
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**СИНДЕКАН-1 КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ МЕССЕНДЖЕР ЭФФЕКТОВ
ДИСТАНТНОГО ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ
С ИШЕМИЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА**

© 2024 г. М. Э. Колпакова^{1,2,*}, А. А. Яковлева², Л. С. Полякова², Н. El Amghari²,
S. Soliman², Д. Р. Файзуллина², В. В. Шаройко²

¹Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

²Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: patho@yandex.ru

kolpakoavame@infran.ru

Поступила в редакцию 11.10.2023 г.

После доработки 21.12.2023 г.

Принята к публикации 25.12.2023 г.

Изучение механизмов ограничения реперфузионного повреждения методом дистантного ишемического посткондиционирования (RC) представляет интерес в связи с эффектами на функциональное восстановление после перенесенной церебральной ишемии. Цель исследования – оценка роли изменения концентрации белков плазмы крови синдекана-1 (SDC-1) и аннексина-5 (ANXA5) в ограничении ишемически-реперфузионного повреждения в условиях применения RC на модели окклюзии средней мозговой артерии (МСаО) у крыс. Проводили рандомизированные контролируемые исследования. Ишемию моделировали на крысах-самцах Вистар массой 250 г по методу [6] под общей анестезией (Zoletil 100 и Xylazine 2%). Разница концентраций SDC-1 в образцах плазмы ложнооперированных животных и животных с ишемией составила 30% (30 min МСаО: 41.4 ± 1.3 нг/мл, $p < 0.05$). В образцах плазмы крови животных с ишемией на фоне применения протокола RC содержание SDC-1 по сравнению с ложнооперированными животными составила 112% ((30 min МСаО + RC): 67.8 ± 5.8 нг/мл, $p < 0.01$). Расчет объема инфаркта в группе с ишемией выявил $31.97 \pm 2.5\%$ повреждения мозга; в группе 30 min МСаО + RC объем инфаркта составил $13.6 \pm 1.3\%$. Объем отека нервной ткани головного мозга составлял $16 \pm 2.1\%$ в группе 30 min МСаО + RC; а в группе 30 min МСаО $47 \pm 3.3\%$ по сравнению со всем объемом нервной ткани головного мозга. В группе 30 min МСаО + RC корреляционный анализ показал высокую прямую корреляционную зависимость между площадью инфаркта и мышечной силой в правой передней конечности ($KK = 0.72$; $p < 0.05$). Корреляционный анализ показал в группе 30 min МСаО + RC очень высокую обратную корреляционную зависимость между площадью инфаркта и капиллярным кровотоком ($r = -0.98$, $p < 0.01$). Обсуждается связь повышения SDC-1 в плазме крови с механизмами ограничения ишемически-реперфузионного повреждения, а также роль SDC-1 как потенциального мессенджера в процессе функционального восстановления.

Ключевые слова: МСаО, церебральная ишемия, дистантное ишемическое посткондиционирование, синдекан-1, аннексин-5

DOI: 10.31857/S0869813924030068, **EDN:** CPTAJX

ВВЕДЕНИЕ

Дистантное ишемическое посткондиционирование (RC) в постинсультном периоде может рассматриваться как эффективный способ функционального восстановления после ишемии головного мозга. Изучение сосудистых эффектов RC важно для научного обоснования его применения в комплексе с реабилитационными мероприятиями у постинсультных пациентов для раннего функционального восстановления. Функциональное восстановление после перенесенного инсульта зависит от вариабельности повреждения и от чувствительности различных популяций нейронов к гипоксии. Экспериментальные данные о схемах сигнальных путей при использовании фармакологических и нефармакологических методов нейропротекции в эксперименте многочисленны и разнообразны. Несмотря на экспертные данные, которые продвинули наше понимание в патофизиологии инсульта, механизмы нейропротекции после инсульта остаются недостаточно изученными, в связи с чем ни одно клиническое испытание веществ с нейропротекторным эффектом не продемонстрировало улучшение результатов при использовании у пациентов с инсультом в клинике [2]. Известно, что нарушение молекулярной структуры эндотелиального гликокаликса в связи с ишемией нарушает физиологические гемодинамические процессы и приводит к гиперпроницаемости микрососудов гематоэнцефалического барьера [3]. Следовательно, необходимо продолжать поиск молекулярных механизмов в этом направлении для самоограничения повреждения и ускорения функционального восстановления в постинсультный период.

