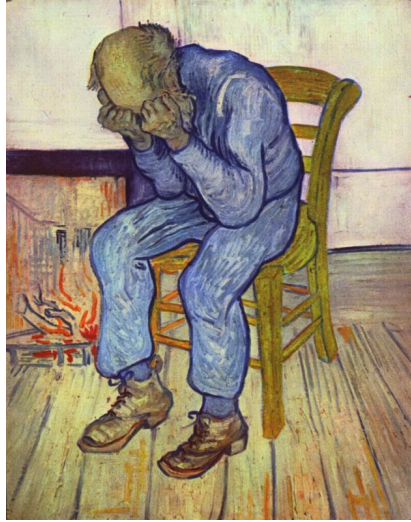


# ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОККЛЮЗИЯ СРЕДНЕМОЗГОВОЙ АРТЕРИИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ МЕХАНИЗМОВ ГИППОКАМП-ЗАВИСИМЫХ ПОСТИНСУЛЬТНЫХ РАССТРОЙСТВ: СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДВУХ МОДЕЛЕЙ

М.Ю. Касаткина аспирант лаборатории функциональной биохимии нервной  
системы ИВНД и НФ РАН

Научный руководитель: Н.В. Гуляева



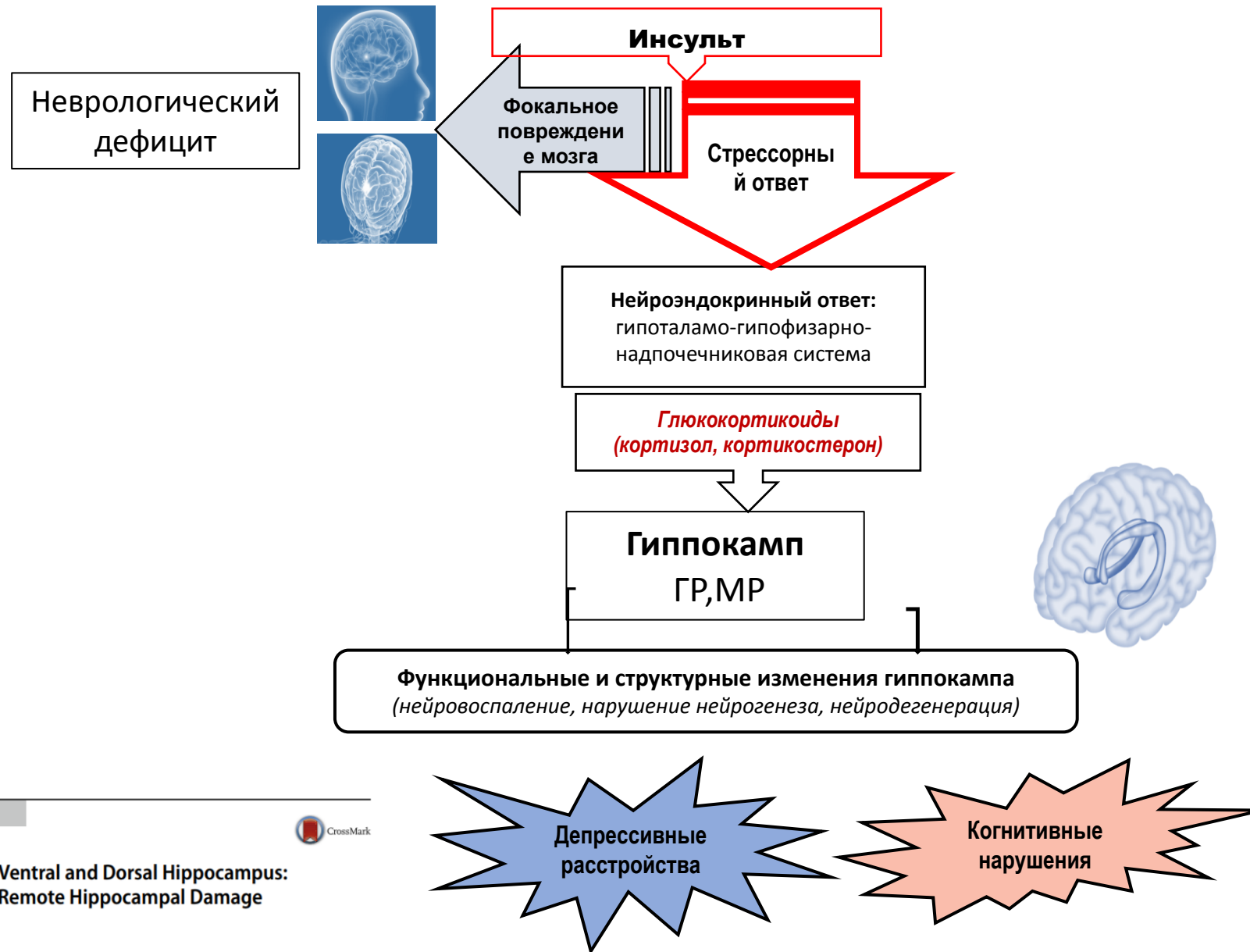
Винсент Ван Гог “На пороге вечности”



# Актуальность

- Ишемический инсульт (80% всех инсультов) – одна из наиболее частых причин смерти и инвалидности во всем мире, а к прежней работе могут вернуться не более 20% больных.
- До 80% пациентов, перенесших инсульт, имеют когнитивные нарушения, которые выявляются в первые 3 месяца после инсульта (даже у пациентов моложе 65 лет и после инсульта легкой степени тяжести).
- Деменция, возникающая после инсульта, демонстрирует высокую (до 90%) коморбидность с депрессией.
- Когнитивные нарушения и депрессивные расстройства, часто коморбидные, развиваются через месяцы и годы после фокального повреждения и механизмы их развития ассоциированы с изменениями в гиппокампе.
- Не удается обнаружить достоверную связь между тяжестью фокального повреждения и вероятностью развития когнитивных и депрессивных расстройств.
- В настоящее время не существует эффективных терапевтических подходов для сохранения или восстановления когнитивного статуса после инсульта, поскольку не известны механизмы повреждения гиппокампа.

# ДИСТАНТНЫЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ ГИППОКАМПА КАК ОСНОВА РАЗВИТИЯ ПОСТИНСУЛЬТНОЙ И ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОЙ ДЕМЕНЦИИ И ДЕПРЕССИИ

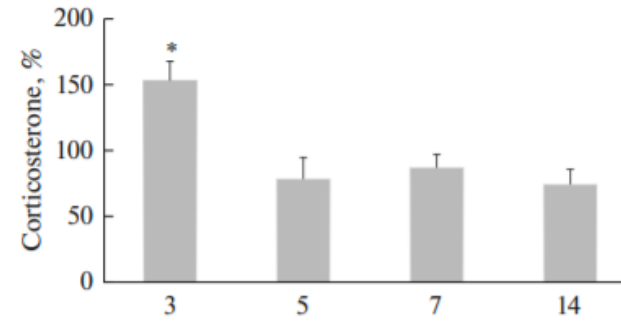


EXPERIMENTAL  
ARTICLES

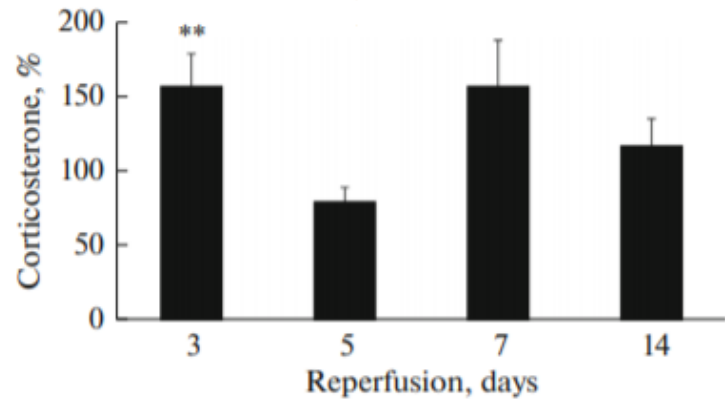
**Accumulation of Corticosterone and Interleukin-1 $\beta$   
in the Hippocampus after Focal Ischemic Damage of the Neocortex:  
Selective Vulnerability of the Ventral Hippocampus**

M. V. Onufriev<sup>1</sup>, S. V. Freiman, Yu. V. Moiseeva, M. Yu. Stepanichev,  
N. A. Lazareva, and N. V. Gulyaeva

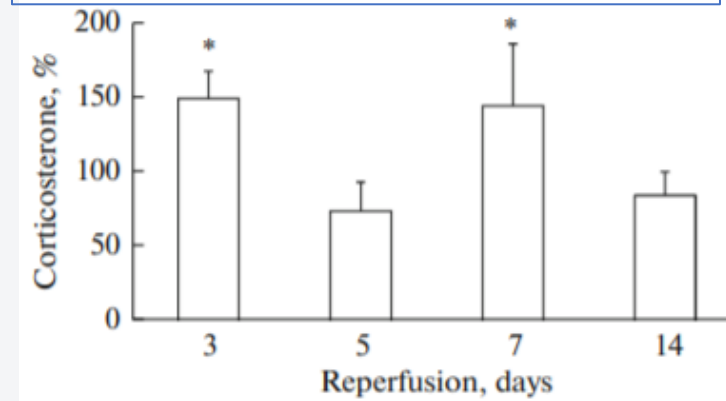
Кортикостерон в сыворотке крови



Кортикостерон в ипсилатеральном  
гиппокампе



Кортикостерон в контралатеральном  
гиппокампе



Объем  
инсульта



# Цели и задачи

## **Цель исследования**

На двух моделях ишемического инсульта провести сравнительный анализ неврологического дефицита, состояния ГНО и интенсивности нейровоспаления.

## **Задачи исследования**

- 1) Сравнить динамику неврологического дефицита и веса крыс в течение 3-х дней после инсульта.
- 2) Сравнить уровни кортикостерона и провоспалительного цитокина ИЛ-1 $\beta$  в отделах головного мозга (гиппокампе, фронтальной коре и оставшийся коры) и в крови крыс на 3 день после ишемического инсульта.

# Материалы и методы

## Моделирование ишемического инсульта

модели Коизуми (J.Koizumi, 1986) и Лонга (E.Longa, 1989)

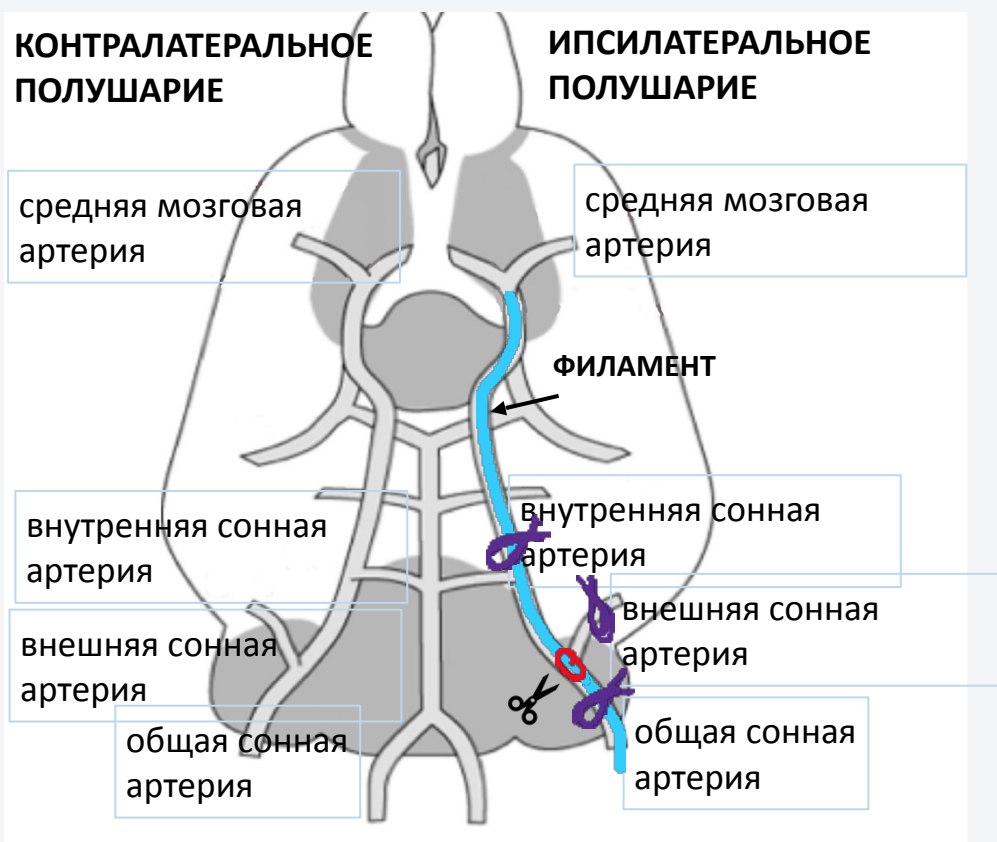
- Использовали 48 взрослых самцов крыс линии Wistar, весом 250-300 г.
- Крысы были разделены на 5 групп:
  - Интактные (n=8)
  - Ложнооперированные, модель Koizumi (ЛО1) (n=8)
  - Оклюзия средней мозговой артерии, модель Koizumi (ОСМА1) (n=8)
  - Ложнооперированные, модель Longa (ЛО2) (n=8)
  - Оклюзия средней мозговой артерии, модель Longa (ОСМА2) (n=8)
- ❖ Ложнооперированные крысы прошли все этапы операции, кроме введения филамента
- ❖ Длительность окклюзии 60 мин.

