

# АНЕСТЕЗІОЛОГІЯ ТА РЕАНІМАТОЛОГІЯ

© О.В. Петелкакі, 2014

УДК 616.13-018.74

О.В. ПЕТЕЛКАКІ

*Одеський національний медичний університет, кафедра анестезіології, інтенсивної терапії з післядипломною підготовкою, Одеса*

## ВІДНОВЛЕННЯ М'ЯЗОВИХ ТА МОТОРНИХ ПОРУШЕНЬ У ЩУРІВ, ЩО СПРИЧИНЕНІ СУБАРАХНОЇДАЛЬНОЮ КРОВОТЕЧЕЮ ПІД ВПЛИВОМ МОДУЛЯЦІЇ НІТРАТЕРГІЧНИХ МЕХАНІЗМІВ

За експериментальних умов субарахноїдального крововиливу (САК) у білих щурів досліджували вплив роздільного та сумісного введення пентоксифіліну (ПТФ) та цілостазолу (ЦЗ) на вираженість м'язових, моторних порушень та неврологічний дефіцит. Виявлено, що обидва фармакологічні препарати приблизно в однаковому ступені відновлювали м'язовий тонус, координаційну активність щурів та їх моторний дефіцит неврологічних. В разі їх сумісного застосування були відзначено формування потенційованої захисної дії щодо порушень м'язової активності, моторної функції та координаційної здатності тварин. Позитивний вплив сумісного введення ПТФ та ЦЗ спостерігається протягом 72 год. Зважаючи на підсилення синтезу оксиду азоту як одного з механізмів реалізації ефектів обох фармакологічних сполук, автор доходить висновку про можливість досягти ефективної патогенетично орієнтованої фармакотерапії САК через активацію нітратергічних механізмів, які набувають патогенетичного значення за умов досліджуваної моделі.

**Ключові слова:** субарахноїдальний крововилив, пентоксифілін, цілостазол, нітратергічні механізми, комплексна патогенетично орієнтована терапія

**Вступ.** Одним із ланцюгів патогенетичних механізмів субарахноїдального крововиливу (САК) є спазм магістральних судин головного мозку, який надалі індукує каскад патобіохімічних реакцій, що можуть спричинити тяжкі функціональні наслідки [3, 7, 13]. Відомо, що в гострому періоді травматичного ушкодження мозку церебральний вазоспазм розвивається у 5–78 % хворих, що підтверджено клінічними спостереженнями та візуальними методами дослідження [1]. Через це обґрунтованими з фундаментальної точки зору є намагання розробити заходи комплексної патогенетично орієнтованої терапії цього тяжкого захворювання із застосуванням в якості складового компоненту фармакологічних сполук із показаними вазодилатаційними властивостями.

Раніше ми вивчали проєктивні ефекти пентоксифіліну (ПТФ) та L-аргініну за умов експериментальної моделі САК [5], зважаючи на їх протизапальні та антиоксидантні властивості, а також підсилення синтезу оксиду азоту. Для підвищення ефективності комплексного патогенетичного лікування доцільним є намагання вивчити нейропротекторні ефекти цілостазолу (ЦЗ), який є діючою речовиною «Плестазолу» та для якого показаними є вазодилатаційні ефекти [4, 9].

**Мета дослідження.** Підвищити ефективність комплексного лікування експериментальної САК за умов роздільного та сумісного застосування

ПТФ та ЦЗ, для яких характерними є нітратергічні властивості.

**Матеріали та методи.** Критеріями ефективності лікування (САК) вважали вираженість м'язових та моторних (координаційних) функцій, порушення яких відзначається у пацієнтів після внутрішньочерепних крововиливів [7, 12]. Експерименти проведені за умов хронічного дослідження на білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180–250 г, яких містили у стаціонарних умовах з природною 12-годинною зміною світла та темряви, вологістю 60 % і температурою  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ . Роботу з лабораторними тваринами проводили з дотриманням основних нормативних вимог щодо проведення лабораторних дослідів за участі експериментальних тварин.

