

1.4 Сучасні патогенетичні підходи до інтенсивної терапії гострої церебральної ішемії

Ішемічний мозковий інсульт (ІМІ) – це руйнівна неврологічна патологія, пов’язана з величезною коморбідністю і смертністю [28,29,30]. Більше половини з 18 мільйонів людей, котрі щорічно страждають від інсульту в усьому світі, матимуть постійний моторний дефіцит, що є відображенням незворотної втрати нейронів [31,32]. Мозковий інсульт (МІ) є головною причиною інвалідності, другою за поширеністю причиною деменції та третьою причиною летальності у всьому світі [29,32]. Це величезне соціальне навантаження для всіх держав, що постійно зростає, разом із збільшенням чисельності населення на планеті [33,34].

У зв'язку з пандемією коронавірусної хвороби 2019 року (COVID-19) система надання медичної допомоги при МІ неминуче зазнала серйозних змін, таких як затримки з консультацією і зменшення кількості процедур внутрішньовенного тромболізису і механічної тромбектомії [35,36]. Дослідження, проведене японськими вченими у 2020 році, продемонструвало, що захворюваність на МІ у пацієнтів з COVID-19 становить приблизно 1,1% [37]. На сьогоднішній день з'ясовано особливості інсульту з COVID-19: більш висока частота ішемічного інсульту, порівняно з геморагічним; збільшення числа молодих пацієнтів; високі рівні D-димеру та більш високий ризик у літніх пацієнтів із супутніми серцево-судинними захворюваннями, такими як гіпертонія і діабет [35]. Згідно проведених досліджень, у пацієнтів з COVID-19, венозна тромбоемболія зустрічається частіше, ніж артеріальна тромбоемболія, а МІ – значно частіше, ніж гострий коронарний синдром [35,37].

До 85% всіх МІ мають ішемічне походження, що найчастіше пов’язано із закупоркою однієї, або декількох мозкових артерій тромботичними масами, і як наслідок, зменшення мозкової перфузії [38]. Інші випадки інсультів є геморагічними, до них належить будь-який внутрішньомозковий, або субарахноїдальний крововилив.

Du Z. і соавтори (2020) висловили припущення, що інфаркт мозку є наслідком складного комплексу процесів, які викликають розвиток взаємопов'язаних гемодинамічних і метаболічних розладів, які спрацьовують разом і виникають в певній ділянці мозку [39]. Він може бути обумовлений порушенням припливу крові в судини мозку, порушенням мозкового кровотоку і утрудненим венозним відтоком.

Китайські вчені Sun P., Liu L., Liu C. et al. (2020) опублікували результати дослідження, у котрому продемонстрували, що ризик МІ виявляє чітку залежність від товщини комплексу інтима-медіа сонних артерій у пацієнтів з артеріальною гіпертензією [40].

Quan W., Yang X., Li Y. et al. (2020) довели статистично вагомих взаємозв'язок між розмірами лівого передсердя та розвитком ІМІ. Спазм мозкових судин, як можливий механізм розвитку ІМІ є важливою ланкою системи ауторегуляції мозкового кровообігу у відповідь на значне підвищення системного артеріального тиску і зниження концентрації вуглекислоти в крові [41].

Залежно від патогенетичного механізму розвитку гострої фокальної ішемії мозку виділяють кілька патогенетичних варіантів ІМІ. Найбільшого поширення набула класифікація TOAST (Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment), в ній виділяють наступні варіанти ІМІ [42]:

- атеротромботичний – внаслідок атеросклерозу великих артерій, що призводить до їх стенозу, або оклюзії; при фрагментації атеросклеротичної бляшки, або тромбу з розвитком атеро-артеріальної емболії;

- кардіоемболічний – найбільш частими причинами емболічного МІ бувають аритмія (тріпотіння і миготіння передсердь), клапанна вада серця, інфаркт міокарда, особливо до 3 міс ;

- лакунарний – внаслідок оклюзії артерій малого калібру, їх враження найчастіше пов'язане з наявністю артеріальної гіпертензії, або цукрового діабету;

- ішемічний – асоційований з рідкісними причинами: неатеросклеротичними васкулопатіями, гіперкоагуляцією крові,

гематологічними захворюваннями, гемодинамічним механізмом розвитку фокальної ішемії мозку, розшаруванням стінки артерій ;

– ішемічний невідомого походження. До нього відносять інсульти з невстановленою етіологією, або з наявністю двох і більше можливих причин, коли неможливо поставити остаточний діагноз.

Існують різні підходи до періодизації ІМІ. З урахуванням епідеміологічних показників і сучасних уявлень про можливість застосування при ІМІ тромболітичних препаратів можна виділити наступні періоди [43]:

– найгостріший період – перші 3 доби, з них перші 4,5 години визначають, як терапевтичне вікно (можливість використання тромболітичних препаратів для системного введення); при регресі симптоматики в перші 24 годин діагностують транзиторну ішемічну атаку;

– гострий період – до 28 діб;

– ранній відновний період – до 6 міс;

– пізній відновний період – до 2 років;

період залишкових явищ – після 2 років.

