



Патогенетические варианты повреждения головного мозга и фармакологическая церебропротекция на модели состояния головного мозга при кардиохирургических операциях в условиях искусственного кровообращения

ЦЫГАН Н.В., кандидат медицинских наук, майор медицинской службы (nv-t@mail.ru)¹
ТРАШКОВ А.П., кандидат медицинских наук²

¹Военно-медицинская академия им. С.М.Кирова, Санкт-Петербург; ²Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет

Разработана и апробирована патогенетически обоснованная экспериментальная модель состояния головного мозга при кардиохирургических операциях в условиях искусственного кровообращения. Проведенное на 186 самцах-альбиносах серых крыс исследование позволило детально оценить эффективность и безопасность курсового церебропротективного лечения. С позиций изучения состояния нервной ткани преимуществами такой модели является возможность ее выполнения на лабораторных животных, небольшой объем выполняемых манипуляций и, как следствие, высокая воспроизводимость, а также возможность комплексной оценки изменений на любом этапе исследования. Результаты исследования состояния нейронов, нейроглии и активации нейротрофических механизмов свидетельствуют, что моделирование состояния головного мозга при кардиохирургических операциях в условиях искусственного кровообращения сопровождается острым и отсроченным повреждением головного мозга. Применение комплексного препарата цитофлавин в рамках фармакологической церебропротекции оказало пролонгированное мультимодальное нейропротективное влияние, с первых суток сопровождавшееся улучшением нейротрофической защиты.

К л ю ч е в ы е с л о в а: повреждения головного мозга, фармакологическая церебропротекция, кардиохирургические операции, искусственное кровообращение, цитофлавин.

Tsygan N.V., Trashkov A.P. – Pathogenic variants of brain injuries and pharmlologic cerebroprotection performed on the model of brain condition during cardiovascular bypass surgery. Developed and approved a pathogenic grounded experimental model of brain condition during cardiovascular bypass surgery. Undertaken in Wistar rats research allowed to evaluate in detail effectiveness and safety of protracted cerebroprotective treatment. Advantages of this model are researches in laboratory animals with the aim to research condition of nerve tissue, not intensive procedures and consequently high reproducibility and possibility of complex evaluation of changes at every stage of research. Results of neurons, neuroglia and activation of neurotrophic mechanisms prove that simulation of brain condition during cardiovascular bypass surgery is accompanied with acute and delayed brain injuries. Use of Cytoflavin under pharmlologic cerebroprotection had prolonged multimodal and neuroprotective effect, leading to improvement of neurotrophic protection from the first days.

К е y w o r d s: brain injuries, pharmlologic cerebroprotection, cardiovascular surgery, bypass, Cytoflavin.

Актуальность разработки новых методов защиты головного мозга при кардиохирургических операциях в условиях искусственного кровообращения определяется риском его повреждения на любом из этапов операции, медицинской и социальной значимостью послеоперационных нарушений функций центральной нервной системы [2, 8].

Очевидная трудность получения полной картины состояния нервной ткани

в кардиохирургической практике делает актуальной для экспериментальной медицины задачу создания и описания адекватной, патогенетически обоснованной модели состояния головного мозга при кардиохирургических операциях в условиях искусственного кровообращения.

Экспериментальное моделирование кардиохирургических операций в условиях искусственного кровообращения



возможно с использованием крупных лабораторных животных, с учетом технических особенностей интраоперационных манипуляций. Недостатком данной модели являются высокая стоимость и низкая воспроизводимость, а также затруднения в оценке эффективности и безопасности курсового церебропротективного лечения. Возможным решением для изучения церебрального повреждения головного мозга на большом количестве объектов является разработанный нами способ моделирования состояния головного мозга при кардиохирургических операциях в условиях искусственного кровообращения у лабораторных крыс.

Для изучения состояния головного мозга широко используют биомаркёр нейронов NSE (neuron specific enolase, нейронспецифическая енолаза) и биомаркёры глии – белок S100 β и GFAP (glial fibrillary acidic protein, глиальный фибриллярный кислый белок) [5, 12, 19]. Экспериментальное изучение уровней биомаркёров нервной ткани в цитоллизате головного мозга и плазме крови лабораторных животных обладает высокой специфичностью вследствие отсутствия сопутствующей соматической патологии.

Одним из универсальных механизмов защиты на клеточном и тканевом уровнях является усиление синтеза и активация факторов роста, являющихся полифункциональными регуляторами. С учетом высокой степени дифференцированности нейронов и клеток глии, а также важности поддержания функций гематоэнцефалического барьера, для защиты центральной нервной системы особенно актуальны нейротрофические механизмы, основанные на действии факторов роста нервной ткани. Применительно к различным клеткам и тканям факторы роста имеют сетевой взаимодополняющий характер взаимодействия. Поэтому факторы роста нервной ткани включают в себя не только нейротрофины – фактор роста нервов (nerve growth factor, NGF)), семейство глиального нейротрофического фактора, семейство цилиарного нейротрофического фактора, – но и другие факторы роста, в т. ч. сосудистый эндотелиальный фактор роста (vascular endothelial growth factor, VEGF),

инсулиноподобный фактор роста (insulin-like growth factor, IGF) [4, 16].

Для лечения острой и хронической недостаточности мозгового кровообращения, уменьшения повреждения головного мозга при кардиохирургических операциях широко используют комбинацию янтарной кислоты, инозина, рибофлавина и никотинамида. Они входят в структуру отечественного лекарственного препарата цитофлавин и улучшают энергетический обмен клетки на различных уровнях [3, 6]. Нейрохимический анализ механизмов церебропротективного действия цитофлавина на модели состояния головного мозга при кардиохирургических операциях в условиях искусственного кровообращения представляет интерес для клинической медицины – неврологии, нейрохирургии, кардиологии и кардиохирургии.

Цель исследования

Изучение патогенетических вариантов повреждения головного мозга, нейротрофических механизмов его защиты, эффективности и безопасности фармакологической церебропротекции на модели состояния головного мозга при кардиохирургических операциях в условиях искусственного кровообращения.