У щурів під кетаміновою анестезією відтворювали САК за методикою, що наведена в роботі [5], білатеральним стереотаксичним введенням аутокрові до тім'яно-скроневої ділянки мозку та додатковим інтрацистернальним введенням 0,3 мл аутокрові.

За поведінкою щурів починали спостерігати через 6 год з моменту введення аутокрові. М'язову активність визначали за часом, упродовж якого щури були здатні за допомогою передніх та задніх кінцівок утримуватися на двох горизонтально розташованих паличках [10]. Тест на координацію

рухів був заключний у здатності щурів утримуватися на горизонтальному стержні, що обертається (ротароді), діаметром 25 мм, завдовжки 60 см, що горизонтально обертається, який розділено за допомогою 5 дисків на 6 частин [8]. Визначали кількість тварин, які здатні утриматися на цьому стержні з частотою 15 обертів за хв протягом 120 сек. Неврологічний статус оцінювали при підрахунку вираженості неврологічного дефіциту за шкалою оцінки моторних зрушень в модифікації І.В. Ганнушкіної [2].

ПТФ ("Sigma-Aldrich", США) вводили внутрішньоочеревинно дозою 50,0 мг/кг, ЦЗ («Плестазол», ПАТ «Київський вітамінний завод», Україна) вводили внутрішньоочеревинно дозою 5,0 мг/кг. В контрольних спостереженнях щурам вводили 0,9 % фізіологічний розчин NaCl.

Отримані результати обчислювали статистично. Мінімальну статистичну вірогідність визначали при  $p < 0.05$ .

**Результати досліджень та їх обговорення.** Всі щури контрольної групи утримувалися на двох горизонтальних паличках (рис. 1) протягом всього досліджу. Через 6 год та 24 год з моменту відтворення САК на двох горизонтальних паличках утримали позу по 2 щури із САК без лікування, на 48-й та 72-й год досліджу на двох горизонтальних паличках утримали позу 4 тварини, що було суттєво менше, ніж аналогічні показники в контрольних спостереженнях ( $p < 0,01$ ; рис. 1). В разі роздільного введення ПТФ та ЦЗ щурам із САК на 6-й год досліджу лише 3 та 4 щури, відповідно, здатні були утриматися на двох горизонтальних паличках, що також було менше, ніж в контролі ( $p < 0,01$ ). Після сумісного введення обох сполук позитивні результати тесту були в 7 щурів із 14, що виявилось більше, ніж такі ж самі показники в щурів при роздільному введенні ПТФ та ЦЗ ( $p < 0,05$ ).