## Сбор и обработка биологического материала

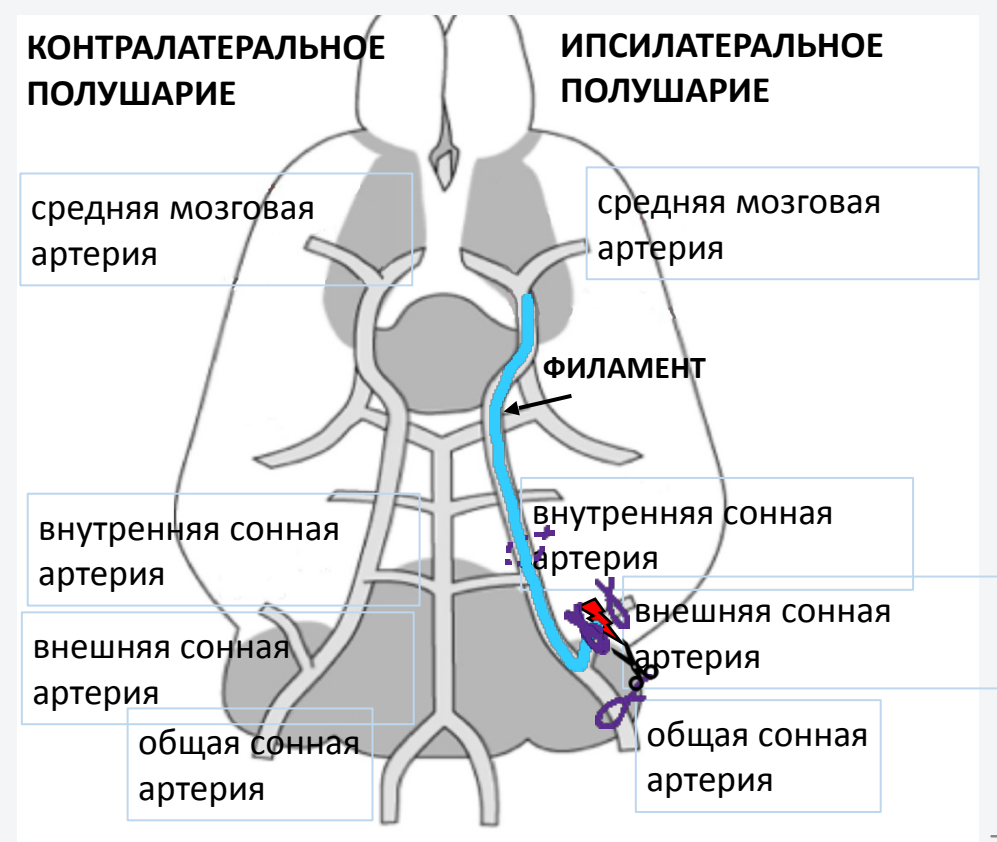
- На 3-и сутки после ОСМА крыс выводили из эксперимента и собирали постдекапитационную кровь, кровь из хвоста, а также выделяли гиппокамп, фронтальную кору и оставшуюся кору из ипси- и контралатерального полушария.
- Образцы участков мозга гомогенизировали, центрифугировали и получали растворимую фракцию - супернатант.

# Экспериментальные модели окклюзии средней мозговой артерии

## МОДЕЛЬ КОИЗУМИ

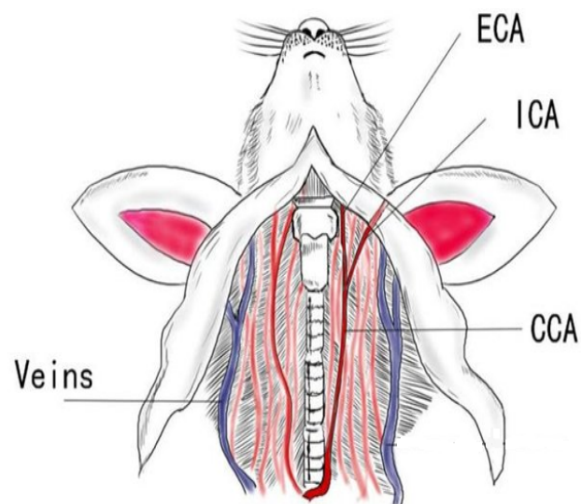


## МОДЕЛЬ ЛОНГА





Этапы операции по моделированию ишемического инсульта у крыс по методу Коизуми и Лонга.



Zongming Liu et al., 2019

	<b>ОСМА1:</b> Метод Коизуми	<b>ОСМА2:</b> Метод Лонга
Наркоз	<i>Ингаляционный наркоз изофлуран</i>	<i>Ингаляционный наркоз изофлуран</i>
<b>*1</b>	Лигатура на левую общую сонную (ОСА) и внешнюю сонную артерии.	Лигатура на левую общую сонную артерию (ОСА) и 2 лигатуры на внешнюю сонную артерии.
2	Временная лигатура на внутреннюю сонную артерию.	Временная лигатура на внутреннюю сонную артерию.
<b>*3</b>	Отверстие в месте бифуркации ОСА на внешнюю и внутреннюю ветви.	Электрокоагуляция внешней сонной артерии у 1 лигатуры, разрезание ее между 1 и 2 лигатурами.
<b>*4</b>	Введение филамента через отверстие и продвижение его по внутренней сонной артерии до средней мозговой артерии. Затягивание лигатуры на внутренней сонной артерии для фиксации филамента.	Введение филамента через остаток внешней сонной артерии через внутреннюю сонную артерию до ее пересечения с средней мозговой артерией. Затягивание 2 лигатуры на внешней сонной артерии для фиксации филамента и снятие лигатуры на внутренней и общей сонных артериях .
5	<b>60 мин</b> окклюзии на фоне лигатированных общей, внешней и внутренней сонной артерий при температуре тела $37\pm 0.5$ °C.	<b>60 мин</b> окклюзии с восстановлением кровотока по общей и внутренней сонной артериям при температуре тела $37\pm 0.5$ °C.
<b>*6</b>	Вынимание филамента, затягивание лигатуры на внутренней сонной артерии. Таким образом, после окклюзии остаются лигатированы общая, внешняя и внутренняя сонные артерии и циркуляция не восстанавливается. <b>Реперфузия идет за счет круга Виллиса.</b>	Перед изъятием филамента, затягивание лигатуры на общей сонной артерии, ослабление лигатуры на внешней сонной артерии. В дальнейшем лигатура снимается с общей и внутренней сонной артерии и остается только на остатке внешней сонной артерии. Таким образом, после окклюзии <b>сохраняется свободная циркуляция крови по общей и внутренней сонной артерии.</b>

