

Д.Н. РЕВЯКИНА, О.В. ХАРИТОНОВА, Д.И. ПОЗДНЯКОВ,
Н.Б. ШАБАНОВА, А.Д. ГЕРАЩЕНКО

ОСОБЕННОСТИ ПРОЯВЛЕНИЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ ПРИ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА В КОНТЕКСТЕ ВОЗМОЖНОЙ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЙ ТЕРАПИИ

Ключевые слова: ишемия головного мозга, митохондриальная дисфункция, регрессионный анализ, нейропротекция.

Митохондриальная дисфункция является одной из составляющих патогенеза церебральной ишемии. Степень развития митохондриальных нарушений значительно варьируется от характера ишемического повреждения, что может оказывать влияние не только на течение заболевания, но и на успех проводимой фармакотерапии, например, нейропротекторами.

Цель исследования – поиск релевантных количественных биомаркеров митохондриальной дисфункции в условиях ишемии головного мозга различного генеза для рационального выбора и разработки нейропротекторных средств.

Материалы и методы. Церебральную ишемию моделировали у крыс Вистар. Фокальную ишемию головного мозга индуцировали путем необратимой правосторонней окклюзии средней мозговой артерии. Субтотальную ишемию воспроизводили перевязкой правой общей сонной артерии. Через 72 ч у крыс оценивали изменение величины зоны некроза, а также интенсивность аэробного/анаэробного дыхания, активность цитратсинтазы и сукцинатдегидрогеназы, содержание АТФ и цитохрома С. Зависимость изменения зоны некроза от показателей митохондриальной функции выявляли в ходе регрессионного анализа.

Результаты. В ходе исследования было установлено, что у животных в условиях как фокальной, так и субтотальной ишемии отмечается формирование некротического очага. При этом у крыс с фокальной ишемией зона церебрального некроза была выше, чем у животных с субтотальной ишемией. Также оба варианта церебральной ишемии приводили к развитию митохондриальной дисфункции, которая выражалась в уменьшении аэробного метаболизма, активации анаэробных процессов, снижении активности митохондриальных ферментов и высвобождении проапоптотического цитохрома С. Полученные уравнения регрессии позволили установить, что у животных с фокальной ишемией изменение зоны некроза в большей степени зависит от активности цитратсинтазы ($R^2 = 0,7551$; AIC = 4,6684), тогда как у крыс с субтотальной ишемией формирование инфарктной зоны в наибольшей степени зависит от уровня аэробного дыхания ($R^2 = 0,9553$; AIC = 2,1014).

Выводы. Полученные результаты позволяют предположить, что в условиях фокальной ишемии формирование зоны некроза в большей степени зависит от активности цитратсинтазы и, соответственно, новообразования митохондрий. При субтотальной ишемии церебральный некроз находится в тесной взаимосвязи с активностью аэробных процессов обмена. Данные различия в проявлении митохондриальной дисфункции могут служить основой для рационального выбора доклинической модели ишемии мозга при изучении новых соединений-нейропротекторов.

Введение. Церебральная ишемия является одной из наиболее распространенных причин неврологических нарушений и инвалидности населения [6]. В клинической практике выделяют различные формы ишемии, среди которых фокальная и субтотальная церебральная ишемия занимает особое место из-за специфики ее течения и тяжести последствий. Увеличивающаяся значимость ишемии головного мозга для медицинского сообщества определяет необходимость поиска церебротропных веществ, что подразумевает проведение

доклинических исследований новых перспективных молекул-кандидатов в лекарства. На данном этапе используются несколько экспериментальных моделей ишемии головного мозга. Например, фокальная ишемия затрагивает ограниченные участки кровоснабжения, что позволяет изучать локальные повреждения и их последствия, в то время как субтотальная ишемия охватывает значительную часть мозга, имитируя более тяжелые формы ишемического повреждения [9]. Современные исследования показывают, что развитие и прогрессирование церебральной ишемии тесно связаны с нарушениями митохондриальной функции и усилением окислительного стресса [4]. Митохондрии, являясь энергетическими станциями клетки, играют ключевую роль в поддержании нейрональной функции и выживании. Их дисфункция способствует накоплению свободных радикалов и повреждению клеточных структур, что усугубляет нейрональную гибель и ухудшает исход ишемического повреждения [17]. Митохондрии отвечают за производство аденозинтрифосфата (АТФ) через цепь переноса электронов, в которой участвуют такие ферменты, как сукцинатдегидрогеназа, цитратсинтаза и цитохром-с-оксидаза [5]. Нарушение их функции ведет к накоплению свободных радикалов, повреждению митохондриальных и клеточных структур, а также к усилению апоптоза [7]. Таким образом, митохондриальная дисфункция играет значимую роль в патофизиологии ишемии головного мозга, способствуя формированию очага инфаркта мозга. В то же время сравнение моделей фокальной и субтотальной церебральной ишемии позволит определить, при какой форме поражения головного мозга происходят наиболее выраженные нарушения энергетического обмена и, как следствие, возникновение митохондриальной дисфункции как ключевого звена патогенеза поврежденного мозга. Также важно оценить, дисрегуляция какого показателя митохондриальной активности наиболее выражено отражает формирование зоны церебрального некроза. Выявление данных зависимостей способствует упрощению выбора релевантной доклинической модели церебральной ишемии, а также оптимизации подходов к таргетному поиску новых церебротропных веществ.

