла и активности эндотелиоцитов (рис. 2, б, в). В ходе эксперимента показано, что каскад нарушений у крыс был в значительно большей степени выражен на модели глобальной ишемии головного мозга [4].

Так, у животных с локальной ишемией головного мозга наблюдалась довольно слабовыраженная недостоверная тенденция к снижению общей продукции оксида азота (NO) — основного эндогенного регионарного вазодилатора, выработка которого в крови обеспечивается преимущественно эндотелием сосудов (см. рис. 2, б). В то время как у крыс с глобальной ишемией головного мозга, напротив, наблюдалось выраженное, клинически значимое уменьшение уровня оксида азота в крови, регистрируемое на всем протяжении исследования (см. рис. 2, б).

Динамика изменений концентрации эндотелина-1 (ЕТ-1) — основного локального вазоконстриктора, продуцируемого преимущественно в эндотелии сосудов, была выраженной в анализах животных обеих моделей поражения головного мозга (см. рис. 2, в). На всем протяжении исследования уровень ЕТ-1 у крыс с локальной ишемией был значительно повышен по сравнению с контрольными значениями (см. рис. 2, в). На 1-е сутки эксперимента он превышал показатели интактных крыс в среднем на 0,86 фмоль/л ($p = 0,015$), на 3-и сутки — на 0,44 фмоль/л ($p = 0,351$) и на 7-е сутки — на 1,10 фмоль/л ($p = 0,003$). Аналогичная картина наблюдалась при анализе результатов определения

уровня ЕТ-1 у крыс с глобальной ишемией головного мозга (см. рис. 2, в). На 1-е сутки эксперимента он был больше, чем в группе контрольных животных, в среднем на 1,29 фмоль/л ($p = 0,004$), на 3-и сутки — на 1,28 фмоль/л ($p = 0,007$) и на 7-е сутки — на 1,15 фмоль/л ($p = 0,013$).

Зафиксированная в ходе эксперимента диспропорция в интенсивности продукции вазодилаторов (NO) и вазоконстрикторов (ЕТ-1) и изменение баланса между ними в сторону пролонгированного усиления вазоконстрикции дополнительно свидетельствуют о высокой степени напряженности исследуемых моделей поражения ЦНС.

Динамика содержания сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) — естественного индуктора клеточного цикла эндотелиоцитов и локомоторной активности этих клеток — на обеих моделях поражения головного мозга ишемического генеза оказалась неожиданно слабой (рис. 2, г). В острейший и острый периоды заболевания (1-е и 3-и сутки эксперимента соответственно) наблюдалась тенденция к снижению концентрации этого цитокина в крови подопытных крыс. При этом коррекция уровня VEGF на 7-е сутки была умеренной и достоверно не превышала контрольные показатели (в среднем — 120 пг/мл) ни в группе крыс с локальной ишемией ($p = 0,877$), ни в группе крыс с глобальной ишемией ($p = 0,643$).

Структурно-функциональные нарушения головного мозга крыс на моделях инсульта (локальная ишемия) и острого и хронического нарушения мозгового кровообращения без верифицированного очага инфаркта мозга (глобальная ишемия) нашли отражение в динамике концентрации нейроспецифических маркеров, отражающих степень вовлеченности тканей мозга в патологический процесс.

Наиболее выраженные изменения были отмечены у крыс группы «Локальная ишемия» (рис. 2, д). Так, уровень NSE у животных указанной группы был существенно повышен на всех этапах исследования. На 1-е сутки он превышал контрольные значения, полученные у интактных крыс, в среднем на 1,12 мкг/л ($p = 0,563$), на 3-е сутки — на 5,54 мкг/л ($p = 0,020$) и на 7-е сутки — на 3,90 мкг/л ($p = 0,037$). Параллельно наблюдалось увеличение содержания в крови подопытных животных другого специфического маркера поражения нервной ткани — белка S100 β (рис. 2, е). На 1-е сутки его концентрация превышала контрольные значения, полученные у интактных крыс, в среднем на 0,43 пг/л ($p = 0,074$), на 3-и сутки — на 0,76 пг/л ($p = 0,012$) и на 7-е сутки — на 0,40 мкг/л ($p = 0,052$).