Використання новітніх методів нейровізуалізації дозволило вивчити вогнищеву церебральну ішемію і її еволюцію на молекулярному рівні, сприяло розробці сучасних концепцій патогенезу ІМІ [44]. Однією з них є концепція порогового ішемічного кровотоку. Поріг визначається критично низьким рівнем мозкового кровотоку (МК) і недостатнім надходженням кисню. Дослідники виділяють певну послідовність виникнення метаболічних розладів у відповідь на розвиток гострої фокальної ішемії мозку: первинна реакція виникає в разі зниження рівня МК нижче ніж 55 мл/100 г/хв та проявляється гальмуванням синтезу білка. Зниження рівня МК нижче ніж 35 мл/100 г/хв стимулює анаеробний гліколіз, нижче ніж 20 мл/100 г/хв викликає надлишкове вивільнення збуджуючих нейротрансмітерів і обумовлює порушення енергетичного обміну. У разі зменшення МК нижче ніж 12–10 мл/100 г/хв виникає аноксична деполяризація клітинних мембран. Виділяють нижній ішемічний поріг (енергетичного ушкодження) з кровотоком 12–10 мл/100 г/хв, нижче якого не

синтезується АТФ, порушується функція клітинних мембран, нейрони втрачають калій, набирають кальцій, натрій і осмотичним шляхом воду. Підвищення концентрації кальцію в нейронах активізує мембранні фосфоліпази, сприяє вивільненню надтоксичних жирних кислот, а отже є ланкою багатьох процесів, які протягом 6–8 хв від початку виникнення неврологічного дефіциту призводять до руйнування і загибелі клітин мозку. В результаті незворотних змін нейронів формується вогнищевий некроз, утворюється зона інфарктного ядра [45,46,47].

Дослідження продемонстрували, що протягом перших годин після розвитку ІМІ, зону інфарктного епіцентру оточує прикордонна область з кровотоком менше ніж 20 мл/100 г/хв, нижче якого порушується синаптична передача, але енергетичний потенціал і функція іонних насосів зберігаються. Цю частину ішемізованого мозку називають "ішемічна півтінь", або "пенумбра". З клінічної точки зору значення цієї зони полягає в тому, що порушення функції нейронів в ній має зворотний характер, досягаючи 1–6 годин [48,49]. Доведено, що в енергетичному плані нейрони залежать від адекватного надходження глюкози і кисню, тому при ішемії в цитоплазмі нервових клітин ішемічної півтіні виникає локальна активація гліколізу – анаеробного розщеплення в циклі трикарбонових кислот, за рахунок якого з однієї молекули глюкози утворюється лише дві молекули АТФ разом з молочною кислотою. На сьогоднішній день встановлено, що підвищення утворення лактату та зниження рН призводить до внутрішньоклітинного і позаклітинного ацидозу. Дослідження продемонстрували, що гостра ішемія викликає надлишкову продукцію нейронами глутамату та інших збуджуючих ексайтотоксинів і надлишкове вивільнення їх з аксональних терміналей; в результаті зниження зворотного внутрішньоклітинного захоплення нейромедіаторних амінокислот виникає глутаматна ексайтотоксичність (від англ. to excite – порушувати). Вивчено, що у звичайних умовах глутамат є збудливим медіатором і міститься в багатьох нейронах мозку, які виділяють його в результаті деполяризації зовнішніх мембран. Завдяки проведеним дослідженням встановлено, що глутамат, який зазвичай зберігається всередині синаптичних терміналів, переходить у

позаклітинний простір при дефіцито–енергетичному стані, що в результаті призводить до відкриття кальцієвих каналів, пов’язаних з рецепторами N-метил-D-аспартату (NMDA) та рецепторами α -аміно-3-гідрокси-5-метил-4-ізоксазолпропіонової кислоти (AMPA) [45,50].

Патофізіологами встановлено, що енергетично залежні функції клітинних мембран, що підтримують іонний гомеостаз, прогресивно знижується; іони кальцію виходять з клітин у позаклітинний простір, іони натрію і вода входять в клітини, що призводить до цитоплазматичного набряку. Досліджено, що іони кальцію також переміщуються в клітину, де викликають дифункцію мітохондрій і, внаслідок цього, втрату клітинного й іонного гомеостазу (мембранну недостатність). Підвищення внутрішньоклітинного вмісту кальцію обумовлює активацію АТФ-кінази, активацію кальцій-залежних протеаз, фосфоліпаз, порушення фосфорилування білків [45, 51].

Дослідження продемонстрували, що надмірне накопичення в клітинах іонів кальцію і різке посилення окисного процесу викликає синтез оксиду азоту, а порушення балансу між продукцією активних форм кисню (АФК) і здатністю системи антиоксидантного захисту їх елімінувати призводить до розвитку оксидативного стресу. В 2020 році В. Menon, К. Ramalingam, Р. Kumar провели дослідження ролі оксидативного стресу при ІМІ, порівнявши рівні малонового диальдегіду (МДА) 100 хворих з ІМІ і 100 здорових осіб контрольної групи спостереження [52]. МДА був істотно вище у пацієнтів з ІМІ ($7,11 \pm 1,67$), ніж в контролі ($1,64 \pm 0,82$; $p = 0,001$). Доведено, що вироблення АФК стимулюють ішемічні клітини продукувати запальні цитокіни і хемокіни, які збільшують кількість молекул адгезії і викликають рекрутмент периферичних лейкоцитів.

