

ISSN: 2219-8229**E-ISSN:** 2224-0136**Founder:** Academic Publishing House *Researcher***DOI:** 10.13187/issn.2219-8229

Has been issued since 2010.



European Researcher. International Multidisciplinary Journal

Biological sciences

Биологические науки

UDC 574

The Local Blood Flow Changes in the Cerebral Cortex with Ischemic Pretreatment under Inhibitors Use

G. Azikuri

Telavi State University named Jacob Gogebashvili, Georgia
 Doctor of Biological Sciences, Associate Professor

Abstract. The aim of this study was examination of the Nitric Oxide role in realization of ischemic preconditioning phenomenon. Experiments were carried out in white rats. Ischemic preconditioning was accomplished by occlusion of the common carotid artery. Cerebrocortical blood flow was measured by Hydrogen clearance technique. Intraperitoneal injection of Nitro-L-arginine-metil ester (L-NAME) resulted in complete suppression of preconditioning, while selective inhibitor of inducible NOS – aminoguanidinsuppressed it just partially.

Keywords: hypoxia; ischemia; inhibitor; local blood flow.

Введение. В настоящей работе мы изучили один из возможных механизмов развития феномена гипоксической предподготовки, связанного с изменениями местного кровотока в головном мозге.

При **гипоксии и ишемии**, развившейся в пре- и перинатальных стадиях онтогенеза из-за дефицита кислорода и питательных веществ, происходит каскад существенных повреждений головного мозга, который усиливается после реперфузии и реоксигенации. В этом периоде повреждаются и гибнут созревающие нервные клетки, что сопровождается поведенческими и психическими осложнениями: тяжелыми повреждениями моторики, ухудшением способности к обучению, нарушениями памяти, эпилепсией и т. д. Вместе с тем известно, что относительно краткосрочное **гипоксическое** воздействие на неонатальных крысят (8 % кислорода) оказывает в дальнейшем протекторный эффект при более долгосрочном гипоксическо-ишемическом воздействии с окклюзией каротидной артерии. Хотя механизмы **гипоксической** предподготовки находятся в стадии изучения, авторы полагают, что оксидазота может играть существенную роль в формировании данного феномена.

Материалы и методы. Мы использовали хорошо известную экспериментальную модель для проведения **гипоксическо-ишемической** предподготовки на новорожденным животным (массой 12-17 г.) под хлоралгидратным наркозом накладывают лигатуру на одну из общих сонных артерий. Для гипоксического воздействия используется малая (объемом до двух литров), проточная (для газа) плексигласовая камера которая помещается в водяную ванну при 37°C. Крысенка сажают в эту камеру и в неё подается увлажненная смесь газа, которая содержит 8 % кислорода и 92 % азота. Одновременно с этим лигатура, продетая через трубочку (отрезанную от тонкого катетера). Подтягивается и общая сонная артерия перекрывается в течение всего периода, пока в камеру подается

гипоксическая газовая смесь. В наших опытах мы частично упростили данную модель и использовали только ишемическое воздействие (окклюзия правой общей сонной артерии), что позволило проводить измерения местного кровотока в головном мозгу в условиях острого опыта. В частности, на отдельных группах новорожденных крысят под хлоралгидратным наркозом были проведены измерения местного кровотока в теменной области коры головного мозга. Измерения проводились методом клиренса водорода до и после каждой окклюзии общей сонной артерии и, соответственно, до и после каждой реперфузии крови. Изменения **местного кровотока** определяли как в условиях селективного и не селективного **ингибирования** синтазы оксида азота, так и без неё. В частности, использовали неселективный **ингибитор** нитро-L-аргинин-метил-эстер (L-NAME, 30мг/кг -интраперитонеально) и селективный **ингибитор** индуцибельной NOS– аминугуанидин (AG, 300мг/кг - интраперитонеально).

Результаты и их обсуждение. В предварительных опытах было выяснено, что сами по себе ни L-NAME, ни AG не приводят к заметным изменениям базового уровня **местного кровотока** в коре головного мозга.

