

С. О. Дудукіна, Л. В. Усенко, Ю. Ю. Кобеляцький
**ЕФЕКТИВНІСТЬ НЕЙРОПРОТЕКЦІЇ
ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ІШЕМІЇ
ГОЛОВНОГО МОЗКУ**

ДЗ «Дніпропетровська медична академія», Дніпро, Україна

УДК 616.831-005.4-089.5:615.211

С. А. Дудукина, Л. В. Усенко, Ю. Ю. Кобеляцкий
**ЭФФЕКТИВНОСТЬ НЕЙРОПРОТЕКЦИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА**

Цель исследования. Определить влияние фармакологического preconditionирования тиопенталом натрия и пропофолом на течение экспериментальной ишемии головного мозга.

Материалы и методы исследования. Экспериментальное исследование проведено на 43 беспородных белых крысах, которым моделировали ишемию головного мозга: 20 крысам анестезиологическое обеспечение проводили тиопенталом натрия, 20 — пропофолом. Изучали состояние сенсомоторной зоны коры головного мозга.

Результаты. При экспериментальной ишемии головного мозга уже в течение первого часа происходят существенные изменения морфофункционального состояния головного мозга. Применение внутривенных анестетиков, в частности тиопентала натрия и пропофола, не сопровождалось выраженным нейропротективным эффектом.

Ключевые слова: ишемия мозга, нейропротекция, тиопентал натрия, пропофол.

UDC 616.831-005.4-089.5:615.211

С. О. Dudukina, L. V. Usenko, Yu. Yu. Kobelyatsky
**THE EFFECTIVENESS OF NEUROPROTECTION UNDER EXPERIMENTAL
CEREBRAL ISCHEMIA**

Objective: to determine the effect pharmacologic preconditioning with thiopental sodium, propofol on the course of experimental cerebral ischemia

Materials and Methods. An experimental study conducted in 43 outbred white rats with thromboembolic ischemia model. In 20 rats total intravenous anesthesia (TIVA) using thiopental sodium was made, in other 20 — propofol was used. There was studied the morpho-functional state of the senso-motor cortex.

Results. In experimental cerebral ischemia, already since the first hour of the course, significant changes in functional senso-motor cortex state took place. As under thiopental sodium anesthesia as well as under propofol anesthesia is the first hours of stroke, which is characterized by changes in the structure of intracerebral microvessels perivascular edema with symptoms of astrocytes neuroglia and atrophy, degenerative changes endothelium with destroying of the intracellular organelles structure and decrease micropinocytosis activity. As a result of degenerative changes in neurons observed changes in the neurocytes processes, particularly in the synaptic apparatus, which undoubtedly leads to the violation of their functional state.

The use of intravenous anesthetics, both propofol and thiopental sodium, did not show pronounced antiischemic properties as neuroprotective agents preparation.

Key words: cerebral ischemia, neuroprotection, sodium thiopental, propofol.

Різноманітні нейрохірургічні втручання супроводжуються розвитком церебральної ішемії. Запобігання розвитку ішемії можливе тільки внаслідок вдосконалення хірургічної техніки та/або застосування нейропротекції. Пошуки ефективних нейропротекторів нині безрезультатні, особливо це стосується специфічної фармацевтичної продукції. Ефективність різноманітних препаратів з потенційною нейропротективною дією доведена тільки в експерименті [1; 2]. Лабораторні дослідження показують ефективність не терапевтичних методів, а, власне, стратегій гіпотермії та ішемічного прекодиціонування [3; 4]. Можливо, визначення ефекту фармакологічного прекодиціонування — введення потенційних нейропротекторів до розвитку ішемії в експерименті — приведе до розробки методів її профілактики при оперативних втручаннях на головному мозку.

Вивчення нейропротективних ефектів тіопенталу та пропофолу триває [5–7].

Мета дослідження — визначити вплив фармакологічного прекодиціонування тіопенталом натрію та пропофолом на перебіг експериментальної ішемії головного мозку.