Цель настоящего экспериментального исследования – оценка роли изменения концентрации белков синдекана-1 и аннексина-5 в ограничении ишемически-реперфузионного повреждения в условиях применения RC на модели окклюзии средней мозговой артерии (МСаО) у крыс.

Необходимо уточнить возможности для усиления эндогенных механизмов нейропластичности в случае возникновения ишемии в бассейне средней мозговой артерии. Мы предполагаем, что дистантное посткондиционирование, проведенное в ранние сроки после краткосрочной ишемии, может повлиять на выраженность ишемически-реперфузионного повреждения. В результате дистантное посткондиционирование сопровождается повышением толерантности нервной ткани к ишемическому повреждению.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты были проведены на крысах-самцах Вистар ($n = 87$) массой 250 ± 50 г из Биокolleкции Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Животные содержались в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и пище. Модель ишемического инсульта выполняли по стандартной методике [4]. МСаО проводили с помощью внутрисосудистой монофиламентной нити под общей анестезией (золетил 100 VIRBAC, Франция) и ксилазин (Xyla, Xylazine 2%, Interchemiewerken «De Adelaar V. V.», Нидерланды)). Смесь вводили внутримышечно в дозе 0.88 мл/кг. Ишемия в течение 30 мин вызывала нарушение кровообращения в бассейне левой средней мозговой артерии. Величина инфаркта мозга являлась достаточной для оценки повреждения [5]. Всем животным выполняли ультразвуковую доплеровскую флоуметрию для оценки линейной скорости кровотока (V_{as} (mm/sec) в капиллярах кожи левой задней конечности (Минимакс, Россия)). В нашем эксперименте использовали протокол дистантного кондиционирования (RC). Схема эксперимента приведена на рис. 1.

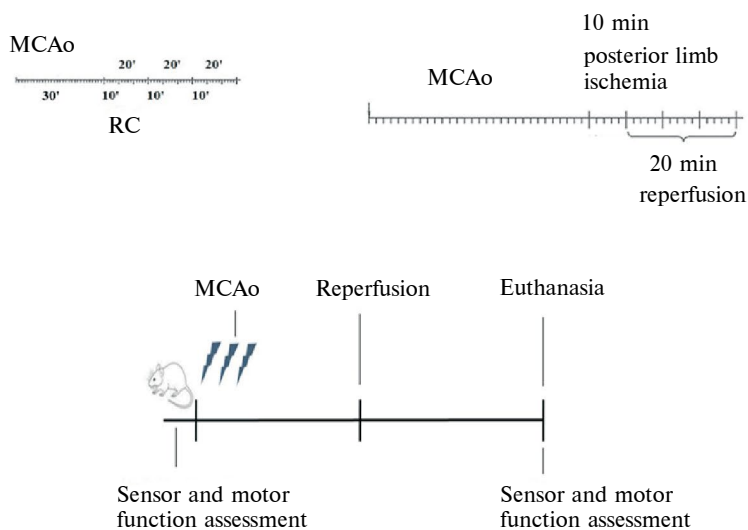


Рис. 1. Схема эксперимента.

Животные были разделены на 3 группы: ложнооперированные животные (FO); животные с 30-минутной ишемией (30 min MCAo); животные с 30-минутной ишемией и дистантным посткондиционированием (30 min MCAo + RC). Распределение выборки животных по группам осуществлялось случайным образом.

В схему эксперимента (рис. 1) входила оценка неврологического дефицита, которую осуществляли с помощью шкалы Гарсия. Оценку проводили с определением спонтанной активности в течение 5 мин, симметричности движений конечностей, реакции на прикосновения к каждой стороне туловища и вибриссам, способности забираться по проволоочной стенке клетки. Тест по шкале Гарсия использовали для оценки неврологического дефицита у животных через 12, 24 и 48 ч после перенесенной ишемии. Тест на определение мышечной силы с помощью прибора (Grip Strength Meter, Индия) использовали для оценки степени неврологического дефицита (пареза конечности). Изучение координации движений животного производили на аппарате Ротарод (Rotarod Apparatus, Индия) с измерением времени нахождения животного на крутящемся цилиндре прибора.