Первая серия (контрольных) опытов была проведена на группе из 6 животных (таблица 1). Динамика изменений местного кровотока в коре головного мозга (выраженная в процентах к исходному уровню) в процессе трехкратной предварительной краткосрочной (5-минутной) окклюзии общей сонной артерии, реперфузий крови (по 10 минут) и основной, трехчасовой окклюзии (измерения в конце каждого часа) приводятся на рис. 1. Четко видно, что благодаря «овершуту» уровня кровотока при реперфузиях, при конечном главном воздействии, несмотря на то что перепад уменьшения кровотока достаточно существенный, его установившийся уровень не превосходит 20 % от исходного значения.

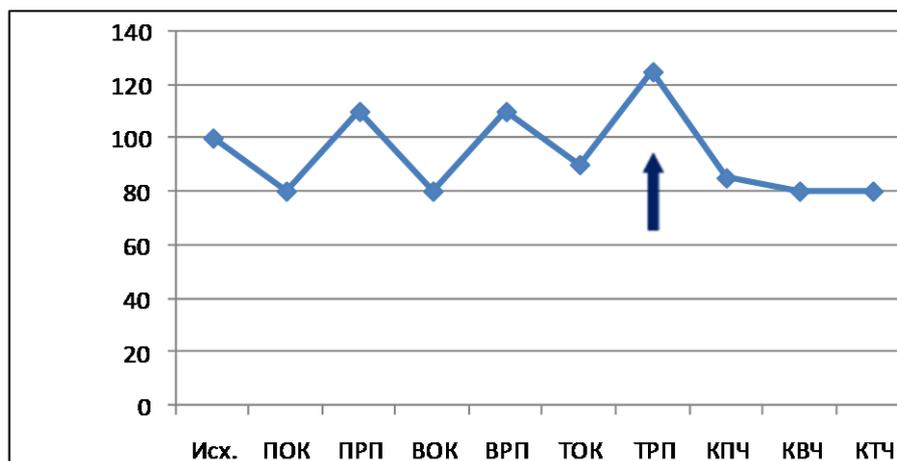


Рис. 1. Динамика изменений местного кровотока в коре головного мозга крысы при предварительных окклюзиях общей сонной артерии. Обозначения: Исх. –Исходный уровень; ПОК, ВОК и ТОК – первая, вторая и третья окклюзии; ПРП, ВРП и ТРП – соответственно первая, вторая и третья реперфузии; КПЧ, КВЧ и КТЧ – конец первого, второго и третьего часа основного воздействия – указано стрелкой.

Во второй группе новорожденных крысят (6 животных) за 15 минут до начала процесса **ишемической** подготовки и проведения основного ишемического воздействия, интраперитонеально вводили неселективный **ингибитор** синтазы оксида азота (L-NAME в дозе 30 мг/кг). Результаты измерений интенсивности местного кровотока в коре головного мозга приведены в таблице 2, а динамика изменений **местного кровотока** в коре головного мозга (выраженная в процентах к исходному уровню) приводится на рис. 2.

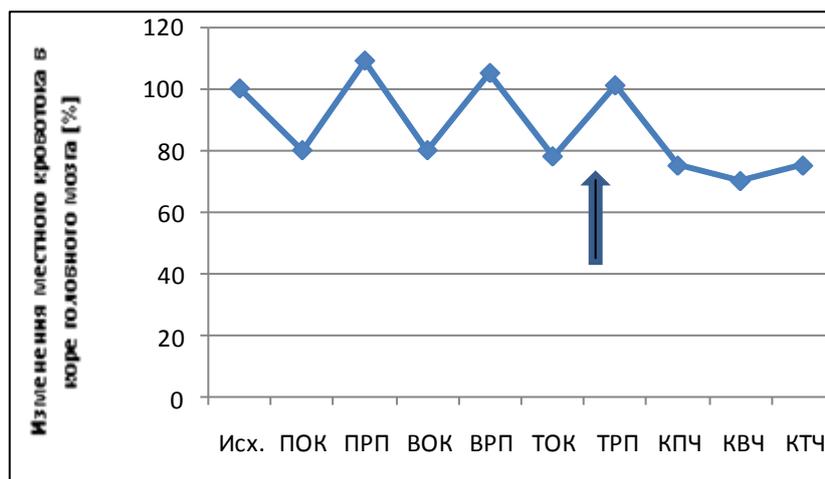


Рис. 2. Динамика изменений местного кровотока в коре головного мозга крысы при предварительных и основной окклюзиях общей сонной артерии, проведенных на фоне интраперитонеально введенного L-NAME. Обозначения те же, что и на рис. 1.

