



## Способы моделирования и морфофункциональные маркеры ишемии головного мозга

Е.И. Бонь, Н.Е. Максимович

УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Республика Беларусь

Контактная информация: Бонь Елизавета Игоревна, e\_bon@list.ru

В структуре заболеваемости и смертности во всем мире лидирующие позиции занимают цереброваскулярные заболевания, ведущими среди которых являются ишемические повреждения головного мозга. Церебральная ишемия представляет собой тяжелое нейродегенеративное состояние, которое, в зависимости от затронутой области, может препятствовать реализации когнитивных и моторных функций центральной нервной системы. Даже кратковременная ишемия головного мозга (ИГМ) ведет к его глубоким повреждениям. Ключевыми звеньями патогенеза ИГМ являются недостаток оксигенации нейронов, угнетение в мозге аэробного и активация анаэробного пути утилизации глюкозы, снижение энергообразования, нарушение транспорта потенциал-определяющих ионов, изменение кислотно-основного состояния, эксайтотоксичность, активация воспалительного процесса, возникновение окислительного и нитрозативного стресса, апоптоза. Эти процессы не могут быть смоделированы *in vitro*, и большая часть исследований патологии головного мозга ишемического генеза проводится на животных. Адекватные модели церебральной ишемии способствуют детализации их патогенеза и позволяют изучать динамику адаптационных механизмов, что служит фундаментальной основой для усовершенствования диагностики, лечения и профилактики этой патологии. В литературе представлены многообразные способы, позволяющие осуществить моделирование ИГМ различной степени выраженности и разного патогенетического варианта. Полная (тотальная) ИГМ достигается путем декапитации, остановки сердца или окклюзии аорты либо поллой вены, неполная (субтотальная) ишемия – путем окклюзии обеих общих сонных артерий на фоне интракраниальной гипертензии, частичная ишемия – путем окклюзии общей сонной артерии, фокальная ишемия – путем окклюзии средней мозговой артерии либо ее эмболии макросферами, мультифокальная церебральная ишемия – путем множественной эмболии микросферами. Настоящий обзор посвящен анализу и систематизации сведений литературы по вопросам моделирования ИГМ и описанию структурных и метаболических нарушений нейронов неокортекса и гиппокампа. Степень выраженности данных изменений выступить в качестве маркеров глубины гипоксического повреждения и эффективности используемых способов их коррекции.

**Ключевые слова:** ишемия, головной мозг, моделирование.

### Введение

Лидирующие позиции в структуре заболеваемости и смертности во всем мире занимают сердечно-сосудистые и цереброваскулярные заболевания. Ежегодно от

сердечно-сосудистых заболеваний умирает около 7 млн, а от цереброваскулярных – около 6 млн чел. [29]. До 85% всех инсультов обусловлено ишемией головного мозга (ИГМ). В России частота ин-

сульты колеблется от 460 до 560 случаев на 100000 населения [1]. По данным Всероссийского центра профилактической медицины от цереброваскулярных заболеваний умирает 25% мужчин и 39% женщин. Среди европейских стран показатель смертности от цереброваскулярных заболеваний в России является самым высоким.

Согласно критериям Trial of Org 10172 in acute stroke treatment (ТО-AST), представленной на Втором всемирном конгрессе по инсульту (Вашингтон, 1992 г.), выделяют следующие патогенетические подтипы инфаркта головного мозга [24]:

1) *атеротромботический подтип* возникает при уменьшении или полном прекращении кровотока в результате локального тромбообразования в русле экстра- или интракраниальных крупных артерий, обусловленного изъязвлением и нестабильностью атеросклеротических бляшек, либо возникающего в результате атеросклеротического стенозирования сосудов;

2) *кардиоэмболический подтип* формируется вследствие попадания тромба из сердца при патологии его камер, клапанов, дефекте межпредсердной и межжелудочковой перегородки (парадоксальная кардиальная эмболия);

3) *гемодинамический подтип* развивается при глобальной гипоперфузии мозга, обусловленной резким снижением артериального давления и малым объемом циркулирующей крови;

4) *лакунарный подтип* – это небольшой (менее 15 мм в диаметре) глубокий очаг ИГМ, формирующийся в результате окклюзии одной из пенетрирующих артерий и со временем разрешающийся в небольшую кисту – лакуну;

5) *гемореологический подтип* возникает вследствие микроокклюзии сосудов мозга при изменении реологических свойств крови [24].

Церебральная ишемия представляет собой тяжелое нейродегенеративное состояние, которое, в зависимости от вовлеченной в патологический процесс области, может препятствовать реализации когнитивных и сенсомоторных функций центральной нервной системы. Даже кратковременная ИГМ ведет к его глубоким повреждениям. Ключевыми звеньями патогенеза ИГМ являются: недостаток оксигенации нейронов, угнетение в мозге аэробного и активация анаэробного пути утилизации глюкозы, снижение энергообразования, нарушение транспорта потенциал-определяющих ионов, изменение кислотно-основного состояния, эксайтотоксичность, возникновение окислительного и, в т.ч., нитрозативного стресса, осуществляющегося при участии оксида азота NO, активация воспалительного процесса, апоптоза [2, 3, 14, 23]. Эти процессы не могут быть смоделированы *in vitro*, и большая часть исследований ишемических повреждений головного мозга проводится на животных.

Адекватные модели церебральной ишемии способствуют детализации представлений о патогенезе данной патологии и, кроме того, позволяют оценивать развитие повреждений и адаптационные механизмы головного мозга, что служит фундаментальной основой для усовершенствования способов их диагностики, лечения и профилактики.

Учитывая существование различных патогенетических вариантов ишемических повреждений головного мозга, необходимы адекватные способы их моделирования [20, 22] (табл.).

