

ВЛИЯНИЕ ИНФУЗИОННЫХ РАСТВОРОВ НА ДИНАМИКУ АКТИВНОСТИ НЕЙРОН-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЭНОЛАЗЫ И БЕЛКА S 100 У КРЫС В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО НАРУШЕНИЯ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

© Семененко А.И., Кондрацкий Б.А.¹, Кобеляцкий Ю.Ю.²

**Кафедра хирургии № 1, курс анестезиологии
Винницкого национального медицинского университета им. М.И. Пирогова, Винница, Украина;
¹ лаборатория технологии трансфузионных препаратов
Института патологии крови и трансфузионной медицины АМН Украины, г. Львов, Украина;
² кафедра анестезиологии и интенсивной терапии
Днепропетровской медицинской академии, г. Днепропетровск, Украина
E-mail: Semenenko05@gmail.com**

На модели экспериментального ишемического постреперфузионного повреждения головного мозга дана характеристика воздействия растворов HAES-LX-5%, волювена и 0,9% NaCl на активность NSE и уровень белка S 100. Фармакотерапия модельного постреперфузионного синдрома инфузионными растворами волювена и HAES-LX-5% тормозила развитие нейронекроза, что проявилось в достоверно меньших уровнях активности NSE, как на 4-е так и на 7-е сутки эксперимента по сравнению с 0,9% раствором NaCl. Инфузионная терапия острого нарушения мозгового кровообращения, возникшего на фоне реоклюзии инфаркт-зависимых сосудов, растворами 0,9% NaCl, волювеном и в большей степени HAES-LX-5% способствовало уменьшению процессов образования нейроглии и развития в ней воспалительных реакций, на что указывало достоверное уменьшение титров белка S 100 в отношении группы контрольной патологии. Влияние растворов волювена и HAES-LX-5% на активность и уровень в сыворотке крови крыс в постреперфузионный период модельного инсульта нейромаркеров NSE и белка S 100 свидетельствуют о том, что церебропротекторный эффект волювена и HAES-LX-5% связан с торможением процессов нейронекроза.

Ключевые слова: острое нарушение мозгового кровообращения, инфузионная терапия, нейрон-специфическая энолаза, белок S 100.

INFLUENCE OF INFUSION SOLUTIONS ON DYNAMICS OF NEURON SPECIFIC ENOLASE AND S 100 PROTEIN ACTIVITIES IN RATS IN CONDITIONS OF ACUTE CEREBRAL CIRCULATION DISORDER

Semenenko A.I., Kondratsky B.A.¹, Kobelyatsky Yu.Yu.²

**Department of Surgery N 1, Course of Anesthesiology and Reanimation
of National Pirogov Medical University, Vinnitsa, Ukraine;**

¹ Laboratory of Transfusion Products Technology

of Institute of Blood Pathology and Transfusion Medicine of Ukraine, Lviv, Ukraine;

² Department of Anesthesiology and Intensive Therapy of Dnipropetrovsk Medical Academy, Dnipropetrovsk, Ukraine

On the model of an experimental ischemic postperfusion brain damage the characteristic of the influence of solutions HAES-LX-5%, Voluven and 0.9% NaCl on the activity of NSE and the level S 100 protein was given. Pharmacotherapy of modeling postperfusion syndrome by the infusion solutions of Voluven and HAES-LX-5% inhibited the development of neuronal necrosis that manifested itself by the reliably lower levels of NSE activity both on the 4th and on the 7th day of the experiment comparing with 0.9% NaCl solution. The infusion therapy with 0.9% NaCl, Voluven and mostly HAES-LX-5% solutions of the acute cerebral circulation disorder that occurred against the background of the infarct depended vessels reocclusion contributed to decreasing in neuroglia formation and development of inflammatory reactions in it proved by the reliable decreasing in S 100 protein titers in respect to the control pathology group. The influence of Voluven and HAES-LX-5% solutions on the activity and level of neuromarkers of NSE and S 100 protein in the blood serum of rats in the postperfusion period of the modeling stroke, indicate that cerebroprotective effect of Voluven and HAES-LX-5% is connected with the inhibition of neuronal necrosis.

Keywords: acute disorder of the cerebral circulation, infusion therapy, neuron-specific enolase, S 100 protein.