Цель исследования – поиск релевантных количественных биомаркеров митохондриальной дисфункции в условиях ишемии головного мозга различного генеза для рационального выбора и разработки нейропротекторных средств.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 48 половозрелых крысах-самцах линии Вистар массой 180–200 г, полученных из питомника лабораторных животных «Рапполово» (д. Рапполово, Ленинградская обл.). Крысы содержались в стандартных условиях вивария при температуре воздуха $22 \pm 2^\circ\text{C}$, влажности воздуха $60 \pm 5\%$ и суточном цикле 12 часов день/12 часов ночь. Условия содержания крыс соответствовали требованиям Директивы ЕУ 2010/63 и Рекомендациям Коллегии ЕЭК от 14 ноября 2023 г. № 33 «О Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований». Дизайн исследования был одобрен локальным этическим комитетом Пятигорского медико-фармацевтического института (ПМФИ) (протокол № 5 от 15 мая 2024 г.).

В ходе исследования были сформированы три экспериментальные группы по 16 особей в каждой: 1) интактные крысы (контрольная группа); 2) крысы, которым моделировали фокальную ишемию головного мозга; 3) крысы, которым воспроизводили субтотальную ишемию. Фокальную церебральную ишемию создавали по методу Tamura путем необратимой термокоагуляции средней мозговой артерии: крыс анестезировали хлоралгидратом (350 мг/кг, внутривенно), выбривали область ниже и правее глаза, рассекали мягкие ткани и удаляли отросток

скуловой кости. Бором с алмазной фрезой продельвали трепанационное отверстие диаметром ~1,5 мм под местом пересечения средней мозговой артерии с обонятельным трактом, после чего термокоагулятором коагулировали артерию. Рану ушивали и обрабатывали 10%-м раствором повидон-йода [14].

Субтотальную ишемию воспроизводили перевязкой правой общей сонной артерии. Животных анестезировали хлоралгидратом (350 мг/кг, внутривенно), удаляли волосяной покров в области шеи и рассекали мягкие ткани. Далее выделяли правую общую сонную артерию, отпрепаровывали от нерва и перевязывали шелковой нитью. Операционное поле ушивали, шов обрабатывали 10%-м раствором повидон-йода [15].

Время экспозиции составило 72 ч, после чего животных под анестезией декапитировали и извлекали головной мозг. У 8 особей из группы отсекали мозжечок, разделяли полушария, которые отдельно гомогенизировали в фосфатно-солевом буферном растворе (рН = 7,4) в соотношении 1:9. К полученному гомогенату добавляли эквивалентный объем 0,5%-го раствора трифенилтетразолия хлорида. Полученную смесь инкубировали 20 мин при 370°C и периодически встряхивали. После 20 мин инкубации смесь центрифугировали при 3500 RPM, 10 мин (Armed LC-04A, Россия). Декантант удаляли, к осадку добавляли 3 мл охлажденного хлороформа и инкубировали на холоде 15 мин. Далее повторно центрифугировали в аналогичном режиме и регистрировали оптическую плотность полученного хлороформного экстракта формазана. Величину зоны некроза определяли по разнице оптической плотности смеси между правым и левым полушарием и выражали в процентах [16]. У оставшихся 8 особей отделяли правое полушарие, которое гомогенизировали в буферном растворе, состоящем из 1 ммоль ЭГТА + 215 ммоль маннита + 75 ммоль сахарозы + 0,1%-го раствора бычьего сывороточного альбумина + 20 ммоль НЕРЕС + 0,25%-го раствора трипсина с рН 7,2. Полученный гомогенат центрифугировали при 1100 g, 2 мин. Первичный супернатант в количестве 700 мкл переносили в пробирки типа Эппендорф и наслаивали на 75 мкл 10%-го раствора перколла, после чего центрифугировали при 18 000 g в течение 10 мин. Осадок ресуспендировали в 1 мл изолирующей среды и повторно центрифугировали в течение 5 мин при 10 000 g. Вторичный супернатант использовали для оценки изменения аэробного/анаэробного дыхания, активности митохондриальных ферментов, концентрации АТФ, цитохрома С.

