

The study of biochemical markers of the nervous tissue damage in the modeling of transient focal brain injury in rats

Vitik A.¹, Hljostkina M.², Sufianov R.³ (Russian Federation)

Исследование биохимических маркеров повреждения нервной ткани при моделировании транзиторного повреждения коры головного мозга у крыс Витик А. А.¹, Хлёткина М. С.², Суфианов Р. А.³ (Российская Федерация)

¹Витик Алексей Александрович / Vitik Alexey - аспирант,
кафедра нейрохирургии с курсами нейрореанимации и нейрореабилитации,
факультет повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов,
Федеральное государственное бюджетное учреждение
Федеральный центр нейрохирургии;

²Хлесткина Мария Сергеевна / Khlestkina Maria - старший преподаватель,
кафедра фармакологии,

Государственный медицинский университет, г. Тюмень;

³Суфианов Ринат Альбертович / Sufianov Rinat – студент,
лечебный факультет,

Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова, г. Москва

Аннотация: в работе показано, что профилактическое введение АТФ сопровождается менее значительным увеличением концентрации нейроспецифических белков плазмы крови, что свидетельствует о меньшей степени повреждения структур головного мозга и гематоэнцефалического барьера при моделировании локального ишемического повреждения коры головного мозга. Результаты данного исследования подтверждают возможность использования нейроспецифических белков плазмы крови NSE и S100 для оценки степени и прогноза повреждения в эксперименте и клинической практике.

Abstract: in the presented article, we demonstrate that preventative ATP administration, while modeling local ischemic damage of cerebral cortex, is accompanied by minor increase in concentration of neurospecific plasma protein, which is indicative of minor brain structure damage and blood-brain barrier. Results of this study prove that it is possible to use neurospecific plasma proteins NSE and S100 to assess the damage degree and prognosis during experiments and in clinical practice.

Ключевые слова: локальное повреждение головного мозга, нейроспецифические белки, NSE, S100, аденозинтрифосфат.

Keywords: focal brain injury, neurospecific proteins, NSE, S100, adenosine triphosphate.

Введение

Ишемические и травматические повреждения ЦНС являются одной из основных причин смертности и снижения трудовой деятельности в мире [1, 9, 10, 16, 21, 29]. Несмотря на успехи современной нейрохирургии и реаниматологии [9, 10, 16, 29], частота и тяжесть травматических повреждений головного мозга не только не уменьшается, но и возрастает, летальность при этом составляет в среднем от 20 до 50 %, а при тяжелой ЧМТ достигает 70 % [1, 16, 22]. В связи с чем поиск новых методов диагностики и лечения травматических повреждений ЦНС является актуальной медико-социальной задачей [1, 8, 10, 11, 16, 23, 29]. Перспективными лекарственными препаратами в коррекции патофизиологических и патобиохимических нарушений при черепно-мозговой травме являются агонисты аденозиновых рецепторов [3, 4, 6, 17-22, 28, 30-32], однако, несмотря на достаточно успешный опыт использования данных препаратов в кардиологической и анестезиологической практике [5, 7, 24, 26, 27], потенциальные нейропротекторные свойства этих препаратов при травматических и острых сосудистых заболеваниях головного мозга изучены недостаточно.

Целью исследования было изучение изменения концентрации нейроспецифических белков (NSE и S-100b) при моделировании локального компрессионного повреждения головного мозга на фоне профилактического введения аденозинтрифосфата.

Материалы и методы

Работа выполнена на 30 крысах самцах, весом 180–220 г. Всех животных разделили на 3 группы: 1 (ложнооперированная) группа (n=8) была представлена животными только с внутрибрюшинным (в/б) введением физиологического раствора (NaCl 0,9 % 0,01 мл) без последующего моделирования локального компрессионного повреждения головного мозга; во 2 (контрольной) группе (n=12) за 30 минут до моделирования локального компрессионного повреждения головного мозга, в/б предварительно вводили физиологический раствор (NaCl 0,9 %, 0,01 мл); в 3 (основной экспериментальной) группе (n=10) за 30 минут до моделирования локального компрессионного повреждения головного мозга, в/б предварительно вводили 1 % раствор АТФ (в эквивалентном объеме

50 мг/кг). Моделирование локального компрессионного повреждения головного мозга осуществляли путем 30 минутной локальной компрессии (площадь компрессии 7 мм², глубина погружения стержня 3 мм) правой теменной области головного мозга. Адекватность и воспроизводимость данного метода моделирования ишемии головного и спинного мозга была верифицирована нами ранее при использовании различных биохимических, гистологических и нейрофизиологических методов [12, 13, 16, 21, 23, 33]. У всех животных с целью определения концентрации нейроспецифических белков (NSE и S-100b) производилось исследование образцов плазмы венозной крови до- и на 1-3 сутки после моделирования локального компрессионного повреждения головного мозга. Содержание NSE и S-100b определяли на анализаторе Elecsys 1010 (Швейцария). Концентрацию нейроспецифической енолазы (NSE) в плазме крови выражали в мкг/мл, концентрацию белка S100β в нг/мл.

