Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького
Кафедра анестезиологии, реаниматологии и неонатологии

Способ оценки нейропротекции на основе динамики нейроспецифических белков

д.м.н., зав.кафедрой
Колесников А.Н.

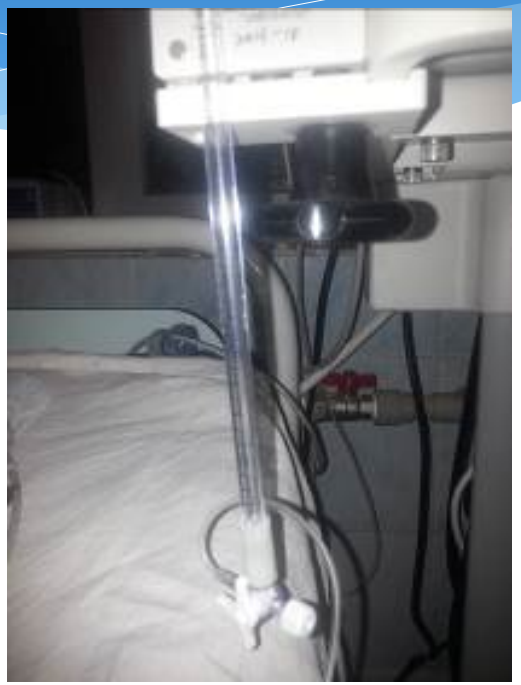
2017

Нейропротекция- это

1. САД = (2(ДАД)+САД)/3 = инфузия
2. ЦПД= САД – ВЧД (не меньше 70 мм рт.ст)
3. ИВЛ/ВИВЛ (SP02 не ниже 95-97%)
4. Уровень гликемии (исключить гипо)
5. Гипотермия

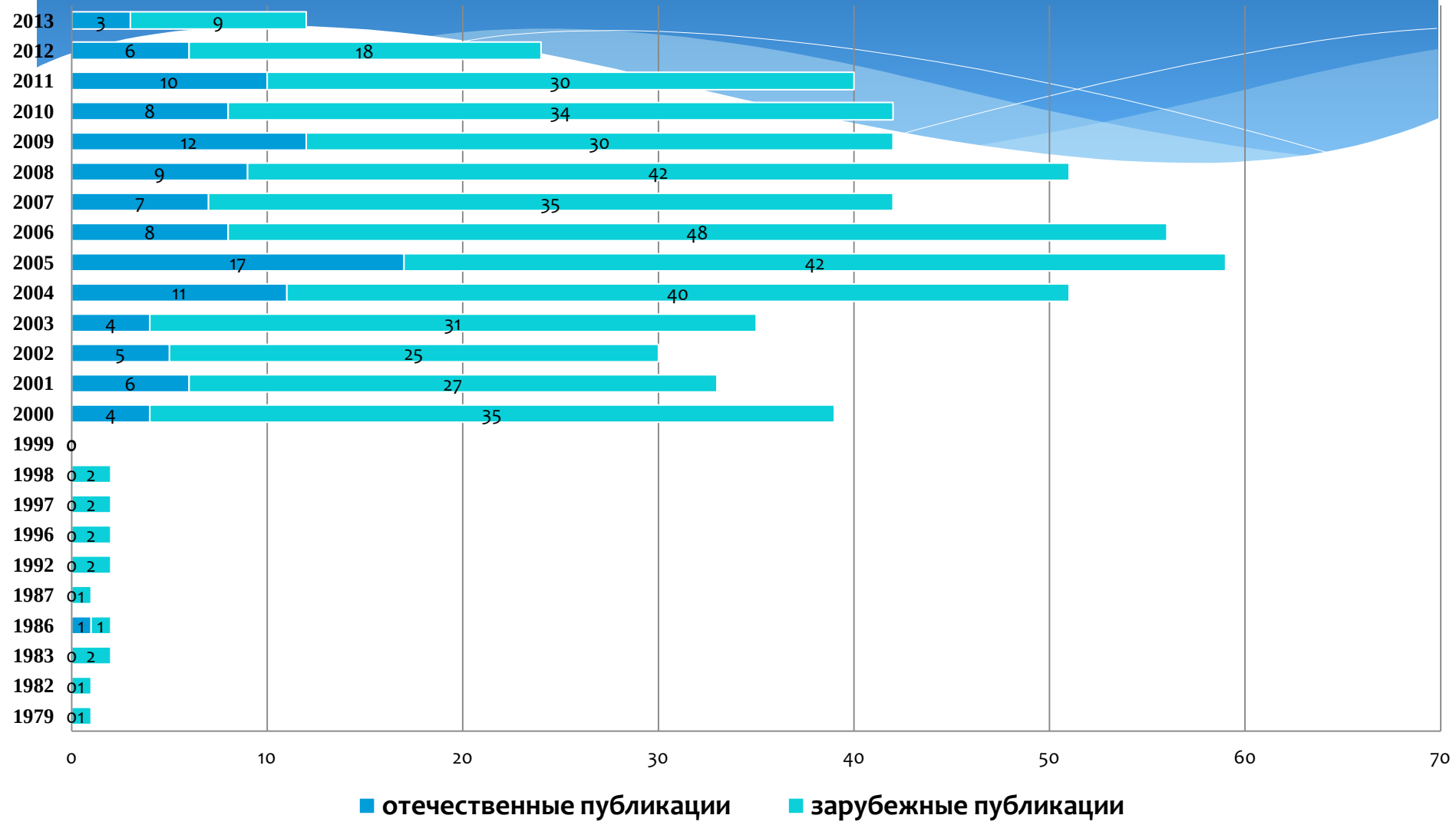
LMA | Classic™

Контроль ВЧД, даже «когда нет ничего»



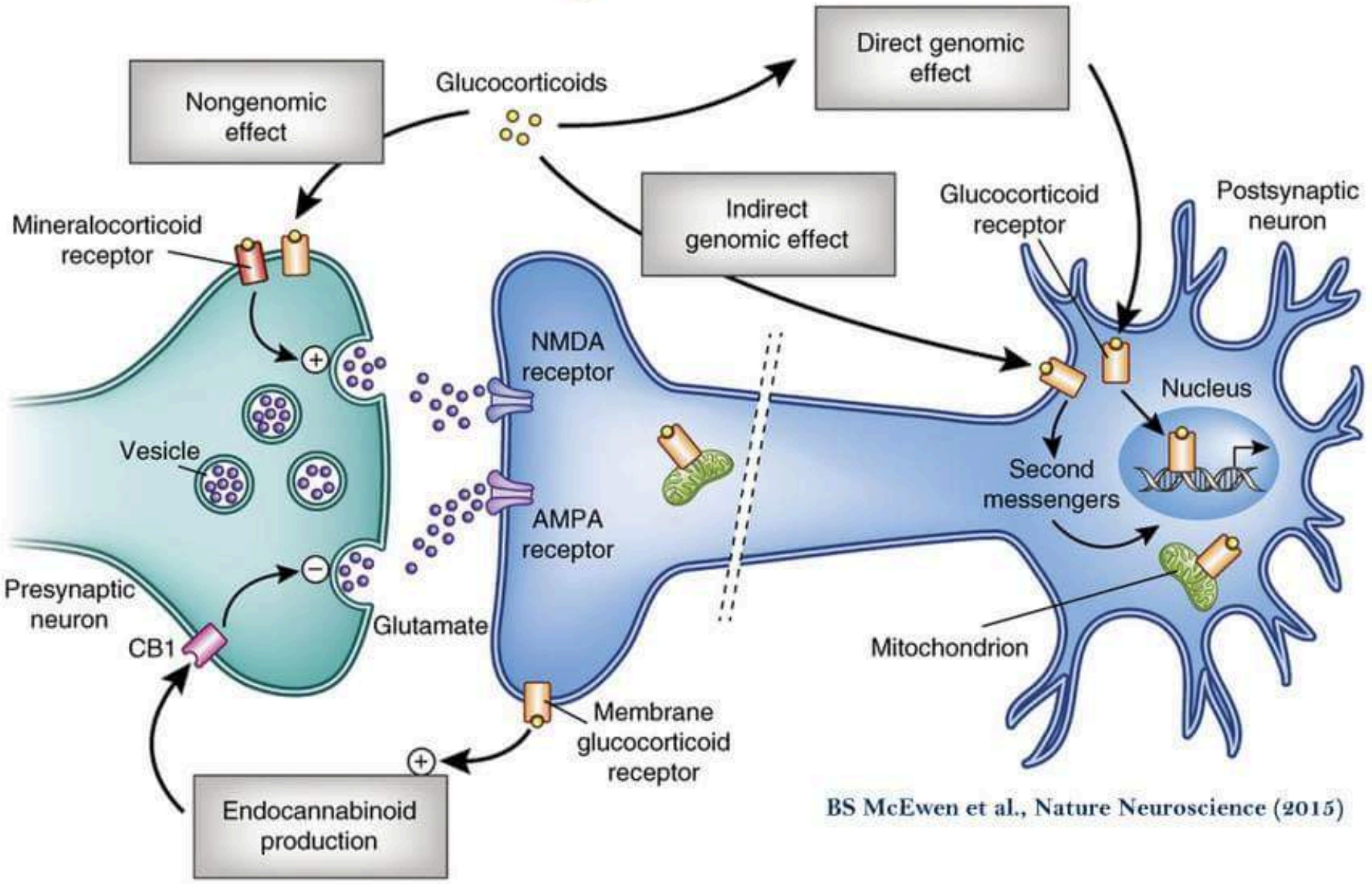
Системы для контроля ЦВД + дренирование боковых желудочков головного мозга = система контроля ВЧД

Итоги литературного поиска по проблеме (более 500 публикаций)