Материал и методы

Экспериментальное исследование проведено на 186 самцах-альбиносах серых крыс массой тела 215–230 г, полученных в ФГУП ПЛЖ «Рапполово» РАМН (Ленинградская область). Перед проведением исследования все лабораторные крысы в течение 14 сут содержались в карантинном блоке вивария для исключения из эксперимента животных с соматической и/или инфекционной патологией.

Для исследования повреждения головного мозга и возможностей фармакологической церебропротекции был разработан способ моделирования состояния головного мозга при кардиохирургических операциях в условиях искусственного кровообращения, заключающийся в выполнении искусственной острой церебральной тромбоэмболии в бассейне правой внутренней сонной артерии и



последующей окклюзии правой внутренней сонной артерии с целью формирования острой церебральной гипоперфузии у лабораторных крыс.

Преимуществом данного способа является сочетание церебральной эмболии и острой церебральной гипоперфузии – ключевых факторов, определяющих состояние головного мозга при кардиохирургических операциях [7]. Нарушение кровоснабжения головного мозга на уровне как магистрального сосуда шеи, так и крупной мозговой артерии с большой достоверностью позволяет получить изменения в веществе головного мозга и их неврологический эквивалент [8].

Выбор каротидного бассейна для моделирования нарушений церебральной гемодинамики обусловлен следующими отличиями от вертебрально-базилярного бассейна: доступностью для манипуляций, меньшим риском гибели животного в острейший период гипоперфузии, большим объемом кровоснабжаемой ткани и, соответственно, более высокой вероятностью изменений нейронов и нейроглии.

В ходе моделирования предварительно получали тромб из крови крысы-донора, для чего цельную кровь без антикоагулянтов оставляли на 40 мин в стеклянной пробирке. После удаления сыворотки тромб подвергали гомогенизации. Под общим зоветиловым наркозом обнажали правую сонную артерию, мобилизовали ее и устанавливали катетер, через который вводили 0,3 мл 75% взвеси тромба в физиологическом растворе со скоростью 1 мл в минуту, после чего перевязывали правую сонную артерию и послойно ушивали рану.

Включенные в эксперимент крысы были разделены путем рандомизации на четыре группы:

1. «Контроль» ($n=20$) – интактные животные («физиологическая норма»);

2. «Операция» ($n=16$) – животные, которым выполняли катетеризацию правой сонной артерии с ее последующей перевязкой;

3. «Тромбоэмболия» ($n=75$) – животные, которым выполняли катетеризацию правой сонной артерии с последующим

интраартериальным введением тромботической массы и перевязкой артерии;

4. «Лечение» ($n=75$) – животные, которым выполняли катетеризацию правой сонной артерии с последующим интраартериальным введением тромботической массы и перевязкой артерии. Всем крысам этой группы в течение 10 сут от момента искусственной тромбоэмболии и перевязки артерии проводили церебропротективное лечение комбинацией янтарной кислоты, инозина, рибофлавина и никотинамида в виде лекарственного препарата цитофлавин (ООО «НТФФ ПОЛИСАН», Россия). Раствор цитофлавина (0,2 мл) вводили ежедневно однократно в 0,1 мл 0,9% раствора натрия хлорида внутривенно в хвостовые вены крыс при помощи инфузионного насоса со скоростью 0,5 мл в минуту.

Функциональные нарушения в нервной системе оценивали путем неврологического обследования животных, определения концентраций биомаркеров нервной ткани и факторов роста в плазме крови, цитолизате головного мозга крыс.

Неврологическое обследование интактных животных проводили в день включения в исследование, в других группах его выполняли непосредственно перед манипуляциями и в последующем ежедневно до выведения из эксперимента. Для оценки неврологического статуса применяли оригинальную шкалу, созданную с учетом методик оценки восстановления функций, нарушенных вследствие острого нарушения мозгового кровообращения у крыс в эксперименте [1, 13].

Неврологическое обследование включало оценку тонуса хвоста, туловищной атаксии при движении по горизонтальной плоскости, отставания конечностей при движении по горизонтальной плоскости, противодействия при поочередном разгибании конечностей. Каждый параметр оценивали в баллах по оригинальной шкале оценки неврологического статуса:

– тонус хвоста: не изменен (2), снижен (1), атония (0);



– туловищная атаксия при движении по горизонтальной плоскости: отсутствует (2), умеренная (1), значительная (0);

– отставание левых или правых конечностей при движении по горизонтальной плоскости: отсутствует в обеих конечностях (2), умеренное в одной или двух конечностях (1), выраженное в одной или двух конечностях (0);

– противодействие при поочередном разгибании конечностей: сохранено в обеих конечностях (2), умеренно снижено в одной или двух конечностях (1), значительно снижено в одной или двух конечностях (0).

Биологический материал (кровь, головной мозг) у крыс в группах «тромбоэмболия» и «лечение» получали на 1-е ($n=15$), 3-и ($n=15$) и 10-е ($n=15$) сутки после моделирования острой церебральной гипоксии, у животных групп «контроль» и «операция» – на 10-е сутки после начала эксперимента.

Взятие крови у животных производили путем транскутанной пункции сердца под эфирным наркозом в вакуумные системы «Monovette» (Германия) с этилендиаминтетрауксусной кислотой в качестве антикоагулянта. Кровь подвергали центрифугированию с ускорением 240 g в течение 7 мин для получения обогащенной тромбоцитами плазмы. Последнюю переносили в пластиковые пробирки и подвергали дополнительному центрифугированию с ускорением 1200 g в течение 15 мин, после чего обедненную тромбоцитами плазму переносили в криопробирки и хранили при температуре -20°C до проведения лабораторных исследований.

После процедуры взятия крови животных подвергали эвтаназии путем ингаляции паров эфира с последующим немедленным взятием образцов головного мозга и их обработкой по методике А.М.Шербакова и соавт. [9] для подготовки к иммуноферментному анализу.

Оценку содержания биомаркёров нервной ткани (NSE, GFAP, S100 β) и факторов роста (NGF, VEGF-A, IGF-1) в плазме крови и цитоллизате головного мозга осуществляли иммуноферментным методом при помощи коммерческих наборов в соответствии с инструкцией фирмы-производителя «Cusabio» (Китай).