Для оценки объема ишемически-реперфузионного повреждения использовали хлорид 2,3,5-трифенилтетразолия (ТТС). Крыс эвтаназировали через 48 ч путем экспозиции CO_2 под общей анестезией. Мозг осторожно удаляли и погружали в холодный фосфатно-солевой раствор в чашку Петри, затем замораживали (при -20°C) в течение 30 мин, далее разрезали с помощью бритвенных лезвий и готовили срезы толщиной 2 мм. Затем срезы мозга инкубировали в 2%-ном растворе ТТС (Sigma Aldrich, США) при температуре 37°C . Изменение цвета являлось показателем окрашивания ТТС жизнеспособных митохондрий в нервной ткани. Инфарктные области, в которых отсутствуют жизнеспособные митохондрии, не меняли цвет и оставались белыми. Участки ишемии мозга оценивали с помощью компьютеризированной аналитической системы (Karl Storz, Австрия) Image-Pro program (MediaCybernetics, США). Общий объем инфаркта оценивали по всем срезам согласно формуле:

$$\text{Объем инфаркта (\%)} = [V_{\text{левое полушарие}} / (2 \times V_{\text{правое полушарие}})] \times 100.$$

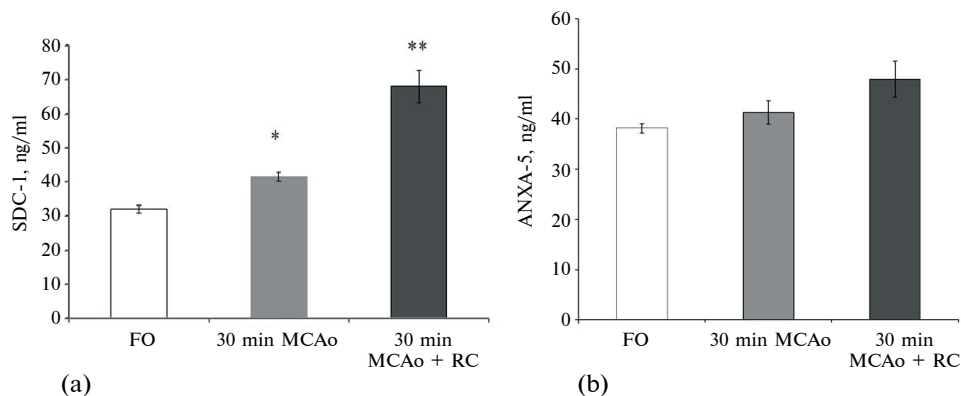


Рис. 2. (a) – Результаты измерения концентрации SDC-1 в плазме крови животных на 5-е сутки эксперимента ($n = 10$). (b) – Результаты измерения концентрации ANXA5 в плазме крови животных на 5-е сутки эксперимента ($n = 10$). Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ стандартная ошибка, (p – значимость различий между группами; * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$).

Отек ткани головного мозга рассчитывали по формуле на 2-й день после ишемии-реперфузии:

$$\text{Отек ткани (\%)} = [V \text{ левого полушария} - V \text{ правого полушария} / V \text{ правого полушария}] \times 100.$$

V – это объем ткани, выраженный в мм^3 .

Иммуноферментный анализ (ELISA, RayBiotech, США) использовали для количественного определения белков плазмы синдекан-1 (SDC-1) и аннексин-5 (ANXA5). Для регистрации результатов ELISA (поглощение при 450 нм) использовали планшетный мультимодальный спектрофотометр (Clariostar Plus, Германия). Статистический анализ результатов ELISA был основан на биномиальной модели регрессии.

Статистическую обработку полученных данных проводили в программе Statistica v.12. Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ стандартная ошибка, p – значимость различий между группами. Для сравнения двух выборок с нормальным распределением использовали однофакторный дисперсионный анализ. Сравнение двух независимых групп проводили при помощи U-критерия Манна–Уитни. Различия оценивались как статистически значимые при * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Иммуноферментный анализ

При определении концентрации SDC-1 в образцах плазмы крови животных группы 30 min MCAo разница с FO составила 30% (FO: 31.9 ± 1.1 ng/ml; 30 min MCAo: 41.4 ± 1.3 ng/ml, $p < 0.05$, рис. 2a). В образцах плазмы животных 30 min MCAo + RC концентрация SDC-1 превысила более чем в два раза (FO: 31.9 ± 1.1 ng/ml; 30 min MCAo: 67.8 ± 5.8 ng/ml, $p < 0.01$). В исследуемых группах не было выявлено разницы по содержанию в крови ANXA5 (рис. 2b).

Ультразвуковая доплеровская флоуметрия

На вторые сутки после ишемии в группе животных 30 min MCAo капиллярный кровоток в задней конечности повысился на 121% (FO: 0.14 ± 0.01 mm/sec; 30 min MCAo: 0.31 ± 0.05 mm/sec, $p < 0.01$). На вторые сутки после ишемии в группе животных 30

min MCAo + RC капиллярный кровоток в задней конечности повысился на 142% (FO: 0.14 ± 0.01 mm/sec; 30 min MCAo + RC: 0.34 ± 0.01 mm/sec, $p < 0.01$).