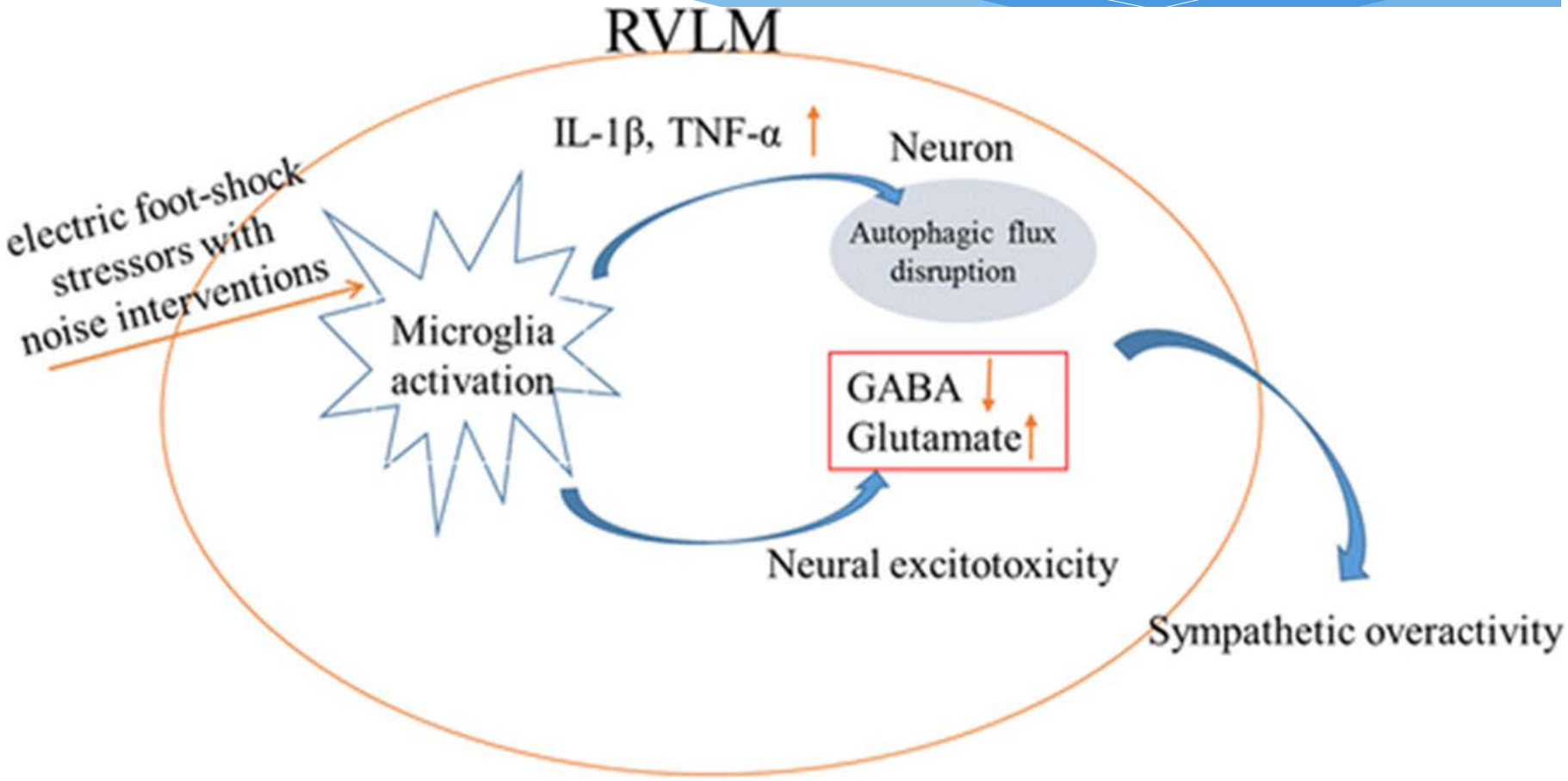
Эволюция публикаций о блокады NMDA и антиглутаматного действия препаратов для анестезии (кетамин, ксенон, клонидин, дексмедетомедин и др.)

Mechanisms of stress in the brain



BS McEwen et al., Nature Neuroscience (2015)

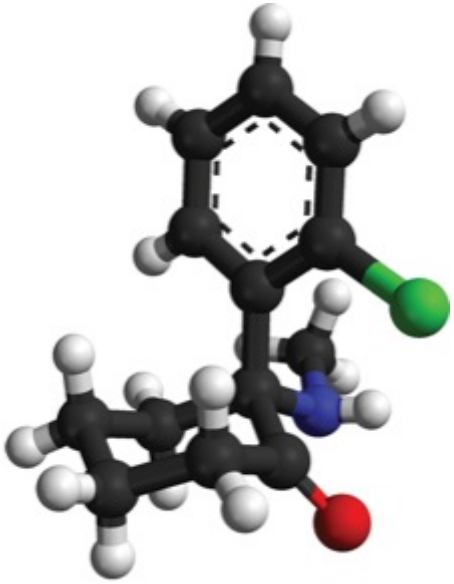
Иммунные медиаторы стресса



BMC Anesthesiology

Fu et al. BMC Anesthesiology (2017) 17:111
DOI 10.1186/s12871-017-0404-5

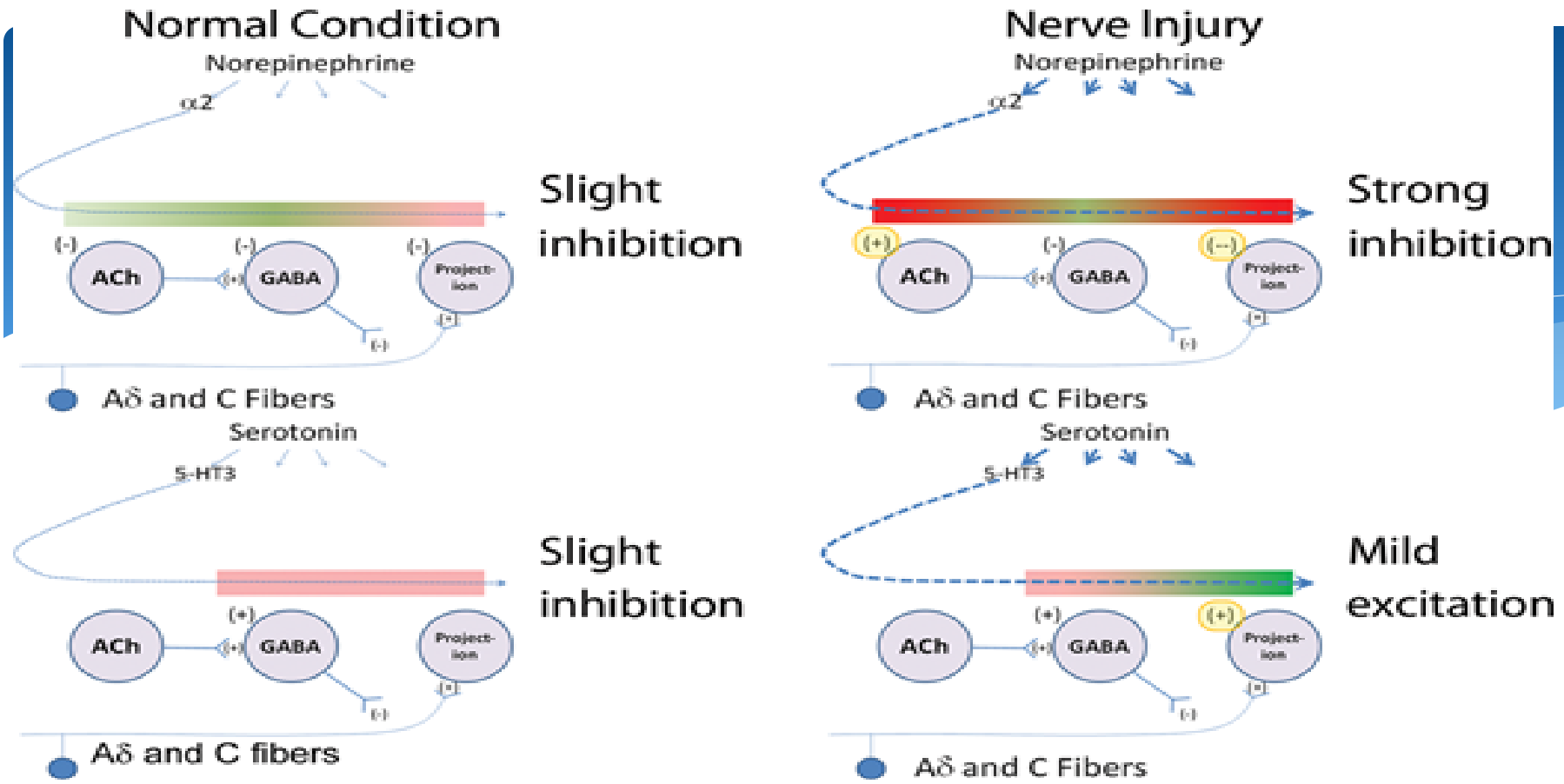
RESEARCH ARTICLE Open Access Ketamine attenuates the glutamatergic neurotransmission in the ventral posteromedial nucleus slices of rats



* Пресинаптическое высвобождение глутамата модулирует возбуждающую нейротрансмиссию через nmda-и ampa-рецепторы [29].
* Кетамин является зависимым от активации NMDA-R блокатором канала. Кетамин, вероятно, смягчает глутаматергическую нейротрансмиссию через блокирование постсинаптических nmda рецепторов в нейронах
* Кетамин подавляет активность глутаматергической нейротрансмиссии в основном через постсинаптическое действие и распространение импульсов, участвующих в процессе.