Статистическую и математическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ MS Office 2003 и Matlab 7. Для оценки статистической значимости полученных результатов использовались параметрический критерий t — Стьюдента и непараметрический критерий U — Уилкоксона-Манна-Уитни. Результаты представлены в виде $M \pm m$, где M — среднее арифметическое, а m — ошибка средней. Различия считали значимыми при $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При моделировании локального компрессионного повреждения коры головного мозга у всех экспериментальных животных контрольной группы в первые сутки отмечалось значительное возрастание уровня нейроспецифической енолазы до $215,2 \pm 34,3$ % от исходного уровня ($P < 0,01$). На 3 сутки наблюдалась тенденция к дальнейшему увеличению концентрации этого фермента в среднем до $258,14 \pm 42,1$ % от исходного уровня ($P < 0,01$). Изменения концентрации белка S100 в плазме крови были более специфичны. Концентрация этого белка в 1 и 3 сутки была выше исходного уровня соответственно на $268,6 \pm 37,5$ % и $289,4 \pm 43,3$ % от исходного уровня ($P < 0,01$). При профилактическом в/б введении АТФ (100 мг/кг) отмечалась значительно меньшая степень увеличения концентрации нейроспецифических белков плазмы крови. В 1 и 3 сутки после моделирования повреждения уровень NSE выше исходного значения соответственно на $72,2 \pm 32,4$ % ($P < 0,05$ в сравнении с исходным уровнем) и $94,1 \pm 34,2$ % ($P < 0,05$ в сравнении с исходным уровнем, $P < 0,05$ в сравнении с контрольной группой). При этом на 3 сутки после повреждения уровень этого фермента в плазме крови был значимо меньше чем в контрольной группе. Концентрация белка S100 на 1 и 3 сутки после моделирования повреждения была также ниже, чем в контрольной группе, и составляла соответственно $166,96 \pm 31,9$ % ($P < 0,01$ в сравнении с исходным уровнем, $P < 0,05$ в сравнении с контрольной группой) и $150,85 \pm 41,1$ % ($P < 0,01$ в сравнении с исходным уровнем, $P < 0,05$ в сравнении с контрольной группой) от исходного уровня. В данной группе, в отличие от контрольной серии, на 3 сутки отмечалась тенденция к снижению концентрации S100.

Таким образом, профилактическое введение АТФ сопровождается менее значительным увеличением концентрации нейроспецифических белков плазмы крови, что свидетельствует о меньшей степени повреждения структур головного мозга и гематоэнцефалического барьера при моделировании локального компрессионного повреждения [1, 8, 18, 20, 21].

Результаты данного исследования подтверждают возможность использования нейроспецифических белков плазмы крови NSE и S100 для оценки степени и прогноза повреждения в эксперименте и клинической практике.

Механизмы действия АТФ, учитывая достаточно быструю ферментативную деградацией его до аденозина, наиболее вероятно связаны с активацией специфических аденозиновых A1 рецепторов на мембране нервных клеток, что сопровождается снижением выброса глутамата из терминалей нейронов, блокадой Ca²⁺ каналов, подавлением глутаматной эксайтотоксичности и патологической ишемической деполяризации нервной ткани [2, 3, 6, 14-16, 25]. Дополнительными позитивными аспектами потенциального применения АТФ в клинической практике являются противовоспалительное, вазодилатирующее и сравнимое по силе с применением наркотических анальгетиков анальгезирующее действие [3, 6, 16, 24, 25]. Проведенное исследование показывает высокую перспективность использования аналогов аденозина с целью нейропротекции и улучшения результатов лечения пациентов с тяжелой черепно-мозговой травмой.