## Способы моделирования ИГМ

Вид ИГМ	Способы реализации
Полная (тотальная, глобальная)	Декапитация, остановки сердца или окклюзии аорты и полых вен
Неполная (субтотальная)	Окклюзия обеих общих сонных артерий с интракраниальной гипертензией
Частичная	Окклюзия одной общей сонной артерии
Фокальная (локальная)	Окклюзия средней мозговой артерии либо ее эмболизация макросферами
Мультифокальная	Множественная эмболизация средней мозговой артерии микросферами, тромбоемболия, фототромбоз
Гипоксическая	Лигирование сонной артерии с последующим вдыханием гипоксической смеси

На наш взгляд, модели полной ИГМ подходят для воспроизведения атеротромботического патогенетического варианта инфаркта мозга, неполной ИГМ – для моделирования гемодинамического, а фокальной, мультифокальной и гипоксической ИГМ – в большей мере позволяют изучать механизмы развития и последствия кардиоэмболического, лакунарного и гемореологического типов инфаркта головного мозга.

Модели тотальной, субтотальной и частичной ИГМ достаточно просты в исполнении, но их результаты сложнее экстраполировать на человека, т.к. для него в большей степени характерна фокальная ишемия. Модель тотальной ИГМ подходит для воспроизведения аноксического повреждения головного мозга при остановке сердца.

Различные виды животных разнятся по чувствительности к ишемическим воздействиям на головной мозг. Например, у грызунов подсемейства песчанок виллизиев круг разомкнут, и инсульт развивается при окклюзии одной из общих сонных артерий. У крыс же топография сосудов виллизиева круга и

организация кровообращения головного мозга имеет значительное сходство с таковыми у человека. В связи с этим, с целью экстраполяции результатов на человека данных животных целесообразно использовать для моделирования церебральной патологии сосудистого генеза. Кроме того, инбредные крысы линии SHR (spontaneously hypertensive rats) в 100% случаев имеют повышенное артериальное давление и достаточно часто используются для изучения цереброваскулярной патологии в связи с тем, что инсульт у них развивается спонтанно [10, 13].

### Моделирование тотальной (глобальной) ишемии головного мозга

Существует способ моделирования тотальной ИГМ у крыс путем окклюзии четырех магистральных артерий (двух вертебральных и двух внутренних сонных), кровоснабжающих головной мозг [11]. Недостатками способа являются: двухэтапность воспроизведения модели (коагуляция позвоночных артерий на первом этапе и пережатие внутренних сонных артерий на втором этапе экспе-

римента), труднодоступность позвоночных артерий, риск повреждения ствола мозга при коагуляции позвоночной артерии.

Последующая модификация данного способа моделирования тотальной (глобальной) ИГМ не устранили эти существенные недостатки.

Известен способ моделирования глобальной ИГМ у крыс, представляющий собой модификацию четырехсосудистой модели, которая воспроизводится одноэтапно, при одномоментной окклюзии общих сонных артерий с наложением хирургических микрозажимов на вертебральные артерии между вторым и третьим шейными позвонками [35]. Однако при этом не исключается возможность коллатерального кровоснабжения головного мозга у крыс, осуществляемого по вентральной спинномозговой артерии.

Глобальная ИГМ моделируется путем экстракраниальной окклюзии сосудов, кровоснабжающих головной мозг (плечеголового ствола, левой подключичной артерии и левой общей сонной артерии). Этот способ моделирования ИГМ лишен недостатков вышеуказанных способов: позволяет проводить операцию одноэтапно, исключает коллатеральное и редуцированное кровоснабжение. Недостатком данного способа является его повышенная травматичность в связи с использованием подхода к дуге аорты и магистральным артериям, кровоснабжающим головной мозг, через вскрытие грудной клетки. При этом повреждается плевральная полость, возникает пневмоторакс, что обуславливает необходимость перевода животных на искусственное дыхание. О тяжести реализации этого способа сви-

детельствует высокий процент смертности крыс в группе ложнооперированных животных [4].

### **Моделирование субтотальной (неполной и частичной) ишемии головного мозга**

Наиболее часто для изучения последствий ишемии на головной мозг используются модели частичной и субтотальной ишемии путем перевязки одной из общих сонных артерий: частичная ишемия головного мозга или обеих общих сонных артерий, субтотальная ишемия головного мозга.

Односторонняя перевязка общей сонной артерии приводит лишь к снижению кровоснабжения головного мозга ввиду наличия у крыс замкнутого виллизиева круга, а одномоментная двухсторонняя перевязка общих сонных артерий (субтотальная ИГМ), несущих до 90% крови к головному мозгу, приводит к быстрой смерти животных (в течение двух часов), в связи с чем данная модель не подходит для изучения ишемического воздействия в динамике [26, 27].

Метод субтотальной ИГМ по В.Д. Розвадовскому (1985) заключается в лигировании обеих общих сонных и подключичных артерий дистальнее отхождения внутренних грудных артерий и проксимальнее позвоночных артерий. Он наиболее прост в использовании, обладает низкой себестоимостью, однако при этом возникает ишемия не только в бассейне средней мозговой артерии (СМА), но и в др. отделах головного мозга [7].

Кроме того, существует метод моделирования ИГМ, при котором одновременно производят воздействия двумя способами: лигируют обе общие сонные артерии

и искусственно понижают артериальное давление до уровня 20-30 мм рт. ст. При этом сохраняется минимальное кровоснабжение продолговатого мозга, поддерживающего деятельность вазомоторного и дыхательного центров, и коллатеральное кровообращение в мозге восстановиться не может [13].