Интенсивность аэробного клеточного дыхания определяли по изменению потребления кислорода в анализируемой среде при добавлении ((4-(трифторометокси)фенил)гидразон)малонитрила в концентрации 1 μ М/л и пирувата в качестве субстрата (15 ммоль/л). Активность анаэробного обмена оценивали при внесении в среду олигомицина (1 μ г/мл) и глюкозы (15 ммоль/л) в качестве субстрата. Потребление кислорода регистрировали на лабораторном респирометре АКПМ 1-01Л в пересчете на концентрацию белка, содержание которого оценивали по методу Бредфорда [10].

Активность цитратсинтазы оценивали спектрофотометрически, по изменению оптической плотности среды, содержащей окрашенные продукты реакции деградации 5,5'-ди-тиобис-(2-нитробензойной кислоты) в присутствии ацетил-КоА и оксалоацетата при 412 нм [12].

Активность сукцинатдегидрогеназы оценивали спектрофотометрически в реакции сукцинатзависимого восстановления дихлорфенолиндифенола при добавлении в анализируемую среду ротенона при 600 нм [13].

Содержание АТФ, цитохрома С определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа, применяя видоспецифичные наборы реактивов CloudClone (КНР). Регистрацию результатов анализа производили на микропланшетном ИФА-ридере Infinite F50.

Статистическую обработку проводили с использованием программного комплекса StatPlus 7.0 (AnalystSoft, США). Нормальность распределения данных проверяли тестом Шапиро–Уилка, однородность дисперсий – тестом Левена. Статистически значимые отличия между группами оценивали методом ANOVA. Сравнение с интактной группой животных осуществляли в тесте Даннета. Достоверные отличия между остальными группами определяли с применением пост-теста Тьюки (при нормальном распределении данных) или пост-теста Краскелла–Уоллиса (при распределении данных, отличном от нормального) с последующим парным сравнением в тесте Данна. Критический уровень значимости во всех случаях принимали $p < 0,05$. Сравнение регрессионных моделей проводили на основе информационного критерия Акаике и коэффициента детерминации.

Результаты исследования и их обсуждение. В ходе исследования было показано, что зона некроза (рис. 1) в случае моделирования фокальной ишемии в среднем составила 32,4% (31,3–34,1%), тогда как в условиях субтотальной ишемии – 23,1% (21,4–24,3%).

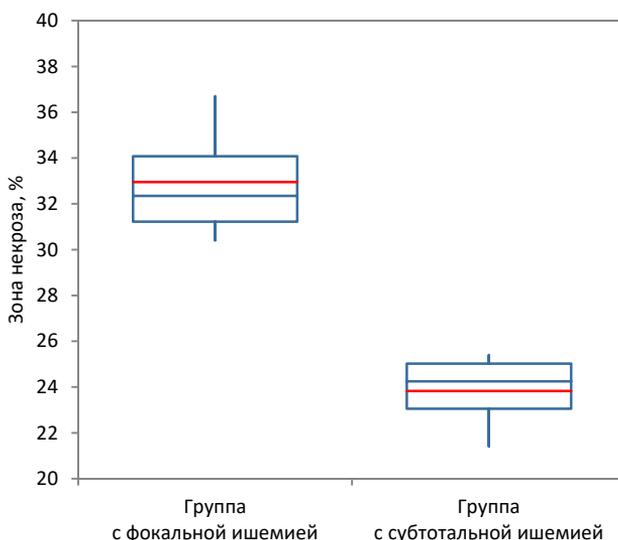


Рис. 1. Значения зоны некроза головного мозга, полученные при моделировании фокальной и субтотальной церебральной ишемии: синяя горизонтальная линия – медианное значение; красная горизонтальная линия – среднее значение