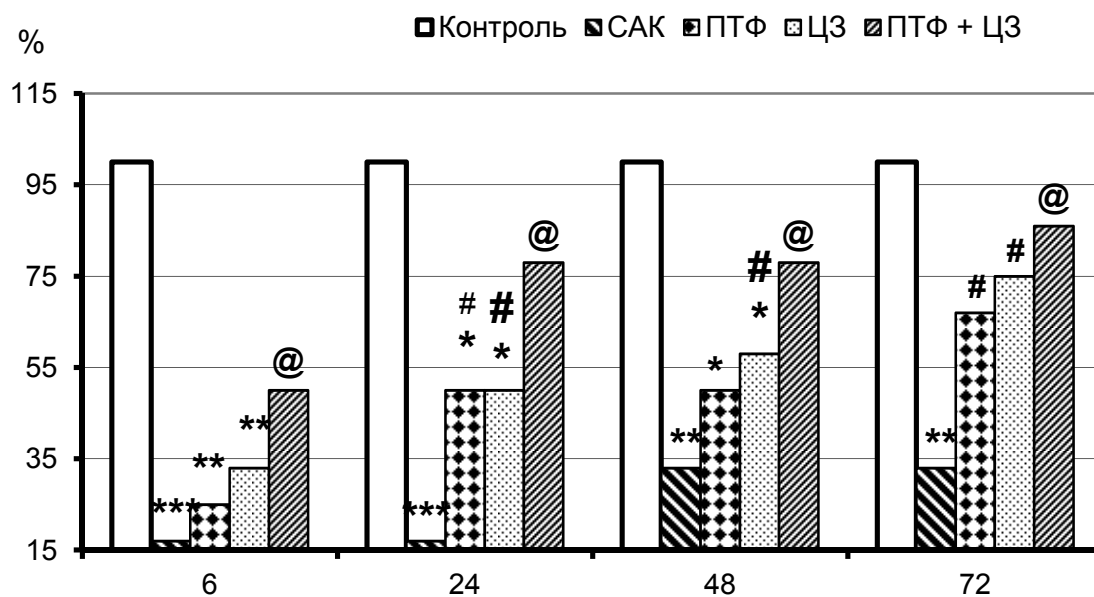


Рис. 1. Динаміка змін м'язової активності в білих щурах за умов комплексного патогенетично орієнтованого лікування експериментального САК

Позначення: по осі абсцис – час з моменту відтворення моделі САК (год); по осі ординат – відсоток щурів, які утримувалися на двох горизонтальних паличках.

Примітки: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими у контролі; # –  $P < 0.05$  – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими у щурів із САК без лікування; @ –  $p < 0,05$  – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими у щурів із САК, яким застосовували роздільне введення ПТФ та ЦЗ (при всіх обчисленнях застосовували статистичний критерій ANOVA з пост-хок тестом Ньюман-Кулз).

Позитивні результати ПТФ та ЦЗ в цьому тесті були зареєстровані починаючи з 48-ї год. спостереження ( $p < 0,05$ ). При цьому за модельних умов у групах із сумісним введенням обох препаратів досліджувані показники виявилися більшими порівняно з такими при роздільному введенні ПТФ та ЦЗ ( $p < 0,05$ ; рис. 1).

Всі щури контрольної групи утримувалися на ротароді (рис. 2) протягом всього досліджу. Тварини із САК не здатні були утриматися на ротароді протягом 72 год ( $p < 0,05$ ), починаючи з 48-ї год. досліджу роздільне введення з лікувальною метою ПТФ та ЦЗ виявилось ефективним порівняно з аналогічними показниками в контролі

( $p < 0,05$ ). Але і в тесті із використанням стрижня, що обертається, сумісне введення обох досліджуваних сполук дозволило утриматися 6, 8 та

11 шурам із 14 на 24-й, 48-й та 72-й год. дослідю, відповідно, що було більше, ніж при роздільному їх введенні ( $p < 0,05$ ; рис. 2).