Результаты аналогичных экспериментов, в которых вместо неселективного ингибитора был использован амингуанидин – селективный ингибитор индуцибельной NOS(300 мг/кг. Интраперитонеально), приведены в таблице 1 и рис. 3.

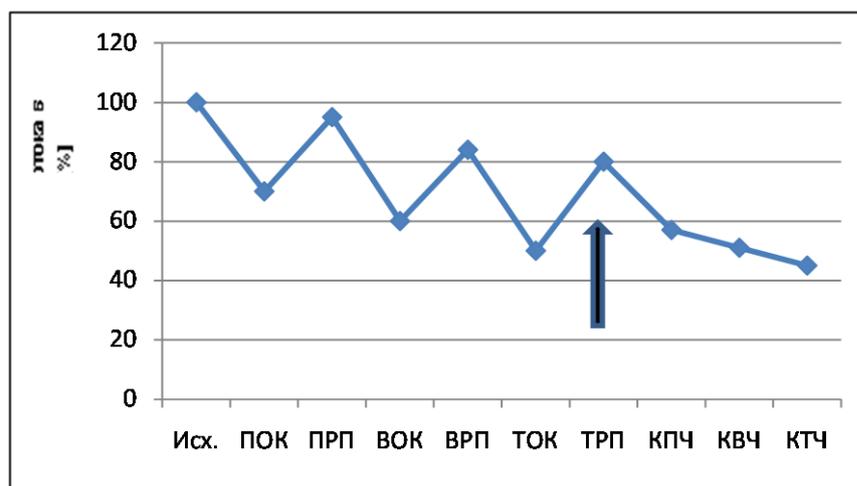


Рис. 3. Динамика изменений местного кровотока в коре головного мозга крысы при предварительных и основной окклюзиях общей сонной артерии, проведенных на фоне, интраперитонеально введенного амингуанидина. Обозначения те же, что и на рис. 1.

Таблица 1

Изменения местного кровотока в коре головного мозга крыс в контроле (группа I). на фоне L-NAME (группа II) и AG(группа III)

Вид воздействия		Группа I	Группа II	Группа III
Исходный уровень		76.7±13.3	71.5±15.0	65.3±12.0
Первое ишемическое воздействие	Окклюзия ОСа	59.3±11.5	49.7±10.2	52.8±15.1
	Реперфузия	81.2±17.3	67.4±13.1	71.5±12.6
Второе ишемическое воздействие	Окклюзия ОСа	62.8±16.2	43.8±12.6	53.3±12.8
	Реперфузия	83.7±21.6	60.3±11.8	68.3±10.5

воздействие				
Третье ишемическое воздействие	Окклюзия ОСа	68.3±19.1	36.2±8.8	50.1±7.5
	Реперфузия	95.8±30.3	55.2±9.6	66.8±6.8
Основное ишемическое воздействие	Конец первого часа	65.5±16.9	40.3±7.2	48.2±5.2
	Конец второго часа	62.8±18.3	36.6±8.4	45.3±9.7
	Конец третьего часа	59.6±19.4	32.7±9.1	47.7±9.6

Выраженная защита от **ишемических** повреждений, вырабатываемая в результате предподготовки, в настоящее время является хорошо установленным фактом для различных органов: головной мозг, сердце, печень, почки, скелетные мышцы, тонкие кишки и легкие. Хотя определенные патофизиологические моменты могут быть аналогичными, но механизм индукции и поддержки толерантности в головном мозгу отличается от таковых, например, для сердца.