Науковий інтерес представляють результати дослідження D.F. Alfieri, M.F. Lehmann, T. Flauzino et al. (2020), котрі продемонстрували роль цілої низки прозапальних (лейкоцити, СРБ, інтерлейкін-6), окислювальних (гідроксиперекиси ліпідів) та нітрозативних (метаболіти оксиду азоту) біомаркерів стресу, як предикторів важкості перебігу ІМІ [53]. Залучені запальні клітини вивільняють більше цитокінів, матриксних металопротеїназ (ММП),

оксиду азоту і більше АФК. ММП викликають порушення гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ), активацію мікроглії і рекрутування периферичних запальних клітин.

В 2020 році Y. He, Q. Yang, H. Liu et al. опублікували результати дослідження 341 пацієнта, в котрому продемонстрували, що раннє неврологічне погіршення, що достатньо часто визначається після тромболітичної терапії у хворих з ІМІ (в даному дослідженні - 19,06%), істотно пов'язане з рівнями МДА, супероксиддисмутази, ММР-9, оклюдину й аквапорину-4, визначеними через 24 годин після тромболізу. Дані маркери, на думку багатьох науковців, є предикторами ускладнень реоклюзійної терапії, свідчать про активацію процесів окисного стресу, котрий викликає ушкодження ГЕБ при ІМІ [54].

Проведеними на сьогоднішній день дослідженнями встановлено, що наступними етапами "ішемічного каскаду" є експресія генів, поява "віддалених наслідків" ішемії у вигляді реакції місцевого запалення, мікроваскулярних порушень, пошкодження ГЕБ і розвиток некрозу нейронів. Істотний інтерес представляють результати дослідження J. Butler, P. Heidari, S. Blayney et al. (2020), в котрому за допомогою МРТ-візуалізації, визначався відсоток пошкодження ГЕБ при ІМІ. У 58% обстежуваних руйнування ГЕБ не перевищувало 20% поріг. На їх думку можна подовжити тривалість терапевтичного вікна для проведення тромболітичної терапії, понад 4,5 години, виділивши хворих з мінімальним ризиком геморагічних ускладнень (порушення ГЕБ до 20%) [55].

На основі проведеного огляду наукових досліджень, можна виділити основні патогенетичні механізми, що беруть участь у пошкодженні тканин при ІМІ:

– **неспроможність мітохондрій** призводить до виснаження запасів клітинної енергії: це спричиняє подальше енергетичне виснаження і може спричинити загибель клітин внаслідок апоптозу. Ішемія також спричиняє втрату калію та АТФ, які є важливими для обміну енергією. Більшість ІМІ зазвичай не викликають повного припинення кровопостачання, проте навіть часткової оклюзії протягом тривалого періоду достатньо для руйнівної дії через порушення

градієнту іонів та побічних продуктів (молочна кислота, іони водню), анаеробного метаболізму [45].

– **втрата функції мембранного іонного насоса** та шкідливі наслідки цього: ішемія, що призводить до неадекватності енергопостачання на клітинному рівні призводить до порушення функціонування іонного градієнта, що призводить до втрати калію в обмін на іони натрію, хлориду та кальцію. Це супроводжується притоком води та швидкого набряку нейронів і глії (цитотоксичний набряк) [56].

– **вивільнення збудливих нейромедіаторів.** Ішемічний каскад стимулює вивільнення збудливих нейромедіаторів у мозку, а саме глутамату і аспартату. Глутамат життєво важливий для пластичності нейронів; проте надмірне вивільнення у ішемічні ділянки опосередковує ексайтотоксичну синаптичну передачу шляхом активації NMDA-, AMPA-, або каїнітових рецепторів, що збільшує надходження іонів натрію та кальцію. Це катастрофічно впливає на нейрональну мембрану через: використання вже виснажених запасів АТФ у підтримці балансу кальцію; та спричинення неупорядкованої активації широкого спектру ферментних систем (протеази, ліпази та нуклеази). Ці ферменти та їх продукти метаболізму, такі як АФК, пошкоджують клітинні мембрани, генетичний матеріал та структурні білки в нейронах, зрештою, призводять до загибелі клітин [45].

– **утворення вільних радикалів кисню та інших активних форм кисню:** вони взаємодіють і пошкоджують клітинні та позаклітинні елементи, з яких особливо важливий судинний ендотелій. Ушкоджуючий вплив вільних радикалів може реалізовуватись за допомогою окислювально-відновного сигналу, з подальшою ініціацією апоптичного шляху [53].

– **апоптоз:** на відміну від некрозу, що спричиняє загибель клітини в ішемічному ядрі, апоптоз відбувається в периферичних нейронах. Ішемічне пошкодження викликає ранню реакцію на експресію генів Bcl-2 та p53, з подальшим вивільненням проапоптотичних молекул, таких як цитохром С та індукуючий апоптоз фактор мітохондрій. Це призводить до активації каспаз та інших генів, які потенціюють загибель клітин. Каспазний шлях може бути

активований зовнішнім (залежним від рецептора апоптозу) і внутрішнім (незалежним від рецепторів апоптозу, мітохондріальним) шляхами [57].