На пятые сутки после ишемии в группе животных 30 min MCAo капиллярный кровоток в задней конечности снизился на 17% по сравнению с группой FO (FO: 0.30 ± 0.01 mm/sec; 30 min MCAo: 0.25 ± 0.02 mm/sec, $p < 0.05$). На пятые сутки после ишемии в группе животных 30 min MCAo + RC капиллярный кровоток в задней конечности, напротив, повысился на 7% по сравнению с группой FO (FO: 0.30 ± 0.01 mm/sec; 30 min MCAo + RC: 0.33 ± 0.01 mm/sec, $p < 0.05$).

Перед выведением животных из эксперимента через 48 ч после оперативного вмешательства линейная скорость кровотока в группе 30 min MCAo не восстанавливалась (0.239 ± 0.019 mm/sec, $p < 0.05$) и была ниже таковой по сравнению с FO на 28% (0.336 ± 0.018 mm/sec). В то же время линейная скорость кровотока перед выведением из эксперимента в группах FO и 30 min MCAo + RC составила 0.302 ± 0.017 mm/sec, $p < 0.05$.

Тест Гарсия

Исходно у крыс всех экспериментальных групп не наблюдали неврологических нарушений, и они имели максимальное количество баллов (18) по шкале Гарсия. Через 12 ч после ишемии у крыс в группах с ишемией возник неврологический дефицит, причем разница с FO составила 37% (FO: 8 баллов; 30 min MCAo: 10.7 баллов). Через 24 ч после MCAo во всех группах с ишемией неврологический дефицит сохранялся. Однако разница с ложнооперированным контролем составляла 36% (FO: 18 баллов; 30 min MCAo: 11.5 баллов). Через 48 ч разница с ложнооперированным контролем уже составляла 14% (FO: 18 баллов; 30 min MCAo: 15.5 баллов).

Тест мышечной силы (grip-test)

По результатам проведенного анализа на вторые сутки после ишемии в группе 30 min MCAo мышечная сила в левой (ипсилатеральной) передней конечности снизилась на 37% (FO: 4.1 ± 1.4 Н; 30 min MCAo: 2.6 ± 0.5 Н, $p < 0.05$). На вторые сутки после ишемии в группе 30 min MCAo мышечная сила в левой передней конечности снизилась на 32% (FO: 4.1 ± 1.4 Н; 30 min MCAo + RC: 2.8 ± 0.5 Н, $p < 0.05$).

На пятые сутки после ишемии в группе животных 30 min MCAo мышечная сила в левой (ипсилатеральной) передней конечности восстановилась, однако разница с контролем составила 15% (FO: 4.6 ± 1.5 Н; 30 min MCAo: 3.9 ± 1.1 Н ($p > 0.5$)). На пятые сутки после ишемии в группе животных 30 min MCAo + RC мышечная сила в левой передней конечности восстановилась, разница с контролем составила всего 2% (FO: 4.6 ± 1.5 Н; 30 min MCAo + RC: 4.5 ± 0.7 Н ($p > 0.5$), рис. 3а).

На вторые сутки после ишемии в группе животных 30 min MCAo мышечная сила в правой (контралатеральной) передней конечности снизилась на 26% (FO: 3.9 ± 0.5 Н; 30 min MCAo: 2.9 ± 0.3 Н, $p < 0.05$). На вторые сутки после ишемии в группе животных 30 min MCAo + RC мышечная сила в правой передней конечности снизилась на 25.7% (FO составила 3.9 ± 0.5 Н; 30 min MCAo + RC: 2.9 ± 0.7 Н, $p < 0.05$).

На пятые сутки после ишемии в группе животных 30 min MCAo мышечная сила в правой (контралатеральной) передней конечности уменьшилась на 17% (FO: 5.2 ± 0.9 Н; 30 min MCAo: 4.3 ± 0.2 Н, $p > 0.5$). На пятые сутки после ишемии в группе животных 30 min MCAo + RC мышечная сила в правой передней конечности составила 75% по сравнению с ложнооперированными животными (FO: 5.2 ± 0.9 Н; 30 min MCAo + RC: 3.9 ± 0.8 Н, $p > 0.5$, рис. 3б).