По данным эксперимента, у крыс с субтотальной ишемией интенсивность аэробного дыхания была достоверно ниже на 40,85% ($p < 0,05$), а анаэробного дыхания – выше на 108,97% по сравнению с таковым у животных интактной группы ($p < 0,05$) (таблица). У животных с фокальной ишемией головного мозга показатели аэробного дыхания также были ниже контрольных на 60,41% ($p < 0,05$), а анаэробного дыхания – превышали их на 188,78% ($p < 0,05$). Было также отмечено, что у животных с субтотальной церебральной ишемией активности сукцинатдегидрогеназы и цитратсинтазы были достоверно ниже, чем

у интактных животных, на 21,8% и 36,71% соответственно ($p < 0,05$). У крыс с фокальной ишемией головного мозга снижение активности этих ферментов было более выраженным и составило 59,4% для сукцинатдегидрогеназы и 55,5% для цитратсинтазы ($p < 0,05$). При этом активности обоих ферментов у животных с субтотальной ишемией достоверно превышали аналогичные показатели у крыс с фокальной ишемией, на 48,08% и 29,68% соответственно ($p < 0,05$).

Таблица 1

Клеточное дыхание и активность митохондриальных ферментов в супернатанте головного мозга крыс с фокальной и субтотальной церебральной ишемией

Показатель	Группа животных		
	интактная	с субтотальной ишемией	с фокальной ишемией
Аэробное дыхание, ppm/мин/мг белка	94,3±1,81	55,78±3,76*	37,33±3,67
Анаэробное дыхание, ДрН/мин/мг белка	7,8±0,54	16,3±1,69*	22,53±1,2*
Цитратсинтаза, Ед/мг белка	8,65±0,31	5,48±0,17*	3,85±0,35**
Сукцинатдегидрогеназа, Ед/мг белка	3,33±0,22	2,6±0,22*	1,35±0,13**

Примечание. * – достоверно относительно интактной группы (тест Даннета, $p < 0,05$); # – достоверно относительно группы с субтотальной ишемией (тест Тьюки, $p < 0,05$).

Из анализа концентрации АТФ (рис. 2) было установлено, что у особей с воспроизведенной субтотальной ишемией ее уровень был на 26,9% ($p < 0,05$), а с фокальной – на 60,1% ($p < 0,05$) ниже, чем у крыс интактной группы. Кроме того, уровень АТФ у животных с фокальной церебральной ишемией был на 45,3% ($p < 0,05$) ниже, чем у крыс с субтотальной ишемией.

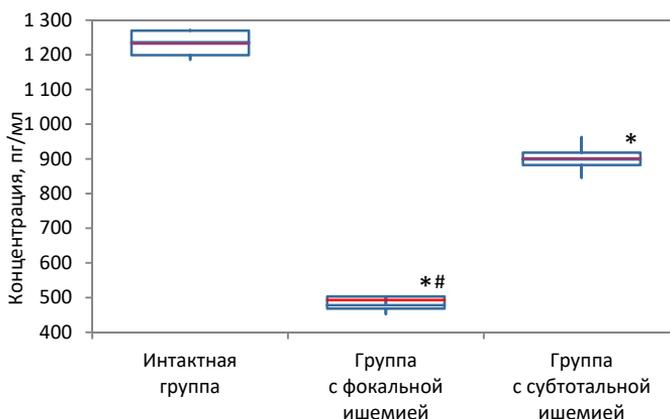


Рис. 2. Концентрация АТФ в супернатанте головного мозга крыс с фокальной и субтотальной церебральной ишемией:

синяя горизонтальная линия – медианное значение;
красная горизонтальная линия – среднее значение

Примечание. * – достоверно относительно интактной группы (тест Даннета, $p < 0,05$); # – достоверно относительно группы с субтотальной ишемией (тест Тьюки, $p < 0,05$).

При проведении исследования было установлено, что у животных с фокальной и субтотальной церебральной ишемией содержание цитохрома С (рис. 3) было выше на 28,6% и 88,9% ($p < 0,05$) соответственно, чем значение аналогичного показателя у интактной группы крыс. У крыс, которым воспроизводили фокальную ишемию, концентрация цитохрома С превосходила на 46,9% ($p < 0,05$) такую у крыс, которым моделировали субтотальную ишемию.