Багато науковців на сьогоднішній день присвячують свої дослідження вивченню природніх нейропротекторних механізмів, ініційованих розвитком церебральної ішемії, як захист проти апоптичної та некротичної загибелі клітин. До них належать:

- **сімейство генів Bcl-2:** включає антиапоптотичні та проапоптотичні молекули. Антиапоптотичні члени пригнічують вивільнення секвестрованих білків; а також можуть модулювати потоки кальцію та каспазну активацію в ендоплазматичному ретикулумі та інгібування активної форми Вах в мітохондріях [45].

- **білок теплового шоку 70 (HSP70):** HSP 70 є одним із найперших, що вивільняється після ішемічної оклюзії. Його мРНК експресується протягом 1–2 годин ішемії, з подальшою дерегуляцією через 1-2 дні. У тваринних моделях індуктор HSP70, геранілацетон, продемонстрував ефективність у обмеженні обсягу інфаркту. Він також викликає збільшення експресії Bcl-2 та інгібування активації моноцитів / макрофагів . Y. Jiang, R. He, Y. Shi et al. (2020) довели, що екзосоми плазми можуть забезпечувати захист від ішемічного реперфузійного пошкодження шляхом регуляції HSP70, що сприяє зменшенню окислювального стресу та запобігає пошкодженню мітохондрій [58].

- **білок Prion (PrPc):** мРНК PrPc регулюється під час гіпоксії і інгібує Вах-індуковану клітинну смерть у нейронах. Дослідження продемонстрували, що делеція PrPc призводить до зниження постішемічного фосфорилування, посиленої активації каспази-3, з потенціюванням ішемічного нейронального пошкодження у тварин [57].

- **нейротрофін-3 (NT-3):** нейротрофіни є факторами росту, особливо важливими для виживання та підтримки нейронів після ішемії головного мозку . Дослідження на тваринних моделях продемонстрували, що змінена експресія NT-3 після ішемії може бути частиною фізіологічної нейропротекторної реакції після ексайтотоксичного пошкодження. Вчені встановили, що безперервне лікування

низькими дозами NT-3 захищає від нейрональної втрати при легкій гіпоксичній травмі головного мозку у новонароджених. Імовірно, це дозволяє припускати, NT-3 може мати певну терапевтичну користь при ІМІ. Результати дослідження, проведеного D.A. Duricki, S. Drndarski, M. Bernanos (2019) демонструють, що периферична інфузія NT-3 покращує сенсомоторну функцію після ІМІ [59].

– **гранулоцитарно-колонієстимулюючий фактор (G-CSF):** низка досліджень розкрили нейропротекторний потенціал потужного гемопоетичного фактора G-CSF у моделі ІМІ. Результати дослідження J. Modi, J. Menzie-Sudaram, H. Xu et al. (2020) продемонстрували, що G-CSF чинить нейропротекторний вплив при ІМІ за рахунок зменшення мітохондріального стресу і підтримки клітинного гомеостазу за рахунок зниження проапоптичних- і збільшення антиапоптичних білків [60].

– **інтерлейкін-10:** експресія гена IL-10 підвищена при більшості захворювань центральної нервової системи та допомагає виживанню нейронів і гліальних клітин, блокуючи ефекти прозапальних цитокінів і сприяючи експресії сигналів виживання клітин. Дослідження продемонстрували, що після церебральної ішемічної атаки IL-10 може виконувати нейропротекторну роль. Це також підтверджує той факт, при гострих МІ у хворих визначається значне зниження рівня IL-10 у сироватці крові, що свідчить про зниження протизапальних реакцій. Значний інтерес представляють результати метааналізу K. Lv, Y. Yang (2020), котрі демонструють статистичну залежність індивідуальної схильності до розвитку ІМІ від поліморфізму гену IL-10 rs1800896 [61].

Знання патофізіологічних механізмів розвитку ІМІ вкрай важливе для того, щоб відновити тканини мозку, що зазнали ішемічного пошкодження. Нейропротекторні препарати, які знешкоджують активні форми кисню, інгібують ексайтотоксичні нейромедіатори, впливають на апоптоз та інші цереброушкоджуючі процеси, або потенціюють власні механізми відновлення після ішемічного ушкодження, можуть допомогти у досягненні цієї мети.

Проведене дослідження направлене на оцінку впливу досліджувальних комбінацій нейропротекторів на біохімічні показники нейродеструкції та нейрогліопроліферації за експериментального ішемічного інсульту

За показником летальності було відібрано чотири нейропротекторних комплекси(НПК):

НПК №1 (нейротропин + гліятон + ксаврон),

НПК №2 (нейротропин + гліятон + ксаврон + цитиколін),

НПК №3 (нейротропин + церебролізин) та

НПК №4 (цитиколін + гліятон).

Тому, в подальшому було оцінено вплив цих чотирьох комбінацій нейропротекторних засобів на біохімічні показники нейродеструкції та нейрогліопроліферації в сироватці крові щурів за експериментального ішемічного інсульту.