В ходе исследования применяли процедуры и методы статистического анализа в соответствии с рекомендациями по обработке результатов медико-биологических исследований [10]. Описание количественных признаков выполняли с использованием медианы, нижнего и верхнего квартилей. При описании качественных признаков, кроме относительных величин частоты, был также рассчитан 95% доверительный интервал (ДИ) вероятности. Нулевая статистическая гипотеза отвергалась при уровне значимости $p < 0,05$. Статистический анализ осуществляли с использованием пакета Statistica 8.0.

Результаты и обсуждение

Хирургические манипуляции на магистральной артерии шеи, тромбоэмболия и острая окклюзия в бассейне сонной артерии приводили к повреждению головного мозга животных. Следствием этого явился высокий показатель летальности крыс в группах «тромбоэмболия» и «лечение», что отражает напряженность использованной модели (табл. 1).

Статистически значимых отличий по уровню летальности между группами «тромбоэмболия» и «лечение» выявлено не было в течение всего времени проведения эксперимента, что свидетельствует о безопасности и хорошей переносимости использованного метода фармакологической церебропротекции.

Неврологическое обследование животных не выявило признаков нарушений функций нервной системы в группе «контроль» (8 баллов по шкале оценки неврологического статуса), а также продемонстрировало очаговую неврологическую симптоматику у крыс в других группах. Результаты неврологического обследования в группах «тромбоэмболия» и «лечение» не имели достоверных различий (табл. 2).

Результаты неврологического обследования наряду с анализом уровня летальности в экспериментальных группах подтверждают обоснованность выбора и напряженность использованной модели. Качество выполнения эксперимента дополнительно зафиксировано отсутствием признаков нарушений функций нервной системы у крыс группы «контроль».



Анализ уровня летальности и результатов неврологического обследования свидетельствует о связи хирургических манипуляций и прекращения кровотока по сонной артерии в начале эксперимента с развитием переходящей мозговой дисфункции, значительно утяжеляемой искусственной тромбоэмболией.

Исследование состояния клеток нервной ткани было основано на оценке уровней биомаркёров нейронов (NSE в цитозоле головного мозга и в плазме крови) и нейроглии (GFAP и S100β в плазме крови). В качестве референсных значений использовали показатели группы «контроль» (NSE в цитозоле головного

Таблица 1

Летальность крыс после острой тромбоэмболии и окклюзии в бассейне правой сонной артерии

Период наблюдений, показатели летальности		Группа животных			
		«Контроль», N=20	«Операция», N=16	«Тромбоэмболия», N=75	«Лечение», N=75
1 ч	n; %; 95% [ДИ]	–	3; 18,8; [4,1–45,7]	17; 22,7; [13,8–33,8]	16; 21,3; [12,7–32,3]
1 сут	n; %; 95% [ДИ]	–	1; 6,3; [0,2–30,2]	12; 16,0; [8,6–26,3]	12; 16,0; [8,6–26,3]
>1 сут	n; %; 95% [ДИ]	–	–	1; 1,3; [0,0–7,2]	2; 2,7; [0,3–9,3]
0–10 сут	n; %; 95% [ДИ]	–	4; 25,0; [7,3–52,4]	30; 40,0; [28,9–52,0]	30; 40,0; [28,9–52,0]

Примечание. N – общее количество животных в группе; n – количество погибших животных в группе; % – доля погибших животных в группе в процентах; 95% [ДИ] – доверительный интервал вероятности 95%.

Таблица 2

Результаты неврологического обследования крыс на 1–10-е сутки после острой тромбоэмболии и окклюзии в бассейне правой сонной артерии

Группа животных, показатели летальности		Количество животных с признаками нарушения функций нервной системы в течение периода наблюдения			
		Снижение тонуса хвоста	Туловищная атаксия	Отставание левых конечностей	Нарушение противодействия разгибанию левых конечностей
«Операция», N=12	n; %; 95% [ДИ]	8; 66,6; [34,9–90,1]	3; 25; [5,4–57,2]	3; 25; [5,4–57,2]	8; 66,6; [34,9–90,1]
«Тромбоэмболия», N=46	n; %; 95% [ДИ]	40; 87; [73,7–95,1]	38; 82,6; [68,6–92,2]	36; 78,3; [63,6–89,1]	42; 91,3; [79,2–97,6]
«Лечение», N=47	n; %; 95% [ДИ]	37; 78,7; [64,3–89,3]	34; 72,3; [57,4–84,4]	38; 80,9; [66,7–90,9]	41; 87,2; [74,3–95,2]

Примечание. N – общее количество животных в группе; n – количество животных с признаками нарушения функций нервной системы в группе; % – доля животных с признаками нарушения функций нервной системы в группе в процентах; 95% [ДИ] – доверительный интервал вероятности 95%.



мозга – 29,0 [21,0; 39,5] пг/г; NSE в плазме крови – 6,0 [5,65; 6,6] мкг/л; GFAP в плазме крови – 6,0 [5,65; 6,6] пг/мл; S100 β в плазме крови – 0,16 [0,12; 0,18] пг/л), сопоставимые с референсными значениями в других экспериментальных исследованиях (в плазме крови: NSE ~1,7 мкг/л, GFAP ~80 мкг/л, S100 β ~0,4 пг/л) по данным литературы [17, 19].

Влияние моделирования интраоперационного состояния головного мозга на уровни биомаркёров нервной ткани оценивали путем сравнения значений в

группах «операция» и «тромбоэмболия», эффекты фармакологической церебропротекции – по результатам сравнения значений в группах «тромбоэмболия» и «лечение». Результаты лабораторной оценки содержания биомаркёров нервной ткани представлены на рис. 1–4.