Картина изменений содержания NSE и белка S100 β в крови подопытных животных с глобальной

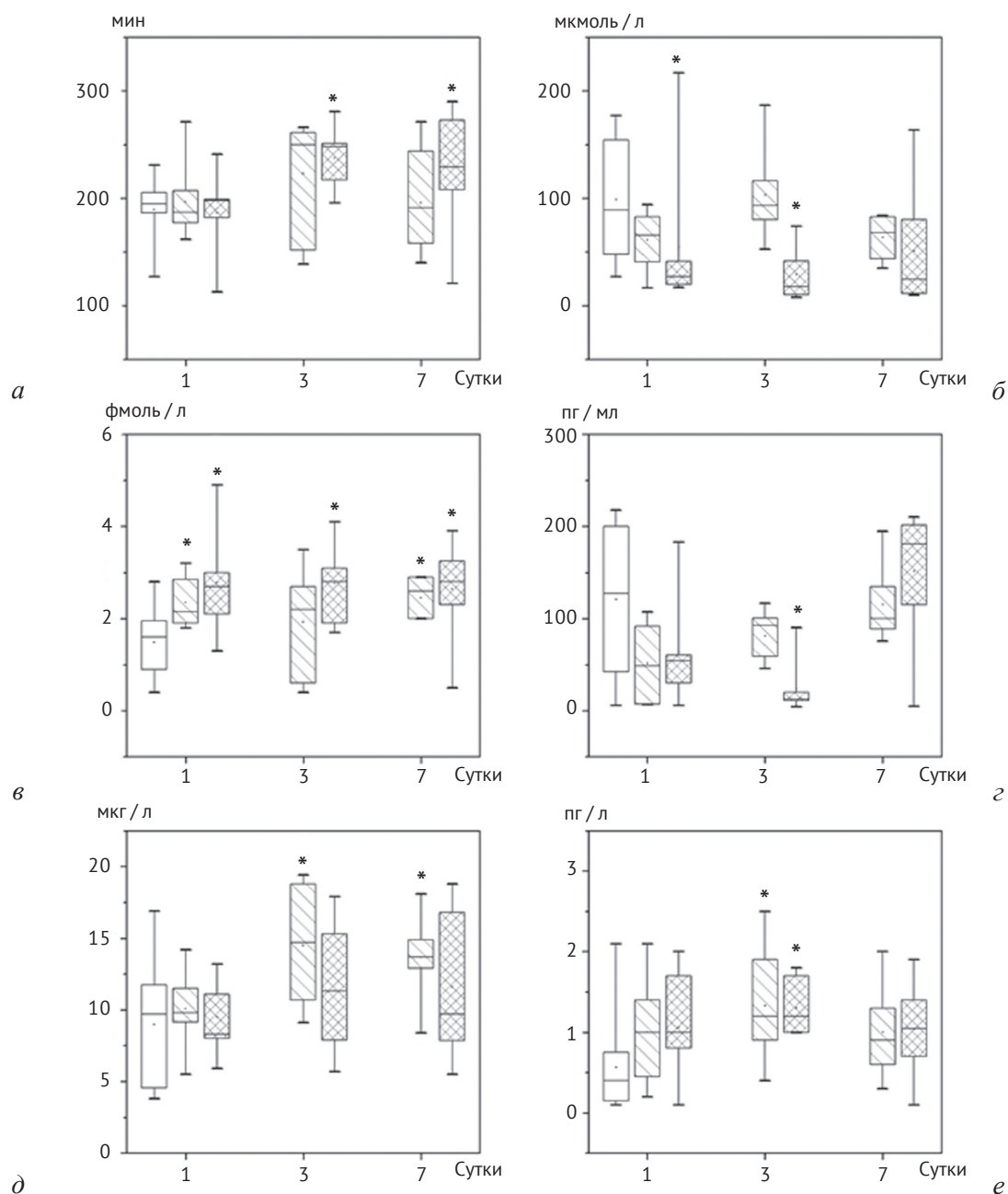


Рис. 2. Характеристика фибринолиза и сосудистых факторов при моделировании локального и глобального нарушения церебральной перфузии у крыс:

а – продолжительность эуглобулинового фибринолиза; *б* – концентрация оксида азота в крови крыс; *в* – концентрация эндотелина-1 в крови крыс; *г* – концентрация фактора роста эндотелия сосудов в крови крыс; *д* – концентрация нейронспецифической енолазы в крови крыс; *е* – концентрация белка S100β в крови крыс.