Матеріали та методи дослідження

Експериментальне дослідження проведене на 43 безпородних білих щурах, яким моделювали тромбоемболічну ішемію мозку шляхом введення в загальну сонну артерію водного розчину сульфату барію ($BaSO_4$) у пропорції 4 : 5 за методикою Л. В. Бондар [8], перевагами якої є швидкість виконання, тромбоемболічний шлях формування інфаркту мозку, що відповідає патофізіологічній моделі гострого порушення мозкового кровообігу за ішемічним типом. Оперативні втручання проводилися під загальним знеболюванням. Залежно від варіанта анестезіологічного забезпечення оперативного втручання тварини були розподілені на дві групи. Тваринам першої групи ($n=20$) для анестезіологічного забезпечення операції внутрішньоочередово вводили тіопентал натрію дозою 10 мг/кг маси тіла, тваринам другої групи ($n=20$) — пропофол дозою 5 мг/кг. Було виділено два періоди дослідження: ранній — протягом 1-ї години після моделювання тромбоемболічної ішемії і віддалений — 24 год після оперативного втручання. Тварин забивали методом декапітації, після якої протягом 5 хв брали тканину головного мозку у ділянці сенсомоторної зони кори. У кожній групі за допомогою електронної мікроскопії досліджували премоторну зону ураженої півкулі головного мозку. Крім цього, у трьох тварин вивчали інтактну кору головного мозку, електронно-мікроскопічні показники якої були контрольними [9].

Усі досліді проводилися згідно з вимогами комісії з експериментальних тварин при Науковій медичній раді МОЗ України. Для електронно-мікроскопічного дослідження брали шматочок тканини головного мозку розміром 1 мм³, фіксували в суміші 4 % параформальдегіду, 2,5 % глютаральдегіду і 4 % сахарози на 0,1 молярному фосфатному буфері (рН=7,4) з подальшою дофіксацією в 1 % розчині осмієвої кислоти (Palladi, 1957), зневоднювали в спиртах висхідної міцності та оксипропіленом і заливали в суміш епоксидних смол (Епон-аралдит) за стандартними методиками (Г. Гайер, 1974).

Для прицільної ультратомії і більш поглибленої оцінки отриманих даних з епоксидних блоків виготовляли напівтонкі зрізи завтовшки 1 нм, забарвлювали метиленовим синім — піроніном за методикою, запропонованою лабораторією електронної мікроскопії Київського НДІ урології та нефрології, і переглядали у світлооптичному фотомікроскопі “Axiphot” фірми “OPTON” (Німеччина). Ультратон-

кі зрізи завтовшки 0,5–0,7 нм виготовляли на ультратомах “ЛКВ” (Швеція) і “Reicherd-Jung” (Австрія). Для поліпшення контрастності препарати забарвлювали ураніацетатом і нітратом свинцю за Reynolds (1963) і переглядали в електронному мікроскопі EM-400 Т фірми “Phillips” (Голландія). В основу аналізу покладено морфометричні дослідження стану внутрішньоклітинних органел нейронів і синаптичного апарату нервових клітин, діаметра мікросудин і товщини маргінального набряку ендотеліоцитів, що дає підстави для поглибленої оцінки змін, які розвиваються в тканині мозку, а також дозволяє диференціювати наявні зміни при тромбоемболічній ішемії з урахуванням різних видів анестезіологічного забезпечення.

Структурні зміни, які спостерігалися в нейронах і мікросудинах головного мозку, оцінювали за допомогою морфометричної обробки електронограм на системі аналізатора зображення IBAS-2000 фірми “Kontron” (Німеччина) за такими критеріями: процентний вміст хроматину в ядрах нервових клітин кори з розрахунку 10 ядер на 1 випадок; співвідношення площі, яку займають інтактні мітохондрії, до площі ділянки цитоплазми з розрахунку 10 ділянок цитоплазми на кожний випадок; ступінь набряку мітохондрій з розрахунку 10 мітохондрій на кожний випадок; у синапсах відношення довжини активної синаптичної зони до довжини синаптичного контакту. Для підрахунку брали 10 синаптичних контактів на кожний випадок; кількість синаптичних везикул підраховували в 10 пресинаптичних закінченнях на кожний випадок; кількість лізосом з розрахунку 10 нейронів на кожний випадок; внутрішній діаметр мікросудин з розрахунку 10 мікросудин на кожний випадок; товщина ендотеліоцитів визначалася в нанометрах з урахуванням оцінки найменшої товщини маргінальної частини ендотеліоцита у розрахунку 10 ендотеліальних клітин на кожний випадок; кількість мікропіноцитозних везикул визначалася на цитоплазмі ендотеліоцита з розрахунку 10 ділянок на кожний випадок.