АКТУАЛЬНОСТЬ

* Эффекты кетамина выводят его на роль нового адъюванта в нейроанестезиологии [22-23], что связано с тем, что он является агонистом α- и β-адренергических рецепторов, антагонистом мускариновых рецепторов ЦНС, агонистом s-опиоидных рецепторов, агонистом AMPA-рецепторов, взаимодействует с μ-опиодными рецепторами и блокирует обратный захват катехоламинов, обладает выраженной способностью снижать уровни TNF и IL6 [23], способен предотвращать действия эндогенных возбуждающих аминокислот типа глутамата и аспартата, имеет нейропротекторные свойства в ишемизированном мозге.
* В субнаркотических дозах (0,5-0,25 мг) подавляет острую и хроническую боль повышает эффективность опиоидных анальгетиков при общей анестезии, предупреждает гипералгезию, дрожь, рвоту после операции, принципиальным является ограничение дозы (0,05 мг/кг/час, 0,25-0,3 мг/кг и до 125 мг/сутки) и длительности использования кетамина (до 72 часов).



Чистый эффект а2-адренорецепторов и 5-гидрокситриптамина-3 (5-НТ3) рецепторов на ноцицептивную передачу в нормальных условиях (слева) и в условиях повреждения (справа)

ANESTHESIOLOGY
The Journal of the American Society of Anesthesiologists, Inc.

From: Ondansetron Reverses Antihypersensitivity from Clonidine in Rats after Peripheral Nerve Injury:Role of γ-Aminobutyric Acid in α2-Adrenoceptor and 5-HT3 Serotonin Receptor Analgesia

Anesthes. 2012;117(2):389-398. doi:10.1097/ALN.0b013e318260d381

O'Sullivan and Dev *Journal of Neuroinflammation* (2017) 14:159
DOI 10.1186/s12974-017-0932-4

Journal of Neuroinflammation

RESEARCH Open Access

The chemokine fractalkine (CX3CL1) attenuates H_2O_2-induced demyelination in cerebellar slices

Sinead A. O'Sullivan and Kumlesh K. Dev*

Abstract

Background: Fractalkine/CX3CR1 signalling has been implicated in many neurodegenerative and neurological diseases of the central nervous system (CNS). This signalling pathway plays an important role in regulating reactive oxygen species (ROS), as well as itself being altered in conditions of oxidative stress. Here, we investigated the effects of recombinant fractalkine (rCX3CL1) in models of hydrogen peroxide (H_2O_2)-induced demyelination and astrocyte toxicity, within organotypic cerebellar slice cultures.

Methods: Organotypic cerebellar slice cultures were generated from postnatal day 10 C57BL/6J mice to assess myelination. Immunohistochemistry was used to measure the degree of myelination. Fluorescent images were obtained using a leica SP8 confocal microscope and data analysed using ImageJ software.

Results: We show here, for the first time, that rCX3CL1 significantly attenuated bolus H_2O_2-induced demyelination as measured by expression of myelin basic protein (MBP) and attenuated reduced vimentin expression. Using the GOX-CAT system to continuously generate low levels of H_2O_2 and induce demyelination, we observed similar protective effects of rCX3CL1 on MBP and MOG fluorescence, although in this model, the decrease in vimentin expression was not altered.

Conclusions: This data indicates possible protective effects of fractalkine signalling in oxidative stress-induced demyelination in the central nervous system. This opens up the possibility of fractalkine receptor (CX3CR1) modulation as a potential new target for protecting against oxidative stress-induced demyelination in both inflammatory and non-inflammatory nervous system disorders.

Keywords: Fractalkine, CX3CL1, GOX-CAT, Hydrogen peroxide, demyelination

Background

Fractalkine (CX3CL1) and its receptor, fractalkine receptor (CX3CR1), are constitutively expressed in the central nervous system. This is in contrast to most other chemokines, whose expression in the brain is only detected during inflammation [1–3]. One of the unique features of fractalkine is its ability to exist as both a membrane-tethered adhesion molecule and as a soluble chemotactic ligand [4]. In naive rodent brains, CX3CR1 has been localised to microglia [1, 5] and shown to be expressed intracellularly by neurons [5]. Fractalkine is shown to be localised to neurons [1, 5] and astrocytes [5, 6]. It is thought that fractalkine expression in the brain is an important mediator of neuronal-glial communication. It is also thought to play a homeostatic role in normal physiological functions with the ability to regulate immune responses during times of injury [7, 8].

Several studies provide evidence of neurotoxic insults increasing the expression of fractalkine on neurons and astrocytes as well as increased microglial migration [9–11]. In the rodent experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) model for multiple sclerosis (MS), an increase in astrocytic levels of fractalkine was observed at sites of inflammation, while neuronal fractalkine remained unchanged. Microglial CX3CR1 expression has also been reported to be increased around active demyelinating lesions [12]. Further experiments suggest that fractalkine

* Correspondence: devk@tcd.ie
Drug Development, School of Medicine, Trinity College Dublin, Dublin, Ireland

АКТУАЛЬНОСТЬ

- В последнее время появились публикации о нейродегенеративном влиянии пропофола в условиях ишемии головного мозга [14 - 18], что поставило вопрос о его влиянии на нейрокогнитивные функции у пациентов.
* Использование оксибата натрия с одной стороны отражает концепцию «нестандартной анестезиологии» Анри Лабори [11], а с другой, позволяет использовать возможности воздействия на ГАМК-рецепторы с достижением гипнотического и мощного антигипоксического эффекта. Оксибат натрия активизирует метаболический путь, известный как "пентозный шунт", который играет огромную роль в процессах синтеза белков [12], в том числе и в ЦНС, стимулируя нейрорегенераторные процессы [13].

Цель исследования

Выявление степени нейропротективного или нейродегенеративного воздействия различных видов внутривенной анестезии.

Разработка способа оценки нейропротекции на основе динамики нейроспецифических белков (белок S-100 (глиальный), цилиарный нейротрофический фактор (нейроны и глия) (CNTF)), с расчетом коэффициента нейрорегенерации.

Дизайн исследования

Организация основного исследования	Экспериментальное проспективное многоцентровое открытое исследование
Экспериментальная часть исследования 2006-2007 гг.	Разработка авторской экспериментальной модели ВЧГ с локальной окклюзией IV желудочка (хроническая ВЧГ). Оценка влияния стандартных схем ТВВА и модифицированных вариантов анестезии на неврологические осложнения и летальность у крыс с хронической ВЧГ и острой ВЧГ (модель ТЧМТ).
Клиническая часть исследования 2003-2015 гг.	Выделение 4 клинических моделей ВЧГ для взрослых и детей. Определение «нормы реакции на стресс» с выявлением возрастных особенностей – группа без ВЧГ. Ретро- и проспективное изучение интра- и послеоперационных осложнений. Разработка и многоцентровое применение модифицированных вариантов анестезии и интенсивной терапии.

Клиническая часть

Разделение пациентов в группах (взрослые, n=658)

Признаки формирования подгрупп	I. Группы исследования									
	1		2		3		4		5	
	Без ВЧГ (бВЧГ)		С синдромом ВЧГ							
			Хроническая ВЧГ						Острая ВЧГ	
			ГГС		СубТНО		СупраТНО		ТЧМТ	
Количество пациентов	78		55		135		168		222	
Тип анестезии*	1.1	1.2	2.1	2.2	3.1	3.2	4.1	4.2	5.1	5.2
Количество пациентов	31	47	31	24	70	65	80	88	113	109

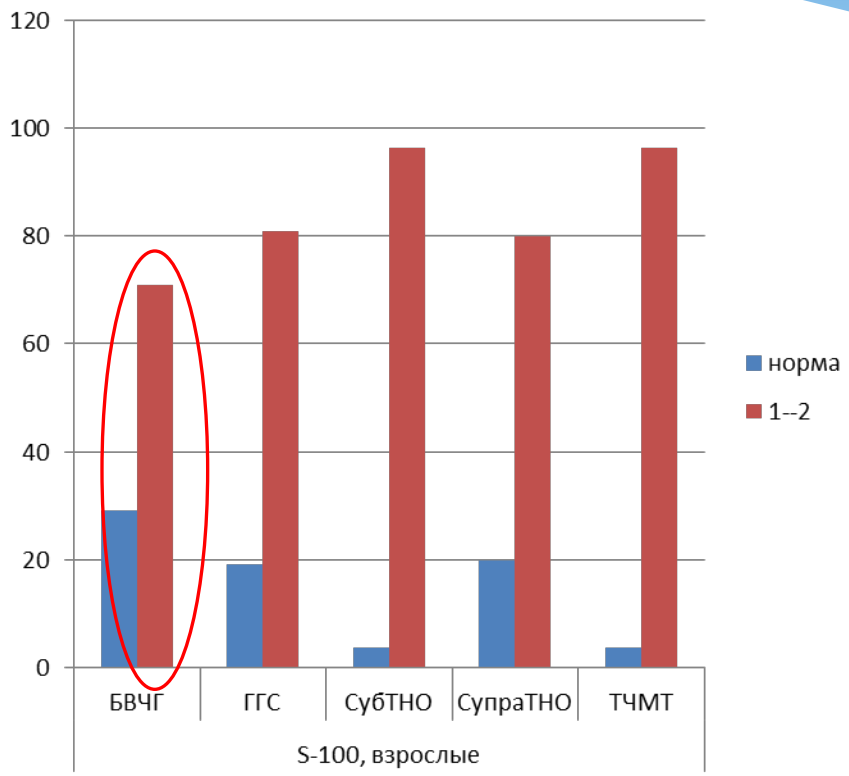
Примечание. 1.1 – 5.1 – тип анестезии стандартный (СА);
1.2. – 5.2 – тип анестезии модифицированный (МА).