У крыс группы «операция» уровни биомаркёров нейронов и нейроглии на 10-е сутки не отличались от референсных значений, что свидетельствует об отсутствии отсроченных изменений головного мозга после хирургических ма-

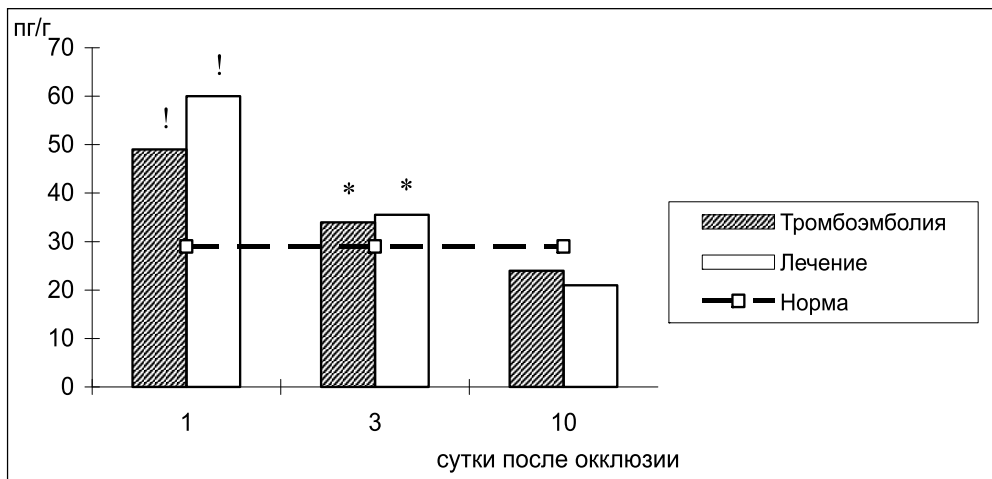


Рис. 1. Динамика концентрации NSE в цитоллизате головного мозга (на рисунке отражены медианы; референсные значения – 29,0 [21,0; 39,5] пг/г). Достоверные отличия: ! – от контрольной группы, * – от предыдущего значения внутри группы

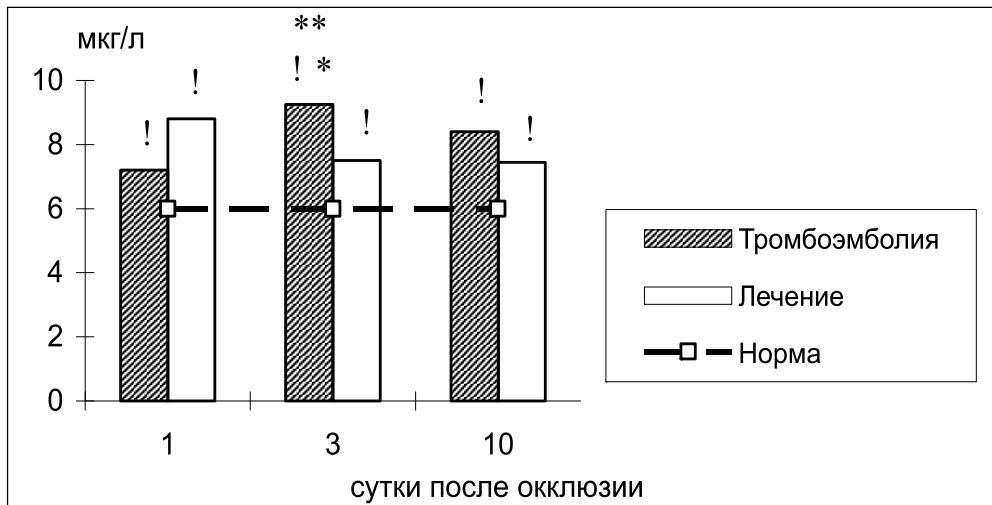


Рис. 2. Динамика концентрации NSE в плазме крови (на рисунке отражены медианы; референсные значения – 6,0 [5,65; 6,6] мкг/л). Достоверные отличия: ! – от нормы, * – от предыдущего значения в группе, ** – группы «тромбоэмболия» от группы «лечение»



нипуляции и перевязки сонной артерии без введения тромботической массы.

В группах «тромбоэмболия» и «лечение» концентрации NSE в цитоллизате головного мозга были достоверно выше референсных значений только на 1-е сутки, в плазме крови – во всех оцененных точках (рис. 1, 2). Такая динамика концентраций NSE может характеризовать острое и отсроченное повреждение нейронов. На 3-и сутки уровень NSE в плазме крови крыс в группе «лечение» был ниже, чем в группе «тромбоэмболия».

Выявленные различия свидетельствуют о том, что применение цитофлавина сопровождалось уменьшением отсроченного повреждения нейронов.

После моделирования интраоперационного состояния головного мозга в группе «тромбоэмболия» повышение концентрации GFAP в плазме крови по отношению к референсным значениям оказалось достоверным на 1-е сутки и 3-и сутки, повышение концентрации S100 β в плазме крови – на 1-е, 3-и и 10-е сутки (рис. 3, 4). Различия в сроках

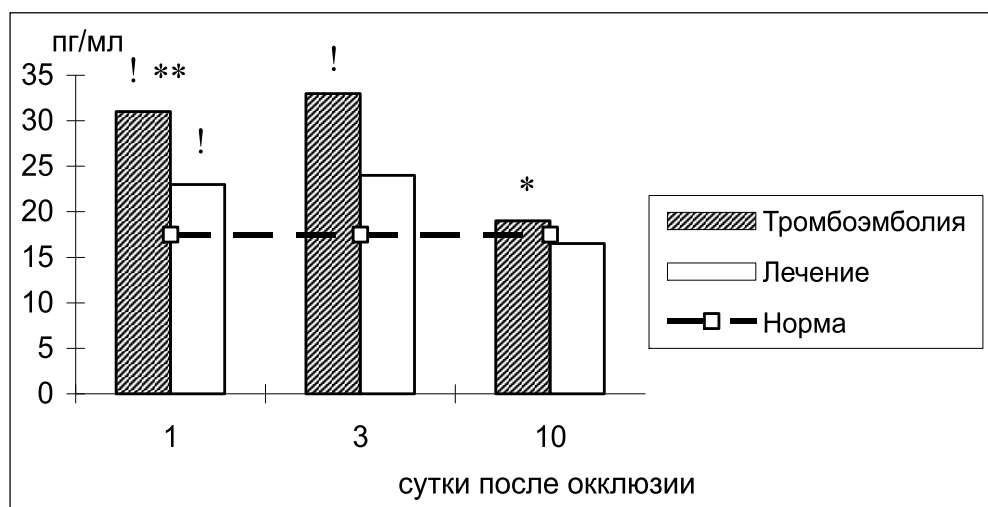


Рис. 3. Динамика концентрации GFAP в плазме крови (на рисунке отражены медианы; референсные значения – 19,0 [14,5; 22,0] пг/мл). Достоверные отличия: ! – от нормы, * – от предыдущего значения в группе, ** – группы «тромбоэмболия» от группы «лечение»