Литература

1. Гусев Е. И., Скворцова В. И., Стаховская Л. В. Проблема инсульта в Российской Федерации: время активных современных действий // Журн. неврол. и психиатрии им. С. С. Корсакова, 2007. 107 (6). С. 4–10.
2. Витик А. А., Хлесткина М. С., Ищенко Т. В. Изменения биоэлектрической активности головного мозга при моделировании фокальной транзиторной ишемии головного мозга у крыс // Сборник статей IV Международной научно-практической конференции «European Research», 2016. С. 38-46.

3. *Елисеев В. В., Полтавченко Г. М.* Роль аденозина в регуляции физиологических функций организма. СПб: Наука, 1991. 120 с.
4. *Ищенко Т. В., Хлесткина М. С., Витик А. А.* Концентрация нейроспецифических белков в плазме крови при моделировании фокального ишемического повреждения головного мозга у крыс // *European Research*, 2016. С. 47-56.
5. *Карелов А. Е.* Особенности хирургического стресса при пуринэргической анальгезии СПб., 2005. Автореф. дис.. канд. мед. наук. 24 с.
6. *Кулинский В. И., Суфианова Г. З., Усов Л. А., Суфианов А. А.* Защитный эффект интрацеребровентрикулярного введения А-агонистов при полной ишемии головного мозга // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, 1994. Т. 117. № 6. С. 622-624.
7. *Лебедев О. В.* Общая анестезия на основе аденозина при лапароскопической холецистэктомии // *Дисс. канд. мед. наук. М., 2007.* 90 с.
8. *Мурик С. Э., Суфианов А. А., Суфианова Г. З., Шапкин А. Г.* Экспериментальные данные об электрофизиологических коррелятах ишемии мозга разной тяжести // *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*, 2003. № 1. 148 с.
9. *Суфианов А. А.* Нейроэндоскопические вмешательства при опухолях пинеальной области, задних отделов третьего желудочка и задней черепной ямки // *Вопросы нейрохирургии им. Н. Н. Бурденко*, 2000. № 4. С. 9.
10. *Суфианов А. А., Шапкин А. Г., Суфианова Г. З., Чимытова Е. А., Таборов М. В.* Использование метода локального преобразования Фурье для оценки электроэнцефалографических изменений у пациентов после ликворошунтирующих и нейроэндоскопических операций по поводу гидроцефалии // *Нейрохирургия*, 2010. № 2. С. 47-51.
11. *Суфианов А. А., Шапкин А. Г., Суфианова Г. З., Чимытова Е. А., Таборов М. В., Шапкин Ю. Г., Якимов Ю. А., Махов А. Н.* Сравнительная электрофизиологическая оценка эффективности ликворошунтирующих и эндоскопических нейрохирургических вмешательств при гидроцефалии // *Неврологический вестник. Журнал им. В. М. Бехтерева*. 2007. Т. XXXIX. № 2. С. 97-99.
12. *Суфианов А. А., Суфианова Г. З., Шапкин А. Г., Шапкин Ю. Г., Таборов М. В.* Влияние локального компрессионного повреждения на биоэлектрическую активность головного мозга // *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*, 2006. № 2. С. 198-201.
13. *Суфианова Г. З., Мурик С. Э., Суфианов А. А., Усов Л. А., Шапкин А. Г., Таборов М. В.* Функциональная оценка нейропротекторного действия циклопентиладенозина по данным ЭЭГ при фокальной церебральной ишемии у крыс // *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*, 2002. Т. 1. № 6. 178 с.
14. *Суфианова Г. З., Мурик С. Э., Усов Л. А., Суфианов А. А., Шапкин А. Г., Таборов М. В.* Изменения уровня постоянного потенциала при фокальной церебральной ишемии и на фоне введения циклопентиладенозина у крыс // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, 2003. Т. 136. № 12. 653 с.
15. *Суфианова Г. З., Суфианов А. А., Шапкин А. Г., Усов Л. А.* Влияние циклопентиладенозина на ориентировочно-исследовательское и эмоциональное поведение при повреждении головного мозга у крыс // *Экспериментальная и клиническая фармакология*, 2009. Т. 72. № 2. С. 20-23.
16. *Суфианова Г. З.* Нейропротекторное действие агонистов аденозиновых рецепторов при фокальных ишемических и травматических повреждениях ЦНС // *дисс. докт. мед. наук, Санкт-Петербург*, 2003.
17. *Суфианова Г. З., Суфианов А. А., Шапкин А. Г.* Противосудорожный и нейропротекторный эффекты циклопентиладенозина в модели судорожного статуса у крыс // *Экспериментальная и клиническая фармакология*, 2013. Т. 76. № 11. С. 13-16.
18. *Суфианова Г. З., Усов Л. А., Суфианов А. А., Переломов Ю. П., Раевская Л. Ю., Шапкин А. Г.* Защитное действие агонистов аденозиновых рецепторов на модели травматического повреждения спинного мозга у крыс // *Экспериментальная и клиническая фармакология*, 2002. Т. 65. № 5. С. 58-61.
19. *Суфианова Г. З., Усов Л. А., Суфианов А. А., Шапкин А. Г., Раевская Л. Ю.* Защитное действие циклопентиладенозина на малоинвазивной модели острой фокальной ишемии головного мозга у крыс // *Экспериментальная и клиническая фармакология*, 2002. Т. 65. № 1. С. 24-26.
20. *Суфианова Г. З., Усов Л. А., Суфианов А. А., Шапкин А. Г., Раевская Л. Ю., Голубев С. С.* Защитное действие А-агонистов на малоинвазивной модели ишемии спинного мозга у крыс // *Экспериментальная и клиническая фармакология*, 2003. Т. 66. № 1. С. 23-26.
21. *Суфианова Г. З., Шапкин А. Г.* Повреждение нервной ткани: механизмы, модели, методы оценки // *М.: Издательство РАМН*, 2014. 288 с.
22. *Хлесткина М. С., Витик А. А., Ищенко Т. В.* Перекисное окисление липидов при моделировании локального ишемического повреждения головного мозга на фоне цитопротекторной терапии