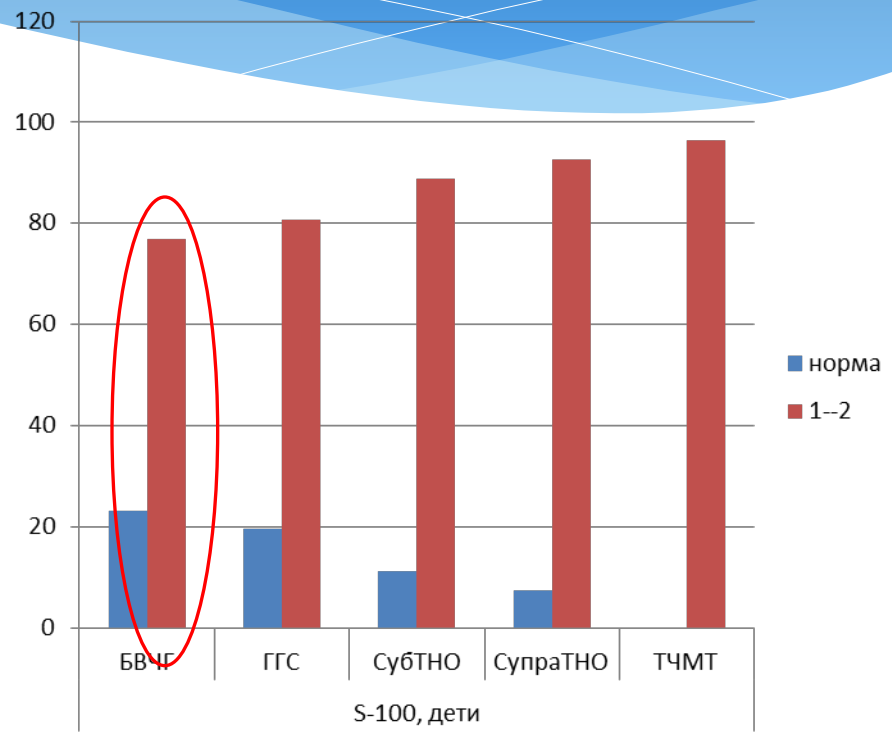
Разделение пациентов в группах (дети, n=464)

Признаки формирования подгрупп	I. Группы исследования									
	1		2		3		4		5	
	Без ВЧГ (бВЧГ)		С синдромом ВЧГ							
			Хроническая ВЧГ						Острая ВЧГ	
			ГГС		СубТНО		СупраТНО		ТЧМТ	
Количество пациентов	87		165		59		56		97	
Тип анестезии*	1.1	1.2	2.1	2.2	3.1	3.2	4.1	4.2	5.1	5.2
Количество пациентов	24	63	31	125	13	46	19	47	41	56

Примечание. 1.1 – 5.1 – тип анестезии стандартный (СА);
1.2. – 5.2 – тип анестезии модифицированный (МА).

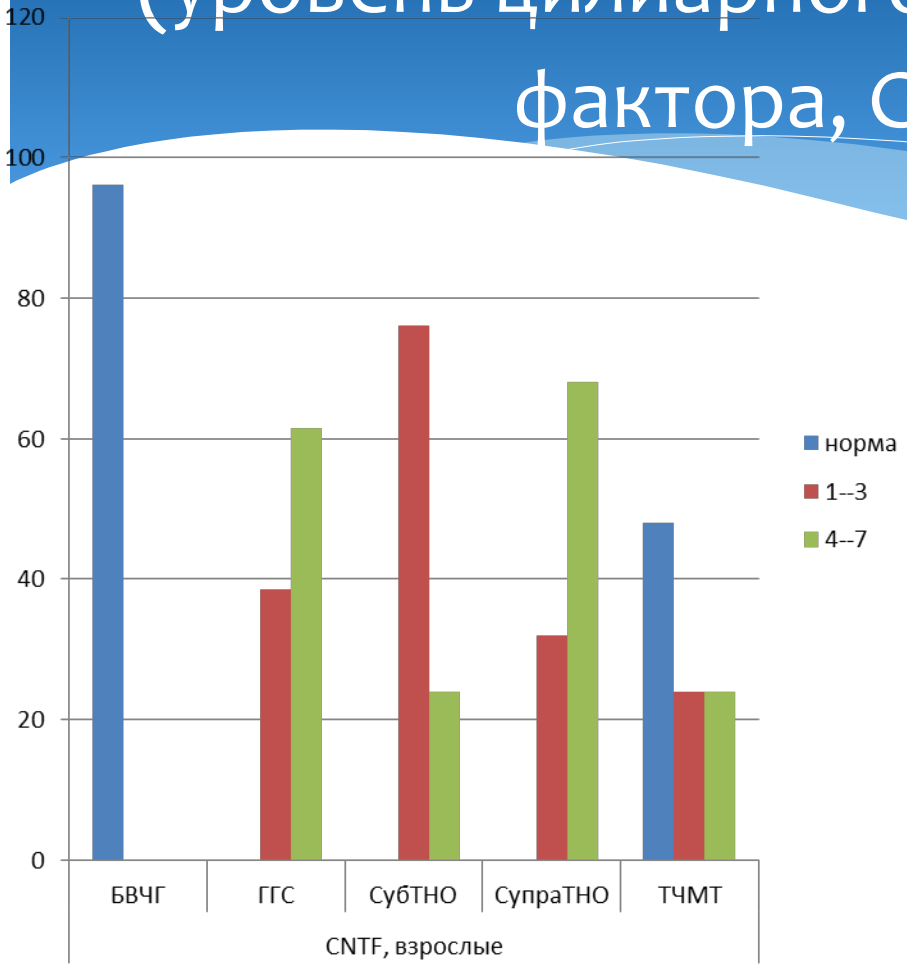
Степень нейродегенерации (уровень белка S-100, пг/мл)

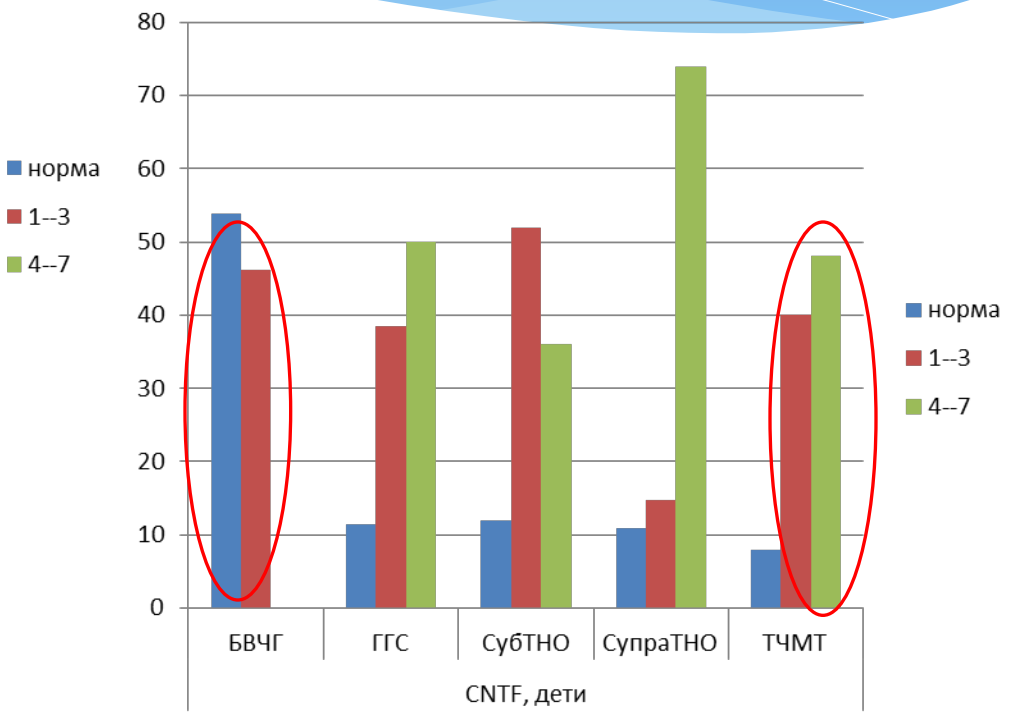




Даже в группах без патологии ЦНС (группа бВЧГ) уровень белка S – 100 в % демонстрировал превышение, характеризуя степень дегенерации нейроглии вследствие стресса

Степень нейрорегенерации (уровень цилиарного нейротрофического фактора, CNTF, пг/мл)