Согласно современным представлениям церебропротекторное средство должно обеспечивать защиту головного мозга от постреперфузионных повреждений в случае фармакологической или механической реканализации инфаркт-зависимого церебрального сосуда, особенно когда это мероприятие выполняется вне терапевтиче-

ского окна (например, поздний тромболизис) [4]. Учитывая сложность диагностики и проведения реканализации, становится очевидным, что успешная реперфузия возможна в немногих случаях и только в крупных специализированных клиниках [9]. В связи с этим, по мнению специалистов [5, 2], схему лечения таких больных сле-

дует обязательно дополнять препаратами, которые, воздействуя на отдельные звенья патобиохимического каскада в нейронах, способные продлить период «терапевтического окна» и создать защиту от реперфузионного повреждения. У большинства больных с инсультом в остром периоде имеет место гиповолемия и, как следствие, увеличение вязкости крови. Основными факторами, влияющими на вязкость крови, является гематокрит, агрегация эритроцитов, их способность к деформации, агрегация тромбоцитов и вязкость плазмы. Установлено, что мозговые сосуды расширяются при увеличении вязкости крови и сужаются при ее уменьшении. [6, 1]. Оптимизация мозговой перфузии достаточно важна для улучшения последствий острого инсульта. В большинстве случаев это достигается посредством проведения инфузионной терапии. При этом в расчет следует принимать много факторов, особенно нужно рационально подойти к выбору инфузионного раствора (физиологический раствор, раствор лактата Рингера или другие) [10].

Для основательного выяснения наличия в инфузионных растворах, а именно HAES-LX-5%, волювен и 0,9% NaCl, защитного действия на мозг при остром нарушении мозгового кровообращения (ОНМК) представляло интерес исследовать влияние отдельной курсовой терапии этими растворами на интенсивность протекания деструктивных изменений в нейронах по динамике активности нейрон-специфической эналазы (NSE) и уровнем белка S 100. NSE, по данным литературы, является ранним маркером повреждения нервной ткани [3]. Мониторинг динамики нейрональных маркеров (активность NSE и уровень белка S 100) в условиях острой церебральной ишемии позволяет не только исследовать глубину и степень ишемического повреждения головного мозга, но и оценить эффективность церебропротекторной терапии [7].

Цель данной работы – на модели экспериментального ишемического постреперфузионного повреждения головного мозга охарактеризовать влияние коллоидно-изоосмолярного раствора волювен и коллоидно-гиперосмолярного раствора HAES-LX-5% (зарегистрирован в Украине в 2013 году под названием Гекотон) по сравнению с изоосмолярным 0,9% раствором NaCl на динамику NSE и уровня белка S 100.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проведены на 63 белых крысах – самцах массой 160-170 г. Экспериментальную модель ишемии-реперфузии (ИР) создавали путем наложения клипс на обе внутренние сонные арте-

рии под пропофоловым наркозом (60 мг/кг) сроком на 20 мин [8]. Растворы HAES-LX-5% и волювен вводили внутривенно в условно эффективной дозе по 2,5 мл/кг 2 р/д (5,0 мл/кг в сутки). Первое введение проводили через 30 мин после ИР и далее ежедневно через каждые 12 ч в течение 7 суток. В качестве референс-препарата применяли 0,9% раствор NaCl в аналогичной дозе и в том же режиме. Животные группы контрольной патологии не получали никакой терапии (ИР без лечения).

Для определения специфических маркеров ишемии головного мозга – активности NSE и уровня белка S 100 в соответствующие сроки (4-е и 7-е сутки ОНМК) у крыс, путем катетеризации бедренной вены проводили забор крови (2,5-3,0 мл). Активность NSE и уровень белка S 100 в сыворотке крови измеряли методом иммуноферментного анализа с использованием набора NSE ELISA KIT (CUSABIO, China) и S 100 ELISA KIT (BlueGene, China) на приборе фирмы "HUMAN" (Германия).

Результаты исследований обрабатывали с помощью программы статистической обработки StatPlus 2009. Использовали параметрический критерий t Стьюдента в случаях нормального распределения вариационного ряда, непараметрический критерий W Уайта – при его отсутствии, парный критерий T Вилкоксона – для определения изменений в динамике внутри группы. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как отмечалось выше, высвобождение NSE из нейронов в цереброспинальный ликвор и кровь, аналогично повышению уровня белка S 100, являются маркерами повреждения нервной ткани. Уровень исследуемых нейромаркеров в сыворотке крови пациентов с ОНМК коррелирует с объемом инфаркта мозга [3]. Анализ полученных нами данных по динамике активности NSE и уровню белка S 100 позволяет сделать вывод о том, что в раннем постреперфузионном периоде модельного ОНМК у крыс происходит интенсивное формирование ядра ишемического очага, завершающееся его организацией на 7-е сутки эксперимента (см. табл. 1 и 2).