Оценка объема инфаркта

Расчет объема инфаркта в группе с ишемией выявил $32.0 \pm 2.5\%$ повреждения мозга; в группе 30 min MCAo + RC объем инфаркта составил $13.6 \pm 1.3\%$, $p < 0.05$). Расчет

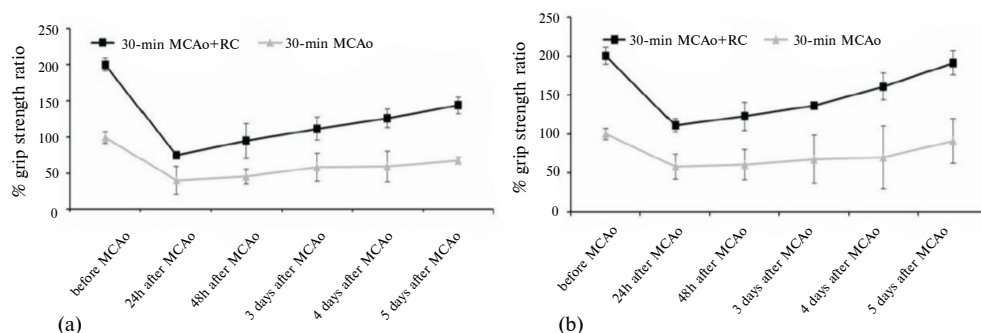


Рис. 3. (а) – Амплитуда мышечной силы (Н, %) в процентном соотношении в левой (ипсилатеральной) передней конечности животных в разные сроки после ишемии (1–5 суток), ($n = 10$). (б) – Влияние 30 min MCAo на величину мышечной силы (Н, %) в правой (контралатеральной) передней конечности животных в разные сроки после 30 min MCAo (1–5 суток), ($n = 10$).

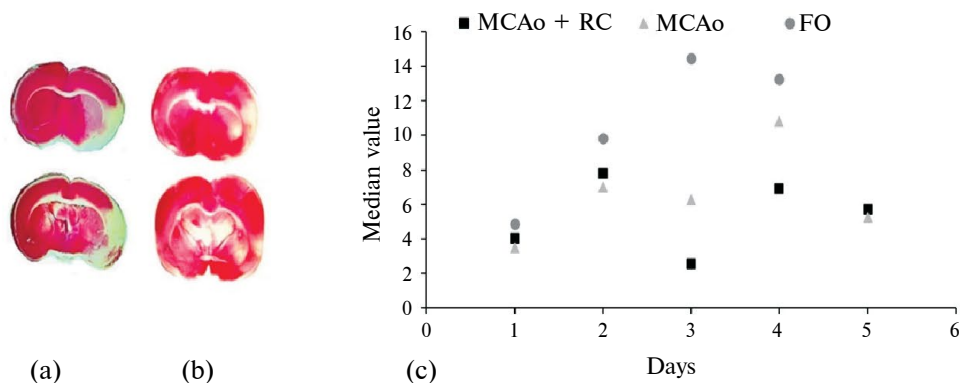


Рис. 4. (а, б) – Инфаркт мозга в группе 30 min MCAo (а) и в группе 30 min MCAo + RC (б) (2-е сутки), ($n = 5$). (с) – Средние значения времени Ротарод-теста в группах FO, 30 min MCAo, 30 min MCAo + RC в каждый день недели эксперимента.

объема отека ткани головного мозга в группе 30 min MCAo + RC составлял $16 \pm 2.1\%$; в группе 30 min MCAo отек достигал $47 \pm 3.3\%$, $* p < 0.05$ (рис. 4а, б).

В группе 30 min MCAo + RC корреляционный анализ показал высокую прямую корреляционную зависимость между площадью инфаркта и мышечной силой в правой передней конечности ($KK = 0.72$; $p < 0.05$). Корреляционный анализ показал в группе 30 min MCAo + RC очень высокую обратную корреляционную зависимость между площадью инфаркта и капиллярным кровотоком ($r = -0.98$, $p < 0.01$, рис. 4с).

Ротарод-тест

На вторые сутки после ишемии время удержания равновесия на крутящемся цилиндре в аппарате Rota Rod в группе животных 30 min MCAo сократилось на 29% (FO: 9.82 ± 0.1 sec; 30 min MCAo: 7.02 ± 0.2 sec, $p < 0.05$). На вторые сутки после ишемии в группе животных 30 min MCAo + RC время удержания равновесия на крутящемся цилиндре в аппарате Rota Rod снизилось на 21% (FO: 9.8 ± 0.1 sec; 30 min MCAo + RC: 7.8 ± 0.1 sec, $p < 0.05$).