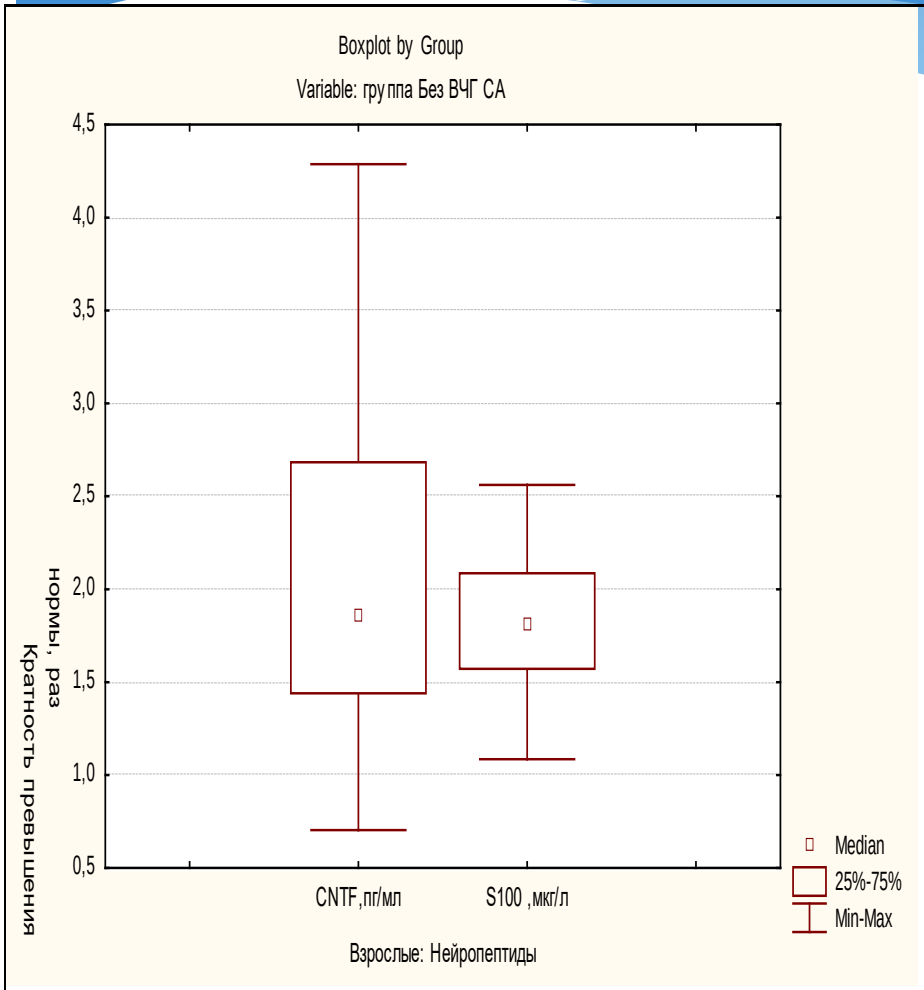
Защитное повышение уровня CNTF в % выявлено во всех группах, демонстрируя степень регенерации нейроглии в ответ на повреждение. В группе детей выявлен высокий нейрорегенеративный потенциал в группах бВЧГ и ТЧМТ.

Виды анестезии в исследовании

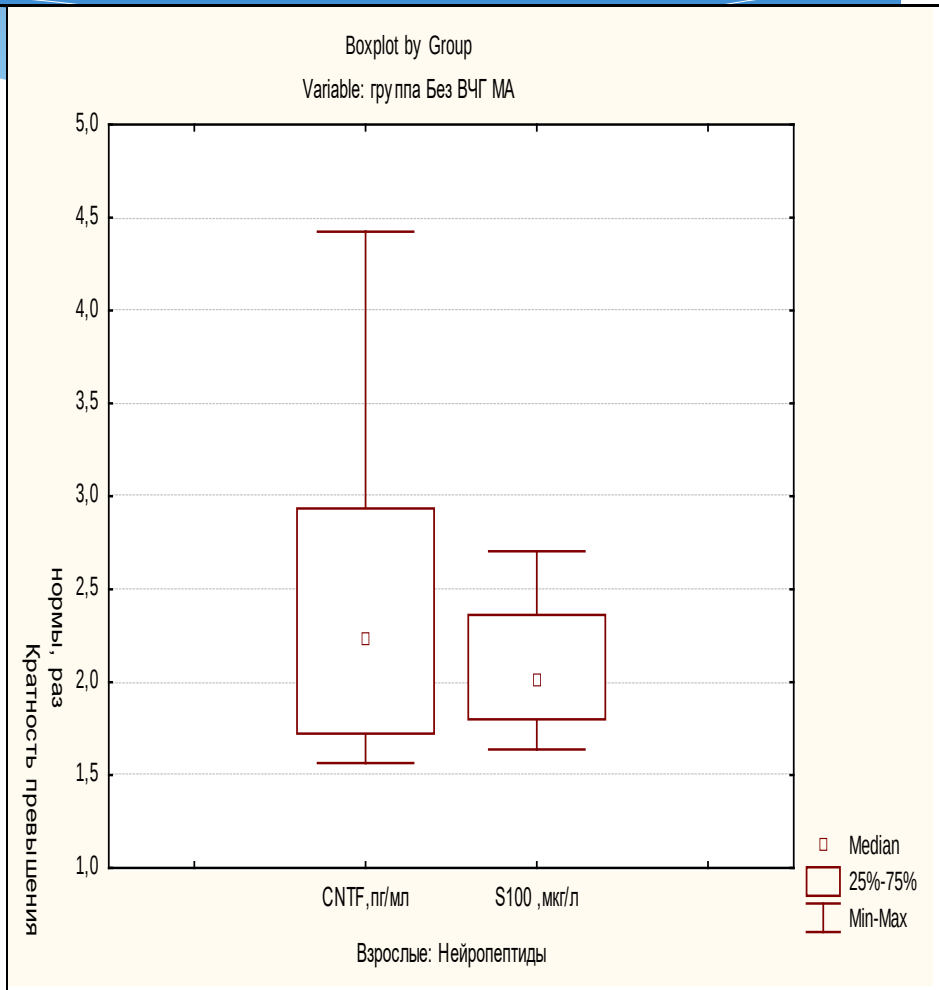
Группа I со стандартной анестезией (группа СА).

* *В группе со стандартной анестезией (СА)* вводная анестезия проводилась пропофолом 1% – 1,5-2,5 мг/кг, фентанилом 0,005% – 3-7 мкг/кг. Базис анестезия при СА включала в себя: пропофол 1% (4-12 мг/кг/ч) в сочетании с фентанилом (1-3 мкг/кг/ч). Препараты вводились перфузором, при необходимости скорость введения изменялась.
* **Группа I I с модифицированной анестезией (группа МА).**
* Как вариант вводной анестезии внутривенно вводили клофелин 0,01% 1-2 мкг/кг, фентанил 0,005% – 2-2,5 мкг/кг (с учетом потенцирования клофелином и кетамином), кетамин 0,5% – 0,2– 0,3мг/кг, для достижения базовой седации использовали натрия оксибат 20% – 20 мг/кг (как правило в дозе 20-50 мг/кг/час, до достижения целевого показателя BIS 40-45). Базис анестезия включала в себя: постоянное введение фентанила 0,005% – 1-1,5 мкг/кг/час, кетамина 0,5% – 0,05-0,25 мг/кг/час (с редукцией общей дозы до 125 мг), клофелина 0,01% – 0,5-1,2 мкг/кг/час, натрия оксибата 20-50 мг/кг/час.
* Снижение базовой дозы фентанила стало возможным, благодаря использованию адъювантов в виде клофелина и кетамина, при необходимости увеличивали скорость фентанила до 3 мкг/кг/мин

Динамика изменения средних значений нейроспецифичных белков (уровня белка S100 (степень нейродегенерации) и CNTF (степень нейрорегенерации) у взрослых во всех группах исследования (а – после операции, стандартная анестезия, б – после операции, модифицированная анестезия, где 1 – средние значения нормальных показателей)