Статистичну обробку отриманих даних проводили на комп’ютері з використанням програми підрахунку, розробленої в лабораторії електронної мікроскопії Інституту нейрохірургії НАМН України. Вірогідність отриманих даних визначали за системою Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення

При дослідженні сенсомоторної зони кори головного мозку шурів при використанні тіопенталу натрію для проведення анестезіологічного забезпечення операцій на сонних артеріях через 1 год після моделювання ішемії в структурі нейронів спостерігаються помірно виражені дистрофічні зміни.

У мітохондріях удвічі статистично збільшується ступінь набряку, відмічається порушення цілісності крист і оболонки, що призводить до часткової деструкції органел, у зв’язку з чим дещо зменшується відсоток площі, яку займають мітохондрії у цитоплазмі нейронів. Разом із внутрішньоклітинними органелами дистрофічні зміни відбуваються у цитоплазмі нервових клітин, про що свідчить вірогідне зростання кількості лізосом і автофагосом порівняно з контролем.

Втім, білоксинтезувальна функція нейронів залишається на досить високому рівні, що підтверджується достатньою кількістю вільних рибосом і полісом в їхній цитоплазмі, а в ядрах клітин відсоткове відношення хроматину щодо каріоплазми ядра залишається на рівні контрольних цифр.

У структурі синаптичного апарату спостерігаються явища набряку претерміналей зі статистичним зменшенням довжини активної зони синапсів і незначним — кількості синаптичних везикул у пресинаптичних закінченнях нейронів (табл. 1).

**Морфофункціональний стан внутрішньоклітинних органел нейронів
і мікросудин кори головного мозку через годину
після експериментальної ішемії мозку при тіопенталовому наркозі**

Органели	Норма	Перша група	p
Хроматин, % відношення	40,0±3,0	35,0±3,0	0,2
Мітохондрії, % відношення	35,0±2,5	28,0±2,5	0,05
Мітохондрії, ступінь набряку	0,10±0,02	0,20±0,02	0,0007*
Лізосоми, кількість	3,0±0,8	7,0±1,2	0,008*
Синапси, довжина активної зони, нм	0,80±0,02	0,50±0,02	0,0001*
Синапси, кількість везикул	80,0±4,0	70,0±4,5	0,1
Мікросудини, діаметр, мкм	7,5±1,5	9,0±1,5	0,31
Ендотеліоцити, товщина, нм	1,2±0,6	1,5±0,6	0,37
Мікропіноцитозні везикули, кількість	10,0±1,5	8,0±1,2	0,23

Примітка. У табл. 1 і 2: * — статистичні відмінності показників ($p < 0,05$).

Зміни в структурі мікроциркуляторного судинного русла через 1 год після ішемії зводяться до незначно вираженого набряку відростків астроцитарної нейроглії, просвітлення цитоплазми ендотеліоцитів на тлі помірно вираженого розширення просвіту мікросудин і явищ стазу еритроцитів (рис. 1). При цьому необхідно відзначити, що отримані морфометричні показники стану товщини ендотеліальної вистілки, а також мікропіноцитозної активності знаходяться в межах контрольних показників.

При дослідженні сенсомоторної зони кори головного мозку шурів при використанні пропофолу для проведення анестезіологічного забезпечення операцій на сонних артеріях уже через 1 год після введення в сонну артерію розчину барію в більшості мікросудин, при деякому розширенні їх просвіту у 1,4 разу, порівняно з контролем, відбувається стаз еритроцитів. При цьому в мікросудинах спостерігається сплюснення маргінальної частини ендотеліоцитів, а також вірогідне зниження мікропіноцитозної активності. Крім цього, у частині мікросудин відмічались явища перикапілярного набряку відростків астроцитарної нейроглії (рис. 2).

Порушення внутрішньомозкового кровообігу позначилися і на стані структурної цілісності основної маси нейронів. У нейронах превалювали явища внутрішньоклітинного набряку, що супроводжувалися статистично вірогідним збільшенням ступеня набряку мітохондрій у 2,5 рази (табл. 2).