На 5-е сутки после ишемии в группе животных 30 min MCAo время удержания равновесия на крутящемся цилиндре в аппарате Rota Rod сократилось на 60% (FO: $13.24 \pm$

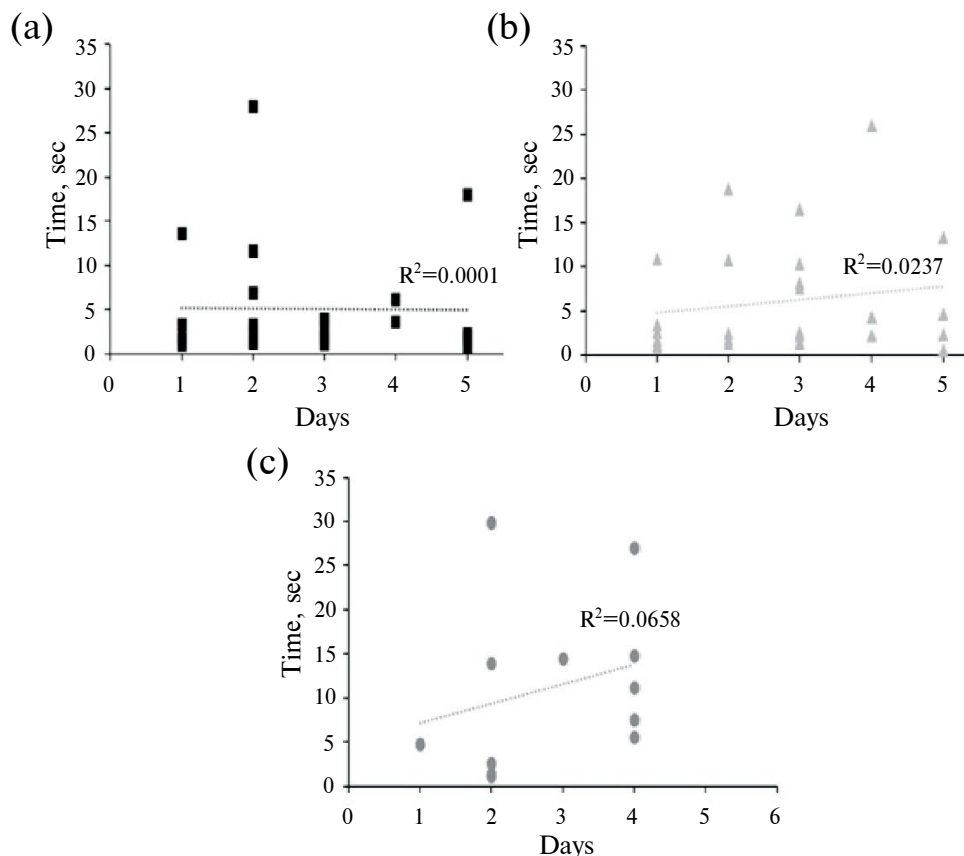


Рис. 5. Ротарод-тест: (а) – в группе 30 min MCAo + RC, (б) – в группе 30 min MCAo, (с) – в группе FO в каждый день недели.

± 0.9 sec; 30 min MCAo: 5.25 ± 0.1 sec. На 2-е сутки после ишемии в группе животных 30 min MCAo + RC время удержания равновесия на крутящемся цилиндре в аппарате Rota Rod снизилось на 43% (FO: 13.24 ± 0.9 H; 30 min MCAo + RC: 5.7 ± 0.3 sec (рис. 5).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследования на животных с применением протокола RC показали увеличение содержания SDC-1 в плазме крови. В образцах плазмы животных из группы 30 min MCAo разница с FO составила 30%. В образцах плазмы животных 30 min MCAo + RC разница с FO составила 112%. Известно, что ишемия конечности при проведении протокола RC оказывает системное влияние на гемодинамику, а само RC, возможно, ограничивает выраженность ишемически-реперфузионного повреждения в мозге, в том числе за счет молекулы SDC-1.

На вторые сутки после ишемии в группе животных 30 min MCAo капиллярный кровоток в задней конечности повысился до 121%. На вторые сутки после ишемии в группе животных 30 min MCAo + RC капиллярный кровоток в задней конечности повысился до 142%. Изменение вазодилататорной активности эндотелия на фоне церебральной ишемии может быть связано с механизмами эндотелий-опосредованной

продукции оксида азота ферментными системами. Вероятным механизмом увеличения микроциркуляции в коже в контрлатеральной конечности является стимуляция эндотелий-зависимых вазомоторных реакций [6, 7].