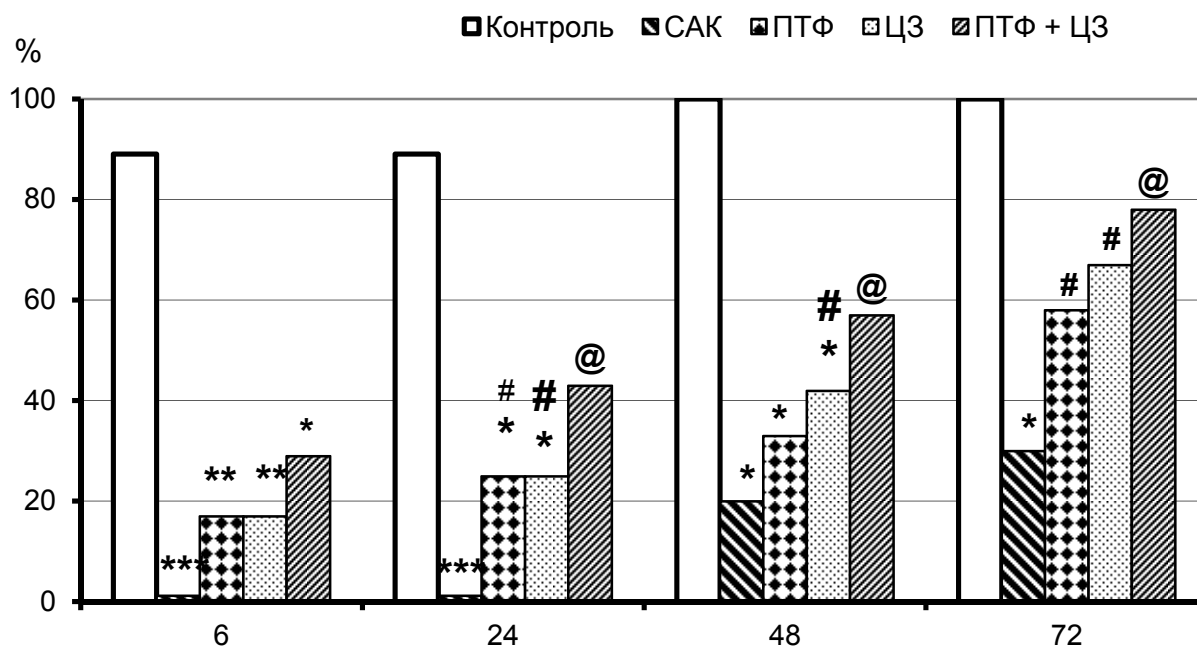


Рис. 2. Динаміка координаційної активності щурів за умов комплексного патогенетично орієнтованого лікування експериментального САК

Позначення: по осі абсцис – час з моменту відтворення моделі САК (год); по осі ординат – відсоток щурів, які утримувалися на стержні, що обертається.

Примітки: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими у контролі; # –  $p < 0,05$  – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими у щурів із САК без лікування;

@ –  $p < 0,05$  – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими у щурів із САК, яким застосовували роздільне введення ПТФ та ЦЗ (при всіх обчисленнях застосовували статистичний критерій ANOVA з пост-хок тестом Ньюман-Кулз).

За умовами дослідю жоден із щурів у контрольних спостереженнях не демонстрував в'ялість, повільність та слабкість рухів, «манежні рухи», парез та параліч кінцівок (табл. 1). При дослідженні вираженості неврологічного дефіциту в щурів через 6 год з моменту відтворення проявів САК всі (100%) тварини демонстрували в'ялість, повільність рухів, та слабкість рухів 7 щурів демонстрували «манежні рухи», у 8 – зареєстровано парез переважно двох монолатеральних кінцівок, що було значно більше порівняно з відповідними показниками в контрольній групі ( $p < 0,01$ ). Такі ж результати з динамікою їх зменшення (починаючи з 48-ї год дослідю) були зареєстровані протягом усього терміну спостереження (див. табл. 1).

Через 24 год з моменту відтворення проявів САК в групі щурів із сумісним введенням ПТФ та ЦЗ в'ялість та повільність рухів були відзначені у 50% тварин, що було менше подібних результатів в групі тварин із САК без лікування ( $p < 0,05$ ). В

той же період дослідю слабкість рухів та «манежні» рухи демонстрували 8 та 4 щурів із 14, відповідно, що також було менше аналогічних результатів у групах щурів із САК без лікування ( $p < 0,05$ ), а також за умов роздільного введення ПТФ та ЦЗ шурам із САК ( $p < 0,05$ ).

Таку вираженість лікувальних ефектів обох досліджуваних препаратів при їх сумісному введенні було відзначено на 48-й год дослідю, коли в'ялість, повільність та слабкість рухів демонструвала менша кількість щурів, ніж у відповідних групах із САК без лікування та із САК при роздільному введенні ПТФ та ЦЗ (в усіх випадках  $P < 0,05$ ). На 72-й год перебігу САК щурі із сумісним введенням з лікувальною метою ПТФ та ЦЗ демонстрували нормальну поведінку без проявів неврологічного моторного дефіциту (див. табл. 1).