### **Моделирование фокальной (локальной) и мультифокальной ишемии головного мозга**

Существует преходящая фокальная церебральная ишемия (с реперфузией) и постоянная очаговая церебральная ишемия (без реперфузии).

Различают следующие способы моделирования фокальной ИГМ [13]:

1. Фокальная – окклюзия средней мозговой артерии (ОСМА)

1) ОСМА с краниотомией

а) необратимая,

б) обратимая;

2) ОСМА без краниотомии

а) эндоваскулярная ОСМА (необратимая и обратимая),

б) эмболическая ОСМА (эмболия макросферами).

2. Мультифокальная

1) эмболическая ОСМА (эмболия микросферами),

2) тромбоз эмболия,

3) фототромбоз.

### **Необратимая транскраниальная ОСМА**

Этот способ является достаточно инвазивным и травматичным, т.к. требует краниотомии. При моделировании необратимой транскраниальной ОСМА артерию лигируют или подвергают электрокоагуляции. ОСМА может сочетаться с временной или постоянной окклюзией общей сонной артерии.

Метод по Tamura A. (1981) заключается в перевязке СМА через трепанационное отверстие в области между овальным отверстием и отверстием зрительного нерва [31]. Этот метод в наибольшей мере приближен к условиям развития ишемического инсульта у людей, однако он является достаточно сложным в исполнении. При использовании метода, описанного в работе Gill R. и др. (1987), производят лигирование СМА через трепанационное отверстие в месте пересечения носовой расщелины [19]. Этот способ моделирования ИГМ также является одним из наиболее адекватных, как и метод по Tamura, однако он сложен и отличается высокой себестоимостью.

### **Обратимая транскраниальная ОСМА**

Этот способ моделирования ишемического повреждения головного мозга аналогичен предыдущему. Отличие заключается в восстановлении кровотока по СМА спустя определенный период ишемии [22].

### **Эндоваскулярная ОСМА**

Для реализации метода хирургическая нить вводится во внутреннюю сонную артерию до тех пор, пока она не obturрует СМА, что приведет к прекращению кровотока и развитию инфаркта мозга в бассейне данной артерии. При эндоваскулярной ОСМА через определенный промежуток времени шовный материал удаляют (обратимая эндоваскулярная ОСМА), обеспечивая реперфузию ишемизированной области, либо сохраняют окклюзию (необратимая эндоваскулярная ОСМА). Метод, предложенный в работе Smrčka M. (2002), заключается во введении монофиламентного волокна через разрез

бифуркации аорты во внутреннюю сонную артерию, а затем интракраниально, в связи с чем является очень сложным в исполнении [30]. К слабым сторонам этого метода моделирования ИГМ относятся: недостаточная окклюзия СМА, возможность развития субарахноидального кровоизлияния, гипертермии и некроза экстракраниальных тканей с ипсилатеральной стороны [31].

### **Эмболическая ОСМА**

Данным путем осуществляют моделирование фокальной и мультифокальной ИГМ. В этом случае ОСМА достигается путем введения сгустков крови (тромбоэмболическая окклюзия) или искусственных микро- и макросфер. Тромбэмболическая модель наиболее близка к кардиоэмболическому патогенетическому варианту инсульта у человека согласно классификации TOAST [21, 17].

Сгустки крови при тромбоэмболической ОСМА формируют либо *in vitro*, либо путем эндоваскулярной инстилляцией тромбина *in situ* [12].

При введении сфер в мозговую кровотоку картину инфаркта головного мозга определяет их размер: введение макросфер (300-400 мкм) индуцирует инфаркт головного мозга, характерный для окклюзии проксимального участка СМА, тогда как введение микросфер (~50 мкм) приводит к диффузной эмболии дистальных сосудов виллизиева круга [25]. Однако объем моделируемого инфаркта головного мозга при этом способе моделирования очень изменчив, т.к. определяется скоростью спонтанного лизиса вводимых кровяных сгустков.

### **Фототромбоз**

Для осуществления фототромботической модели церебральной ишемии

используют местную фотокоагуляцию сосудов ограниченных областей коры головного мозга. После внутривенной инъекции светочувствительных красителей («бенгальская роза») мозг облучают, что приводит к фотохимической окклюзии облученных сосудов и развитию ишемии зоны головного мозга [20].

### **Моделирование гипоксической ишемии головного мозга**

Одна из наиболее часто используемых моделей гипоксической ИГМ описана в 1960 г. Для ее реализации 7-дневным крысам проводили одностороннее лигирование общей сонной артерии с последующим 3-часовым вдыханием гипоксической смеси, содержащей 8% кислорода. При этом возникает односторонний инфаркт в больших полушариях головного мозга, а область повреждения локализуется в перивентрикулярных регионах мозга [22].

Нейроны неокортекса и гиппокампа являются наиболее чувствительными к недостатку кислорода. Функциональные, биохимические и морфологические признаки повреждения нейронов выявляются уже после 2-минутной ИГМ [28].

### **Морфологические нарушения клеток и субклеточных структур неокортекса и гиппокампа**

Гипоксия вызывает нейродегенеративные изменения в головном мозге, выраженность которых зависит от степени ее тяжести. При острой гипоксии морфологические изменения нейронов обычно более выражены, чем при хронической [28].

На морфологическом уровне при гипоксии головного мозга наблюдается

отек. Ранним проявлением отека являются признаки нарушения микроциркуляции: стаз, плазматическое пропитывание и некробиотические изменения стенок кровеносных сосудов головного мозга, повышение их проницаемости, выход плазмы в перикапиллярное пространство [2].