Отдельное введение крысам растворов волювена и HAES-LX-5% сразу после реперфузии в бассейне внутренней сонной артерии с последующим продолжением инфузионной терапии в течение всего срока наблюдения, сопровождалось более существенным по сравнению с терапией 0,9% раствором NaCl уменьшением деструктив-

Таблица 1

Влияние отдельного курсового введения крысам с острой церебральной ишемией 0,9% раствора NaCl, волювена и HAES-LX-5% на динамику активности NSE (M±m, n=7)

Опытные группы	Уровень активности NSE (нг/мл)
Интактные крысы	0,20±0,12
4 сутки	
ИР без лечения (контрольная патология)	3,04±0,32*
ИР + 0,9% р-н NaCl	2,01±0,02* [#]
ИР + волювен	1,38±0,05* ^{#^}
ИР + HAES-LX-5%	0,91±0,01* ^{#^°}
7 сутки	
ИР без лечения (контрольная патология)	2,22±0,24*
ИР + 0,9% р-н NaCl	1,68±0,03* [#]
ИР + волювен	1,03±0,02* ^{#^}
ИР + HAES-LX-5%	0,75±0,04* ^{#^°}

Примечания: ИР – ишемия-реперфузия; * – p < 0,05 по сравнению с показателем интактных крыс; # – p < 0,05 по сравнению с показателем контрольной патологии; ^ – p < 0,05 относительно терапии 0,9% раствором NaCl; ° – p < 0,05 относительно терапии волювеном; • – p < 0,05 по сравнению с 4-ми сутками.

Таблица 2

Влияние отдельного курсового введения крысам с острой церебральной ишемией 0,9% раствора NaCl, волювена и HAES-LX-5% на динамику уровня белка S 100 (M±m, n=5)

Опытные группы	Уровень белка S 100 (нг/мл)
Интактные крысы	0,395±0,049
4 сутки	
ИР без лечения (контрольная патология)	7,510±0,772*
ИР + 0,9% р-н NaCl	4,142±0,020* [#]
ИР + волювен	2,238±0,093* ^{#^}
ИР + HAES-LX-5%	1,112±0,050* ^{#^°}
7 сутки	
ИР без лечения (контрольная патология)	14,566±0,024*
ИР + 0,9% р-н NaCl	5,346±0,251* [#]
ИР + волювен	1,258±0,032* ^{#^}
ИР + HAES-LX-5%	0,766±0,083* ^{#^°}

Примечания: ИР – ишемия-реперфузия; * – p < 0,05 по сравнению с показателем интактных крыс; # – p < 0,05 по сравнению с показателем контрольной патологии; ^ – p < 0,05 относительно терапии 0,9% раствором NaCl; ° – p < 0,05 относительно терапии волювеном; • – p < 0,05 по сравнению с 4-ми сутками.

но-дегенеративных процессов в ишемизированном головном мозге животных (см. табл. 1 и 2).

Так, экспериментальная терапия ОНМК растворами волювена и HAES-LX-5% уже на 4-е сутки инсульта сопровождалась меньшей активностью NSE относительно крыс группы контрольной патологии в среднем соответственно на 54,6% (3,04 и 1,38 нг/мл) и 70,1% (3,04 и 0,91 нг/мл), превосходя по своей эффективности введение 0,9% раствора NaCl по этому показателю в среднем соответственно в 1,5 и 2,2 раза. Оценивая титры NSE в группах крыс с ОНМК, которым проводили инфузию HAES-LX-5% и волювена, можно сделать вывод, что по способности уменьшать проявления нейродеструкции в острый период инсульта терапия раствором HAES-LX-5% была эффективнее инфузии волювена в

среднем на 34,1% (0,91 и 1,38 нг/мл соответственно) (p < 0,05) (см. табл. 1).

На 7-е сутки после реперфузии головного мозга терапия крыс растворами волювена и HAES-LX-5% препятствовала нарастанию активности NSE. При этом инфузия HAES-LX-5% аналогично результатам, полученным на 4-е сутки, оказалась более эффективной, превосходя 0,9% раствор NaCl в среднем на 55,4% (0,75 и 1,68 нг/мл соответственно). Для волювена этот показатель составлял 38,7% (1,03 и 1,68 нг/мл соответственно).

Итак, фармакотерапия модельного постреперфузионного синдрома растворами волювена и в большей степени HAES-LX-5% тормозила развитие нейронекроза, что проявилось в достоверно

меньших уровнях активности NSE как на 4-е, так и на 7-е сутки ОНМК.

Оценивая данные, полученные в ходе изучения динамики содержания в сыворотке крови крыс белка S 100 в постреперфузионный период на 4-е и 7-е сутки инсульта, нами было установлено, что введение животным с ОНМК растворов волювена и HAES-LX-5% способствует достоверному относительно группы контрольной патологии меньшему содержанию исследуемого маркера в острый период в среднем соответственно в 3,35 раза (7,510 и 2,235 нг/мл) в 6,75 раза (7,510 и 1,112 нг/мл), а в подострый период – в среднем соответственно в 11,58 раза (14,566 и 1,258 нг/мл) и 19,01 раза (14,566 и 0,766 нг/мл) (см. табл. 2).