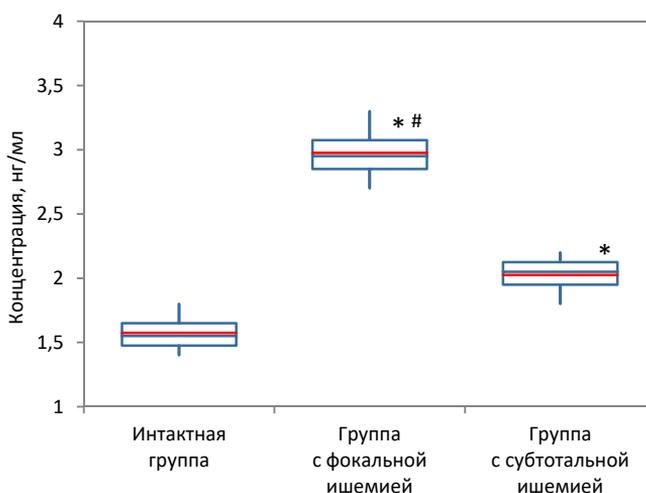


Рис. 3. Концентрация цитохрома С в супернатанте головного мозга крыс с фокальной и субтотальной церебральной ишемией: синяя горизонтальная линия – медианное значение; красная горизонтальная линия – среднее значение

Примечание. * – достоверно относительно интактной группы (тест Даннета, $p < 0,05$); # – достоверно относительно группы с субтотальной ишемией (тест Тьюки, $p < 0,05$).

Проведенный регрессионный анализ позволил установить, что в условиях фокальной ишемии изменение зоны некроза находится в высокой зависимости от изменения активности цитратсинтазы (табл. 2). При субтотальной ишемии зона некроза в наибольшей степени зависит от аэробного дыхания (табл. 3).

Таблица 2

Результаты регрессионного анализа для фокальной ишемии

Уравнение зависимости	R ²	AIC
ЗН = 37,8644 – 0,1317 × Аэробное дыхание, ррт/мин/мг белка	0,0308	6,0440
ЗН = –8,7902 + 1,8531 × Анаэробное дыхание, ДрН/мин/мг белка	0,6477	5,0320
ЗН = 8,5947 + 8,1867 × Цитохром С, нг/мл	0,5529	5,2704
ЗН = 6,7284 + 6,8108 × Цитратсинтаза, Ед/мг белка	0,7551	4,6684
ЗН = 17,2900 + 11,6000 × Сукцинатдегидрогеназа, Ед/мг белка	0,2960	5,7243
ЗН = 43,9570 – 0,0223 × АТФ, пг/мл	0,1560	5,9057

Примечание. ЗН – зона некроза; R² – коэффициент детерминации; AIC – информационный критерий Акаике.

Таблица 3

Результаты регрессионного анализа для субтотальной ишемии

Уравнение зависимости	R ²	AIC
ЗН = –2,0627 + 0,4641 × Аэробное дыхание, ррт/мин/мг белка	0,9553	2,1014
ЗН = 7,0097 + 1,0316 × Анаэробное дыхание, ДрН/мин/мг белка	0,9499	2,2155
ЗН = 4,4280 + 6,5200 × Цитохром С, нг/мл	0,8331	3,4196
ЗН = –27,6400 + 9,4000 × Цитратсинтаза, Ед/мг белка	0,8081	3,5592
ЗН = 5,6250 + 7,0000 × Сукцинатдегидрогеназа, Ед/мг белка	0,7170	3,9476
ЗН = –6,5276 + 0,0337 × АТФ, пг/мл	0,8332	3,4193

Нарушение мозгового кровообращения, как острое, так и хроническое, остается значимой проблемой современного здравоохранения с высоким уровнем

летальности и инвалидности. Большая медико-социальная и экономическая составляющая данных патологий диктует необходимость поиска новых стратегий их лечения. Одной из таких терапевтических стратегий может являться использование нейропротекторов, действие которых направлено на устранение вторичных механизмов церебрального повреждения в условиях ишемии. Несмотря на потенциальную эффективность применения, концепция нейропротекции не реализовалась в клинической практике. По данным A. Buchan et al., отсутствие трансляционного успеха нейропротекторов, особенно при ишемическом инсульте, может быть связано с выбором слабо релевантной фармакологической мишени, что, в свою очередь, затрудняет проведение доклинических и последующих клинических испытаний [1].

Понятие нейропротекции подразумевает влияние фармакологически активных соединений на вторичные патогенетические механизмы церебрального повреждения, инициируемые после ишемического приступа. Многочисленные исследования посвящены изучению патофизиологической роли и возможности целенаправленной коррекции реакций окислительного стресса, нейровоспаления, апоптоза, ионного дисбаланса, эксайтотоксичности или митохондриальной дисфункции [18].

