

© Петелкакі О.В.

УДК: 616.13- 018.74

Петелкакі О.В.

Одеський національний медичний університет, кафедра нейрохірургії і неврології (Валіховський пров., 2, м. Одеса, Україна, 65026)

РОЗРОБКА КОМПЛЕКСНОЇ ПАТОГЕНЕТИЧНОЇ КОРЕКЦІЇ ПОВЕДІНКОВИХ ПРОЯВІВ СУБАРАХНОЇДАЛЬНОЇ КРОВОТЕЧІ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Резюме. Подані дані експериментальних досліджень, які присвячені розробці комплексної патогенетично обґрунтованої корекції поведінкових проявів субарахноїдальної кровотечі (САК). На моделі САК, яку було відтворено внутрішньомозковим та внутрішньоцистеральним застосуванням аутокрові у щурів, встановлено, що сумісне застосування пентоксифіліну та L-аргініну спричиняє розвиток потенційованої захисної дії щодо порушень поведінки, больової чутливості та летальності тварин. Позитивний вплив сумісного введення лікарських сполук спостерігається протягом 72 год. з моменту їх застосування. Висновок робиться про патофізіологічні механізми САК, зважаючи на що розроблено схему комплексної патогенетично обґрунтованої корекції вказаних порушень поведінки в експерименті.

Ключові слова: субарахноїдальна кровотеча, аутокров, пентоксифілін, L-аргінин, патогенетично обґрунтована корекція.

Вступ

Субарахноїдальна кровотеча (САК) є тяжким захворюванням, яке проявляється вираженою неврологічною симптоматикою та супроводжується значною летальністю [Завгородня, Малахов, 2006; Feigin et al., 2005; Frisen et al., 2012; Nieuwkamp et al., 2009]. Низка експериментальних досліджень та дані клінічних обстежень вказують на значення окислювального стресу в механізмах формування гострого ушкодження головного мозку, а також у виникненні та розвитку церебрального вазоспазму як патогенетичних чинників формування наслідків САК [Завгородня, Малахов, 2006; Петрищев, 2006; Ayer, Zhang, 2008].

Зважаючи на дані, наведені вище, ми провели низку дослідів, присвячених розробці комплексної схеми патогенетично обумовленої корекції порушень поведінки в щурів за модельних умов САК. Мета роботи - дослідження особливостей перебігу експериментальної САК за умов роздільного та сумісного застосування L-аргініну, який стимулює продукцію оксиду азоту, та пентоксифіліну (ПТФ), який знижує продукцію прозапальних цитокинів та має антиоксидантні властивості [Meiners et al., 2004].

Матеріали та методи

Експерименти проведені за умов гострого досліді на щурах - самцях лінії Вістар масою 180 - 250 г. Модель САК відтворювали шляхом стереотаксичного білатерального введення аутокрові (150 мкл) в тім'яно-скроневу ділянку півкуль мозку щурів, які знаходилися під кетаміновим наркозом (100,0 мг/кг, в/очер) за координатами атласу [Kruger et al., 1995], а після завершення мікроін'єкцій та герметизації отворів у черепі у велику цистерну мозку додатково вводили 0,3 мл аутокрові [Karaoglan et al., 2009].

Через 6 год. з моменту введення аутокрові щурів спостерігали на відкритій поверхні і визначали число щурів, які зберігали вертикальну позу, їх больову чутливість, тривалість утримання незручного положення, а також летальність. Больові реакції у тварин вимірювали

кількісно за чотирьохбальною шкалою в пробі стиснення кінчика хвоста корнцангом [Myslobodsky et al., 1981].

L-аргінин (200 мг/кг і 500 мг/кг) та ПТФ (25,0 і 50,0 мг/кг; обидва препарати виготовлені фірмою "Sigma-Aldrich", Німеччина) вводили в/очер. Щурам контрольної групи вводили 0,9% фізіологічний розчин NaCl.

Отримані результати обчислювали статистично. Мінімальну статистичну вірогідність визначали при $p < 0,05$.

Результати. Обговорення

Через 6 год. з моменту відтворення проявів САК виникали порушення пози у 42,9% щурів, і 1 щур (6,7%) загинув (табл. 1). Через 12 год. втрата вертикального положення мала місце у 5 щурів (41,7%), а летальний вихід спостерігався у 20% тварин. Через одну добу вертикальне положення зберігалось у 55,6% щурів, летальність становила 40%. Подальша динаміка була пов'язана із зменшенням числа тварин, які утримували вертикальне положення та зростанням показника летальності (табл. 1).