Ведущими звеньями патогенеза ишемической гипоксии головного мозга является энергодефицит, а также избыток продуктов метаболизма, накапливающихся в зоне ишемии, что обуславливает снижение пластических процессов, развитие в нейронах дистрофических, атрофических и некротических изменений [34]. Морфологические изменения на клеточном уровне проявляются в изменении размеров, формы нейронов, интенсивности окрашивания их цитоплазмы.

При субтотальной ИГМ, вызванной компрессией обеих общих сонных артерий в *неокортексе*, выявлено уменьшение размеров нейронов, изменение их формы (многоугольная, вытянутая, расширение и извитость апикального отростка), появление сателлитоза и нейронафагии [4, 9].

В *гиппокампе* также отмечаются дезорганизация клеточных слоев и значительное увеличение размеров перикарионов нейронов, потеря чёткости их контуров и деформация. Наблюдается хроматолиз, кариопикноз, набухание ядер и их смещение на периферию перикариона, апоптотические изменения [4, 28].

В условиях ишемической гипоксии значительно возрастает количество патологических форм нейронов – гиперхромных, гиперхромных сморщенных, гипохромных нейронов и клеток-теней.

«Темные» гиперхромные нейроны расцениваются как измененные сморщенные клетки. Выделяют 3 типа гиперхромных нейронов [6]. Цитоплазма гиперхромных клеток первого типа содержит расширенные цистерны эндоплазматической сети, распавшиеся на вакуоли цистерны комплекса Гольджи, митохондрии с разрушенными кристами.

В гиперхромных нейронах второго типа происходит накопление мелкогранулярного вещества, что приводит к повышению осмиофилии цитоплазмы, уплотнению ядра, которое приобретает неправильные очертания.

Гиперхромные нейроны третьего типа характеризуются темным, неправильной формы ядром, появлением в цитоплазме щелевидных уплотнений и поврежденных органелл [6]. Выдвинута гипотеза о происхождении «темных» нейронов в результате незапрограммированного фазового изменения гиалоплазмы. Эти нейроны способны к восстановлению функционирования, а в случае гибели – фагоцитируются микроглией [18].

Гиперхроматофилия нейронов может отражать преобладание синтеза белка над его расходом, а также их сморщивание – как следствие дегидратации клетки из-за энергетических и ионных нарушений [18]. На ультраструктурном уровне выявляется округлость и угловатость ядер гиперхромных нейронов, извилистость кариолеммы, нарушение целостности наружной ядерной мембраны, присутствие в отдельных участках кариоплазмы плотных мелких зёрнышек интерхроматиновых гранул, которые встречаются либо поодиночке, либо небольшими скоплениями, а также эксцентрическое расположение ядрышек.

При гипоксии головного мозга отмечаются изменения в митохондриях нейронов: набухание, разрушение их крист, неравномерное распределение в цитоплазме, что свидетельствует о нарушении энергетического обеспечения нейронов. К уменьшению количества митохондрий приводит нарушение целостности наружной и внутренней мембран из-за нарушения проницаемости для катионов, что вызывает отек и разрыв. Активное набухание митохондрий связано с работой цепи переноса электронов [21]. Происходит расширение канальцев гранулярной и гладкой эндоплазматической сети, изменение их структуры, распад на мелкие гранулы, появление крупных вакуолей и петель. Преобладают свободные рибосомы, образуя обширные скопления. Это является одним из проявлений формирующегося в клетке энергодефицита, т.к. фиксация рибосом к мембранам шероховатого эндоплазматического ретикулума при участии белка рибофорина является энергозависимым процессом. В условиях ишемического воздействия нейрон сокращает экспорт белка и стремится направить его для внутренних потребностей. Дезорганизация гранулярной эндоплазматической сети приводит к накоплению вновь образованных белков в цитоплазме. По мере нарастания клеточной гипоксии и ацидоза усиливается их денатурация.

В комплексе Гольджи отмечается расширение цистерн вследствие накопления воды и их частичная фрагментация.

Возрастает общее количество лизосом, увеличиваются их размеры. Отмечается выход в цитоплазму и активация гидролитических ферментов лизосом –

катепсина, рибонуклеазы, кислой фосфатазы, дезоксирибонуклеазы, гиалуронидазы и др. ферментов, что приводит к аутолизу.

В нейропиле отмечается разрушение синапсов, что свидетельствует о нарушении синаптической передачи [4, 6, 26].

### **Цитохимические проявления повреждения нейронов**

Ишемическая гипоксия вызывает глубокие и разнообразные нарушения метаболизма нейронов в неокортексе и гиппокампе. Отмечается снижение активности сукцинатдегидрогеназы, свидетельствуя о торможении аэробного окисления сукцината в электронно-транспортной цепи митохондрий, а также активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы – проявление угнетения пентозофосфатного пути, НАДН-дегидрогеназы и НАДФН- дегидрогеназы – как проявление угнетения митохондриальных и немитохондриальных энергетических процессов. В то же время в цитоплазме нейронов происходит увеличение активности лактатдегидрогеназы, свидетельствуя об усилении активности поздних этапов гликолиза, необходимых для поддержания жизнедеятельности нейронов. Отмечается увеличение активности маркерного фермента лизосом – кислой фосфатазы, как признак разрушения мембран органелл и усиления процессов аутофагии [8, 16].

### **Молекулярные маркеры ишемической гипоксии**

Существует ряд молекулярных маркеров, используемых для выявления ишемической гипоксии в неокортексе и гиппокампе.