Вместе с тем одним из наиболее перспективных направлений нейропротекции является воздействие на функциональную активность митохондрий, что в условиях доклинических испытаний позволяет существенно ограничить очаг церебрального инфаркта. Однако митохондриальная дисфункция представляет собой гетерогенное состояние, включающее множество взаимопротекающих процессов: нарушения функционирования дыхательной цепи или ферментов, митохондриальной динамики и митофагии [8]. В связи с этим представляется значимым определить, какой именно митохондриальный процесс или процессы лежат в основе формирования некротической зоны. Выявление таких процессов позволит оптимизировать подходы к митохондриальной нейропротекции, как с использованием существующих препаратов, так и перспективных молекул-кандидатов в лекарства.

Исследование показало, что экспериментальное моделирование фокальной ишемии сопровождается формированием более выраженного некротического очага по сравнению с субтотальной ишемией. В условиях данных патологий отмечается также развитие митохондриальной дисфункции, выражающейся в угнетении аэробного метаболизма, активации анаэробных процессов, снижении активности митохондриальных ферментов и высвобождении проапоптотического цитохрома C.

Проведенный регрессионный анализ показал, что изменение зоны некроза в условиях фокальной ишемии находится в тесной взаимосвязи с активностью цитратсинтазы (непосредственная активность фермента при фокальной ишемии достоверно уменьшалась). Поскольку каталитические свойства цитратсинтазы являются энзиматическим биомаркером новообразования митохондрий, полученные результаты могут отражать зависимость степени деструкции клеток ишемической пенумбры от пула функционально активных митохондрий [2]. Напротив, в условиях субтотальной ишемии изменение зоны церебрального некроза в наибольшей степени зависело от показателя аэробного дыхания, что предполагает определяющую роль функционирования электронтранспортной цепи. Данное исследование показало, что, несмотря на развитие митохондриальной дисфункции при фокальной и субтотальной церебральной ишемии, детальные патофизиологические механизмы этих процессов различаются. В свою очередь, данные

различия могут определять перспективы целенаправленной нейропротекции. При фокальной ишемии головного мозга представляется целесообразным применение средств, стимулирующих образование митохондрий *de novo*, тогда как при субтотальной ишемии предпочтительно использование препаратов, улучшающих функционирование электрон-транспортной цепи митохондрий.

Таким образом, полученные результаты открывают определенные перспективы для целенаправленной нейропротекторной терапии при нарушениях мозгового кровообращения. Например, ресвератрол – природное полифенольное соединение, которое оказывает выраженное активирующее действие на митохондриальный биогенез [11], – предпочтительнее использовать при остром нарушении церебральной гемодинамики. В то же время «метаболические энхансеры», увеличивающие интенсивность клеточного дыхания, например КоQ₁₀ и его более липофильные аналоги [3], могут оказывать более выраженный терапевтический эффект в условиях хронического нарушения мозгового кровообращения. Следует также отметить, что помимо оптимизации уже существующих нейропротекторных стратегий результаты данного исследования могут быть использованы при разработке новых молекул-кандидатов в лекарства с таргетной митохондриальной активностью.

Выводы. 1. Полученные результаты позволяют заключить, что как при фокальной, так и при субтотальной ишемии головного мозга наблюдаются развитие митохондриальной дисфункции и формирование некротических очагов.

2. При фокальной ишемии изменение зоны некроза в большей степени ассоциировано с активностью цитратсинтазы, тогда как при субтотальной ишемии – с активностью анаэробных процессов.

3. Выявленные различия могут быть использованы при выборе релевантной доклинической модели церебральной ишемии для изучения нейропротекторных соединений.