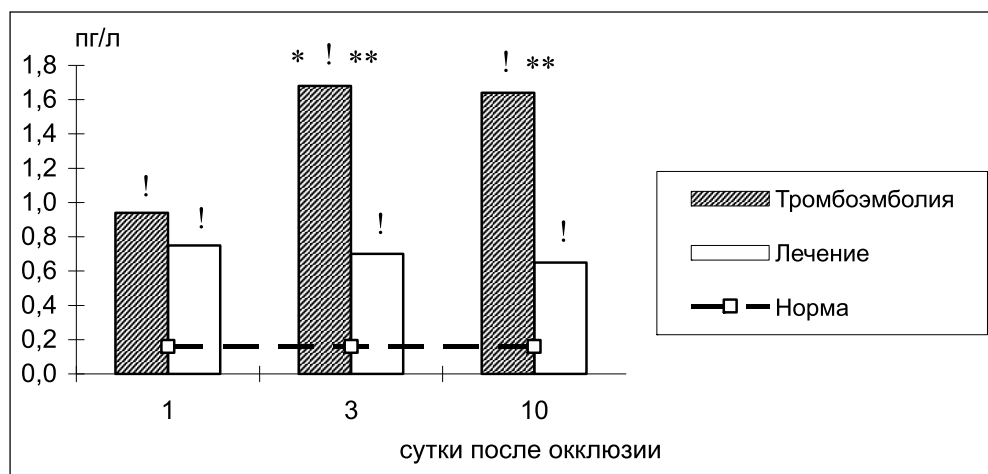


Рис. 4. Динамика концентрации S100 β в плазме крови (на рисунке отражены медианы; референсные значения – 0,16 [0,12; 0,18] пг/л). Достоверные отличия: ! – от нормы, * – от предыдущего значения в группе, ** – группы «тромбоэмболия» от группы «лечение»



повышения концентрации биомаркёров нейроглии могут быть связаны с разной вовлеченностью клеток глии в патологический процесс: GFAP отражает состояние астроцитов, а S100 β – преимущественно астроцитов, но также и других клеток нейроглии, включая олигодендроциты [14, 18]. Учитывая участие нейроглии в синтезе факторов роста нервной ткани, а также представленные ниже сведения о неизменности уровней большинства факторов роста в 1-е и 3-и сутки после моделирования интраоперационного состояния головного мозга, повышение биомаркёров нейроглии расценивали прежде всего как признак повреждения нейроглии.

Многофакторный дисперсионный анализ показал достоверное влияние времени (14,2%, SS=1211, $p<0,002$) на динамику концентрации GFAP в плазме крови (влияние лечения – 6,1%, SS=524, $p=0,018$; ошибка – 79%, SS=6694), что подтверждает острый и отсроченный характер повреждения нейроглии (повышение концентрации GFAP на 1-е и 3-и сутки) в результате моделирования состояния головного мозга при кардиохирургических операциях в условиях искусственного кровообращения.

Корреляционный анализ результатов исследования продемонстрировал сильную прямую корреляционную связь между сывороточными уровнями NSE и S100 β ($\tau=0,67$; $p<0,001$), слабые прямые корреляционные связи между уровнями NSE в цитозимате головного мозга и S100 β в плазме крови ($\tau=0,17$; $p=0,012$), NSE в цитозимате головного мозга и GFAP в плазме крови ($\tau=0,16$; $p=0,018$), сывороточными уровнями GFAP и S100 β ($\tau=0,17$; $p=0,008$), что отражает синхронный характер повреждения нейронов и нейроглии. Слабая сила прямой корреляционной связи между уровнями NSE в плазме крови и в цитозимате головного мозга ($\tau=0,21$; $p=0,002$) может быть обусловлена относительной сохранностью функций гематоэнцефалического барьера.

У животных в группе «лечение» концентрации GFAP в плазме крови были достоверно ниже, чем в группе «тромбоэмболия» на 1-е сутки, концентрации

S100 β в плазме крови – на 3-и и 10-е сутки. Полученные различия свидетельствуют, что фармакологическая церебропротекция способствовала уменьшению как острого, так и отсроченного повреждения клеток нейроглии. Лечение и его длительность оказали достоверное влияние на динамику уровня S100 β в плазме крови ($K_{\text{лечения}}=30,7\%$, SS=6,82, $p<0,001$; $K_{\text{времени и лечения}}=11,4\%$, SS=2,53, $p=0,002$; $K_{\text{ошибки}}=56\%$, SS=12,4), что подтверждает пролонгированное (сохраняющееся на 3-и и 10-е сут) влияние фармакологической церебропротекции на клетки глии.

Односторонний дисперсионный анализ продемонстрировал статистически достоверную взаимосвязь комплексного фактора (манипуляций, повреждения головного мозга, проводимого лечения) с динамикой уровней биомаркёров нейронов и нейроглии в плазме крови и в цитозимате головного мозга ($p<0,001$), что косвенно подтверждает адекватность использованной модели интраоперационного состояния головного мозга.

Таким образом, моделирование состояния головного мозга при кардиохирургических операциях в условиях искусственного кровообращения сопровождается двумя вариантами повреждения нейронов и нейроглии – острым и отсроченным. Курсовое использование цитофлавина позволило уменьшить повреждение нейронов (согласно уровню NSE в плазме крови на 3-и сутки) и нейроглии (согласно сывороточным уровням GFAP в 1-е сутки, S100 β на 3-и и 10-е сутки). При этом медиана концентраций S100 β в группе «лечение» была более чем в 2 раза меньше, чем в группе «тромбоэмболия». Полученные данные свидетельствуют, что применение цитофлавина с целью церебропротекции позволило уменьшить отсроченное повреждение нейронов, а также острое и отсроченное повреждение нейроглии.