Фермент нейрон-специфическая енолаза (NSE) принадлежит к группе ферментов-енолаз, участвующих в гликолизе. Она является высокоспецифичным маркером гибели нейронов. Этот фермент присутствует в большом количестве в нервных клетках неокортекса и гиппокампа. Нейрон-специфическая енолаза характеризует степень гипоксического повреждения мозга. Ее активность значительно повышается при гипоксии, причем высокая скорость ее возрастания ассоциирована с неблагоприятным прогнозом патологического процесса. Определения NSE в спинномозговой жидкости или сыворотке крови дают ценную информацию о степени выраженности повреждений нейронов и нарушениях общей целостности гематоэнцефалического барьера [33].

Нейроглобин – представитель семейства глобиновых белков нервной системы – вовлечён в поддержание газового гомеостаза клетки. Это внутриклеточный гемопротейн, обладающий высокой способностью к связыванию кислорода, в результате чего увеличивает доступность кислорода для мозга и обеспечивает его защиту при гипоксии. Нейроглобин играет роль сенсора стресса, реагируя на изменение соотношения  $O_2/NO$  посредством конформационных изменений. Его активность значительно возрастает на ранней стадии гипоксии.

Белки S-100 – группа кальций-связывающих белков, участвующих в процессах деления, регуляции клеточного цикла и дифференцировки клеток, а также в процессах транскрипции, фосфорилирования белков и запуска апоптоза. В головном мозге белок S-100 преимущественно продуцируется астроцитами, участвуя в трофической и регуляторной

функции. Повышенная экспрессия белка S-100 свидетельствует о повреждении мембран астроцитов.

Белки теплового шока (heat shock proteins, hsp) выполняют функцию ядерного сигнала в активации экспрессии структурных генов, участвуют в формировании структуры протеинов и их внутриклеточном транспорте. Hsp ограничивают повреждение макромолекулярных структур клетки, при воздействии стрессорных повреждающих факторов способствуют повышению антиоксидантной защиты. Их содержание в цитоплазме нейронов возрастает на ранней стадии гипоксии [5].

HIF-1 $\alpha$  (Hypoxia-inducible factor 1-alpha) – белок, который считается основным регулятором клеточного ответа на гипоксию. В условиях гипоксии экспрессия HIF-1 $\alpha$  значительно повышается. Белок HIF-1 $\alpha$  индуцирует транскрипцию более 60-ти генов, участвующих в пролиферации и регенерации, ангиогенезе, эритропоэзе, метаболизме глюкозы и железа, способствуя тем самым увеличению доставки кислорода и выживаемости клеток при гипоксии [32].

Матриксные металлопротеиназы (ММП) – семейство внеклеточных цинк-зависимых эндопептидаз, осуществляющих расщепление белковых компонентов внеклеточного матрикса соединительной ткани. Принимают участие в регенерации тканей, ангиогенезе, пролиферации, миграции и дифференциации клеток, апоптозе. Гипоксия головного мозга – как острая, так и хроническая – сопровождается повышением уровня ММП, отражая степень воздействия окислительного стресса на организм плода. При гипоксии происходит гиперэкспрессия циклооксигеназы-2 и каталазы. Каталаза

разрушает перекись водорода и влечет за собой повышение экспрессии ММП [15].

### Заключение

Таким образом, анализ данных литературы выявил большой спектр различных способов моделирования ИГМ, что позволяет использовать необходимые варианты в зависимости от преследуемых целей и технических возможностей. Вместе с тем можно отметить, что наиболее адекватные модели не всегда являются выполнимыми из-за отсутствия технических возможностей, в то время как легко выполнимые модели (субтотальная и частичная ИГМ) в меньшей степени адекватны развивающейся у человека патологии. Степень выраженности структурных и метаболических нарушений в нейронах неокортекса и гиппокампа могут выступить в качестве маркеров глубины гипоксического повреждения и эффективности используемых способов их коррекции.

### Список литературы

1. *Богатырева М.Д., Ключихина О.А., Стаховская Л.В.* Эпидемиология инсульта в Ставропольском крае // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2013. – Т. 8. – № 1. – С. 34-38.
2. *Гончар И.А., Степанова Ю.И., Прудыус И.С.* Биохимические предикторы и маркеры инфаркта головного мозга / под ред. д.м.н., проф. В.С. Камышникова. – Минск: БелМАПО, 2013. 512 с.
3. *Максимович Н.Е.* Современные представления о механизмах развития ишемических повреждений головного мозга и путях коррекции этой патологии // Актуальные теоретические и прикладные аспекты патофизиологии: мат-лы Республиканской научно-практ. конф. с межд. участием. – Гродно, 2010. – С. 149-157.
4. *Мартынова О.В., Тверской А.В., Покровский М.В., Мартынов М.А., Шкилева И.Ю., Шелякина Е.В., Анциферов О.В., Мухина Т.С.* Морфологические изменения нейронов головного мозга крыс при двух-

четырёхсосудистой моделях ишемического повреждения головного мозга крыс и их коррекция тадалафилом в эксперименте // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 6. – С. 56-61.