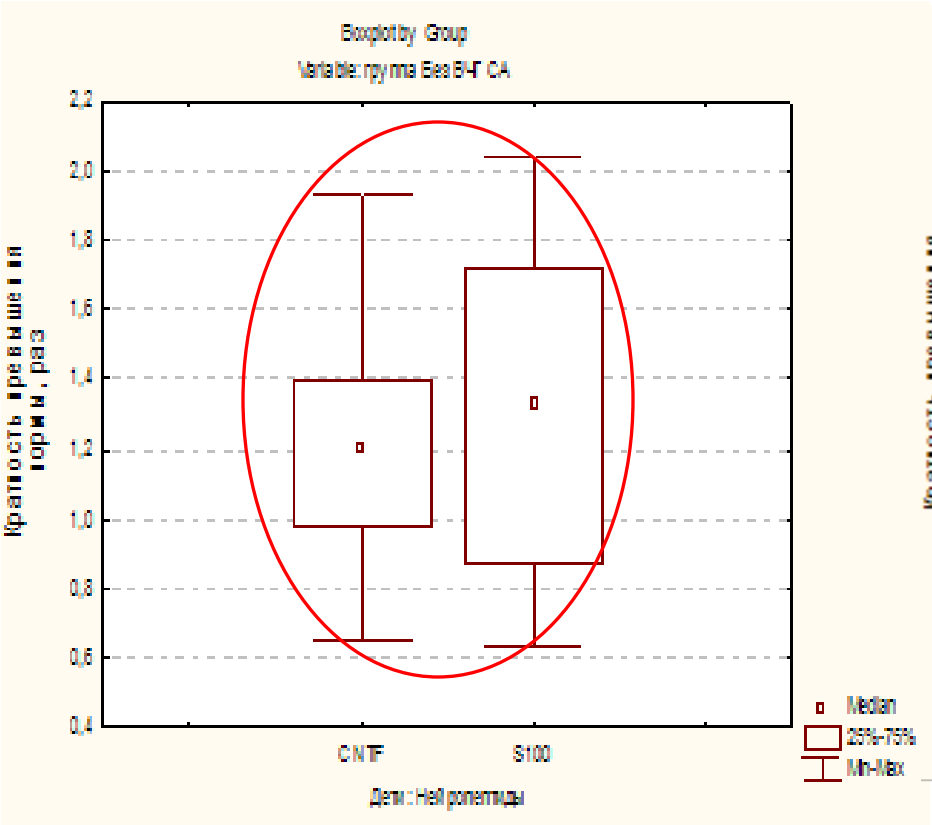


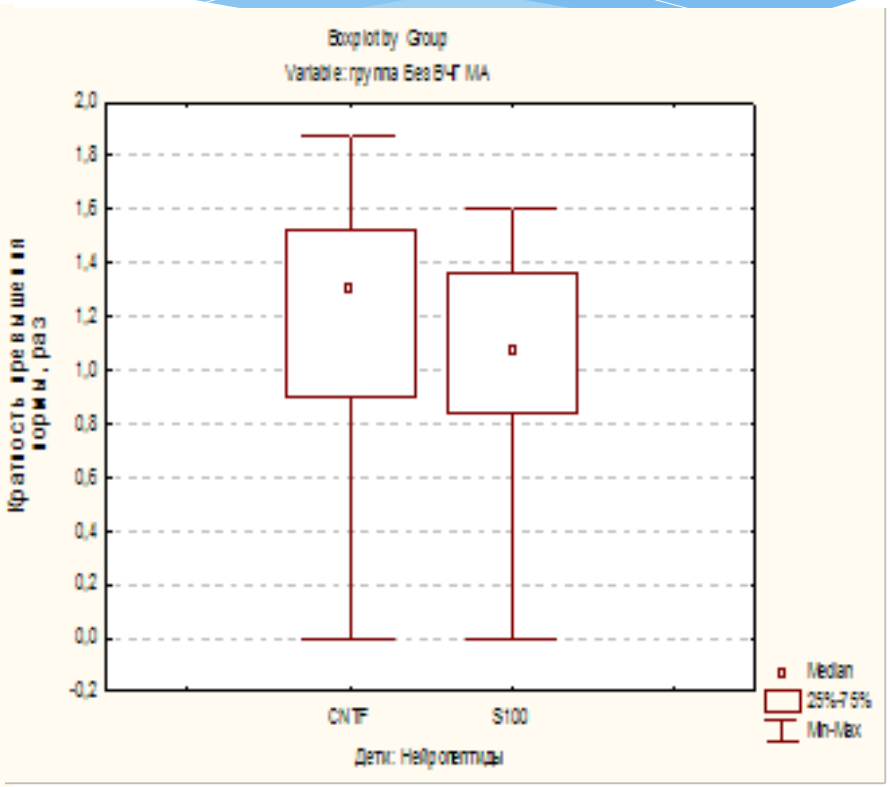
а.



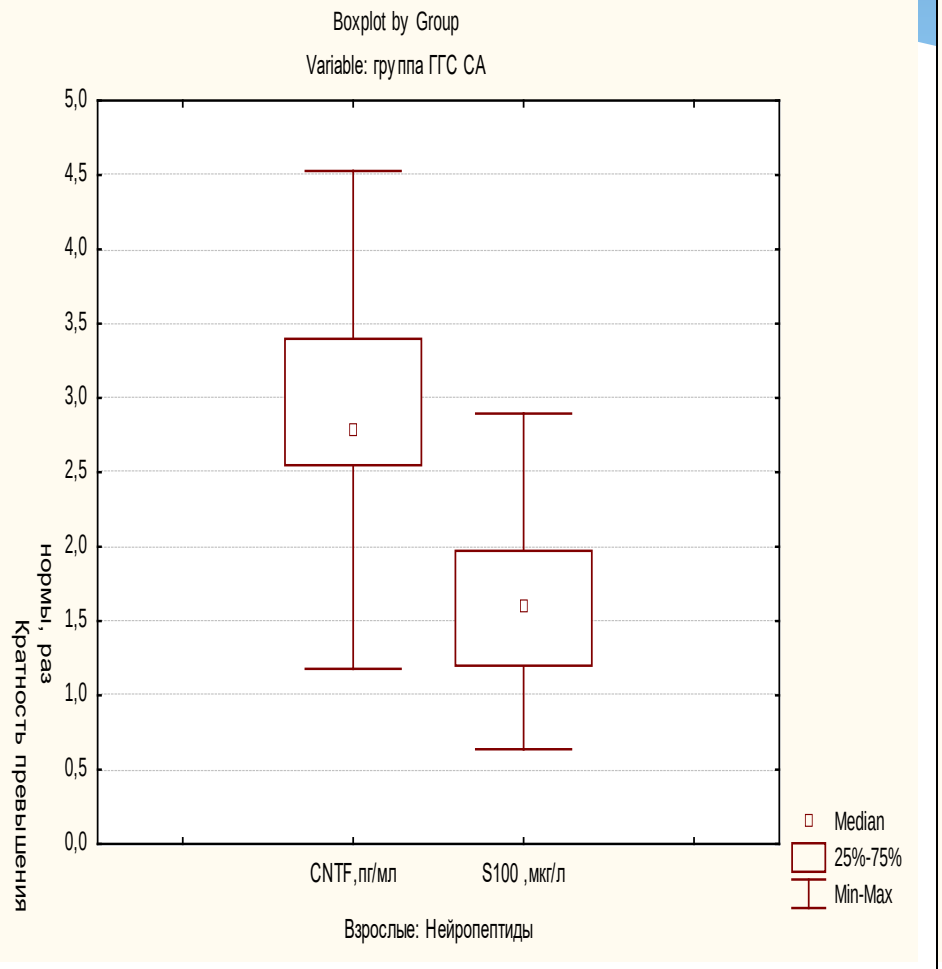
б.

Динамика изменения средних значений нейроспецифичных белков (уровня белка S100 (степень нейродегенерации) и CNTF (степень нейрорегенерации) у детей во всех группах исследования (а – после операции, стандартная анестезия, б – после операции, модифицированная анестезия, где 1 – средние значения нормальных показателей)

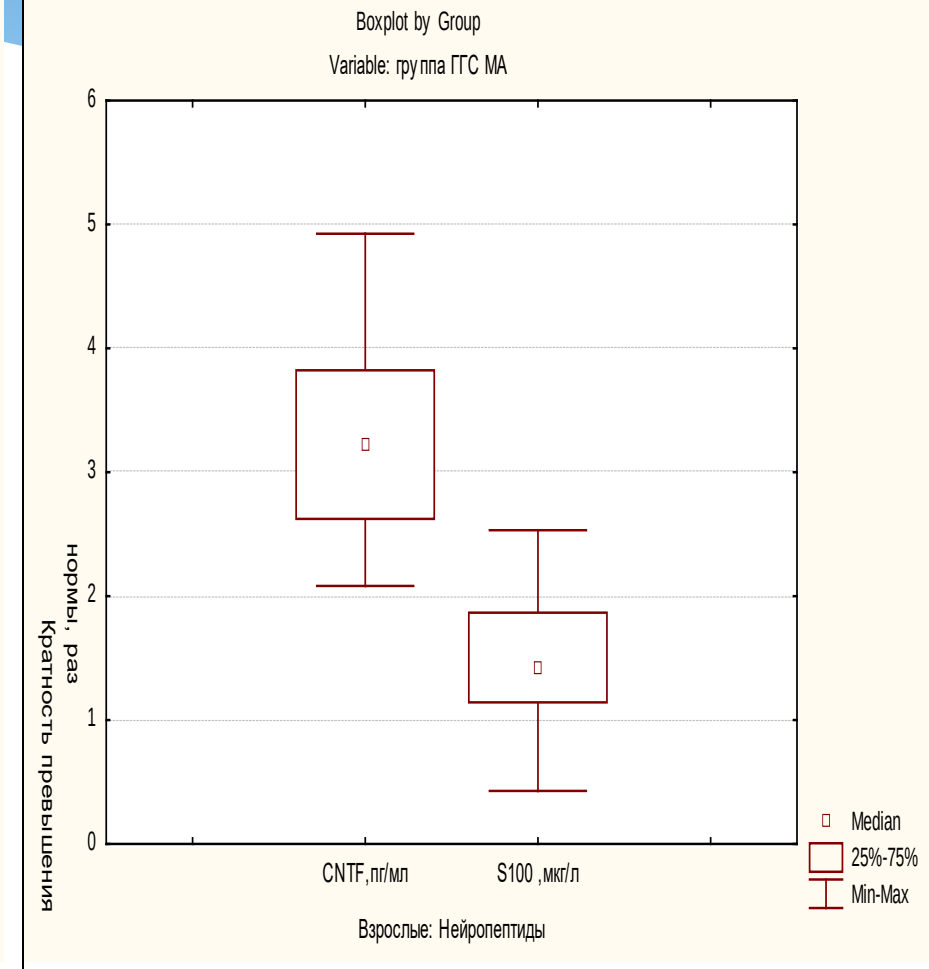




Динамика изменения средних значений нейроспецифичных белков (уровня белка S100 (степень нейродегенерации) и CNTF (степень нейрорегенерации) у взрослых во всех группах исследования (а – после операции, стандартная анестезия, б – после операции, модифицированная анестезия, где 1 – средние значения нормальных показателей)