Синтез факторов роста является одним из нейротрофических механизмов, обеспечивающих защиту нервной ткани. Исследование активности нейротрофических механизмов при моделировании состояния головного мозга при кардиохирургических операциях в условиях ис-



куственного кровообращения было основано на оценке уровней факторов роста нервной ткани в цитоллизате головного мозга (NGF, VEGF-A) и в плазме крови (VEGF-A, IGF-1). Используемая методика оценки концентраций факторов роста в цитоллизате головного мозга позволяет считать их специфичными для нервной ткани. Изменения уровней факторов роста в плазме крови оценивали как специфичную реакцию на повреждение нервной системы, т. к. у обследованных животных отсутствовали признаки сопутствующей соматической пато-

логии. В качестве референсных значений использовали показатели группы «контроль». Результаты лабораторной оценки факторов роста нервной ткани представлены на рис. 5–8.

На 10-е сутки уровни факторов роста в группе «операция» не имели достоверных отличий от референсных значений, в группах «тромбоэмболия» и «лечение» достигали максимальных значений, что подтверждает связь активации нейротрофических механизмов с моделированием состояния головного мозга при кардиохирургических операциях в

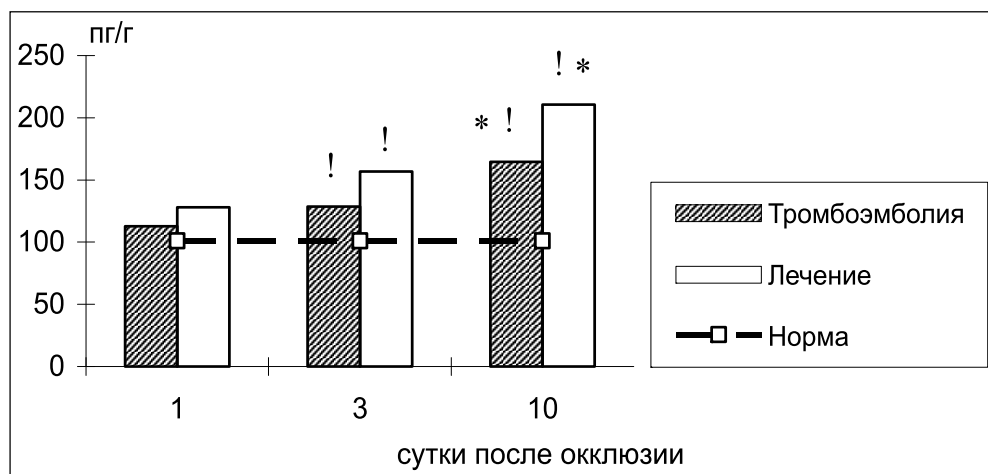


Рис. 5. Динамика концентрации NGF в цитоллизате головного мозга (на рисунке отражены медианы; референсные значения – 100,9 [92,65; 112,05] пг/г). Достоверные отличия: ! – от нормы, * – от предыдущего значения в группе

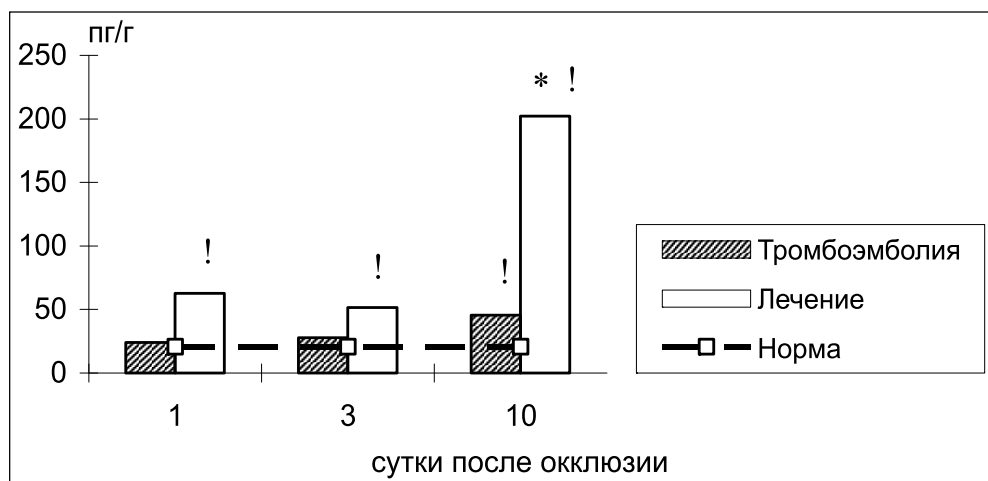


Рис. 6. Динамика концентрации VEGF-A в цитоллизате головного мозга (на рисунке отражены медианы; референсные значения – 20,7 [17,7; 31,35] пг/г). Достоверные отличия: ! – от нормы, * – от предыдущего значения в группе



условиях искусственного кровообращения.

Основными источниками NGF являются астроциты, VEGF-A, IGF-1 синтезируются астроцитами, эндотелиоцитами, нейронами [11, 20]. В группе «тромбоэмболия» референсные значения концентраций факторов роста были превышены к 3-м суткам (NGF в цитоллизате головного мозга) и к 10-м суткам (VEGF-A в плазме крови и цитоллизате головного мозга, IGF-1 в плазме крови). С учетом дан-

ных об основных источниках факторов роста, динамика уровней NGF, VEGF-A, IGF-1 может объясняться усилением синтеза факторов роста в астроцитах на 3-и сутки, в эндотелиоцитах и нейронах – на 10-е сутки.

Многофакторный дисперсионный анализ показал достоверное влияние времени на изменение концентрации NGF в цитоллизате головного мозга ($K_{\text{времени}}=34,8\%$, $SS=83565$, $p=0,027$; $K_{\text{ошибки}}=59,3\%$, $SS=142278$), VEGF-A в цитоллизате голов-