Закключение. Как показали наши опыты, **ишемическая** предподготовка последовательно приводит к повышению **местного кровотока**. Так называемый «овершут», имеющий место после каждой реперфузии, приводит к более высокому уровню **местного кровотока**, откуда начинается следующий ишемический стимул, когда в результате основного ишемического воздействия кровотоки падают практически лишь до своего исходного уровня, который имел место до начала предподготовки. Необходимо учесть, что данная серия опытов проходила под хлоралгидратным наркозом и возможное влияние многих факторов на уровень **местного кровотока** (например, боль или изменения эмоционального напряжения) практически исключается. Блокада экспрессии eNOS введением L-NAME, привела к существенному изменению динамики **местного кровотока** в коре головного мозга в условиях предподготовки. Можно полагать, что такой эффект блокады eNOS в условиях **гипоксическо-ишемического** воздействия может привести к развитию необратимых процессов в ЦНС. Относительно слабый эффект ингибирования индуцибельной NOS указывает на её незначительную роль (в наших экспериментальных условиях, когда опыт длится примерно 3-4 часа), продуцирование которого начинается после формирования патологии и требует достаточно длительного времени. Учитывая, что аминогуанидин может частично ингибировать и eNOS, становится понятным и ухудшение эффекта **ишемической** предподготовки.

References:

1. Aden U. et al. MRI evaluation and functional assessment of brain injury after hypoxic ischemia in neonatal mice // *Stroke*, 2002, 33. P. 1405-1410.
2. Aukland k., Bower B., Berliner R. Measurement of local blood flow with hydrogen gas // *Circ Res.*, 1964 Feb, 14. P. 164-87.
3. Calvert J.W. et al. Hyperbaric oxygenation prevented brain injury induced by hypoxia-ischemia in a neonatal rat model // *Brain Res.*, 2002, 951, P. 1-8.
4. Derugin N. et al. Evolution of brain injury after transient middle cerebral artery occlusion in neonatal rats // *Stroke*, 2003, 31. P. 1752-1761.
5. Feng Y., Piletz J.E., Leblanc M. H. Agmatine suppresses nitric oxide production and attenuates hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats // *Pediatric res.*, 2002, 52. P. 606-611.
6. Gidday J. et al. Nitric oxide mediates cerebral ischemic tolerance in a neonatal rat model of hypoxic preconditioning // *J. Cereb. Flow Metab.*, 1999, 19. P. 331-340.
7. Ikeda T. et al. Selective and long-term learning impairment following neonatal hypoxic-ischemic brain insult rats // *Behav. Brain Res.*, 2001, 118. P. 17-25.
8. Ikeda T. et al. Combination treatment of neonatal rats with hypoxia-ischemia and endotoxin induced long-lasting memory and learning impairment that is associated with extended cerebral damage // *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2004, 191. P. 2132-2141.
9. Ikeda T. et al. Dexamethazone prevents long-lasting learning impairment following a combination of lipopolysaccharide and hypoxia-ischemia in neonatal rats // *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2005, 192. P. 719-726.

10. Kumral A. et al. Erythropoietin improves long-term spatial memory deficits and brain injury following neonatal hypoxia-ischemia in rats // *Behav. Brain res.*, 2004, 153. P. 77-86.
11. Mitagvaria N. Regulation of local cerebral blood flow // *Adv Exp Med Biol.*, 1984; 180. P. 861-79.
12. Nandagopal K., Dawson T., Dawson V. Critical role for nitric oxide signaling in cardiac and neuronal ischemic preconditioning and tolerance // *JPET*, 2001, 297. P. 474-178.
13. Peeters-Scholte C. et al. Groenendaal F. Neuroprotection by selective nitric oxide synthase inhibition at 24 hours after perinatal hypoxia-ischemia // *Stroke*, 2002, 33. P. 2304-2310.
14. Rice J. E. et al. The influence of immaturity on hypoxic-ischemic brain damage in the rat // *Ann. Neurol.*, 1981, 9. P. 131-141.
15. Tomai F. et al. Ischemic preconditioning humans: models, mediators, and clinical relevance // *Circulation*, 1999, 100. P. 559-563.

UDC 574

**Изменения местного кровотока в коре головного мозга при ишемических
предподготовках на фоне использования ингибиторов**

Г. Азикури

Телавский государственный университет имени Якоба Гогешашвили, Грузия
Доктор биологических наук, Ассоциированный профессор

Аннотация. основной целью данного исследования является определение роли оксида азота в реализации ишемического феномена. Опыты проводились на белых крысах. Ишемическая операция была проведена путем закупоривания общей сонной артерии. Цереброкортикальный ток крови был измерен методом водородной очистки.

Ключевые слова: гипоксия; ишемия; ингибитор; местный кровоток.