При цьому у більшості з них порушувалася структура крист і цілісність як зовнішньої, так і внутрішньої мембрани.

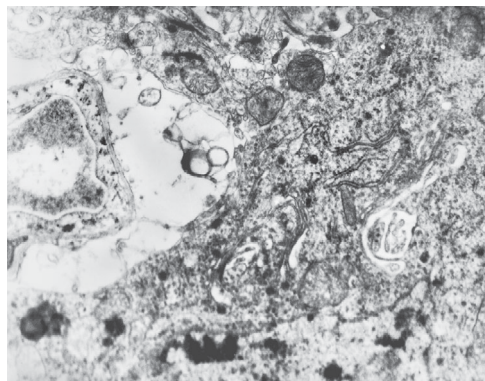


Рис. 1. Година після моделювання тромбоемболічної ішемії на фоні тіопенталового наркозу. Помірно виражений перикапілярний набряк відростків астроцитарної нейроглії. Електроннограма $\times 10\ 000$

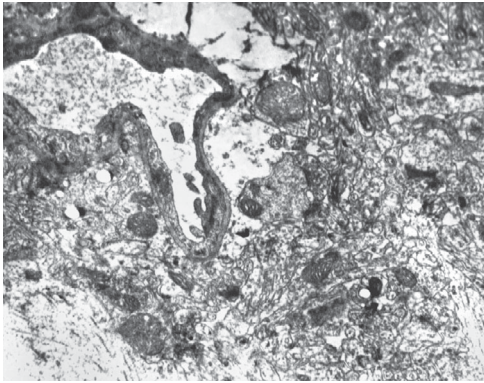


Рис. 2. Година після тромбоемболічної ішемії на фоні пропофолового наркозу. Сплюснення маргінальної частини ендотеліоцита з явищами деструкції внутрішньоклітинних органел і перикапілярного набряку відростків астроцитарної нейроглії. Електронोगрама $\times 10\ 000$

Крім цього, в околядерній зоні частковій деструкції піддається апарат Гольджі. Зміни в структурі мітохондрій призводять до їхнього розпаду, у зв'язку з чим вірогідно на 10 % зменшується площа, яку займають інтактні мітохондрії у цитоплазмі нейронів. На 10 % знижується площа, яку займає хроматин у каріоплазмі нейроцитів, що свідчить про зниження білоксинтезальної функції нейроцитів. Унаслідок дистрофічних процесів у нейронах спостерігаються зміни у відростках нейроцитів і, зокрема, у синаптичному апараті, що, безсумнівно, призводить до порушення їхнього морфофункціонального стану. У синаптичних закінченнях виявляється деструкція активної зони синапсів і вірогідне щодо контролю зменшення синаптичних везикул у пресинаптичних закінченнях. При цьому спостерігається набряк претерміналей (рис. 3).

Отже, при експериментальній ішемії головного мозку на фоні і тіопенталового, і пропофолового наркозу протягом перших годин відбувається порушення мозкового кровообігу, яке характеризується змінами структури внутрішньомозкових мікросудин з явищами периваскулярного набряку астроцитарної нейроглії, а також атрофічно-дистрофічними змінами ендотелію з порушенням структури внутрішньоклітинних органел і зниженням мікропіноцитозної активності.

Висновки

1. Незважаючи на використання тіопенталу натрію або пропофолу при експериментальній ішемії головного мозку, уже протягом 1-ї години її перебігу відбува-

Таблиця 2

Морфофункціональний стан внутрішньоклітинних органел нейронів і мікросудин кори головного мозку через годину після експериментальної ішемії мозку при пропофоловому наркозі

Органи	Норма	Друга група	p
Хроматин, % відношення	40,0 \pm 3,0	30,0 \pm 3,0	0,02*
Мітохондрії, % відношення	35,0 \pm 2,5	25,0 \pm 2,0	0,003*
Мітохондрії, ступінь набряку	0,10 \pm 0,02	0,25 \pm 0,03	0,0001*
Лізосоми, кількість	3,0 \pm 0,8	9,0 \pm 1,5	0,0008*
Синапси, довжина активної зони, нм	0,80 \pm 0,02	0,40 \pm 0,03	0,0001*
Синапси, кількість везикул	80,0 \pm 4,0	60,0 \pm 3,0	0,0001*
Мікросудини, діаметр, мкм	7,5 \pm 1,5	10,5 \pm 1,2	0,11
Ендотеліоцити, товщина, нм	1,2 \pm 0,6	0,9 \pm 0,2	0,38
Мікропіноцитозні везикули, кількість	10,0 \pm 1,5	6,0 \pm 0,7	0,02*

ються значні зміни морфофункціонального стану сенсомоторної зони кори головного мозку.