Введення L-аргініну дозою 200 мг/кг сприяло тому, що через 6 год. з моменту відтворення САК вертикальне положення зберігало 87,5% щурів ($p < 0,05$) а летальність склала 11,1%. В подальшому число тварин зі збереженням вертикального положення тіла не відрізнялося від таких контрольних показників. Через 12 год. досліді летальність (11,1%) була менше такої в контролі ($p < 0,05$). Наприкінці спостереження (72 год. досліді) летальність дорівнювала 55,6%, що було менше, ніж в контролі ($p < 0,05$; табл. 1). Застосування L-аргініну більшою (500 мг/кг) дозою через 6 год. з початку досліді супроводжувалось порушенням пози в 20% тварин, а летальність в групі була більше, ніж в контролі ($p < 0,05$).

Вплив ПТФ у різних дозах (25,0 та 50,0 мг/кг) на досліджувані показники перебігу САК наведений в таблиці та загалом вказує на відсутність вірогідних змін порівняно з такими в контрольних спостереженнях

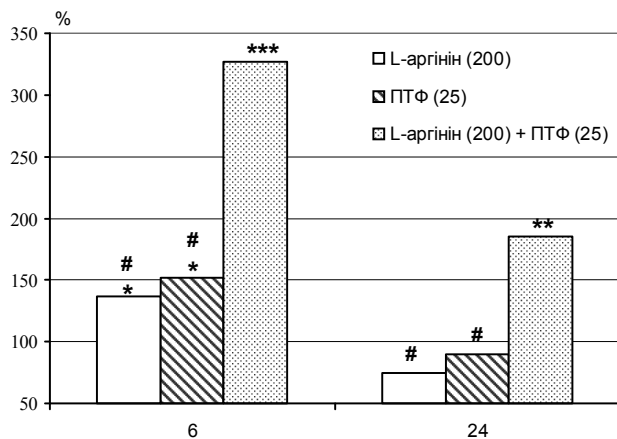


Рис. 1. Динаміка больової чутливості щурів з САК за умов комплексної фармакологічної корекції

Примітки: тут і в подальшому: за віссю абсцис - час з моменту відтворення моделі САК; за віссю ординат - досліджувані показники, взяті в % по відношенню до таких у групі контролю (щури з САК без лікування), прийнятих за 100%; * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$ та *** - $p < 0,001$ - вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими в контролі (статистичний критерій АНОВА + Ньюман-Кулз); # - $p < 0,05$ - вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими в щурів із сумісним застосуванням препаратів (статистичний критерій АНОВА + Ньюман-Кулз).

Таблиця 1. Динаміка порушень пози та летальності щурів за різних умов фармакологічної корекції проявів САК.

Досліджувані групи щурів	Час з моменту відтворення САК (год)				
	6	12	24	48	72
1. Контроль, n=15	9/1	7/3	5/6	4/7	3/11
2. L-аргінін (200 мг/кг), n=9	7*/1	5/1*	4/3	2/4	1/5*
3. L-аргінін (500 мг/кг), n=10	6/2*	5/3	3/4	2/6	2/7
4. ПТФ (25 мг/кг), n=10	6/1	5/2	4/3	3/4	1/6
5. ПТФ (50 мг/кг), n=10	7/1	6*/2	4/4	4/5	2/7
6. L-аргінін (200 мг/кг) + ПТФ (25 мг/кг), n=12	11*/0*	10*/1*	7*/2*	6*/5	6*/5*

Примітки: в чисельнику - число тварин які зберігають вертикальне положення тіла; в знаменнику - число тварин, які загинули; * - $p < 0,05$ - вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими в контролі (статистичний критерій Крушквал-Валіс).

($p > 0,05$).

За умов сумісного застосування L-аргініну та ПТФ меншими із досліджуваних дозами лише 2 щури не здатні були утримувати вертикальне положення, були відсутні летальні випадки, що було менше порівняно з відповідними показниками в групі контролю ($p < 0,05$). Подібні розбіжності досліджуваних показників між групами зберігалися до кінця спостереження за винятком двохдобового терміну, коли показники летальності не мали відмінностей між групами (табл. 1).