5. Молекулярная нейроморфология. Нейродегенерация и оценка реакции нервных клеток на повреждение / под ред. Д.Э. Коржевского. – СПб: СпецЛит, 2015. – 110 с.
6. *Попова Э.Н.* Ультраструктура мозга, алкоголь и потомство. – М.: Научный мир, 2010, 155 с.
7. *Розвадовский В.Д., Тренин С.О., Тельпухов В.И.* Микрохирургическая модель ишемии головного мозга // Журнал патологической физиологии и общей патологии. – 1985. – № 2. – С. 87-92.
8. *Рузан Т.А., Максимович Н.Е., Зиматкин С.М.* Активность некоторых ферментов в нейронах фронтальной коры головного мозга в ранний постинфарктный период // Вестник ВГМУ. – 2013. – № 2. – С. 50-54.
9. *Рузан Т.А., Максимович Н.Е., Зиматкин С.М.* Морфофункциональные изменения нейронов фронтальной коры головного мозга в условиях его ишемии-реперфузии // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2012. – № 4. – С. 35-38.
10. *Трушель Н.А.* Сравнительная характеристика строения сосудов виллизиева круга головного мозга у человека и лабораторных животных // Военная медицина. – 2009. – № 2. – С. 47-51.
11. *Щербак Н.С., Галагудза М.М., Кузьменков А.Н.* Новый способ моделирования обратимой глобальной ишемии головного мозга // Бюлл. эксп. биол. и мед. – 2011. – Т. 152, № 11. – С. 592-595.
12. *Beech J., et al.* Further characterisation of a thromboembolic model of stroke in the rat // Brain Res. – 2016. – V. 895. – Pp. 18-24.
13. *Carmichael S.T.* Rodent models of focal stroke: size, mechanism, and purpose // Neuro. – 2005. – V. 2. – Pp. 396-409.
14. *Chu L., Sharma M., Shoamanesh A.* Severe cerebral vasospasm and infarction after minor head trauma // Can. J. Neurol. Sci. – 2017. – V. 44. – Pp. 618-620.
15. *Clark I., et al.* The regulation of matrix metalloproteinases and their inhibitors // Int. J. Biochem. Cell Biol. – 2008. – Vol. 40. – No. 6-7.
16. *Dave K., et al.* Ischemic preconditioning preserves mitochondrial function after global cerebral ischemia in rat hippocampus // J. Cereb. Blood Flow. Metab. – 2001. – Vol. 21(12). – Pp. 1401-1410.
17. *Dittmar M.S., et al.* Fischer-344 rats are unsuitable for the MCAO filament model due

- to their cerebrovascular anatomy // *J. Neurosci. Methods.* – 2006. – V. 14. – Pp. 78-85.
18. *Gallyas F., et al.* Supravital microwave experiments support that the formation of “dark” neurons is propelled by phase transition in an intracellular gel system // *Brain Res.* – 2009. – Vol. 1270. – Pp. 152-156.
  19. *Gill R., Foster A., Woodruff G.* Systemic administration of MK-801 protects against ischemia-induced hippocampal neurodegeneration in the gerbil // *Neurosci.* – 1987. – V. 7. – Pp. 3343-3349.
  20. *Graham S.M., McCullough L.D., Murphy S.J.* Animal Models of Ischemic Stroke: Balancing Experimental Aims and Animal Care // *Comp. Med.* – 2004. – V. 54. – Pp. 486-496.
  21. *Hao C., et al.* Effect of human recombinant prourokinase (rhpro-UK) on thromboembolic stroke in rats // *Eur. J. Pharmacol.* – 2017. – V. 56. – Pp. 89-101.
  22. *Hossmann K.-A.* Experimental models for the investigation of brain ischemia // *Cardiovascular Research.* – 1998. – V. 39. – Pp. 106-120.
  23. *Kcjita Y., et al.* Possible role of nitric oxide in autoregulatory response in rat intracerebral arterioles // *Neurosurgery.* – 1998. – V. 42. – Pp. 834-842.
  24. *Marnane M., Duggan C.A., Sheehan O.C., et al.* Stroke subtype classification to mechanism-specific and undetermined categories by TOAST, A-S-C-O, and causative classification system: direct comparison in the North Dublin Population Stroke Study // *Stroke.* – 2010. – V. 41. – Pp. 1579-1586.
  25. *Mayzel-Oreg O., et al.* Microsphere-induced embolic stroke: an MRI study // *Magn. Reson. Med.* – 2015. – V. 51. – Pp. 1232-1238.
  26. *McGraw C.P.* Experimental cerebral infarction: effects of pentobarbital in Mongolian gerbils // *Arch. Neurol.* – 1977. – Vol. 34. – Pp. 334-336.
  27. *Pulsinelli W.A., Brierley J.B.* A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat // *Stroke.* – 1979. – V. 10. – Pp. 267-272.
  28. *Ryosuke M.D., et al.* Effect of dantrolene on extracellular glutamate concentration and neuronal death in the rat hippocampal CA1 region subjected to transient ischemia // *Anesthesiology.* – 2002. – Vol. 96. – Pp. 705-710.
  29. *Sacco S.E., Whisnant J.P., Broderick J.P.* Epidemiological characteristics of lacunar infarcts in a population // *Stroke.* – 1991. – V. 22. – Pp. 1236-1241.
  30. *Smrcka M., Ogilvy C., Koroshetz W.* Small aneurysms as a cause of thromboembolic stroke // *Bratisl Lek Listy.* – 2002. – V. 103(8). – Pp. 250-253.
  31. *Tamura A., et al.* Focal cerebral ischaemia in the rat: 1. Description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 1981. – V. 1. – Pp. 53-60.
  32. *Vaupel P., Mayer A.* Hypoxia in cancer: significance and impact on clinical outcome // *Cancer Metastasis Reviews.* – 2007. – Vol. 26. – Pp. 225-239.
  33. *Weigand M., et al.* Neuronspecific enolase as a marker of fatal outcome in patients with severe sepsis and septic shock // *Anesthesiology.* – 2000. – Vol. 92. – Pp. 905-907.
  34. *White B.C., et al.* Brain ischemia and reperfusion: molecular mechanisms of neuronal injury // *J. Neurol. Sci.* – 2000. – Vol. 179. – No. 1-2. – Pp. 1-33.
  35. *Yamaguchi M., et al.* One-stage anterior approach for four-vessel occlusion in rat // *Stroke.* – 2005. – V. 36. – Pp. 2212-2214.