- агонистами аденозиновых рецепторов // Сборник статей IV Международной научно-практической конференции «European Research», 2016. - стр. 25-33.
23. Шапкин А. Г., Суфианова Г. З., Суфианов А. А., Шапкин Ю. Г., Таборов М. В., Шевченко В. П. Электрофизиологические нарушения при локальном компрессионном повреждении спинного мозга // Хирургия позвоночника, 2009. № 1. С. 76-80.
 24. Bantel C., Childers S. R., Eisenach J. C. Role of adenosine receptors in spinal G-protein activation after peripheral nerve injury // Anesthesiology, 2002. Vol. 96, № 6. P. 1443-1449.
 25. Burnstock G. Purinergic signalling: pathophysiology and therapeutic potential. // Keio Jyo Med., 2013. 62 (3). P. 63-73.
 26. Karlsten R., Gordh T., Post C. Local antinociceptive and hyperalgesic effects in the formalin test after peripheral administration of adenosine analogs in mice // Pharmacol. Toxicol, 1992. Vol. 70. P. 434-438.
 27. Reeve A. J., Dickenson A. H. The roles of spinal adenosine receptors in the control of acute and more persistent nociceptive responses of dorsal horn neurons in the anaesthetized rat // Br. J. Pharmacol, 1995. Vol. 116. P. 2221-2228.
 28. Kulinskii V. I., Usov L. A., Sufianova G. Z., Sufianov A. A. Protective effect of intracerebroventricular injection of adenosine agonists during total cerebral ischemia // Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 1994. T. 117. № 6. С. 626-628.
 29. Sufianov A. A., Komarevskii A. V., Belik A. A., Noskov A. P., Chimytova E. A., Seliverstov P. V. Shunting operations in the hypertensive hydrocephalic syndrome in children with developmental defects of the central nervous system // Вопросы нейрохирургии им. Н. Н. Бурденко, 1999. Т. 1. С. 7.
 30. Sufianova G. Z., Murik S. E., Usov L. A., Shapkin A. G., Taborov M. V., Sufianov A. A. Changes in the steady-state potential in rats with focal cerebral ischemia receiving cyclopentyladenosine // Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2003. Т. 136. № 6. С. 576-578.
 31. Sufianova G. Z., Sufianov A. A., Shapkin A. G. Effect of cyclopentyladenosine on lipid peroxidation during focal cerebral ischemia // Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2014. Т. 157. № 2. С. 228-230.
 32. Sufianova G. Z., Usov L. A., Sufianov A. A., Shapkin A. G., Raevskaya L. Yu. New minimally invasive model of spinal cord ischemia in rats // Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2002. Т. 133. № 1. С. 98-101.
 33. Sufianova G. Z., Usov L. A., Sufianov A. A., Shapkin A. G., Raevskaya L. Yu., Golubev S. S., Murik S. E. Minimum-invasive model of focal brain ischemia in rats // Экспериментальная и клиническая фармакология, 2001. Т. 64. № 4. С. 63-67.