При сопоставлении площади ишемического повреждения головного мозга и капиллярного кровотока в конечности с помощью корреляционного анализа была выявлена очень сильная обратная корреляционная связь между двумя показателями в самый начальный период реперфузии и в течение последующих 7 дней. В результате, чем больше капиллярный кровоток в конечности, тем меньше площадь повреждения головного мозга. Морфологические изменения в нервной ткани определяются продолжительностью гипоперфузии. По данным настоящего исследования в группе 30 min MCAo + RC площадь инфаркта была на 18% меньше, чем в группе 30 min MCAo. Выживаемость нейронов после фокальной ишемии и толерантность к ишемии определяется не только объемом повреждения, но и функциональной активностью нейронов зоны «ишемической полутени». Изменения в мозге обусловлены ограничением реперфузионного повреждения. Повышение толерантности нервной ткани к ишемии обусловлена включением механизмов ограничения реперфузионного повреждения за счет ограничения поступления кальция в клетки нейроваскулярной единицы, как например, в случае синтеза цитоплазматического белка Iba-1 (кальций-связывающий белок) [8].

К сожалению, длительность нашего наблюдения за функциональным восстановлением была ограничена 5 днями, что не позволяет в полной мере избежать искажения результатов тестирования стрессовым влиянием в раннем постинсультном периоде. Однако на вторые сутки после ишемии разница с контролем в мышечной силе в правой (контрлатеральной) передней конечности между группами животных 30 min MCAo и 30 min MCAo + RC составила 0.3%; на 5-е сутки различия по тем же показателям составили 3%. На 2-е сутки после ишемии различия с контролем в мышечной силе в левой (ипсилатеральной) передней конечности между группами животных 30 min MCAo и 30 min MCAo + RC составили около 5%; на 5-е сутки разница по этим показателям составила 13%. Таким образом, прослеживается тенденция восстановления мышечной силы в передней конечности животного под влиянием дистантного посткондиционирования. Ограничение ишемически-реперфузионного повреждения способствует более раннему функциональному восстановлению [9, 10]. Обсуждается, что RC оказывает нейропротективный эффект за счет увеличения содержания белка плазмы крови SDC-1, который может участвовать в роли мессенджера в механизмах ограничения реперфузионного повреждения и нейропластичности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование на животных с применением протокола RC показало, что нейропротективные эффекты RC могут быть связаны с повышением в плазме крови белка SDC-1, а сам белок может быть в качестве потенциального мессенджера, который участвует в ограничении ишемически-реперфузионного повреждения. Это способствует более эффективному функциональному восстановлению в первую неделю после перенесенной ишемии в бассейне средней мозговой артерии у крыс.

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы и планирование экспериментов – К. М. Э., Ш. В. В., Ф. Д. Р.; проведение экспериментов, получение данных – Я. А. А., П. Л. С., Ф. Д. Р., S. S., Н. Е. А.; обработка результатов экспериментов – К. М. Э., Я. А. А., П. Л. С., Ш. В. В., Ф. Д. Р.; написание и редактирование статьи – К. М. Э., Ш. В. В.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств Программы «Фундаментальные научные исследования для долгосрочного развития и обеспечения конкурентоспособности общества и государства» (47_110_ДриОК, раздел 64.1).