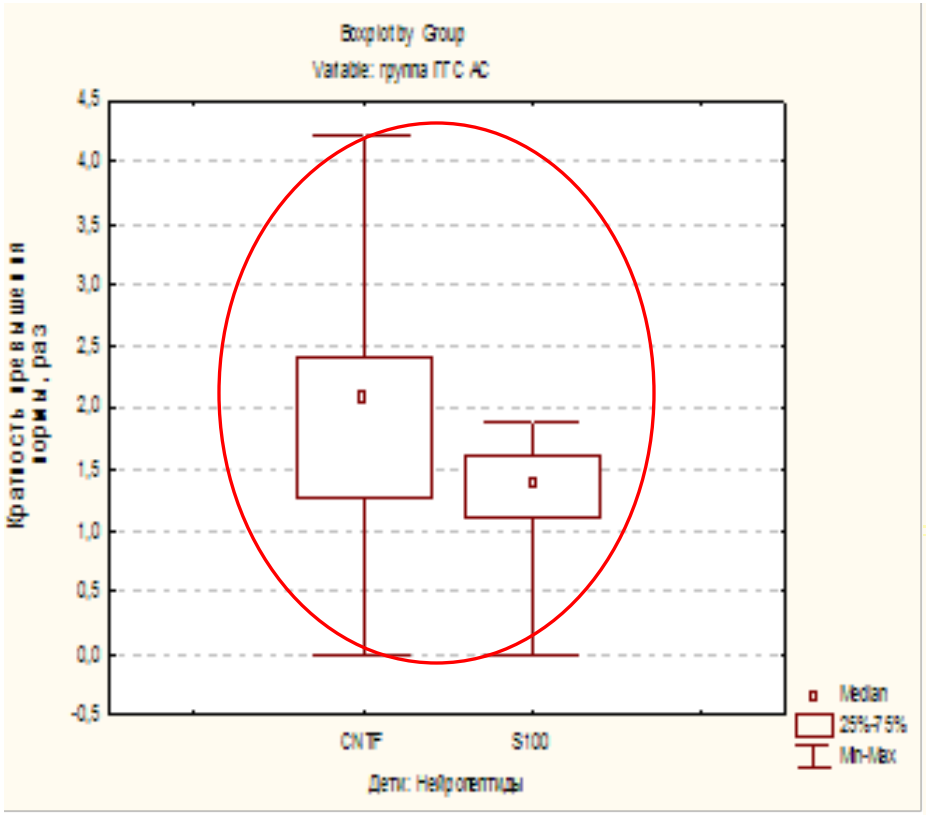


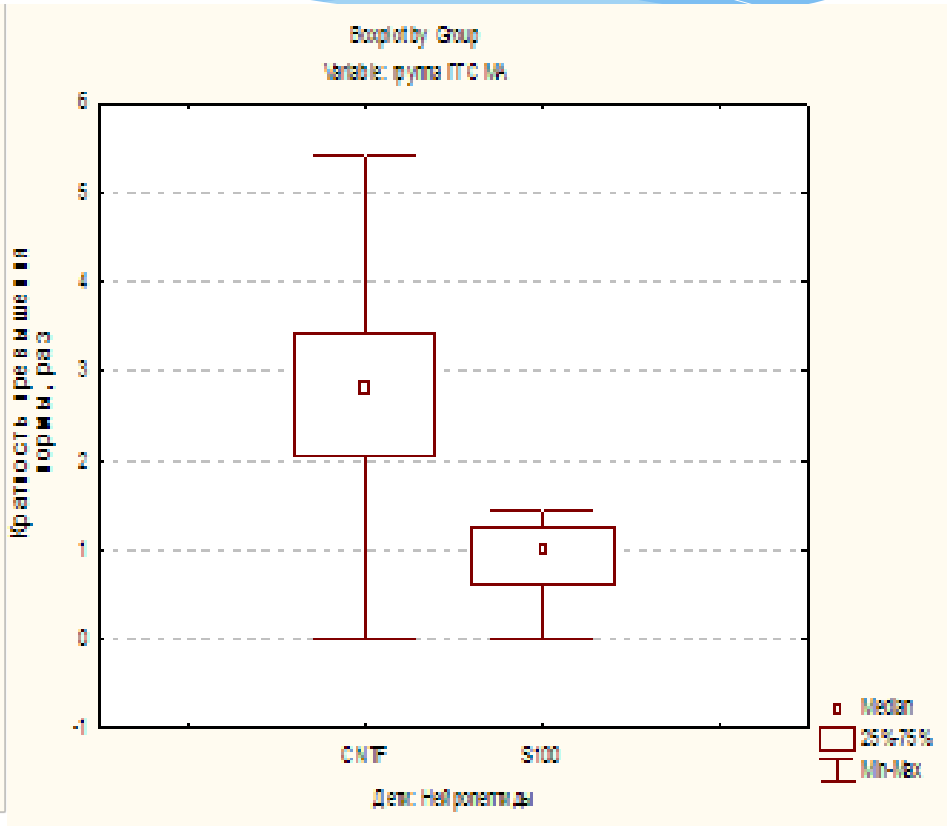
а.



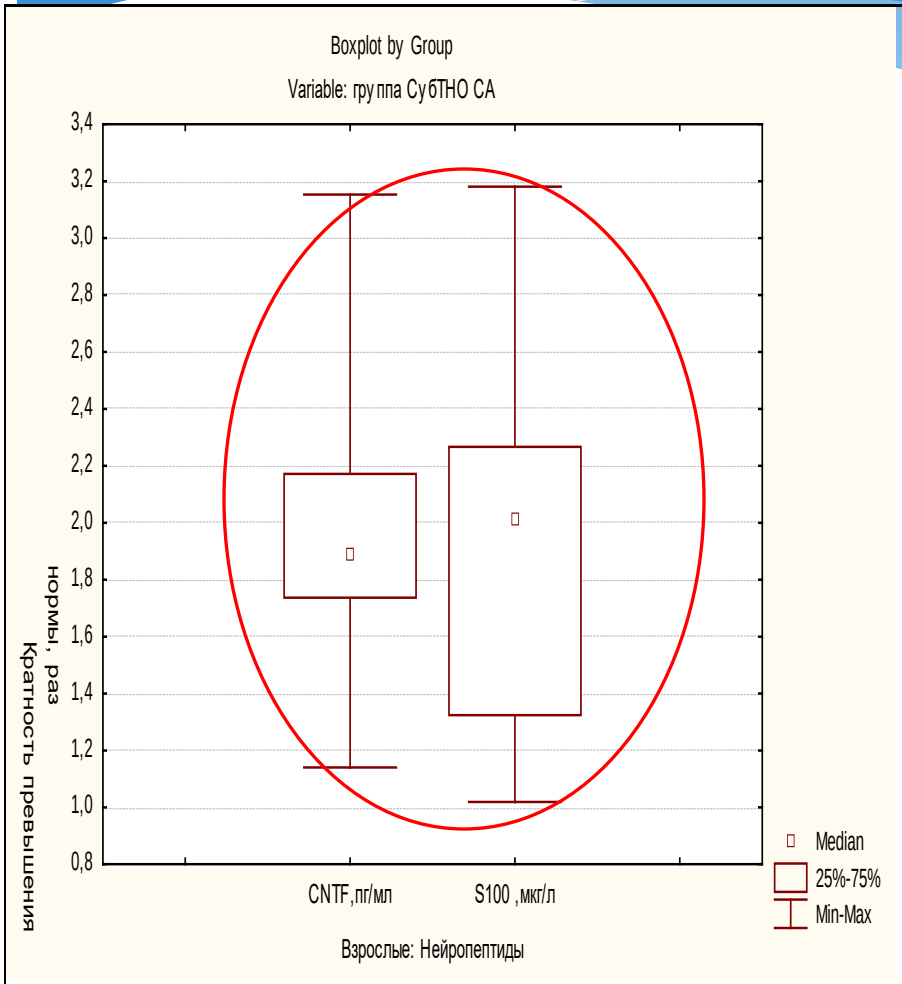
б.

Динамика изменения средних значений нейроспецифичных белков (уровня белка S100 (степень нейродегенерации) и CNTF (степень нейрорегенерации) у детей во всех группах исследования (а – после операции, стандартная анестезия, б – после операции, модифицированная анестезия, где 1 – средние значения нормальных показателей)

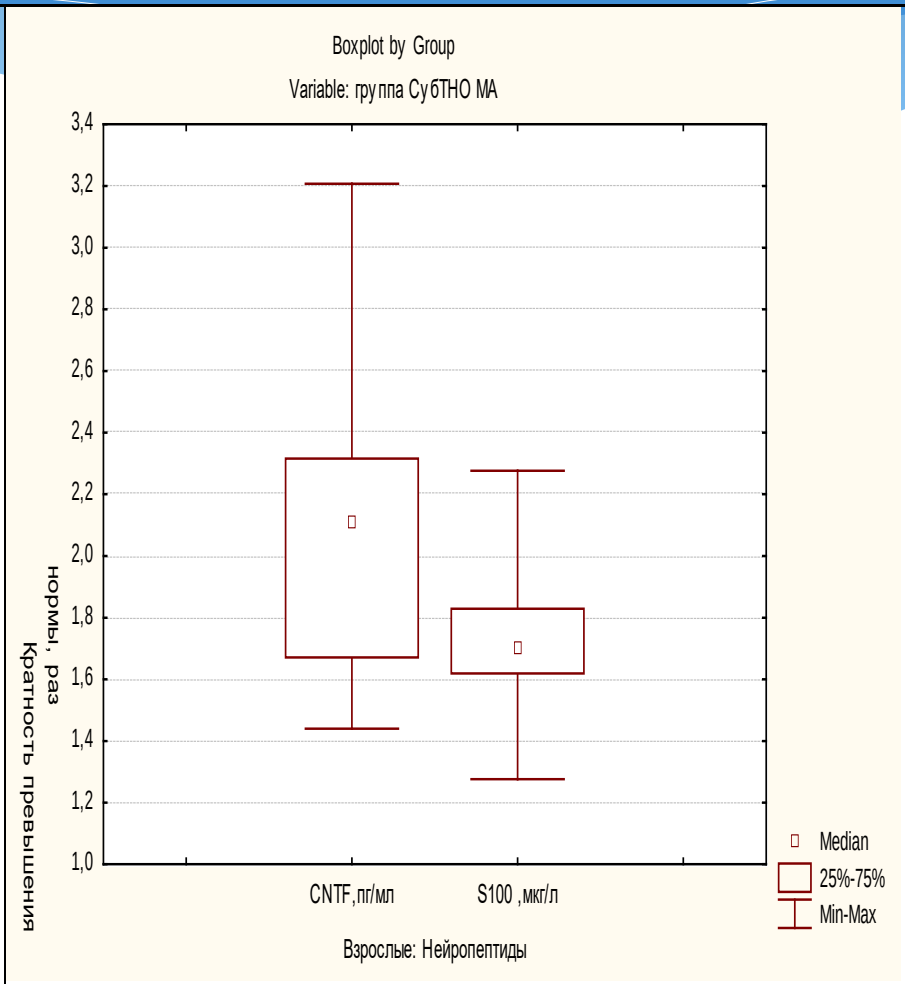




Динамика изменения средних значений нейроспецифичных белков (уровня белка S100 (степень нейродегенерации) и CNTF (степень нейрорегенерации) у взрослых во всех группах исследования (а – после операции, стандартная анестезия, б – после операции, модифицированная анестезия, где 1 – средние значения нормальных показателей)