Активність нейродеструкції оцінювали на основі вивчення сироваткового рівня нейронспецифічної енолази (NSE) на різних термінах після моделювання ішемічного інсульту (рис. 1), а також на тлі застосованої терапії (табл. 1).

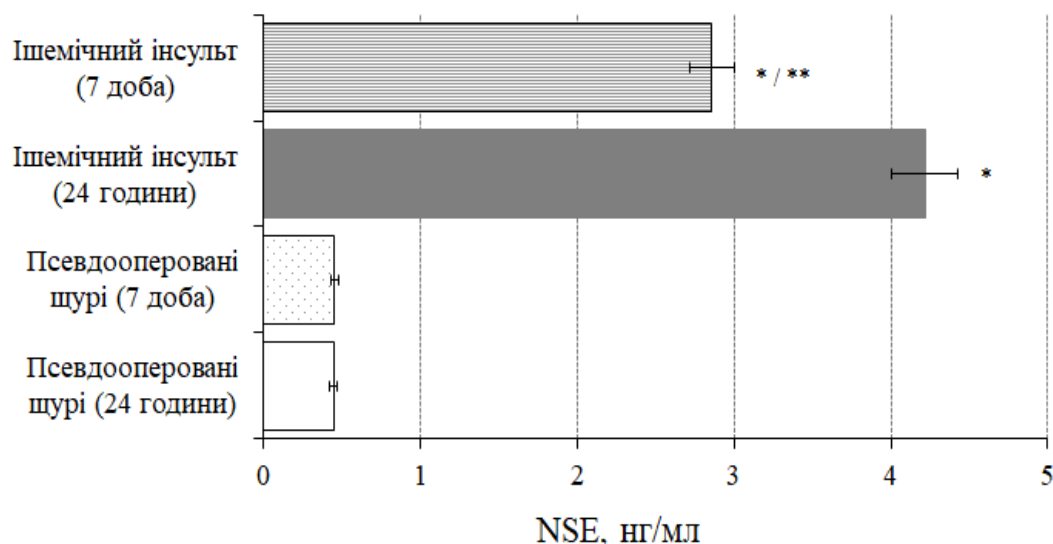


Рисунок 1. Динаміка рівня NSE в сироватці крові щурів на тлі ішемічного інсульту (n=7; $M \pm m$).

Примітки: * - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно відповідної групи псевдооперованих щурів; ** - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) між тваринами з ішемічним інсультом на різних термінах дослідження.

Таблиця 1

Вплив різних комбінацій нейропротекторів на сироватковий рівень NSE у щурів за умов ішемічного інсульту (n=7; M±m)

Групи тварин		NSE, нг/мл	
		Термін дослідження	
		24 години	7 доба
1	Псевдооперовані тварини	0,450±0,028	0,458±0,030
2	Ішемічний інсульт + 0,9 % NaCl (контрольна патологія)	4,22±0,19*	2,86±0,17*§
3	Ішемічний інсульт + НПК №1	2,26±0,13*#	1,34±0,08*#§
4	Ішемічний інсульт + НПК №2	2,07±0,11*#	1,19±0,09*#§
5	Ішемічний інсульт + НПК №3	3,20±0,17*#&	2,37±0,14*#&§
6	Ішемічний інсульт + НПК №4	3,05±0,15*#&	2,15±0,11*#&§

Примітки:

1. * - достовірність відмінностей ($p<0,05$) відносно відповідної групи псевдооперованих тварин;
2. # - достовірність відмінностей ($p<0,05$) відносно відповідної групи тварин з контрольною патологією;
3. & - достовірність відмінностей ($p<0,05$) відносно відповідної групи тварин з ішемічним інсультом, які отримували НПК №1
4. § - достовірність відмінностей ($p<0,05$) між різними термінами дослідження в межах групи

Виявилось, що у псевдооперованих тварин рівні NSE в сироватці крові через 24 години та на 7 добу експерименту були низькими і вірогідно не відрізнялись між собою. Так, у псевдооперованих тварин через добу після початку експерименту сироватковий вміст NSE коливався в межах 0,371-0,531 нг/мл (P_5 - P_{95}), а на 7 добу – 0,343-0,531 нг/мл (P_5 - P_{95}).

За експериментального ішемічного інсульту реєструвалось вірогідне зростання вмісту NSE в сироватці крові. Так, через добу після моделювання інсульту сироватковий вміст NSE за середнім показником зростав в 9,4 рази ($p<0,001$), порівняно з відповідною групою псевдооперованих тварин. За цих умов показник медіани сироваткового рівня NSE становив 4,21 нг/мл, а інтерквартильний інтервал (P_{25} - P_{75}) – 3,91-4,51 нг/мл. Станом на 7 добу після ішемічного інсульту зростання NSE в сироватці крові було вірогідно меншим (6,2 рази, $p<0,001$): показник медіани становив 4,21 нг/мл, а інтерквартильний інтервал (P_{25} - P_{75}) – 3,91-4,51 нг/мл.