У щурів із САК через 6 год. досліджувані вираженість больових реакцій була значно зниженою і дорівнювала в

середньому 0 - 1 бали за наведеною шкалою. В групі щурів, яким застосовували ПТФ (25 мг/кг) середня вираженість больових реакцій на 37,3% перевищувала такий показник в контрольній групі ($p < 0,05$; рис. 1). На тлі введення L-аргініну (100,0 мг/кг) середня вираженість больових реакцій у щурів перевищувала таку в групі контролю на 52,4% ($p < 0,05$). За умов сумісного введення препаратів тими же дозами середня вираженість больових реакцій дорівнювала $2,6 \pm 0,4$ балів і була в 3,3 рази більше такої в групі контролю ($p < 0,001$). При цьому досліджуваний показник перевищував аналогічні дані в щурів за умов роздільного застосування кожного з препаратів ($p < 0,05$; рис. 1).

Через 24 год. з моменту відтворення САК середня вираженість больових реакцій була на 31,2% менше, ніж такий показник у щурів через 6 год. досліджувані (рис. 1). Роздільне введення L-аргініну (100 мг/кг) та ПТФ (25 мг/кг) не змінювало вираженість больових реакцій. При сумісному застосуванні препаратів середня вираженість больових реакцій в 1,9 рази перевищувала такий контрольний показник ($p < 0,01$) та досліджуваний показник у групах щурів із їх роздільним застосуванням ($p < 0,05$; рис. 1).

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що за умов сумісного застосування ПТФ та L-аргініну досягнуто потенційований коригуючий ефект щодо порушень, викликаних субарахноїдальним виливом ауто крові у щурів. Зважаючи на роль гуморальних чинників - похідних компонентів крові, комбіноване застосування препаратів зменшувало поведінкові порушення та летальність тварин, а також відновлювало больову чутливість.

Наші дані збігаються з результатами інших авторів, зокрема [Sun et al., 2003], які використовували аргінін виходячи із розрахунку 500 мг/кг і довели зменшення пошкодження нейронів при відтворенні САК у щурів. Заслугує на увагу факт потенціювання впливу аргініну за рахунок застосування ПТФ - препарату, якому притаманні антиоксидантні ефекти, здатність покращення реологічних властивостей крові, а також зниження вмісту прозапальних цитокінів [Meiners et al., 2004]. Останнє, на наш погляд, може мати вирішальне значення у формуванні потенційованого позитивного терапевтичного впливу у відношенні впливу аргініну, оскільки прозапальні цитокіни мають патогенетичне значення при САК [Sozen et al., 2009]. Слід розглянути також антиоксидантний вплив ПТФ, оскільки такий механізм розглядається в якості важливих при здійсненні терапевтичного впливу мелатоніну при експериментальному САК [Aladag et al., 2009].

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Роздільне введення L-аргініну та ПТФ доза - залежним чином запобігають розвитку порушень поведінки та летальності в щурів із САК. Захисні ефекти носять тимчасовий характер і спостерігаються переважно

в терміни 6 - 12 год. з моменту відтворення моделі патологічного стану.

2. Сумісне застосування L-аргініну та ПТФ викликає потенційований протективний ефект у відношенні до САК - індукованих порушень поведінки, больової чутливості та летальності тварин. Позитивний вплив суміс-

ного препаратів спостерігається протягом 72 год. з моменту застосування.

Перспективи подальших розробок полягають в дослідженні ефектів комплексної схеми корекції САК-індукованих порушень поведінки за умов розробки оптимальних доз досліджуваних препаратів.