## References

1. *Bogatyeva M.D., Klochikhina O.A., Stakhovskaya L.V.* Epidemiologiya insul'ta v Stavropol'skom kraje [Stork epidemiology in Stavropol Krai]. *Meditinskiy vestnik Severnogo Kavkaza* [The medical bulletin of the North Caucasus]. 2013. T. 8. No. 1. Pp. 34-38. (In Russian).
2. *Gonchar I.A., Stepanova J.I., Prudiyus I.S.* Biokhimeskiye prediktory i markery infarkta golovno mozga [Biochemical predictors and markers of ischemic stroke] / Ed. by Prof. V.S. Kamyshnikov. Minsk, Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, 2013. 512 p. (In Russian).
3. *Maksimovich N.Ye.* Sovremennyye predstavleniya o mekhanizmakh razvitiya ishemicheskikh povrezhdeniy golovno mozga i putyakh korrektsii etoy patologii [Modern ideas about the mechanisms of development of ischemic brain damage and ways of correction of this pathology]. Aktual'nyye teoreticheskiye i prikladnyye aspekty patofiziologii: mat-ly Respublikanskoj nauchno-prakt. konf. s mezhd. uchastiyem [Actual theoretical and applied aspects of pathophysiology: materials of the Republican scientific and practical conference with international participation]. Grodno. 2010. Pp. 149-157. (In Russian).
4. *Martynova O.V., Tverskoi A.V., Pokrovsky M.V., Martynov M.A., Shkileva I.Yu., Shelyakina E.V., Antsiferov O.V., Mukhina T.S.* Morfoloicheskiye izmeneniya neyronov golovno mozga krys pri dvukh-, chetyrokhsosudistoy modelyakh ishemicheskogo povrezhdeniya golovno mozga krys i ikh korrektsiya tadalafi-

- lom v eksperimente [Morphological changes in brain neurons of rats with two-, four-cavity models of ischemic damage to the brain of rats and their correction by tadalafil in the experiment]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya* [Modern problems of science and education]. 2016. No. 6. Pp. 56-61. (In Russian).
5. Molekulyarnaya neyromorfologiya. Neyrodegeneratsiya i otsenka reaktivnoy nervnykh kletok na povrezhdeniye [Molecular neuromorphology. Neurodegeneration and evaluation of the reaction of nerve cells to damage]. Ed. by Korzhevskiy D.E. St. Petersburg. : SpetsLit, 2015. 110 p. (In Russian).
  6. **Popova E.N.** Ul'trastruktura mozga, alkohol' i potomstvo [Ultrastructure of the brain, alcohol and offspring]. Moscow: Nauchnyj mir, 2010, 155 p. (In Russian).
  7. **Rozvadovskiy V.D., Trenin S.O., Tel'pukhov V.I.** Mikrokhirurgicheskaya model' ishemii golovnogo mozga [Microsurgical model of cerebral ischemia]. *Zhurnal patologicheskoy fiziologii i obshchey patologii* [Journal of Pathological physiology and general pathology]. 1985. No. 2. Pp. 87-92. (In Russian).
  8. **Rukan T.A., Maksimovich N.E., Zimatkin S.M.** Aktivnost' nekotorykh fermentov v neyronakh frontal'noy kory golovnogo mozga v ranniye postishemicheskiy period [Activity of some enzymes in the neurons of the frontal cortex of the brain in the early postischemic period]. *Vestnik VGMU* [Bulletin of the Voronezh State Medical University]. 2013. No. 2. Pp. 50-54. (In Russian).
  9. **Rukan T.A., Maksimovich N.E., Zimatkin S.M.** Morfofunktsional'nyye izmeneniya neyronov frontal'noy kory golovnogo mozga v usloviyakh yego ishemii-reperfuzii [Morphofunctional changes in the neurons of the frontal cortex of the brain under conditions of its ischemia-reperfusion]. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Journal of the Grodno State Medical University]. 2012. No. 4. Pp. 35-38. (In Russian).
  10. **Trushel' N.A.** Sravnitel'naya kharakteristika stroeniya sudosov villiziyeva kruga golovnogo mozga u cheloveka i laboratornykh zhivotnykh [Comparative characteristics of the structure of vessels of the Willis circle of the brain in humans and laboratory animals]. *Voyennaya meditsina* [Military medicine]. 2009. No. 2. Pp. 47-51. (In Russian).
  11. **Shcherbak N.S., Galagudza M.M., Kuz'menkov A.N.** Novyy sposob modelirovaniya obratimoy global'noy ishemii golovnogo mozga [A new way to model reversible global brain ischemia]. *Byull. eksp. biol. i med.* [Bulletin of Experimental Biology and Medicine]. 2011. Vol. 152, No. 11. Pp. 592-595. (In Russian)
  12. **Beech J., et al.** Further characterisation of a thromboembolic model of stroke in the rat. *Brain Res.* 2016. V. 895. Pp. 18-24.
  13. **Carmichael S.T.** Rodent models of focal stroke: size, mechanism, and purpose. *Neuro.* 2005. V. 2. Pp. 396-409.
  14. **Chu L., Sharma M., Shoamanesh A.** Severe cerebral vasospasm and infarction after minor head trauma. *Can. J. Neurol. Sci.* 2017. V. 44. Pp. 618-620.
  15. **Clark I., et al.** The regulation of matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2008. Vol. 40. No. 6-7.
  16. **Dave K., et al.** Ischemic preconditioning preserves mitochondrial function after global cerebral ischemia in rat hippocampus. *J. Cereb. Blood Flow. Metab.* 2001. Vol. 21(12). Pp. 1401-1410.
  17. **Dittmar M.S., et al.** Fischer-344 rats are unsuitable for the MCAO filament model due to their cerebrovascular anatomy. *J. Neurosci. Methods.* 2006. V. 14. Pp. 78-85.
  18. **Gallyas F., et al.** Supravital microwave experiments support that the formation of "dark" neurons is propelled by phase transition in an intracellular gel system. *Brain Res.* 2009. Vol. 1270. Pp. 152-156.
  19. **Gill R., Foster A., Woodruff G.** Systemic administration of MK-801 protects against ischemia-induced hippocampal neurodegeneration in the gerbil. *Neurosci.* 1987. V. 7. Pp. 3343-3349.
  20. **Graham S.M., McCullough L.D., Murphy S.J.** Animal Models of Ischemic Stroke: Balancing Experimental Aims and Animal Care. *Comp. Med.* 2004. V. 54. Pp. 486-496.
  21. **Hao C., et al.** Effect of human recombinant prourokinase (rhpro-UK) on thromboembolic stroke in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2017. V. 56. Pp. 89-101.
  22. **Hossmann K.-A.** Experimental models for the investigation of brain ischemia. *Cardiovascular Research.* 1998. V. 39. Pp. 106-120.
  23. **Kcjita Y., et al.** Possible role of nitric oxide in autoregulatory response in rat intracerebral arterioles. *Neurosurgery.* 1998. V. 42. Pp. 834-842.
  24. **Marnane M., Duggan C.A., Sheehan O.C., et al.** Stroke subtype classification to mechanism-specific and undetermined categories by TOAST, A-S-C-O, and causative classification system: direct comparison in the North Dublin Population Stroke Study. *Stroke.* 2010. V. 41. Pp. 1579-1586.
  25. **Mayzel-Oreg O., et al.** Microsphere-induced embolic stroke: an MRI study. *Magn. Reson. Med.* 2015. V. 51. Pp. 1232-1238.