Застосовані комбінації нейропротекторів з різною ефективністю зменшували нейродеструкцію на тлі ішемічного інсульту (табл. 1). За умов використання комбінації НПК №1 сироватковий вміст NSE був достовірно меншим на 46,5 % (через 24 години) та 53,2 % (станом на 7 добу) порівняно з відповідними показниками у тварин з контрольною патологією. У групі тварин, які отримували комбінацію НПК №2, вміст NSE у сироватці крові був вірогідно меншим на 50,9 % (через 24 години) та 58,4 % (станом на 7 добу) відносно відповідної групи тварин без лікування. Використання комбінацій нейропротекторів НПК №3 та НПК №4 показало найменшу здатність зменшувати нейродеструкцію у тварин на тлі ішемічного інсульту. Так, в групі тварин «Ішемічний інсульт + НПК №3» через 24 години після моделювання інсульту сироватковий вміст NSE був достовірно меншим на 24,2 % ($p<0,05$), а станом на 7 добу – на 17,1 % ($p<0,05$) відносно показників нелікованих тварин. За використання НПК №4 протягом 1 доби та 6 діб після моделювання інсульту показник рівня NSE в сироватці крові був вірогідно меншим відповідно на 27,7 та 24,8 % ($p<0,05$) порівняно з групою контрольної патології.

Наступним кроком було проведення порівняльної оцінки нейроцитопротективної дії (за відносною динамікою сироваткового рівня NSE станом через 24 год після моделювання інсульту, коли активність нейродеструкції максимальна) чотирьох досліджуваних комбінацій нейропротекторів за експериментального ішемічного інсульту (рис. 2). Встановлено, що за ішемічного інсульту найбільшу цитопротекторну активність виявляла комбінація НПК №2, їй дещо поступалась комбінація НПК №1. Найменша нейропротекторна активність була зафіксована у комбінацій НПК №3 та №4 – за здатністю зменшувати сироватковий рівень NSE на тлі ішемічного інсульту ці комбінації нейропротекторів в 1,4-1,5 рази ($p<0,05$) поступались комбінаціям НПК №1 та №2.

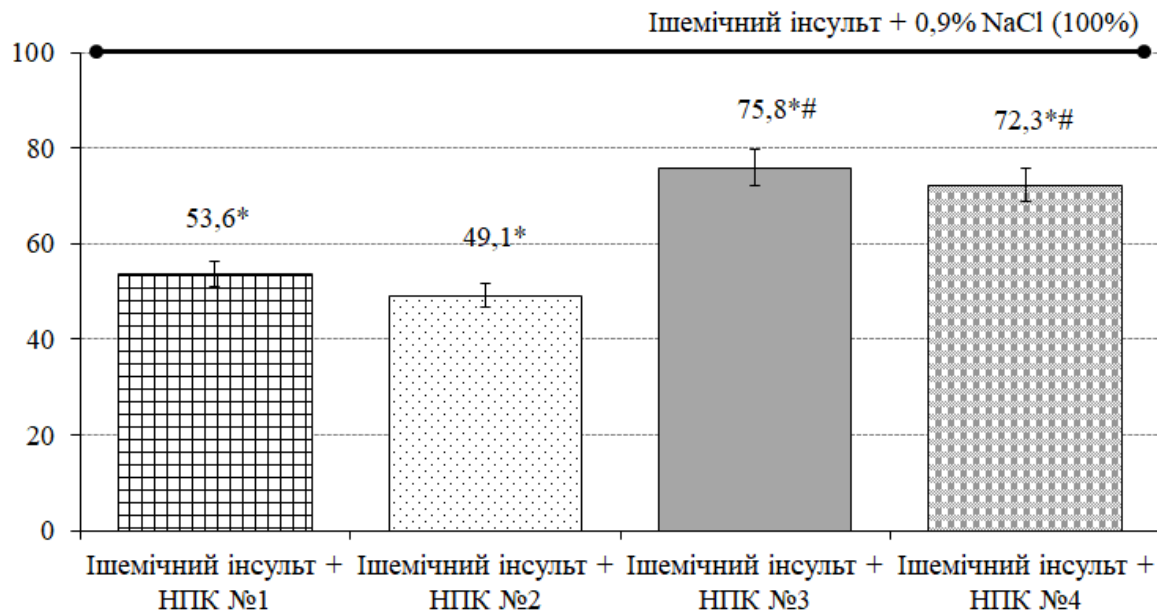


Рисунок 2. Відносна динаміка рівня NSE в сироватці крові у щурів на тлі ішемічного інсульту під впливом різних комбінацій нейротропних засобів станом через 24 години (n=7; M±m).

Примітки: * - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно тварин з контрольною патологією; # - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно тварин з ішемічним інсультом, які отримували НПК №1; 100% - рівень показника в групі «Ішемічний інсульт + 0,9% NaCl» (контрольна патологія).

В подальшому було оцінено зміни вмісту білка S100 в сироватці крові щурів за ішемічного інсульту (рис. 3). Встановлено, що у псевдооперованих тварин сироваткові рівні білка S100 через добу та 6 діб експерименту були низькими та статистично достовірно не відрізнялись між собою: станом на 2 добу сироватковий вміст білка S100 знаходився у діапазоні 0,531-0,743 нг/мл (P_5 - P_{95}), а станом на 7 добу – 0,577-0,712 нг/мл (P_5 - P_{95}).