Список літератури

- Завгородняя А. Н. Эндотелиальные механизмы патогенеза цереброваскулярной патологии / А. Н. Завгородняя, В. А. Малахов // Український медичний часопис. - 2006. - №2 (52). - С. 32 - 39.
- Дисфункции эндотелия. Патогенетическое значение и методы коррекции; под ред. Н. Н. Петрищева. - СПб: ИИЦ ВМА, 2007. - 296 с.
- Ayer R. E. Oxidative stress in subarachnoid haemorrhage: significance in acute brain injury and vasospasm / R. E. Ayer, J. H. Zhang // Acta Neurochirurgia. - 2008. - Vol. 104, Suppl. - P. 33 - 41.
- Changes in case fatality of aneurysmal subarachnoid haemorrhage over time, according to age, sex, and region: a meta-analysis / D. J. Nieuwkamp, L. E. Setz, A. Algra [et al.] // Lancet Neurol. - 2009. - Vol. 8, № 7 - P. 635 - 642.
- L-arginine improves cerebral blood perfusion and vasomotion of microvessels following subarachnoid hemorrhage in rats / B. Sun, S. Zhang, Z. Xia [et al.] // Clin. Hemorheol. Microcirc. - 2003. - Vol. 29, № 3 - 4. - P. 391 - 400.
- Melatonin ameliorates cerebral vasospasm after experimental subarachnoid haemorrhage correcting imbalance of nitric oxide levels in rats / M. A. Aladag, Y. Turkoz, H. Parlakpınar [et al.] // Neurochem. Res. - 2009. - Vol. 39, № 11. - P. 1935 - 1944.
- Myslobodsky M. Convulsant specific architecture of the postictal behaviour syndrome in the rats / M. Myslobodsky, O. Kofman, M. Mintz // Epilepsia. - 1981. - Vol. 22, № 5. - P. 559 - 568.
- Pentoxifylline and propentofylline are inhibitors of TNF-alpha release in monocytes activated by advanced glycation endproducts / I. Meiners, S. Hauschildt, K. Nieber [et al.] // J. Neural. Transm. - 2004. - Vol. 111, № 3. - P. 441 - 447.
- Photographic Atlas of the Rat Brain the Cell and Fiber Architecture Illustrated in Three Planes With Stereotaxic Coordinates: A Photographic Guide to the Cell and Fiber Architecture of the Rat Brain Illustrated in Three Planes With Stereotaxic Coordinates / L. Kruger, S. Saporta, W. Larry (Eds.). - Cambridge University Press, 1995. - 299 p.
- Risk factors for subarachnoid hemorrhage: an updated systematic review of epidemiological studies / V. L. Feigin, G. J. Rinkel, C. M. Lawes [et al.] // Stroke. - 2005. - Vol. 36, № 12. - P. 2773 - 2780.
- Role of interleukin-1 β in early brain injury after subarachnoid hemorrhage in mice / T. Sozen, R. Tsuchiama, Y. Hasegawa [et al.] // Stroke. - 2009. - Vol. 40. - P. 2519 - 2525.
- Saccular intracranial aneurysm: pathology and mechanisms / J. Fransen, R. Tulamo, A. Paetau [et al.] // Acta Neuropathol. - 2012. - Vol. 123, № 6. - P. 773 - 786.
- The effects of resveratrol on vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage in rats / A. Kararaoglan, O. Akdemir, S. Barut [et al.] // Surg. Neurol. - 2008. - Vol. 70, № 4. - P. 337 - 343.

Петелкаки А.В.

РАЗРАБОТКА КОМПЛЕКСНОЙ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ СУБАРАХНОИДАЛЬНОГО КРОВОТЕЧЕНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Резюме. Представлены данные собственных экспериментальных исследований, посвященные разработке комплексной патогенетически обоснованной коррекции поведенческих проявлений субарахноидального кровотечения (САК). На модели САК, которое было воспроизведено внутримозговым и внутрицистернальным введением аутокрови крысам, установлено, что совместное применение пентоксифиллина и L-аргинина вызывает развитие потенцированного защитного действия в отношении нарушений поведения, болевой чувствительности и летальности животных. Положительное влияние совместного введения лекарственных препаратов наблюдается в течение 72 ч. с момента их применения. Вывод делается о патофизиологических механизмах САК, с учетом чего разработана схема комплексной патогенетически обоснованной коррекции указанных нарушений поведения в эксперименте.

Ключевые слова: субарахноидальное кровотечение, аутокровь, пентоксифиллин, L-аргинин, патогенетически обоснованная коррекция.

Petelkaki A.V.

COMPLEX PATHOGENETIC CORRECTION OF SUBARACHNOID HAEMORRHAGE BEHAVIOURAL CORRELATES IN EXPERIMENTAL CONDITIONS

Summary. The own data are given concerning authors' experimental trials devoted to the complex pathogenetic correction performing out of subarachnoid haemorrhage (SAH) behavioral manifestations. Both pentoxifylline and L-arginine combined administration resulted in the potentiated protective effect against behavioral disorders, pain sensitivity and mortality of animals on the model of SAH induced by rats' autoblood intracerebral and intracisternal injection. The investigated drugs co-administration positive effect was shown to be registered throughout 72 hrs from the time of their injection. Conclusion is made about the pathophysiological mechanisms of SAH using which it was possible to perform out the scheme of behavioral disorders complex pathogenetic correction in the experimental condition.

Key words: subarachnoid haemorrhage, autoblood, pentoxifylline, L-arginine, complex pathogenetic correction.

Стаття надійшла до редакції 13.05.2014 р.

Петелкакі Олександр Володимирович - к. мед. н., доцент кафедри нейрохірургії і неврології Одеського національного медичного університету; +38 063 9304976; petelkaki@e-mail.ua