Стадии, различающиеся в моделях ОСМА, отмечены \*

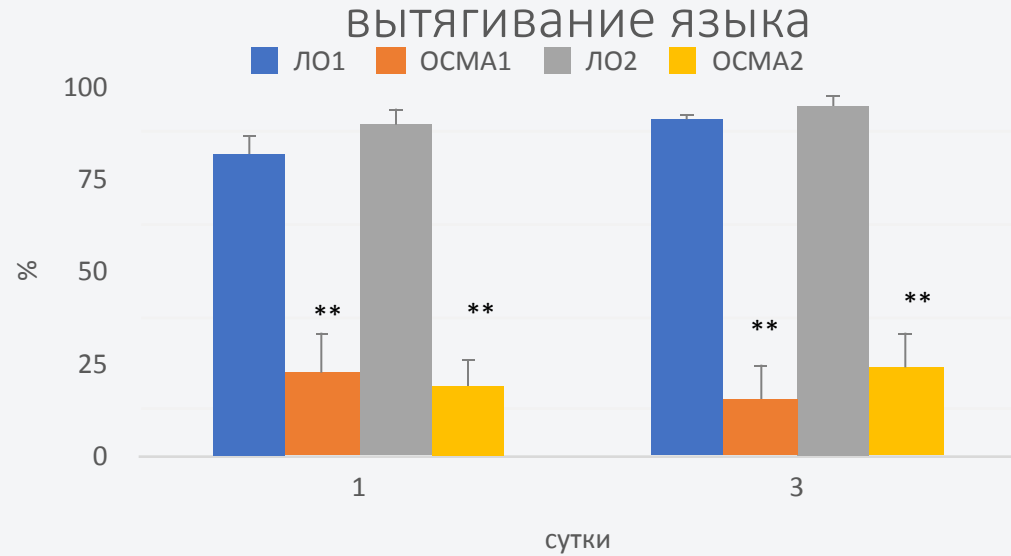
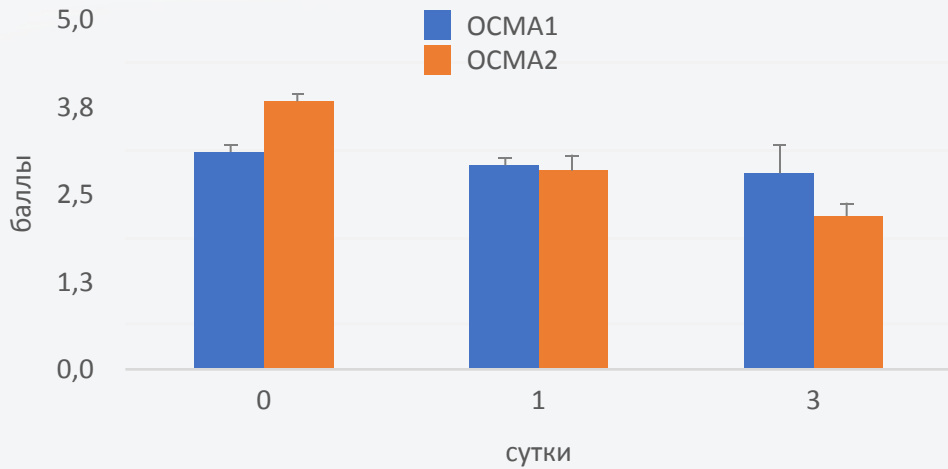


# Неврологический дефицит (5-

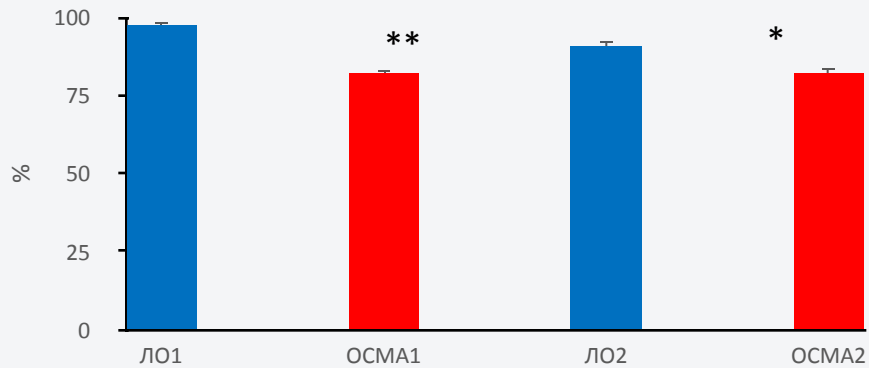
## балльная шкала) в день операции (0) и через 1 и 3 сутки