26. McGraw C.P. Experimental cerebral infarction: effects of pentobarbital in Mongolian gerbils. Arch. Neurol. 1977. Vol. 34. Pp. 334-336.
27. Pulsinelli W.A., Brierley J.B. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat. Stroke. 1979. V. 10. Pp. 267-272.
28. Ryosuke M.D., et al. Effect of dantrolene on extracellular glutamate concentration and neuronal death in the rat hippocampal CA1 region subjected to transient ischemia. Anesthesiology. 2002. Vol. 96. Pp. 705-710.
29. Sacco S.E., Whisnant J.P., Broderick J.P. Epidemiological characteristics of lacunar infarcts in a population. Stroke. 1991. V. 22. Pp. 1236-1241.
30. Smrcka M., Ogilvy C., Koroshetz W. Small aneurysms as a cause of thromboembolic stroke. Bratisl Lek Listy. 2002. V. 103(8). Pp. 250-253.
31. Tamura A., et al. Focal cerebral ischaemia in the rat: 1. Description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion. J. Cereb. Blood Flow Metab. 1981. V. 1. Pp. 53-60.
32. Vaupel P., Mayer A. Hypoxia in cancer: significance and impact on clinical outcome. Cancer Metastasis Reviews. 2007. Vol. 26. Pp. 225-239.
33. Weigand M., et al. Neuronspecific enolase as a marker of fatal outcome in patients with severe sepsis and septic shock. Anesthesiology. 2000. Vol. 92. Pp. 905-907.
34. White B.C., et al. Brain ischemia and reperfusion: molecular mechanisms of neuronal injury. J. Neurol. Sci. 2000. Vol. 179. No. 1-2. Pp. 1-33.
35. Yamaguchi M., et al. One-stage anterior approach for four-vessel occlusion in rat. Stroke. 2005. V. 36. Pp. 2212-2214.

## Methods of modeling and morphofunctional markers of cerebral ischemia

E.I. Bon', N.E. Maksimovich

In the structure of morbidity and mortality worldwide, the leading positions are occupied by cerebrovascular diseases, the leading among which are ischemic brain damage. Cerebral ischemia is a severe neurodegenerative condition that, depending on the affected area, can interfere with the realization of cognitive and motor functions of the central nervous system. Even short-term cerebral ischemia leads to its deep damage. The key links in the pathogenesis of cerebral ischemia are the lack of oxygenation of neurons, inhibition of aerobic activity in the brain and activation of the anaerobic pathway for glucose utilization, decreased energy production, disruption of transport of potential-determining ions, changes in the acid-base state, excitotoxicity, activation of the inflammatory process, oxidative and nitrosative stress, apoptosis. These processes cannot be modeled *in vitro*, and most of the studies of brain pathology of ischemic genesis are carried out on animals. Adequate models of cerebral ischemia contribute to detailing their pathogenesis and allow us to study the dynamics of adaptive mechanisms, which serves as a fundamental basis for improving the diagnosis, treatment and prevention of this pathology. The literature presents a variety of methods that allow the simulation of cerebral ischemia of varying degrees and different pathogenetic variants. Complete (total) cerebral ischemia is achieved by decapitation, cardiac arrest or occlusion of the aorta or hollow vein, incomplete (subtotal) ischemia - by occlusion of both common carotid arteries against intracranial hypertension, partial ischemia - by occlusion of the common carotid artery, focal ischemia - by occlusion of the middle cerebral artery or its embolism by macrospheres, multifocal cerebral ischemia - by multiple embolism microspheres. This review is devoted to the analysis and systematization of literature data on the modeling of cerebral ischemia and the description of structural and metabolic disorders of the neocortex and hippocampus neurons. The degree of expression of these changes act as markers of the depth of hypoxic damage and the effectiveness of the methods used to correct them.

**Key words:** ischemia, brain, modeling.