Литература/References

1. Buchan A.M., Pelz D.M. Neuroprotection in Acute Ischemic Stroke: A Brief Review. *Canadian Journal of Neurological Sciences*, 2022, vol. 49(6), pp. 741–745. DOI: 10.1017/cjn.2021.223.
2. Chhimpa N., Singh N., Puri N., Kayath H. P. The Novel Role of Mitochondrial Citrate Synthase and Citrate in the Pathophysiology of Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2023, vol. 94(s1), pp. S453–S472. DOI: 10.3233/JAD-220514.
3. Duberley K.E., Heales S.J., Abramov A.Y. et al. Effect of Coenzyme Q10 supplementation on mitochondrial electron transport chain activity and mitochondrial oxidative stress in Coenzyme Q10 deficient human neuronal cells. *Int J Biochem Cell Biol*, 2014, vol. 50, pp. 60–63. DOI: 10.1016/j.biocel.2014.02.003.
4. Jiang R.Q., Li Q.Q., Sheng R. Mitochondria associated ER membranes and cerebral ischemia: Molecular mechanisms and therapeutic strategies. *Pharmacological Research*, 2023, vol. 191, 106761. DOI: 10.1016/j.phrs.2023.106761.
5. Jurcau A., Ardelean A.I. Oxidative Stress in Ischemia/Reperfusion Injuries following Acute Ischemic Stroke. *Biomedicines*, 2022, vol. 10(3), p. 574. DOI: 10.3390/biomedicines10030574.
6. Kalogeris T., Baines C.P., Krenz M., et al. Cell biology of ischemia/reperfusion injury. *International Review of Cell and Molecular Biology*, 2012, vol. 298, pp. 229–317. DOI: 10.1016/B978-0-12-394309-5.00006-7.
7. Klemmensen M.M., Borrowman S.H., Pearce C. et al. Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative disorders. *Neurotherapeutics*, 2024, vol. 21(1), e00292. DOI: 10.1016/j.neurot.2023.10.002.
8. Li J., Yang D., Li Z. et al. PINK1/Parkin-mediated mitophagy in neurodegenerative diseases. *Ageing Research Reviews*, 2023, vol. 84, 101817. DOI: 10.1016/j.arr.2022.101817.
9. Mu J., Hao P., Duan H. et al. Non-human primate models of focal cortical ischemia for neuronal replacement therapy. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 2023, vol. 43(9), pp. 1456–1474. DOI: 10.1177/0271678X231179544.

10. Orozco-Ibarra M., Aparicio-Trejo O.E., Jiménez-Urbe A.P. et al. Assessment of Kidney Mitochondrial Function by High-Resolution Respirometry, Transmission Electron Microscopy, and Histological Techniques. *Methods in Molecular Biology*, 2023, vol. 2664, pp. 283–308. DOI: 10.1007/978-1-0716-3179-9_18.

11. Owjifard M., Rahimian Z., Karimi F. et al. Comprehensive review on the neuroprotective potential of resveratrol in ischemic stroke. *Heliyon*, 2024, vol. 10(14), e34121. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e34121.

12. Shepherd D., Garland P.B. The kinetic properties of citrate synthase from rat liver mitochondria. *The Biochemical Journal*, 1969, vol. 114(3), pp. 597–610.

13. Singer T.P., Kearney E.B., Kenney W.C. Succinate dehydrogenase. *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology*, 1973, vol. 37, pp. 189–272. DOI: 10.1002/9780470122822.ch4.

14. Tamura A., Graham D. I., McCulloch J. et al. Focal cerebral ischaemia in the rat: 1. Description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 1981, vol. 1(1), pp. 53–60. DOI: 10.1038/jcbfm.1981.6.

15. Thong-Asa W., Tilokskulchai K. Neuronal damage of the dorsal hippocampus induced by long-term right common carotid artery occlusion in rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 2014, vol. 17(3), pp. 220–226.

16. Voronkov A.V., Shabanova N.B., Voronkova M.P. et al. The effect of PIR-4 substance on the necrosis zone in experimental focal cerebral ischemia in rats. *Archiv EuroMedica*, 2018, vol. 8(2), pp. 37–38.

17. Yang J. L., Mukda S., Chen S. D. Diverse roles of mitochondria in ischemic stroke. *Redox Biology*, 2018, vol. 16, pp. 263–275. DOI: 10.1016/j.redox.2018.03.002.

18. Zhao Y., Zhang X., Chen X., et al. Neuronal injuries in cerebral infarction and ischemic stroke: From mechanisms to treatment (Review). *International Journal of Molecular Medicine*, 2022, vol. 49(2), p. 15. DOI: 10.3892/ijmm.2021.5070.

РЕВЯКИНА ДАРЬЯ НИКОЛАЕВНА – студентка VI курса специальности «Медицинская биохимия», Пятигорский медико-фармацевтический институт, Россия, Пятигорск (revyakina@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-9578-0460>).

ХАРИТОНОВА ОЛЬГА ВЛАДИМИРОВНА – кандидат биологических наук, доцент кафедры биологической химии, Пятигорский медико-фармацевтический институт, Россия, Пятигорск (incentra@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7840-9269>).

ПОЗДНЯКОВ ДМИТРИЙ ИГОРЕВИЧ – кандидат фармацевтических наук, доцент, заведующий кафедрой фармакологии с курсом клинической фармакологии, Пятигорский медико-фармацевтический институт, Россия, Пятигорск (pozdniackow.dmitry@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5595-8182>).