### Сравнение двух моделей ОСМА: неврологический дефицит и объем поражения

после ОСМА

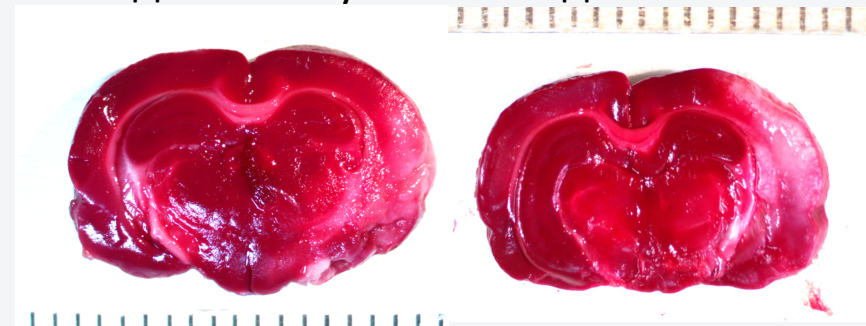


Изменение массы тела крыс на 3-е сутки



Модель Коизуми

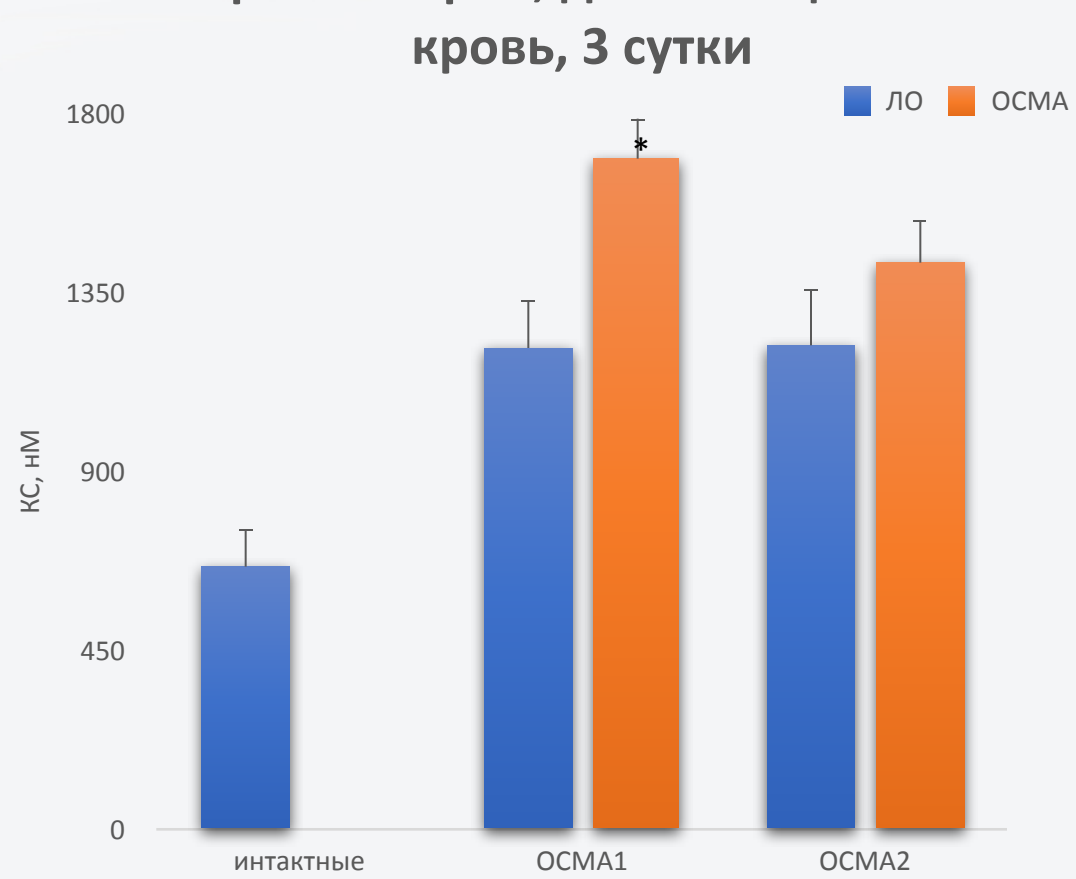
Модель Лонга



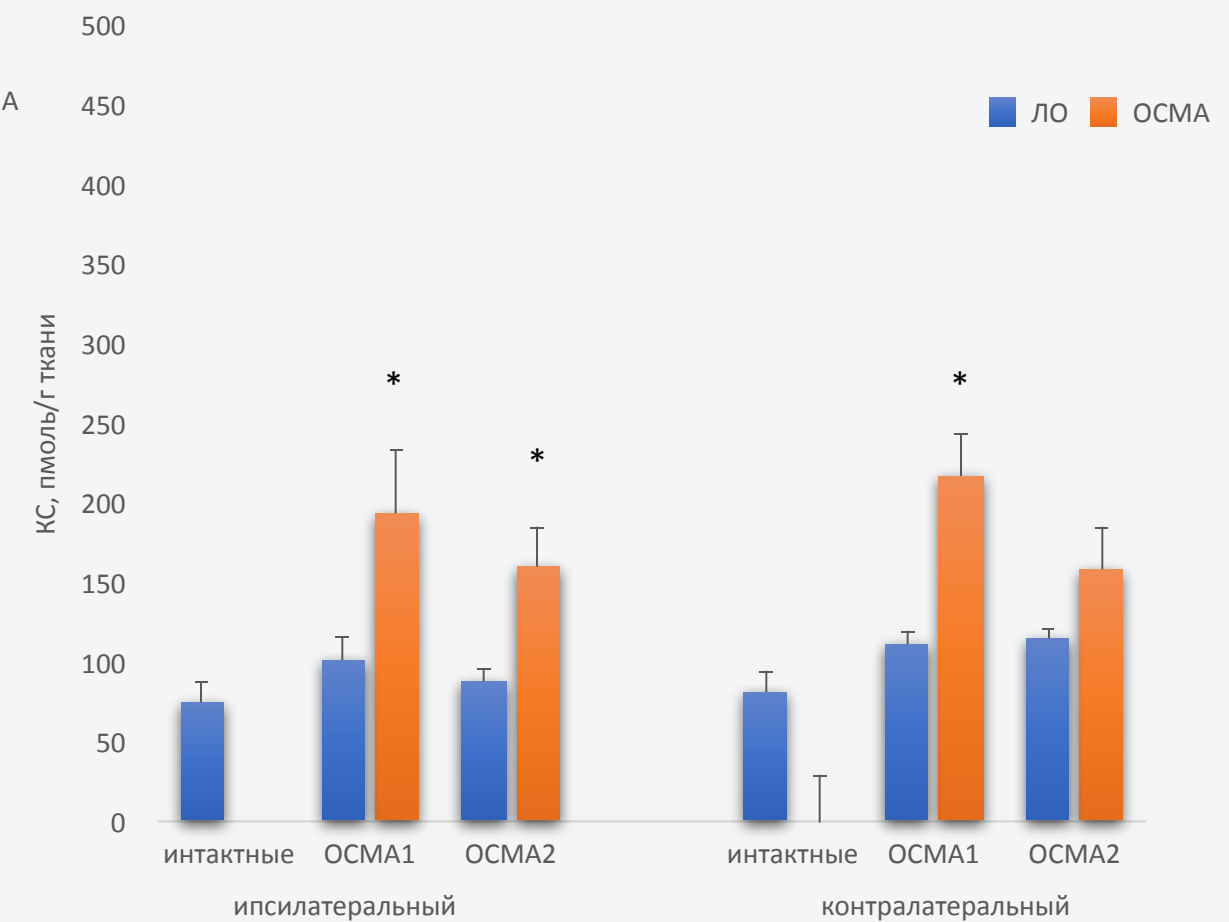
Окраска ТТС