2. Застосування внутрішньовенних анестетиків, зокрема тіопенталу натрію та пропофолу, не виявило виражених протиішемічних їхніх властивостей як нейропротективних препаратів.

3. Отримані дані свідчать про потребу подальших досліджень інших видів анестезії, зокрема інгаляційної, як методу фармакологічного прекондиціонування (нейропротекції) при оперативних втручаннях на головному мозку з ризиком розвитку ішемії.

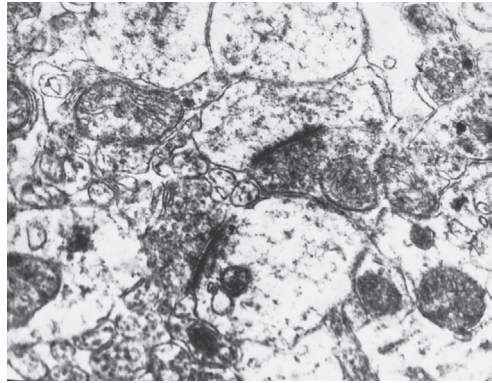


Рис. 3. Година після тромбоемболічної ішемії мозку на фоні пропофолового наркозу. Набряк і порушення цілісності синаптичних закінчень із зменшенням кількості синаптичних везикул у пресинаптичних закінченнях. Електроннограма. $\times 22\,000$

ЛІТЕРАТУРА

1. *UPEI-400*, a conjugate of lipoic acid and scopoletin, mediates neuroprotection in a rat model of ischemia/reperfusion / B. J. Connell, M. C. Saleh, D. Rajagopal, T. M. Saleh // *Food Chem Toxicol.* – 2017. – Vol. 100. – P. 175–182.
2. *Cannabidiol* reduces brain damage and improves functional recovery in a neonatal rat model of arterial ischemic stroke / M. Ceprián, L. Jiménez-Sánchez, C. Vargas [et al.] // *Neuropharmacology.* – 2016. – Vol. 21, № 116. – P. 151–159.
3. *Cortical spreading depression-induced preconditioning in the brain* / P. P. Shen, S. Hou, D. Ma [et al.] // *Neural Regen Res.* – 2016. – Vol. 11, № 11. – P. 1857–1864.
4. *Remote Ischemic Preconditioning Reduces Cerebral Oxidative Stress Following Hypothermic Circulatory Arrest in a Porcine Model* / O. Arvola, H. Naapanen, J. Herajärvi [et al.] // *Semin Thorac Cardiovasc Surg.* – 2016. – Vol. 28, № 1. – P. 92–102.
5. *Protective effects of propofol against whole cerebral ischemia/reperfusion injury in rats through the inhibition of the apoptosis-inducing factor pathway* / T. Tao, C. L. Li, W. C. Yang [et al.] // *Brain Res.* – 2016. – Vol. 1, № 1644. – P. 9–14.
6. *Propofol Attenuates Early Brain Injury After Subarachnoid Hemorrhage in Rats* / S. S. Shi, H. B. Zhang, C. H. Wang [et al.] // *J Mol Neurosci.* – 2015. – Vol. 57, № 4. – P. 538–545.
7. *Badenes R. Cerebral protection during neurosurgery and stroke* / R. Badenes, S. E. Gruenbaum, F. Bilotta // *Curr Opin Anaesthesiol.* – 2015. – Vol 28, № 5. – P. 532–536.
8. *Бондар Л. В.* Трансплантація ембріональної нервової тканини в лікуванні гострої ішемії мозку в експерименті : автореф. дис. на здобуття вчен. ступеня канд. мед. наук / Л. В. Бондар. – К., 2000. – 20 с.
9. *Дудукіна С. О.* Стан адаптаційних механізмів та вибір методу анестезіологічного забезпечення операцій на сонних артеріях : автореф. дис. на здобуття вчен. ступеня канд. мед. наук / С. О. Дудукіна. – Дніпропетровськ, 2006. – 245 с.