ШАБАНОВА НАТАЛЬЯ БОРИСОВНА – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии, Пятигорский медико-фармацевтический институт, Россия, Пятигорск (vahlushina@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7693-5182>).

ГЕРАЩЕНКО АНАСТАСИЯ ДМИТРИЕВНА – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии, Пятигорский медико-фармацевтический институт, Россия, Пятигорск (anastasia_gerashchenko@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0294-2926>).

Daria N. REVYAKINA, Olga V. KHARITONOVA, Dmitry I. POZDNYAKOV,
Natalia B. SHABANOVA, Anastasia D. GERASHCHENKO

CHARACTERISTICS OF MITOCHONDRIAL DYSFUNCTION IN CEREBRAL ISCHAEMIA OF VARIOUS AETIOLOGIES IN THE CONTEXT OF POTENTIAL NEUROPROTECTIVE THERAPY

Key words: cerebral ischemia, mitochondrial dysfunction, regression analysis, neuroprotection.

Mitochondrial dysfunction is one of the factors involved in the pathogenesis of cerebral ischaemia. The extent of mitochondrial dysfunction varies considerably depending on the nature of ischaemic damage, which may influence not only the course of the disease but also the success of pharmacotherapy, for example with neuroprotective agents.

The aim of the study was to search for relevant quantitative biomarkers of mitochondrial dysfunction in conditions of cerebral ischemia of various origins for rational selection and development of neuroprotective agents.

Materials and methods. Cerebral ischemia was modeled in Wistar rats. Focal cerebral ischemia was induced by irreversible right-sided occlusion of the middle cerebral artery. Subtotal ischemia was reproduced by ligation of the right common carotid artery. In 72 hours, the

rats were assessed for changes in the size of the necrosis zone, as well as the intensity of aerobic/anaerobic respiration, the activity of citrate synthase and succinate dehydrogenase, the content of ATP and cytochrome C. The dependence of changes in the necrosis zone on mitochondrial function indicators was assessed during regression analysis.

Results. During the study, it was established that formation of a necrotic focus is noted in animals with both focal and subtotal ischemia. At this, in rats with focal ischaemia, the area of cerebral necrosis was larger than in animals with subtotal ischemia. Also, both variants of cerebral ischemia led to the development of mitochondrial dysfunction, which was expressed in a decrease in aerobic metabolism, activation of anaerobic processes, a decrease in the activity of mitochondrial enzymes and the release of pro-apoptotic cytochrome C. The regression equations obtained made it possible to establish that in animals with focal ischemia, the change in the necrosis zone is more dependent on the activity of citrate synthase ($r^2 = 0.7551$; AIC = 4.6684), whereas in rats with subtotal ischemia, formation of the infarction zone depends most on the level of aerobic respiration ($r^2 = 0.9553$; AIC = 2.1014).

Conclusions. The results obtained suggest that in conditions of focal ischemia, formation of a necrosis zone is more dependent on the activity of citrate synthase and, accordingly, mitochondrial neoplasms. In subtotal ischemia, cerebral necrosis is closely related to the activity of aerobic metabolic processes. These differences in manifestation of mitochondrial dysfunction can serve as the basis for a rational choice of a preclinical model of cerebral ischemia when investigating new neuroprotective compounds.

DARIA N. REVYAKINA – 6th year Student, Specialty "Medical Biochemistry", Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, Russia, Pyatigorsk (revyakinadaria@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-9578-0460>).

OLGA V. KHARITONOVA – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Department of Biological Chemistry, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, Russia, Pyatigorsk (incentra@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7840-9269>).

DMITRY I. POZDNYAKOV – Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Pharmacology with a course of Clinical Pharmacology, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, Russia, Pyatigorsk (pozdniackow.dmitry@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5595-8182>).

NATALIA B. SHABANOVA – Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Department of Pharmacology with a course of Clinical Pharmacology, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, Russia, Pyatigorsk (vahlushina@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7693-5182>).

ANASTASIA D. GERASHCHENKO – Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Department of Pharmacology with a course of Clinical Pharmacology, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, Pyatigorsk, Russia (anastasia_gerashchenko@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0294-2926>).

Формат цитирования: Особенности проявлений митохондриальной дисфункции при церебральной ишемии различного генеза в контексте возможной нейропротекторной терапии [Электронный ресурс] / Д.Н. Ревякина, О.В. Харитонова, Д.И. Поздняков и др. // Acta medica Eurasica. 2026. № 1. С. 34–43. URL: <http://acta-medica-eurasica.ru/single/2026/1/4>. DOI: 10.47026/2413-4864-2026-1-34-43.