# Изменение уровня кортикостерона в крови и в гиппокампе у крыс после ОСМА

Кортикостерон, декапитационная кровь, 3 сутки

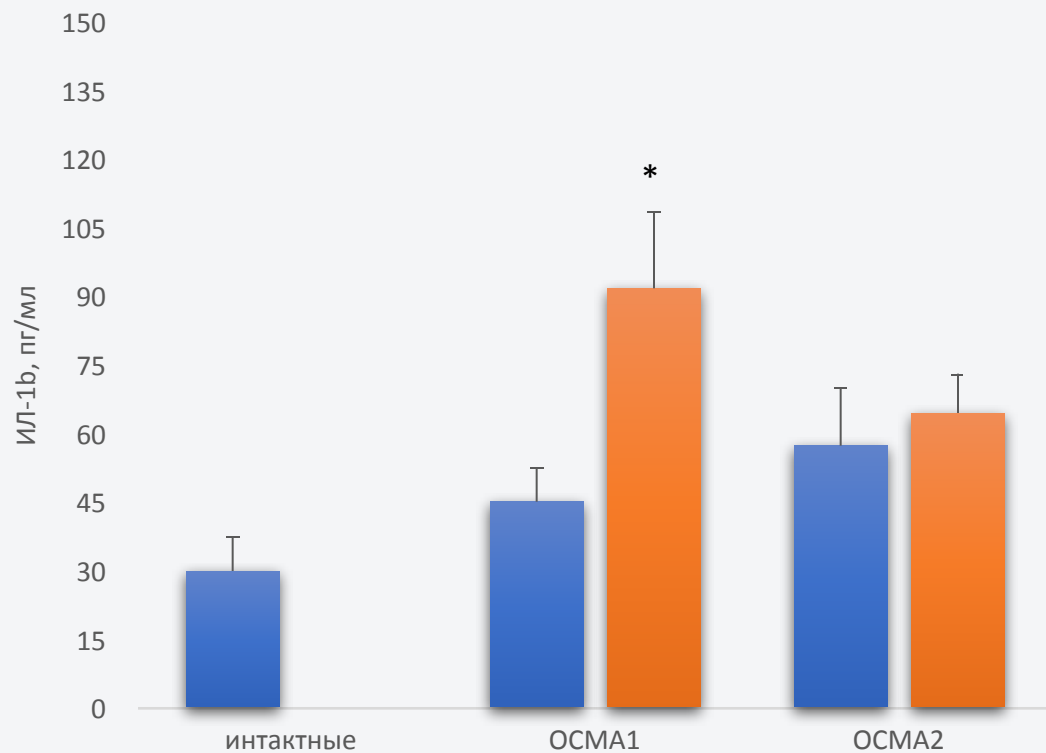


Кортикостерон, гиппокамп 3 сутки

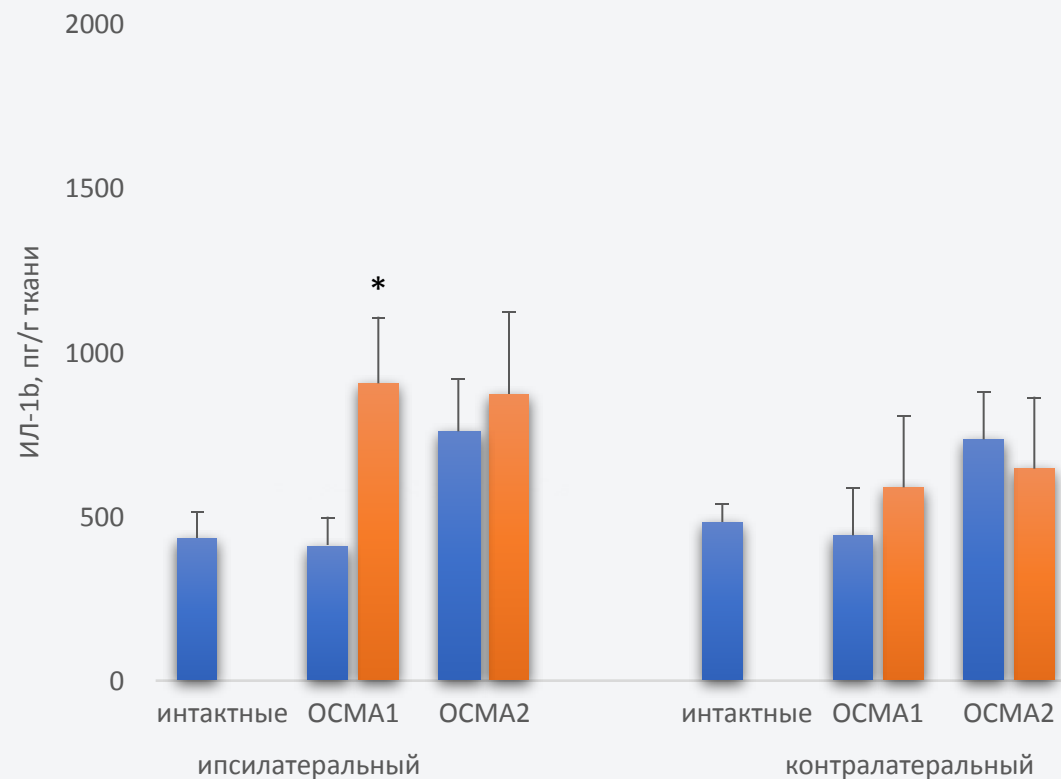


# Изменение уровня ИЛ-1 $\beta$ в гиппокампе и в крови у крыс после ОСМА

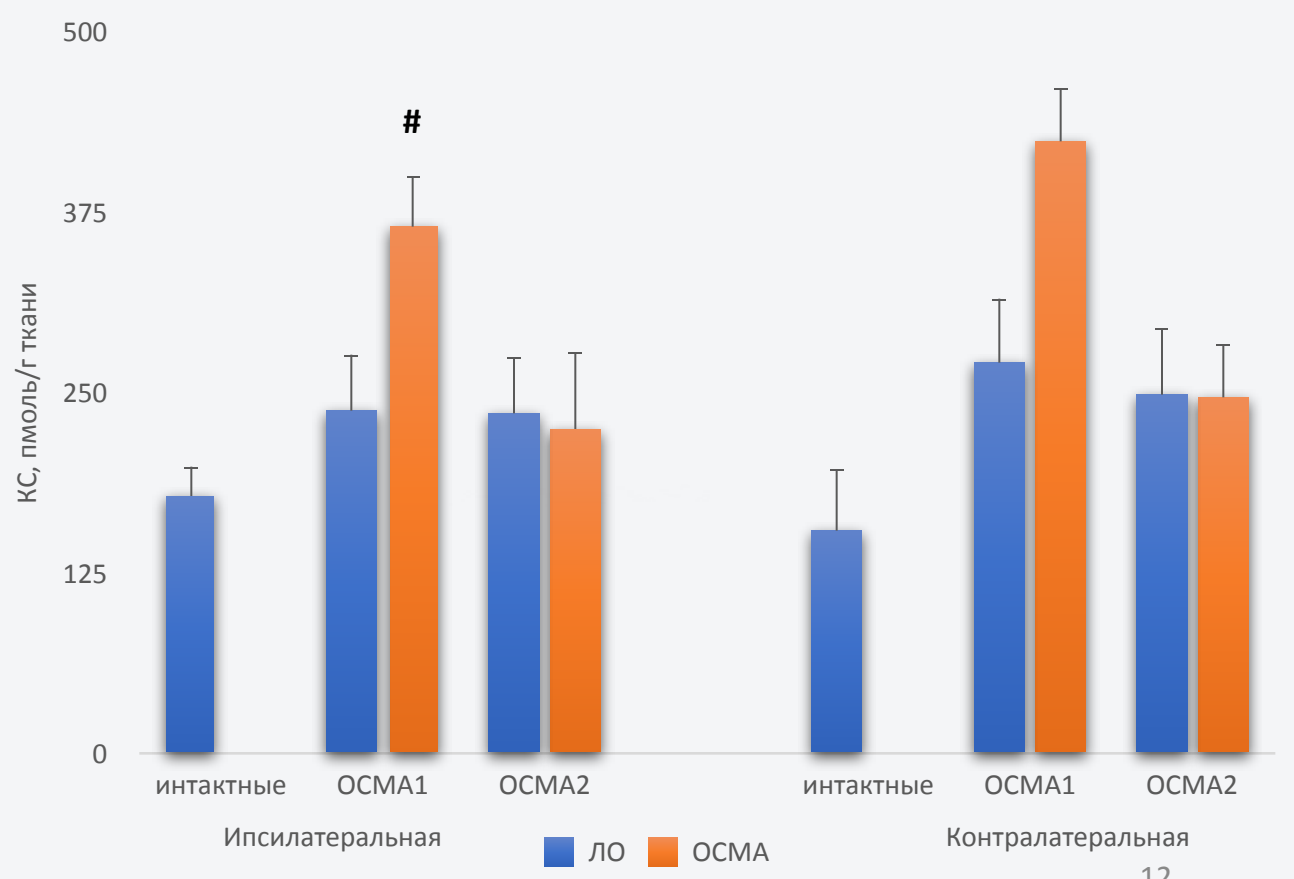