Примечание: без штриховки – группа «Контроль», односторонняя штриховка – группа «Локальная ишемия», двусторонняя штриховка – группа «Глобальная ишемия», *значимое отличие от группы «Контроль».

Область в фигуре – диапазон значений между верхним квантилем Q3 (75 %) и нижним квантилем Q1 (25 %), поперечная линия – медиана распределения, засечки – проценти 5 и 95 (5–95 %)

ишемией головного мозга была сходной с таковой у животных с инфарктом мозга. Однако нарушения в этом случае оказались менее интенсивными (см. рис. 2, е).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На лабораторных крысах были воспроизведены две модели поражения головного мозга ишемического генеза. «Локальная ишемия» представляет собой классическую модель инсульта, индуцированного полной и необратимой перевязкой средней мозговой артерии животного. Модель характеризовалась умеренной летальностью подопытных животных, развитием отчетливо верифицируемого очага инфаркта мозга, клинически выраженной динамикой основных маркеров поражения нервной ткани (нейронспецифическая енолаза и белок s100 β) и прогнозируемыми умеренными нарушениями со стороны системы гемостаза и эндотелия кровеносных сосудов.

Модель «глобальная ишемия» представляет собой воспроизведение острого, некорректируемого нарушения мозгового кровообращения с выраженной гипоксией тканей мозга, но без верифицируемого очага инфаркта мозга. Соответственно, эта модель характеризовалась меньшей летальностью подопытных животных, умеренной динамикой нейроспецифических маркеров, но более выраженными проявлениями со стороны системы гемостаза и эндотелия сосудов, обусловленными гипоксией головного мозга крыс.

Описанные в ходе исследования структурно-функциональные особенности течения различных моделей поражения головного мозга крыс могут послужить основой для программы разработки нейропротективных препаратов, механизмы действия которых направлены на различные компоненты патогенеза заболеваний ЦНС ишемического генеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильев А.Г., Хайцев Н.В., Трашков А.П. Практикум по патофизиологии: учебное пособие / под редакцией проф. А.Г. Васильева, Н.В. Хайцева. – СПб., 2014. [Vasil'ev AG, Khaytsev NV, Trashkov AP. *Praktikum po patofiziologii*: Uchebnoe. Ed by prof. A.G. Vasil'eva, N.V. Khaytseva. Saint Petersburg; 2014. (In Russ.)]
2. Габбасов З.А., Попов Е.Г., Гаврилов И.Ю., и др. Новый высокочувствительный метод анализа агрегации тромбоцитов // *Лабораторное дело*. – 1989. – № 10. – С. 15–18. [Gabbasov ZA, Popov EG, Gavrilov IYu, et al. Novyy vysokochuvstvitel'nyy metod analiza agregatsii trombotsitov. *Laboratornoe delo*. 1989;(10):15-18. (In Russ.)]
3. Гаврилова С.А., и др. Нейропротекторный эффект пролинсодержащего дипептида ноопепта на модели мозгового инсульта, вызванного дистальной перевязкой средней мозговой артерии // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. – 2006. – Т. 69. – № 4. – С. 16–18. [Gavrilova SA, et al. Neuroprotective activity of the proline-containing dipeptide noopept on the model of brain ischemia induced by the middle cerebral artery occlusion. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2006;69(4):16-18. (In Russ.)]
4. Степанова, Ю.И., Гончар И.А. Эндотелин-зависимые эффекты при цереброваскулярной патологии ишемического генеза // *Медицинские новости*. – 2013. – № 10. – С. 12–18. [Stepanova Yul, Gonchar IA. Endothelin-dependent effects in cerebrovascular pathology of ischemic genesis. *Meditinskije novosti*. 2013;(10):12-18. (In Russ.)]
5. Шмонин А.А., Байса А.Е., Мельникова Е.В. Защитные эффекты раннего ишемического прекодиционирования при фокальной ишемии мозга у крыс: роль коллатерального кровообращения // *Рос. физиолог. журн.* – 2011. – Т. 97. – № 2. – С. 203–214. [Shmonin AA, Baysa AE, Mel'nikova EV. Early ischemic preconditioning against focal transient and permanent brain ischemia in rats: role of collateral circulation. *Neuroscience and Behavioral Physiology – Sechenov Physiology Journal*. 2011;97(2):203-214. (In Russ.)]
6. Born GVR. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature*. 1962;194:927-9. doi: 10.1038/194927b0.
7. Hill NC, Millikan CH, Wakim KG, Sayre GP. Studies in cerebrovascular disease, VII: experimental production of cerebral infarction by intracarotid injection of homologous blood clot: preliminary report. *Mayo Clin Proc*. 1955;30:625-633.
8. Michael T, Gewaltig M, Kojda G. Vasoprotection by nitric oxide: mechanisms and therapeutic potential. *Cardiovascular Res*. 2002;55:250-260. doi: 10.1016/S0008-6363(02)00327-9.
9. Mergenthaler P, Meisel A. Do stroke models model stroke? *Disease Models & Mechanisms*. 2012;5:718-25.