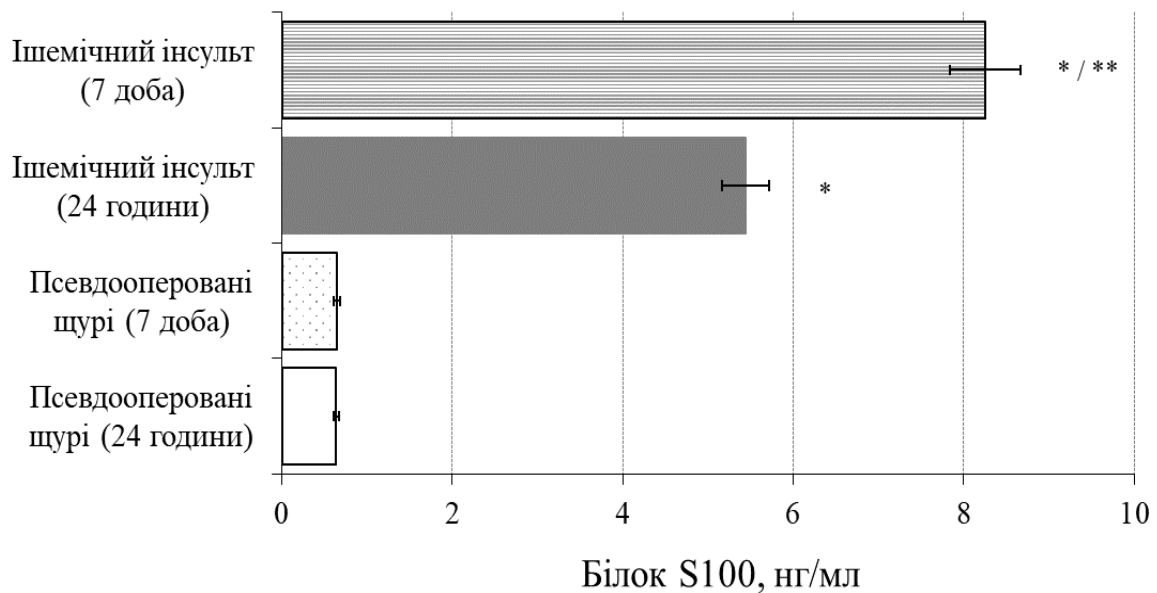


Рисунок 3. Динаміка рівня білка S100 в сироватці крові щурів на тлі ішемічного інсульту (n=7; $M \pm m$).

Примітки: * - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно відповідної групи псевдооперованих щурів; ** - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) між тваринами з ішемічним інсультом на різних термінах дослідження.

Моделювання ішемічного інсульту у щурів супроводжувалось вірогідним зростанням рівня білка S100 в сироватці крові вже через 24 години після початку експерименту, що є свідченням нейродеструкції, та продовжувало збільшуватись до 7 доби внаслідок активації процесів нейрогліопроліферації. Станом на 2 добу експерименту середній показник сироваткового вмісту білка S100 зростав в 8,6 рази ($p < 0,001$), порівняно з відповідною групою псевдооперованих тварин. За цих умов показник медіани сироваткового рівня білка S100 становив 5,25 нг/мл, а інтерквартильний інтервал ($P_{25}-P_{75}$) – 4,97-5,89 нг/мл. Станом на 7 добу після ішемічного інсульту вміст білка S100 в сироватці крові був вірогідно більшим в 1,5 рази порівняно з попереднім терміном дослідження: показник медіани становив 8,09 нг/мл, а інтерквартильний інтервал ($P_{25}-P_{75}$) – 7,99-8,64 нг/мл.

Використання досліджуваних комбінацій нейропротекторів спричиняло зменшення нейродеструкції на ранніх етапах, а також зниження активності нейрогліопроліферації на більш пізніх етапах після моделювання ішемічного

інсульту у щурів, однак їх ефективність залежала від обраної комбінації (табл. 2). Застосування шурам на тлі ішемічного інсульту комбінації НПК №1 спричиняло достовірне зменшення сироваткового вмісту білка S100 на 46,5 % (через 24 години) та 53,2 % (станом на 7 добу) порівняно з відповідними показниками у тварин з контрольною патологією. У групі тварин, які отримували комбінацію НПК №2, вміст білка S100 у сироватці крові був статистично достовірно меншим на 40,3 % (через 24 години) та 38,9 % (станом на 7 добу) відносно відповідної групи тварин без лікування.