REFERENCES

1. Connell B.J., Saleh M.C., Rajagopal D., Saleh T.M. UPEI-400, a conjugate of lipoic acid and scopoletin, mediates neuroprotection in a rat model of ischemia/reperfusion. *Food Chem Toxicol.* 2017; 100: 175-182.

2. Ceprian M., Jimenez-Sanchez L., Vargas C., Barata L., Hind W., Martinez-Orgado J. Canabidiol reduces brain damage and improves functional recovery in a neonatal rat model of arterial ischemic stroke. *Neuropharmacology*. 2016; 21 (116): 151-159.

3. Shen P.P., Hou S., Ma D., Zhao M.M., Zhu M.Q., Zhang J., Feng L., Cui L., Feng J. Cortical spreading depression-induced preconditioning in the brain. *Neural Regen Res*. 2016; 11 (11): 1857-1864.

4. Arvola O., Haapanen H., Herajarvi J., Anttila T., Puistola U., Karihtala P., Tuominen H., Anttila V., Juvonen T. Remote Ischemic Preconditioning Reduces Cerebral Oxidative Stress Following Hypothermic Circulatory Arrest in a Porcine Model. *Semin Thorac Cardiovasc Surg*. 2016; 28 (1): 92-102.

5. Tao T., Li C.L., Yang W.C., Zeng X.Z., Song C.Y., Yue Z.Y., Dong H. Qian H Protective effects of propofol against whole cerebral ischemia/reperfusion injury in rats through the inhibition of the apoptosis-inducing factor pathway. *Brain Res*. 2016; 1 (1644): 9-14.

6. Shi S.S., Zhang H.B., Wang C.H., Yang W.Z., Liang R.S., Chen Y., Tu X.K. Propofol Attenuates Early Brain Injury After Subarachnoid Hemorrhage in Rats. *J Mol Neurosci*. 2015; 57 (4): 538-545.

7. Badenes R., Gruenbaum S.E., Bilotta F. Cerebral protection during neurosurgery and stroke. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2015; 28 (5): 532-536.

8. Bondar L.V. *Transplantatsiia embrionalnoi nervovoi tkanyny v likuvanni hostroi ishemii mozku v eksperymenti* [Transplantation of embryonic nerve tissue in the treatment of acute cerebral ischemia in experiment]. : avtoref. dys. na zdobuttia vchen. stupeniu kand. med. nauk. Kuiv, 2000, 20 p. (In Ukrainian)

9. Dudukina S.O. *Stan adaptatsiinykh mekhanizmiv ta vybir metodu anesteziolohichnoho zabezpechennia operatsii na sonnykh artiriakh* [State of adaptive mechanisms and choice of anesthesia operations on carotid arteries] avtoref. dys. na zdobuttia vchen. stupeniu kand. med. nauk, Dnipropetrovsk, 2006, 245 p. (In Ukrainian)

Надійшла до редакції 17.08.2017

Рецензент д-р мед. наук, проф. В. В. Грубнік,
дата рецензії 30.08.2017

UDC 617-089.168.1-06:616-009.7]-07

Natalia Belfi

INTENSE POSTOPERATIVE PAIN — RISK FACTORS AND PREVENTION: PROSPECTIVE, COHORT STUDY

*Chair of Anesthesiology and Reanimatology “Valeriu Ghereg”,
Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy,
Chisinau, Republic of Moldova*

УДК 617-089.168.1-06:616-009.7]-07

Наталья Белфи

ИНТЕНСИВНАЯ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННАЯ БОЛЬ — ФАКТОРЫ РИСКА И ПРОФИЛАКТИКА: ПЕРСПЕКТИВНОЕ, КОГОРТНОЕ ИССЛЕ- ДОВАНИЕ

Введение. Неадекватное обезболивание в раннем послеоперационном периоде является широко распространенным явлением, которое поражает пациентов как в краткосрочной, так и долгосрочной перспективе, а интенсивная острая послеоперационная боль, как известно, — доказанный фактор риска для хронификации боли. Возможность точно оценивать и прогнозировать

© Natalia Belfi, 2017