Таким чином, отримані результати свідчать про підвищення експериментального лікування поведінкових проявів САК в разі сумісного введення ПТФ та ЦЗ. За таких умов досліджувани показники

в щурів були значно менше порівняно з відповідними в разі роздільного введення обох фармакологічних препаратів, тобто йдеться про досягнення потенційованого лікувального ефекту стосовно м'язових та моторних неврологічних порушень,

спричинених субарахноїдальним виливом аутокрові. В переважній більшості застосованих тестів ефективність комплексного введення ПТФ та ЦЗ проявлялася на 24-й год досліджу та відзначалася до кінця спостережень.

Таблиця 1

Динаміка вираженості неврологічного дефіциту (%) у щурів за умов комплексного патогенетично орієнтованого лікування експериментального САК за шкалою, модифікованою І.В. Ганнушкіною

Групи тварин	В'ялість, повільність рухів	Слабкість рухів	"Манежні" рухи	Парез 1–4 кінцівок	Параліч 1–4 кінцівок
<i>6-а година</i>					
Контроль, n=9	0	0	0	0	0
САК, n=12	100***	100***	58**	67***	17
ПТФ, n=12	92***	100***	50**	67***	17
ЦЗ, n=12	92***	92***	50**	67***	17
ПТФ + ЦЗ, n=14	79***	79***	43*	57**	14
<i>24-а година</i>					
Контроль, n=9	0	0	0	0	0
САК, n=12	83***	92***	50**	50**	17
ПТФ, n=12	67***	92***	50**	67***	17
ЦЗ, n=12	67***	83***	50**	67***	17
ПТФ + ЦЗ, n=14	50** #	57** # @	29 # @	43*	14
<i>48-а година</i>					
Контроль, n=9	0	0	0	0	0
САК, n=12	58**	75***	33*	25	17
ПТФ, n=12	50**	50** #	25	17	8
ЦЗ, n=12	42*	50** #	25	17	8
ПТФ + ЦЗ, n=14	21 # @	29 # @	0 # @	0 #	0
<i>72-а година</i>					
Контроль, n=9	0	0	0	0	0
САК, n=12	42*	50**	8	8	0
ПТФ, n=12	25	33	0	0	0
ЦЗ, n=12	25	25 #	0	0	0
ПТФ + ЦЗ, n=14	0 # @	0 # @	0	0	0

Примітки: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими у контролі; # –  $p < 0,05$  – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими у щурів із САК без лікування; @ –  $p < 0,05$  – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими у щурів із САК, яким застосовували роздільне введення ПТФ та ЦЗ (при всіх обчисленнях застосовували непараметричний критерій Крускал-Валліс).

Інтерес викликає механізми реалізації нейропротективної дії при впливі ПТФ та ЦЗ. Відомо, що ЦЗ є похідним хінолінону, який інгібує фосфодіестеразу третього типу із наступним підвищенням вмісту цАМФ у тромбоцитах, гладких м'язах судин, ендотеліальних клітинах [4, 6, 9]. Основними наслідками такого впливу та найважливішими в модельних умовах САК є вазодилатація зі зменшенням ризику тромбозу внаслідок вираженого пригнічення активації/агрегації тромбоцитів та активація синтезу оксиду азоту [6]. Заслугує на увагу факт потенціювання впливу ЦЗ при сумісному введенні із ПТФ – препаратом, якому притаманні протизапальні, антиоксидантні ефекти, здатність покращення реологічних властивостей крові, а також зниження вмісту прозапальних цитокінів [11].

#### Висновки.

1. Перебіг САК характеризується порушеннями функції м'язів, координаційної здатності

щурів та розвитком неврологічного моторного дефіциту.

2. Сумісне застосування ПТФ та ЦЗ індукує розвиток потенційованого нейропротективного ефекту відносно САК-спричинених м'язових та моторних неврологічних порушень, який розвивається, починаючи з 24-ї год, та триває протягом 72 год з моменту застосування.