◆ Информация об авторах

Мария Александровна Зелененко — научный сотрудник Отдела экспериментальной фармакологии. ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» РАН, Санкт-Петербург. E-mail: magu56110@gmail.com.

◆ Information about the authors

Maria A. Zelenenko — MD, researcher, Experimental Pharmacology Dept. I.M. Sechenov institute of evolutionary physiology and biochemistry, Russian academy of sciences, Saint Petersburg, Russia. E-mail: magu56110@gmail.com.

◆ Информация об авторах

Валерия Антоновна Печатникова — научный сотрудник Испытательного центра радиофармпрепаратов. ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Гатчина. E-mail: floluttrell@gmail.com.

Василий Андреевич Заплутанов — научный сотрудник Отдела экспериментальной фармакологии. ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова» РАН, Санкт-Петербург. E-mail: vasilij@zaplutanov.ru.

Николай Васильевич Цыган — д-р мед. наук, доцент кафедры нервных болезней. ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» Минобороны России, Санкт-Петербург. E-mail: 77tn77@gmail.com.

Николай Александрович Верлов — канд. биол. наук, ст. научный сотрудник Испытательного центра радиофармпрепаратов. ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Гатчина. E-mail: virlov@gmail.com.

Михаил Георгиевич Хотин — канд. биол. наук, заведующий лабораторией биомедицинских технологий и испытаний с опытным производством. ФГБУН «Институт цитологии» РАН, Санкт-Петербург. E-mail: h_mg@mail.ru.

Андрей Глебович Васильев — д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой патологической физиологии с курсом иммунопатологии. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: avas7@mail.ru.

Александр Петрович Трашков — канд. мед. наук, заведующий Испытательным центром радиофармпрепаратов. ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Гатчина. E-mail: alexandr.trashkov@gmail.com.

◆ Information about the authors

Valeria A. Pechatnikova — researcher Radiopharmpreparations Test Center, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of National Research Centre “Kurchatov Institute”, Gatchina, Russia. E-mail: floluttrell@gmail.com.

Vassiliy A. Zaplutanov — MD, researcher, Experimental Pharmacology Department, I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia. E-mail: vasilij@zaplutanov.ru.

Nikolay V. Tsygan — MD, PhD, Dr.Med. Sci., Assoc. Prof. Neurology Department Military Medical Academy n.a. S.M. Kirov, Saint Petersburg, Russia. E-mail: 77tn77@gmail.com.

Nikolay A. Verlov — PhD, Senior researcher Radiopharmpreparations Test Center, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of National Research Centre “Kurchatov Institute”, Gatchina, Russia. E-mail: virlov@gmail.com.

Michael G. Khotin — PhD, Head, Lab. Of Biomedical Technologies and Tests Institute of Cytology, Russian academy of sciences, Saint Petersburg, Russia. E-mail: h_mg@mail.ru.

Andrei G. Vasiliev — MD, PhD, Dr. Med. Sci., Head of Pathophysiology Department, St. Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: avas7@mail.ru.

Alexander P. Trashkov — MD, PhD, Head Radiopharmpreparations Test Center, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of National Research Centre “Kurchatov Institute”, Gatchina, Russia. E-mail: alexandr.trashkov@gmail.com.