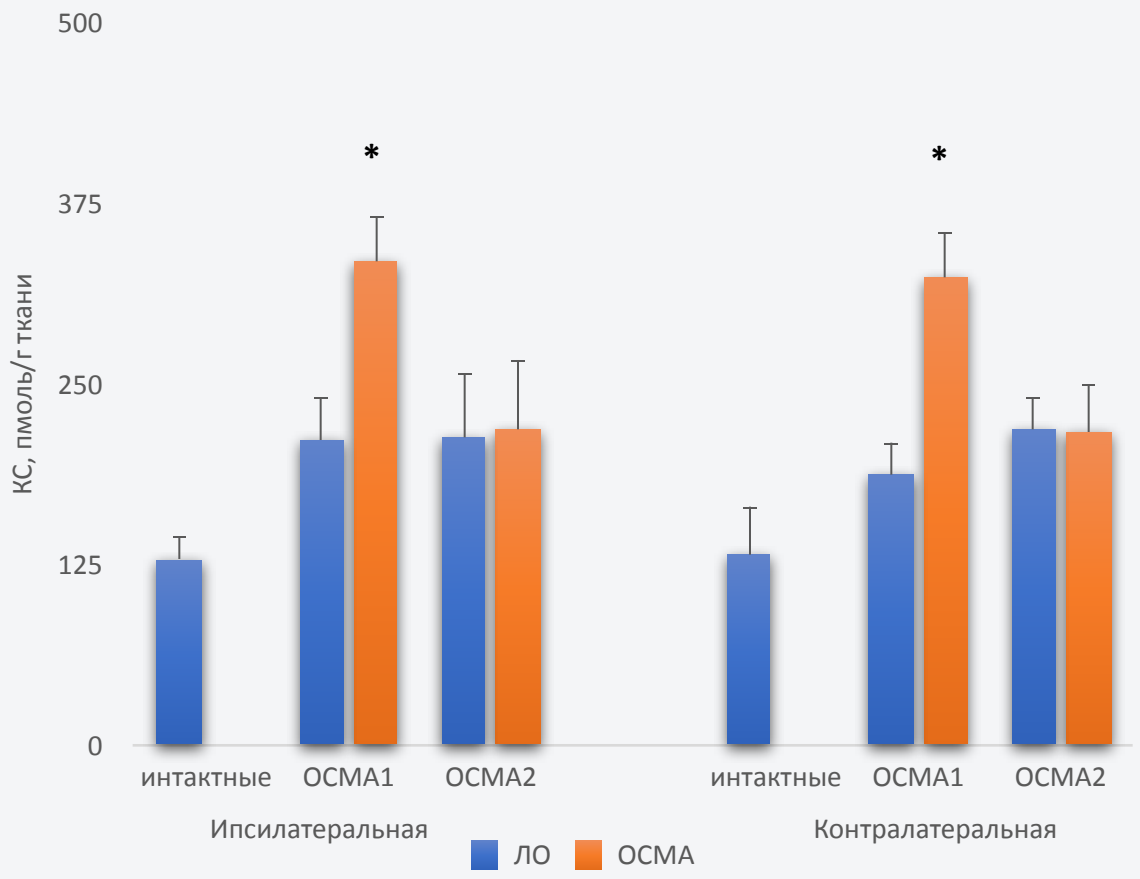
## ИЛ-1 $\beta$ , кровь из хвоста 3 сутки



## ИЛ-1 $\beta$ , гиппокамп 3 сутки



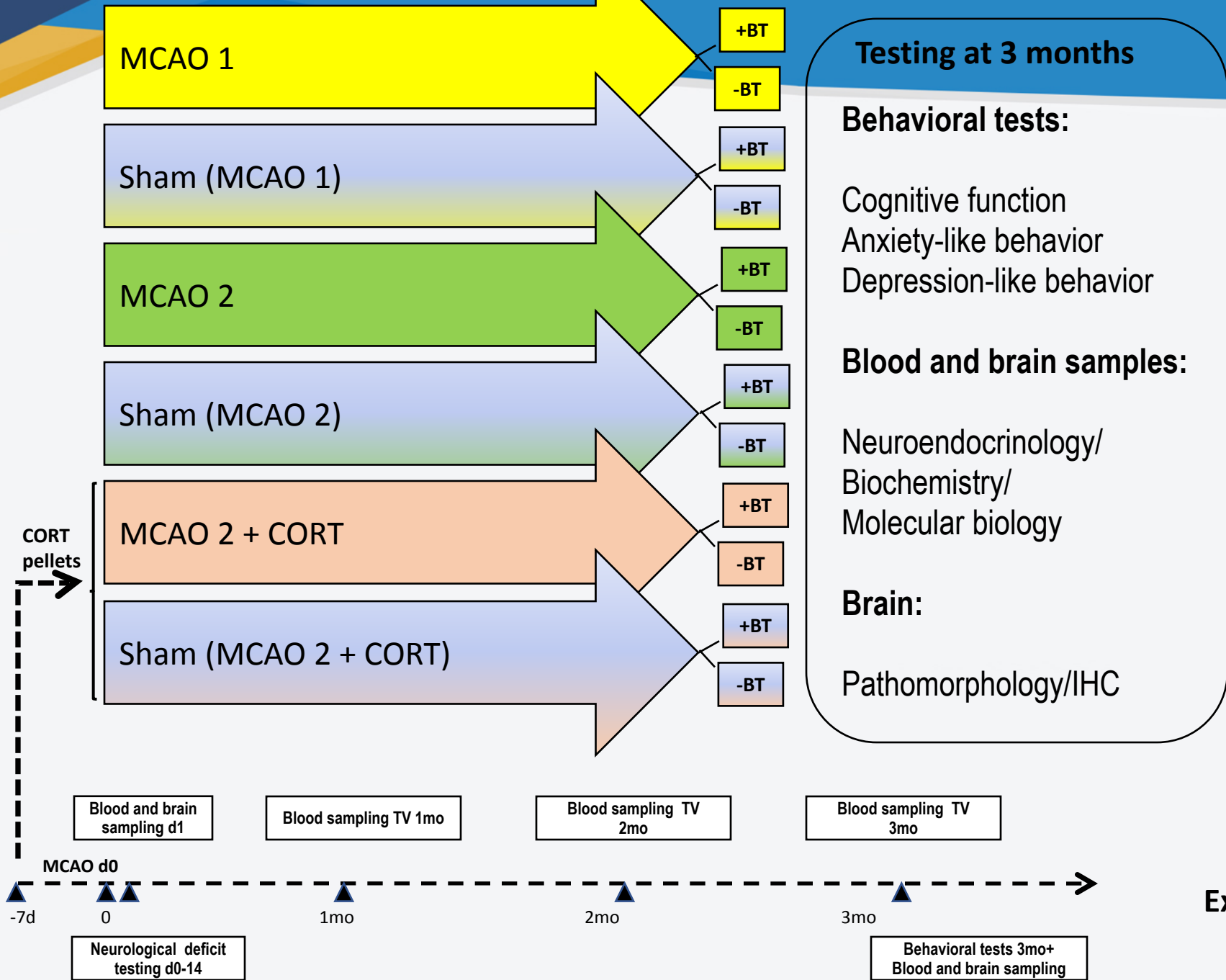
# Изменение уровня кортикостерона во фронтальной коре и остатке коры и при контроле на 3 сутки