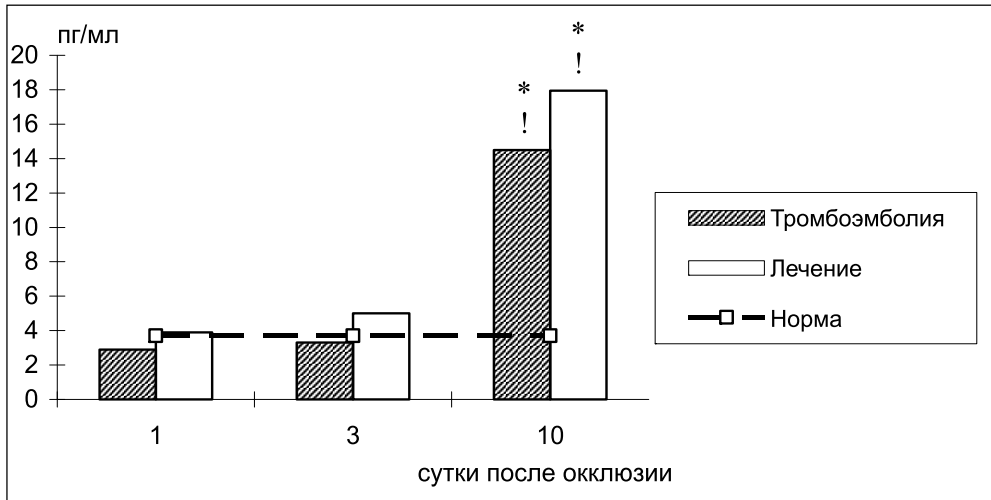


Рис. 7. Динамика концентрации VEGF-A в плазме крови (на рисунке отражены медианы; референсные значения – 3,7 [2,24; 12,82] пг/мл). Достоверные отличия: ! – от нормы, * – от предыдущего значения в группе

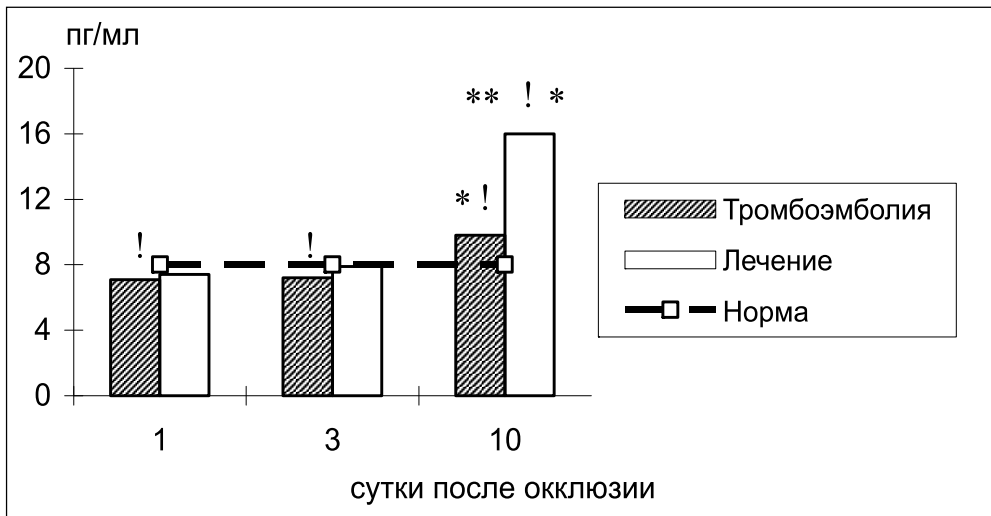


Рис. 8. Динамика концентрации IGF-1 в плазме крови (на рисунке отражены медианы; референсные значения – 8,0 [7,55; 8,85] пг/мл). Достоверные отличия: ! – от нормы, * – от предыдущего значения в группе, ** – группы «тромбоэмболия» от группы «лечение»



ного мозга ($K_{\text{времени}}=19,4\%$, $SS=163712$, $p<0,001$; $K_{\text{ошибки}}=72,5\%$, $SS=611690$), VEGF-A в плазме крови ($K_{\text{времени}}=21\%$, $SS=17470$, $p<0,001$; $K_{\text{ошибки}}=78,9\%$, $SS=65720$), IGF-1 в плазме крови ($K_{\text{времени}}=27\%$, $SS=585$, $p<0,001$; $K_{\text{ошибки}}=65\%$, $SS=1408$), что подтверждает преимущественно отсроченное усиление синтеза факторов роста. Прямая корреляционная связь между уровнями IGF-1 и VEGF-A в плазме крови ($\tau=0,52$, $p<0,001$) может отражать синхронность активации нейротрофических механизмов.

В группах «тромбоэмболия» и «лечение» повышение уровней факторов роста на 3-и и 10-е сутки сопровождалось уменьшением повреждения нейронов (снижение концентрации NSE в цитоллизате головного мозга на 3-и сутки) и нейроглии (снижение концентрации GFAP в плазме крови на 10-е сутки). Результаты корреляционного анализа свидетельствуют об обратных корреляционных связях между уровнями факторов роста и биомаркёров клеток нервной ткани (VEGF-A в плазме крови и GFAP: $\tau=-0,23$, $p<0,001$; IGF-1 и GFAP: $\tau=-0,14$, $p=0,028$; IGF-1 и NSE в цитоллизате головного мозга: $\tau=-0,18$, $p=0,008$), что подтверждает уменьшение повреждения клеток нервной ткани на фоне активации нейротрофических механизмов при моделировании интраоперационного состояния головного мозга.

В отличие от группы «лечение» в группе «тромбоэмболия» было установлено достоверное снижение уровня IGF-1 в плазме крови (по сравнению с референсными значениями) на 1-е и 3-и сутки. С учетом основных источников факторов роста динамика IGF-1 в группе «тромбоэмболия» в отсутствие значимого снижения уровней NGF может свидетельствовать о недостаточной активации нейронов и/или эндотелиальной дисфункции в отсутствие фармакологической церебропротекции.

Динамика концентраций факторов роста в группах «тромбоэмболия» и «лечение» была схожа. В то же время, в отличие от результатов в группе «тромбоэмболия», уровень VEGF-A в цитоллизате головного мозга в группе «лечение» достоверно превышал референсные значе-

ния в 1-е и 3-и сутки с последующим значимым увеличением с 3-х по 10-е сутки. Повышение концентрации VEGF-A в цитоллизате головного мозга с 1-х суток только в группе «лечение» может свидетельствовать об улучшении синтеза этого фактора роста астроцитами в результате фармакологической церебропротекции. По данным J.V.Lafuente и соавт. [15], повышение проницаемости сосудов под влиянием VEGF может способствовать развитию отека головного мозга, однако его лабораторные (по результатам исследования концентраций биомаркёров нервной ткани) и неврологические (по результатам неврологического обследования) признаки отсутствовали у обследованных животных в течение всего периода наблюдения.