При этом по способности уменьшать уровень гиперпротеинемии S 100, терапия постреперфузионной церебральной ишемии раствором HAES-LX-5% на 4-е и 7-е сутки оказалась эффективней, чем применение волювена (соответственно на 50,3 и 39,1%) ($p < 0,05$).

Полученные данные являются свидетельством того, что инфузионная терапия ОНМК, возникшей на фоне реоклюзии инфаркт-зависимых сосудов, растворами волювена и в большей степени HAES-LX-5%, способствовала уменьшению процессов образования нейроглии и развития в ней воспалительных реакций. Умеренная или низкая активность нейроглии на фоне фармакотерапии исследуемыми растворами в течение первых семи дней ишемии косвенно указывает на незначительное количество некротизированных нейронов и эффективность церебропротекции в постреперфузионный период.

Таким образом, результаты, полученные в ходе проведенного исследования по воздействию растворов волювена и HAES-LX-5% на активность и уровень в сыворотке крови крыс в постреперфузионный период модельного инсульта нейромаркеров NSE и белка S 100, свидетельствуют о том, что церебропротекторный эффект волювена и HAES-LX-5% связан с торможением процессов нейронекроза. Из полученных результатов вытекают следующие выводы:

1. Фармакотерапия модельного постреперфузионного синдрома инфузионными растворами волювеном и в большей степени HAES-LX-5% тормозило развитие нейронекроза, что проявилось в достоверно меньших уровнях активности NSE как на 4-е, так и на 7-е сутки ОНМК.

2. По способности уменьшать уровень NSE в острый и подострый периоды инсульта терапия HAES-LX-5% на 4-е сутки была эффективнее инфузии 0,9% раствора NaCl в среднем в 2,2 раза и волювена в 1,5 раза ($p < 0,05$).

3. Инфузионная терапия ОНМК растворами 0,9% NaCl, волювеном и в большей степени

HAES-LX-5% способствовала уменьшению процессов образования нейроглии и развития в ней воспалительных реакций, на что указывало достоверное относительно группы контрольной патологии уменьшение титров белка S 100 соответственно в 1,8; 3,35 и 6,75 раза на 4-е сутки и в 2,7; 11,58 и 19,01 раза на 7-е сутки ($p < 0,05$).

4. По способности уменьшать уровень гиперпротеинемии S 100, терапия постреперфузионной церебральной ишемии раствором HAES-LX-5% на 4-е и 7-е сутки оказалась более эффективной, чем применение волювена (соответственно на 50,3 и 39,1%) ($p < 0,05$).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Евзельман М.А.* Ишемический инсульт – Орел, 2003. – 294 с.
2. *Никонов В.В.* Роль антагонистов глутаматных рецепторов (ПК-Мерц) в лечении повреждений мозга (обзор литературы) // Медицина неотложных состояний. – 2012. – № 5 (44). – С. 36-40.
3. *Григорьев Е.В., Вавин Г.В., Гришианова Т.Г., Дербенева О.А.* Нейронспецифические белки – маркеры энцефалопатии при тяжелой сочетанной травме // Медицина неотложных состояний. – 2010. – № 2 (27). – С.72 -76.
4. *Соболева Е.Л., Орлов Ю.П.* О возможных путях профилактики реперфузии при критических состояниях // Сибирский медицинский журнал. – 2012. – № 1. – С. 13-16.
5. *Трошин В.Д., Бровков Н.Н.* Неотложная кардионеврология. – М.: Медицинское информационное агентство, 2010. – 672 с.
6. *Усенко Л.В., Мальцева Л.А., Царев А.В., Черненко В.Г.* Ишемический инсульт глазами анестезиолога: современные подходы к интенсивной терапии. – Днепропетровск, 2004. – 137 с.
7. *Ходаковский А.А.* Оценка влияния экспериментальной терапии Адемола на интенсивность протекания деструктивных изменений в мембранах нейронов у монгольских песчанок в условиях острой церебральной ишемии // Вестник морфологии. – 2011. – Т. 17, № 1 – С. 62-65.
8. *Ходаковский А.А., Маринич Л.И., Багауры А.В.* Особенности формирования постреперфузионного повреждения нейронов – характеристика модели «ишемия-реперфузия». Новые направления и перспективы развития современной церебропротекторной терапии ишемического инсульта // Врач-аспирант. – 2013. – № 3 (58). – С. 69-76.
9. *Шведский В.В., Штрыголь С.Ю., Мерзлякин С.И.* Эффективность диакамфа гидрохлорида при экспериментальном остром нарушении мозгового кровообращения на фоне сахарного диабета // Актуальные проблемы современной медицины: Вестник Украинской медицинской стоматологической академии. – 2011. – Т. 11, вып. 3 (35). – С. 84-88.
10. *James D. Geyer, Camilo R. Gomez.* Stroke. A practical approach – Lippincott Williams & Wilkins, 2009. – 361 p.