# Выводы

- Объем поражения, неврологический дефицит, а также снижение массы тела на моделях Коизуми и Лонга схожие.
- Повышение уровня кортикостерона в модели Коизуми в декапитационной крови совпадало с его аккумуляцией в ипси- и контралатеральных гиппокампе и фронтальной коре. В тоже время подобных отличий на модели Лонга найдено не было, что указывает на более выраженную активацию ГНО на модели Коизуми.
- Уровень ИЛ-1 $\beta$  повысился в крови из хвоста и в ипсилатеральном гиппокампе только на модели Коизуми, но не Лонга, что может свидетельствовать о более интенсивном нейровоспалении на модели Коизуми.
- Таким образом данные модели можно использовать в сравнении для изучения механизмов развития дистантного повреждения гиппокампа и отложенных кортикоид-зависимых когнитивных и эмоциональных расстройств в зависимости от степени нарушения функционирования ГНО.

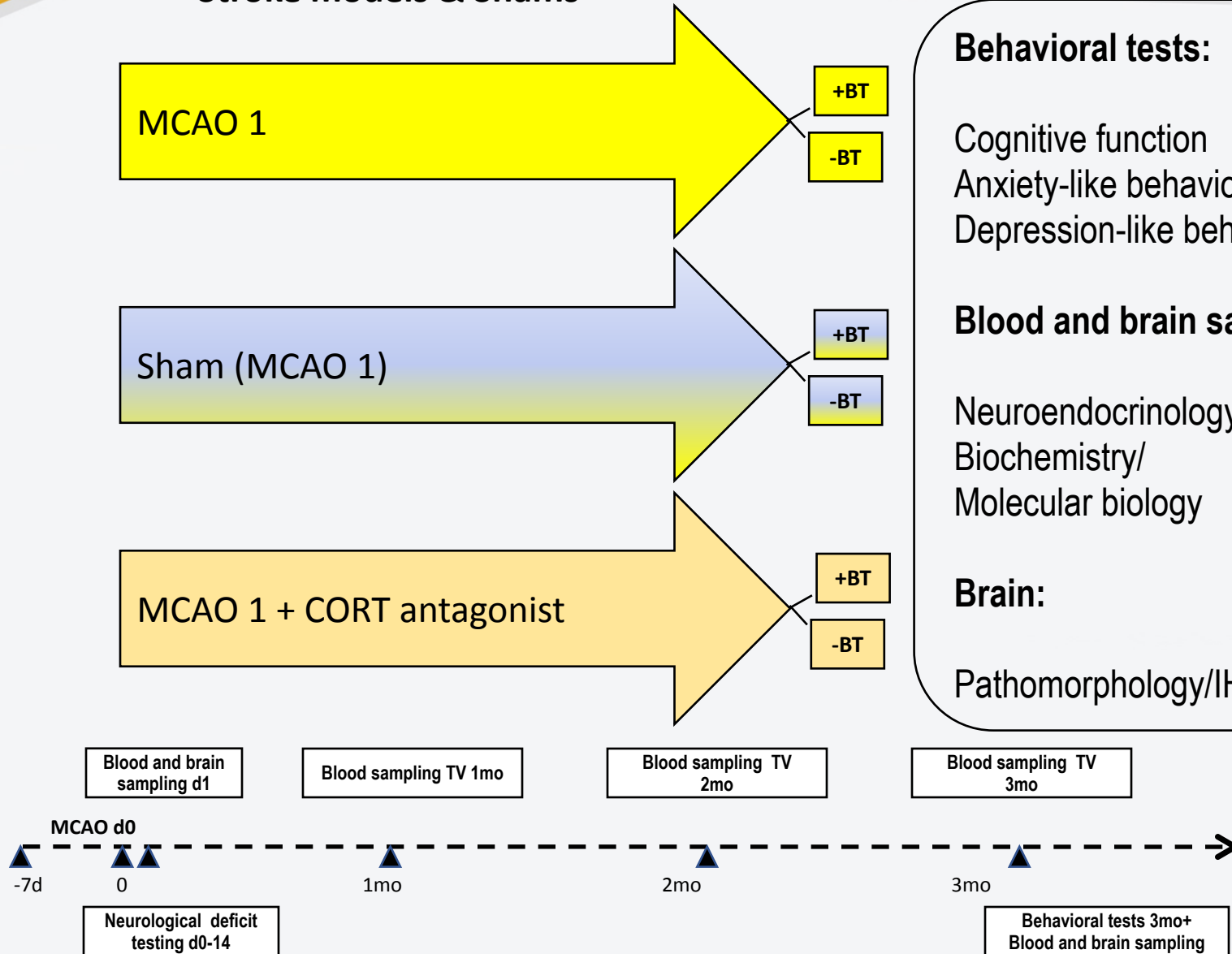
# Stroke models & Shams



Exp 1



## Stroke models & Shams



## Testing at 3 months

### Behavioral tests:

Cognitive function  
Anxiety-like behavior  
Depression-like behavior

### Blood and brain samples:

Neuroendocrinology/  
Biochemistry/  
Molecular biology

### Brain:

Pathomorphology/IHC

**Exp 2**

- При доклиническом исследовании нейропротекторных средств такой подход позволит выявить различную эффективность исследуемых препаратов в зависимости от реактивности ГНО.
- Трансляция экспериментальных результатов в клинику позволит в ранний постинсультный период выявить пациентов с высоким риском развития отложенных постинсультных когнитивных и депрессивно-тревожных расстройств (персонализированная медицина).