Таким образом, лабораторная оценка уровней факторов роста продемонстрировала раннюю и более интенсивную активацию нейротрофических механизмов в результате применения цитофлавина. Достоверные различия между концентрациями факторов роста у животных групп «тромбоэмболия» и «лечение» были установлены только для уровня IGF-1 в плазме крови на 10-е сутки (выше в группе «лечение»). Эти данные позволяют предположить улучшение активации нейротрофических механизмов в эндотелиоцитах в результате фармакологической церебропротекции.

Заключение

Преимуществами разработанной и апробированной модели состояния головного мозга при кардиохирургических операциях в условиях искусственного кровообращения являются низкая стоимость и высокая воспроизводимость, позволяющие детально оценить эффективность и безопасность курсового церебропротективного лечения. С позиций изучения состояния нервной ткани преимущества такой модели заключены в возможности ее выполнения на лабораторных животных, небольшом объеме выполняемых манипуляций и, как следствие, высокой воспроизводимости, а также возможности комплексной оценки изменений на любом этапе исследования.



Результаты исследования состояния нейронов, нейроглии и активации нейротрофических механизмов свидетельствуют, что моделирование состояния головного мозга при кардиохирургических операциях в условиях искусственного кровообращения сопровождается острым и отсроченным по-

вреждением головного мозга. Применение комплексного препарата цитофлавин в рамках фармакологической церебропротекции оказало пролонгированное мультимодальное нейропротективное влияние, с первых суток сопровождавшееся улучшением нейротрофической защиты.

Литература

1. Ахапкина В.И., Воронина Т.А. Изучение противоинсультного действия Фенотропила на модели геморрагического инсульта (интра-церебральная посттравматическая гематома) у крыс // Атмосфера. Нервные болезни. – 2006. – № 1. – С. 37–42.
2. Белевитин А.Б., Хубулава Г.Г., Сазонов А.Б. и др. Хирургическое заболевание грудной аорты // Мед. академ. журн. – 2010. – Т. 10, № 3. – С. 45–52.
3. Одинак М.М., Скворцова В.И., Вознюк И.А. и др. Оценка эффективности цитофлавина у больных в остром периоде ишемического инсульта // Журн. неврол. и психиатр. – 2010. – № 12. – С. 29–36.
4. Одинак М.М., Цыган Н.В. Факторы роста нервной ткани в центральной нервной системе. – СПб: Наука, 2005. – 157 с.
5. Одинак М.М., Цыган Н.В., Иванов А.М. и др. Белок S100 β – биомаркер повреждения головного мозга // Вестн. Рос. Воен.-мед. академ. – 2011. – № 1. – С. 210–214.
6. Суслина З.А., Бокерия Л.А., Пирадов М.А. и др. Цитофлавин – как средство профилактики поражений мозга в кардиохирургии // Профил. и клин. мед. – 2010. – № 1. – С. 69–74.
7. Шевченко Ю.Л., Одинак М.М., Кузнецов А.Н., Ерофеев А.А. Кардиогенный и ангиогенный церебральный инсульт (физиологические механизмы и клинические проявления). – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 272 с.
8. Шмонин А.А. Перевязка средней мозговой артерии крысы: сравнение модификаций моделей фокальной ишемии мозга у крысы // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2011. – Т. 39, № 3. – С. 68–76.
9. Щербаков А.М., Герштейн Е.С., Анурова О.А., Кушлинский Н.Е. Фактор роста эндотелия сосудов, его рецепторы и антиапоптотические белки BCL-2 и АКТ при раке молочной железы // Опухоли жен. репродукт. системы. – 2006. – № 3. – С. 63–68.
10. Юнкеров В.И., Григорьев С.Г., Резванцев М.В. Математико-статистическая обработ-

ка данных медицинских исследований / 3-е изд., доп. – СПб: ВМедА, 2011. – 318 с.

11. Bozoyan L., Khlghatyan J., Saghatelian A. Astrocytes control the development of the migration-promoting vasculature scaffoldin the postnatal brain via VEGF signaling // J. Neurosci. – 2012. – Vol. 32, N 5. – P. 1687–1704.
12. Butterworth R.J., Wassif W.S., Sherwood R.A. et al. Serum neuron-specific enolase, carnosinase, and their ratio in acute stroke // Stroke. – 1996. – Vol. 27, N 11. – P. 2064–2068.
13. Garcia J.H., Wagner S., Liu K.F., Hu X.J. Neurological deficit and extent of neuronal necrosis attributable to middle cerebral artery occlusion in rats. Statistical validation // Stroke. – 1995. – Vol. 26, N 4. – P. 627–634.
14. Kwon S.K.C., Kovacs E., Gyorgy A.B. et al. Stress and traumatic brain injury: a behavioral, proteomic, and histological study // Frontiers Neurol. – 2011. – Vol. 2, Art. 12. – P. 1–14.
15. Lafuente J.V., Bulnes S., Mitre B., Riese H.H. Role of VEGF in an experimental model of cortical micronecrosis // Amino Acids. – 2002. – Vol. 23, N 1–3. – P. 241–245.
16. Reichardt L.F. Neurotrophic factors: A window into the nervous system // Neurobiology of the neurotrophins. – FP Graham Publishing, 2001. – P. 3–28.
17. Shahsavand S., Mohammadpour A.H., Rezaee R. et al. Effect of Erythropoietin on Serum Brain-Derived Biomarkers after Carbon Monoxide Poisoning in Rats // Iran. J. Basic Med. Sci. – 2012. – Vol. 15, N 2. – P. 752–758.
18. Steiner J., Bogerts S., Schroeter M.L., Bernstein H.G. S100B protein in neurodegenerative disorders // Clin. Chem. Lab. Med. – 2011. – Vol. 49, N 3. – P. 409–424.
19. Svetlov S.I., Prima V., Glushakova O. et al. Neuro-glial and systemic mechanisms of pathological responses in rat models of primary blast overpressure compared to «composite» blast // Frontiers in neurol. – 2012. – Vol. 3, Art. 15. – P. 1–12.
20. Wang J., Tang Y., Zhang W. et al. Insulin-like growth factor-1 secreted by brain microvascular endothelial cells attenuates neuron injury upon ischemia // FEBS J. – 2013. – Vol. 280, N 15. – P. 3658–3568.