Тема государственного задания Рег. № НИОКТР 121032200171-6. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводились в соответствии с международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с лабораторными животными и были одобрены Биоэтической комиссией Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, протокол № 02/10 от 14.02.2022.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Qi W, Zhou F, Li S, Zong Y, Zhang M, Lin Y, Zhang X, Yang H, Zou Y, Qi C, Wang T, Hu X* (2016) Remote ischemic postconditioning protects ischemic brain from injury in rats with focal cerebral ischemia/reperfusion associated with suppression of TLR4 and NF- κ B expression. *Neuroreport* 27(7): 469–475.
<https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000000553>
2. *Jain KK* (2019) Introduction. *The Handbook of Neuroprotection*. 1–44.
https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9465-6_1
3. *Torres Filho I, Torres LN, Sondeen JL, Polykratis IA, Dubick MA* (2013). In vivo evaluation of venular glycocalyx during hemorrhagic shock in rats using intravital microscopy. *Microvascul Res* 85: 128–133.
<https://doi.org/10.1016/j.mvr.2012.11.005>
4. *Belayev L, Alonso R, Zhao OF, Busto W, Ginsberg MD* (1996) Middle cerebral artery occlusion in the rat by intraluminal suture. Neurological and pathological evaluation of an improved model. *Stroke* 27: 1616–1622, discussion: 1623.
5. *Fluri F, Schuhmann MK, Kleinschnitz C* (2015) Animal models of ischemic stroke and their application in clinical research. *Drug Des Devel Ther* 9: 3445–3454.
<https://doi.org/10.2147/DDDT.S56071>
6. *Горшкова ОП, Шуваева ВН, Ленцман МВ, Артемьева АИ* (2016) Постишемические изменения вазомоторной функции эндотелия. *Совр пробл науки и образов* 5: 90. [*Gorshkova OP, Shuvaeva VN, Lentsman MV, Artemyeva AI* (2016) Post-ischemic endothelial vasomotor function changes. *Modern Probl Sci and Educat* 5: 90. (In Russ)].
7. *Chen G, Yang J, Lu G, Guo J, Dou Y* (2014) Limb remote ischemic post-conditioning reduces brain reperfusion injury by reversing eNOS uncoupling. *Indian J Exp Biol* 52(6): 597–605.
<https://doi.org/10.3390/ijms17121971>
8. *Kirik OV, Tsyba DL, Alekseeva OS, Kolpakova ME, Jakovleva AA, Korzhevskii DE* (2021) Changes in Kolmer Cells in SHR Rats after Cerebral Ischemia. *Neurosci Behav Physiol* 51: 1148–1152.
<https://doi.org/10.1007/s11055-021-01174-3>
9. *Zhang Y, Ma L, Ren C, Liu K, Tian X, Wu D, Ding Y, Li J, Borlongan CV, Ji X* (2019) Immediate Remote Ischemic Postconditioning Reduces Cerebral Damage in Ischemic Stroke Mice by Enhancing Leptomeningeal Collateral Circulation. *J Cell Physiol* 234: 12637–12645.
<https://doi.org/10.1002/jcp.27858>
10. *Chen G, Thakkar M, Robinson C, Doré S* (2018) Limb Remote Ischemic Conditioning: Mechanisms, Anesthetics, and the Potential for Expanding Therapeutic Options. *Front Neurol* 9: 40.
<https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00040>

Syndecan-1 as Potential Messenger of Effects of Remote Postconditioning in Experiments with Brain Ischemia

**M. E. Kolpakova^{a, b, *}, A. A. Jakovleva^b, L. S. Poliakova^b, H. El Amghari^b, S. Soliman^b,
D. R. Faizullina^b, and V. V. Sharoyko^b**

^aPavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Science, Saint-Petersburg, Russia

^bFirst Pavlov State Medical University, Saint-Petersburg, Russia

**e-mail: E-mail: patho@yandex.ru*

kolpakoavame@infran.ru

The mechanisms of cerebral reperfusion injury restriction by remote conditionig (RC) is interesting due to its possible effects on functional recovery after brain ischemia. The assessment of the role of syndecan-1 (SDC-1) and annexin-5 (ANXA5) content in blood plasma was performed by ischemic-reperfusion injury on middle cerebral artery model in rats. We used RC protocol. Randomized controlled trials were conducted. Ischemia had been done by MCAo (middle cerebral artery occlusion) by Belayev [6]. Animals used were the Wistar rat-males weighting 250 g. under general anesthesia (Zoletil 100 и Xylazine 2%). MCAo animals had been detected 41.4 ± 1.3 ng/ml SDC-1 plasma's level (30%). MCAo animals with RC protocol had been detected 67.8 ± 5.8 ng/ml SDC-1 plasma's level (112%). Infarction volume in MCAo animals' brain reviled $31.97 \pm 2.5\%$ injury; the volume of infarction was $13.6 \pm 1.3\%$. Swelling of tissue in MCAo animals with RC was $16 \pm 2.1\%$; in contrary, in MCAo animals' swelling of tissue was bigger up to $47 \pm 3.3\%$. Correlation analysis in MCAo animals with RC reviled high direct correlation relationship between infarction area and muscle strength in the right forelimb ($KK=0.72$). Correlation analysis reviled very high inverse correlation between infarct area and capillary blood flow in MCAo animals with RC ($p < 0.01$; $r = -0.98$). It is being discussed the SDC-1 protein in blood plasma may play role of potential regulator of infarct-limiting effects of remote ischemic postconditioning which cause functional recovery.

Keywords: MCAo, brain ischemia, remote ischemic postconditioning, Syndecan-1, Annexine-5