3. Отримано позитивні ефекти патогенетично орієнтованого лікування функціональних м'язових, координаційних та моторних розладів при комплексному застосуванні ПТФ та ЦЗ, механізмами реалізації яких мають бути протизапальні та антиоксидантні властивості обох фармакологічних препаратів, а також їх нітратергічні механізми дії, що загалом підсилює вазодилатційний потенціал гладком'язових клітин судинної стінки.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Болюх А.С. Вплив церебрального вазоспазму на найближчі результати лікування хворих з гострими внутрішньочерепними травматичними крововиливами / А.С. Болюх // Укр. нейрохірургічний журн. — 2005. — №3. — С. 20.
2. Ганнушкина И.В. Функциональная ангиоархитектоника головного мозга / И.В. Ганнушкина. — М., 1977. — С. 119.
3. Завгородняя А.Н. Эндотелиальные механизмы патогенеза цереброваскулярной патологии / А.Н. Завгородняя, В.А. Малахов // Укр. мед. часопис. — 2006. — № 2 (52). — С. 32—39.
4. Кобза І.І. Сучасна дезагрегантна терапія у пацієнтів із серцево-судинними захворюваннями / І.І. Кобза, Т.Б. Рудик, Т.І. Кобза // Серце і судини. — 2014. — № 1. — С. 51—58.
5. Петелкаки А.В. Особенности плавательного и агрессивного поведения крыс с субарахноидальным кровотечением в условиях применения L-аргинина и пентоксифиллина / А.В. Петелкаки // Достижения биологии та медицини. — 2011. — № 2 (18). — С. 16—20.
6. Activation of endothelial nitric oxide synthase by cilostazol via a cAMP/protein kinase A- and phosphatidylinositol 3-kinase / Akt-dependent mechanism / A. Hashimoto, G. Miyakoda, Y. Hirose, T. Mori [et al.] // Atherosclerosis. — 2006. — Vol. 189, № 2. — P. 350—357.
7. 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.
8. Combined systemic administration of the glycine/NMDA receptor antagonist, (+)-HA966 and morphine attenuates pain-related behaviour in a rat model of trigeminal neuropathic pain / D. Christensen, M. Gautron, G. Guilbaud [et al.] // Pain. — 1999. — Vol. 83. — P. 433—440.
9. Chapman T.M Review Cilostazol: a review of its use in intermittent claudication / T.M. Chapman, K.L. Goa // Am. J. Cardiovasc. Drugs. — 2003. — Vol. 3, № 2. — P. 117—138.
10. Myslobodsky M. Convulsant specific architecture of postictal behavioral syndrome in the rat / M. Myslobodsky, O. Kofman, M. Mintz // Epilepsia. — 1981. — Vol. 27, № 4. — P. 555—568.
11. 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.
12. 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.
13. Saccular intracranial aneurysm: pathology and mechanisms / J. Frösen, R. Tulamo, A. Paetau [et al.] // Acta Neuropathol. — 2012. — Vol. 123, № 6. — P. 773—786.

O.V. PETELKAKI

*Odesa National Medical University, Department of anesthesiology, intensive care and postgraduate education, Odesa*

**NITRATERGIC MECHANISMS MODULATION OF MUSCULAR AND MOTOR IMPAIRMENTS RECOVERY WITH SUBARACHNOID HAEMORRHAGE**

Pentoxifylline (PTF) and cilostazol (CL) separate and combined effects on the muscular, motor disorders and neurological deficit expression were studied in conditions of experimental subarachnoid haemorrhage (SAH). Both pharmacons were shown to reduce approximately equally rats muscle tone, coordinative activity and motor neurological deficit. The potentiated protective effect vs rats muscular function, motor and coordinative activities was achieved in case of these drugs combined administration. PTF and the CL co-administration positive effect was registered within 72 hrs. Taking into consideration of two drugs nitric oxide synthesis acceleration as one of the mechanism of their efficacy realization the author comes to the conclusion about SAH effective complex pathogenetic therapy through nitratergic mechanisms activation that receives the pathogenetic importance in conditions of the investigated model.

**Key words:** subarachnoid haemorrhage, pentoxifylline, cilostazol, nitratergic mechanisms, complex pathogenetic treatment

**Стаття надійшла до редакції: 12.05.2014 р.**