Таблиця 2

Вплив різних комбінацій нейропротекторів на сироватковий рівень білка S100 у щурів за умов ішемічного інсульту (n=7; M±m)

Групи тварин		Білок S100, нг/мл	
		Термін дослідження	
		24 години	7 доба
1	Псевдооперовані тварини	0,636±0,033	0,644±0,020
2	Ішемічний інсульт + 0,9 % NaCl (контрольна патологія)	5,44±0,22*	8,25±0,29*§
3	Ішемічний інсульт + НПК №1	3,25±0,15*#	5,04±0,23*#§
4	Ішемічний інсульт + НПК №2	2,98±0,16*#	4,69±0,26*#§
5	Ішемічний інсульт + НПК №3	4,78±0,19*#&	7,04±0,23*#&§
6	Ішемічний інсульт + НПК №4	4,27±0,21*#&	6,61±0,25*#&§

Примітки:

1. * - достовірність відмінностей ($p<0,05$) відносно відповідної групи псевдооперованих тварин;
2. # - достовірність відмінностей ($p<0,05$) відносно відповідної групи тварин з контрольною патологією;
3. & - достовірність відмінностей ($p<0,05$) відносно відповідної групи тварин з ішемічним інсультом, які отримували НПК №1
4. § - достовірність відмінностей ($p<0,05$) між різними термінами дослідження в межах групи.

За умов застосування тваринам комбінацій цитопротекторів НПК №3 та НПК №4 активність нейродеструкції та нейрогліопроліферації були вищими ніж за використання комбінацій НПК №1 та НПК №2. У групі тварин «Ішемічний інсульт + НПК №3» через 24 години після моделювання ішемічного інсульту сироватковий вміст білка S100 був достовірно меншим на 12,1 % ($p<0,05$), а

станом на 7 добу – на 14,7 % ($p<0,05$) відносно показників у нелікованих тварин. У тварин групи «Ішемічний інсульт + НПК №4» через 1 добу та 6 діб після моделювання ішемічного інсульту показник рівня білка S100 в сироватці крові був вірогідно меншим відповідно на 21,5 та 31,2 % ($p<0,05$) порівняно з групою контрольної патології.

В подальшому був проведений аналіз відносної динаміки рівня білка S100 в сироватці крові у щурів на тлі ішемічного інсульту під впливом різних комбінацій нейротропних засобів станом на 7 добу, коли активність нейрогліопроліферативних процесів є високою (рис. 4).

Виявилось, що комбінація НПК №3 виявляє найменший вплив на активність нейрогліопроліферації за ішемічного інсульту. Використання комбінації НПК №4 виявляє більш потужний інгібуючий вплив на нейрогліопроліферацію порівняно з комбінацією НПК №3. Найбільш ефективними комбінаціями щодо здатності стримувати гіперактивацію процесів нейрогліопроліферації зафіксовано у комбінацій НПК №1 та НПК №2, які за вказаним ефектом у 1,3-1,5 рази ($p<0,05$) перевершували комбінації нейропротекторів НПК №3 та №4.

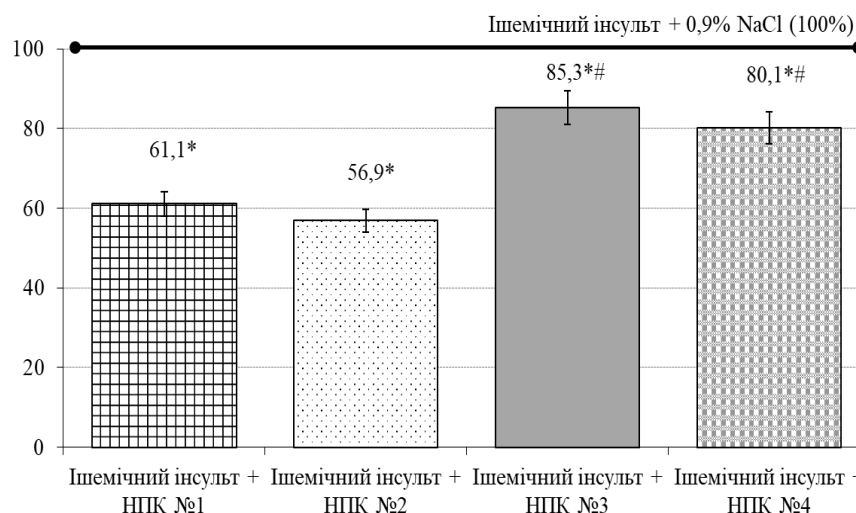


Рисунок 4. Відносна динаміка рівня білка S100 в сироватці крові у щурів на тлі ішемічного інсульту під впливом різних комбінацій нейротропних засобів станом на 7 добу ($n=7$; $M\pm m$).

Примітки: * - достовірність відмінностей ($p<0,05$) відносно тварин з контрольною патологією; # - достовірність відмінностей ($p<0,05$) відносно тварин з ішемічним інсультом, які отримували НПК №1; 100% - рівень показника в групі «Ішемічний інсульт + 0,9% NaCl» (контрольна патологія).

Таким чином, проведене скринінгове дослідження нейроцитопротекторних властивостей чотирьох різних комбінацій нейропротекторів при експериментальному ішемічному враженні головного мозку за динамікою сироваткових рівнів біохімічних маркерів нейродеструкції та нейрогліопроліферації (NSE та білка S100) в гострому періоді дозволило виявити найбільш ефективні комбінації.

Було показано, що за нейропротекторною активністю, а саме за ступенем зниження вмісту NSE та білка S100 в сироватці крові на тлі експериментального ішемічного інсульту у щурів досліджувані комбінації нейропротекторних засобів можна розташувати наступним чином:

$$\text{НПК №2} \geq \text{НПК №1} > \text{НПК №4} \geq \text{НПК №3}.$$