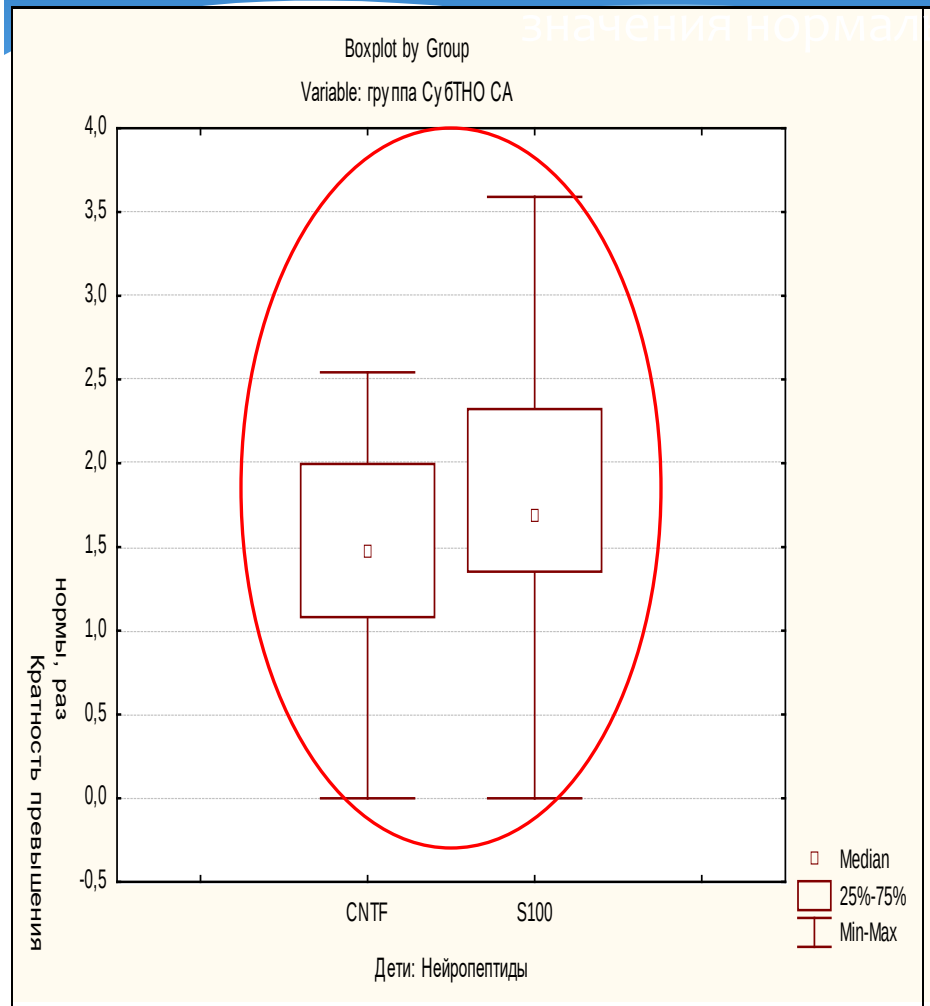


а.

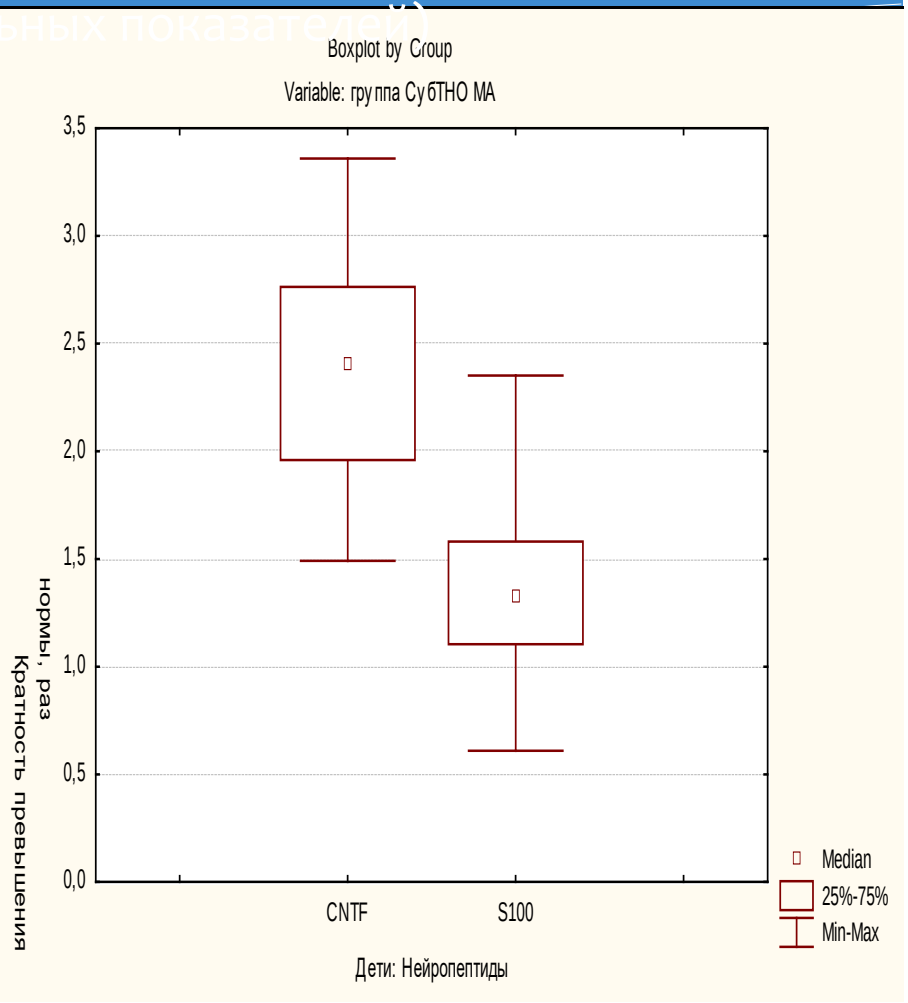


б.

Динамика изменения средних значений нейроспецифичных белков (уровня белка S100 (степень нейродегенерации) и CNTF (степень нейрорегенерации) у детей во всех группах исследования (а – после операции, стандартная анестезия, б – после операции, модифицированная анестезия, где 1 – средние значения нормальных показателей)

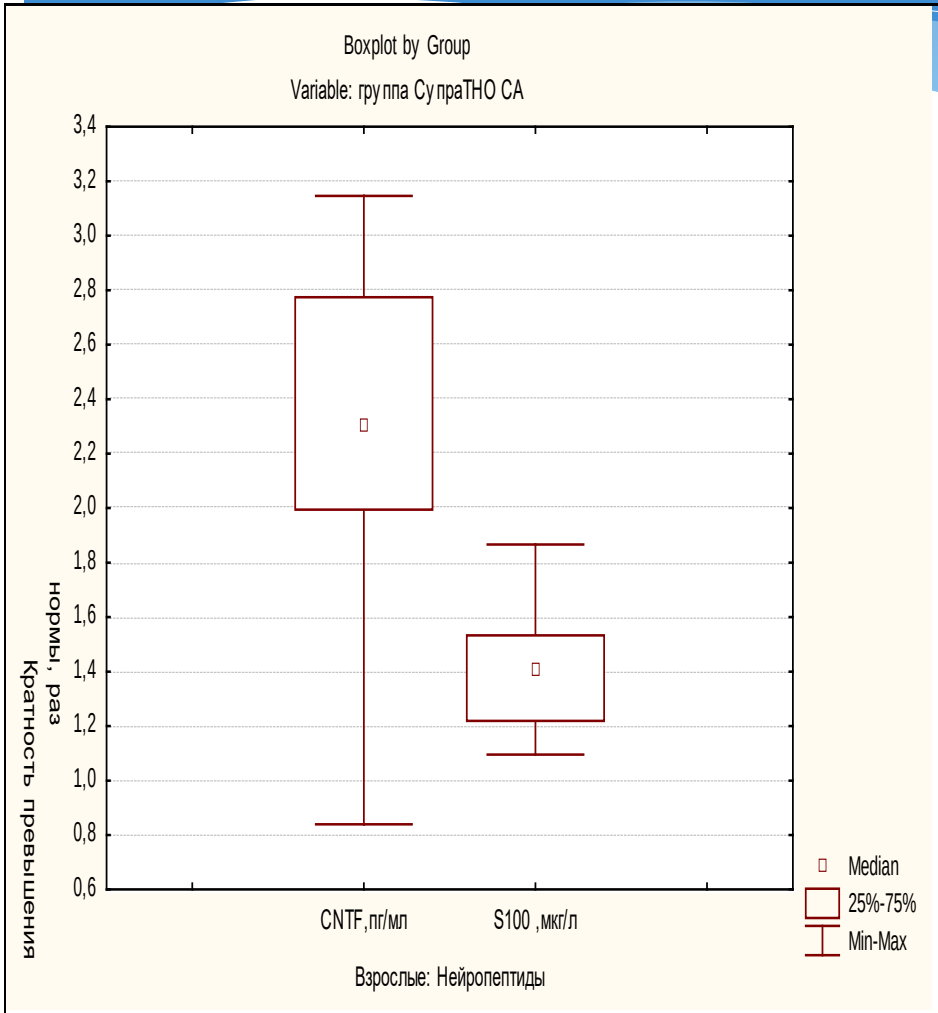


а.

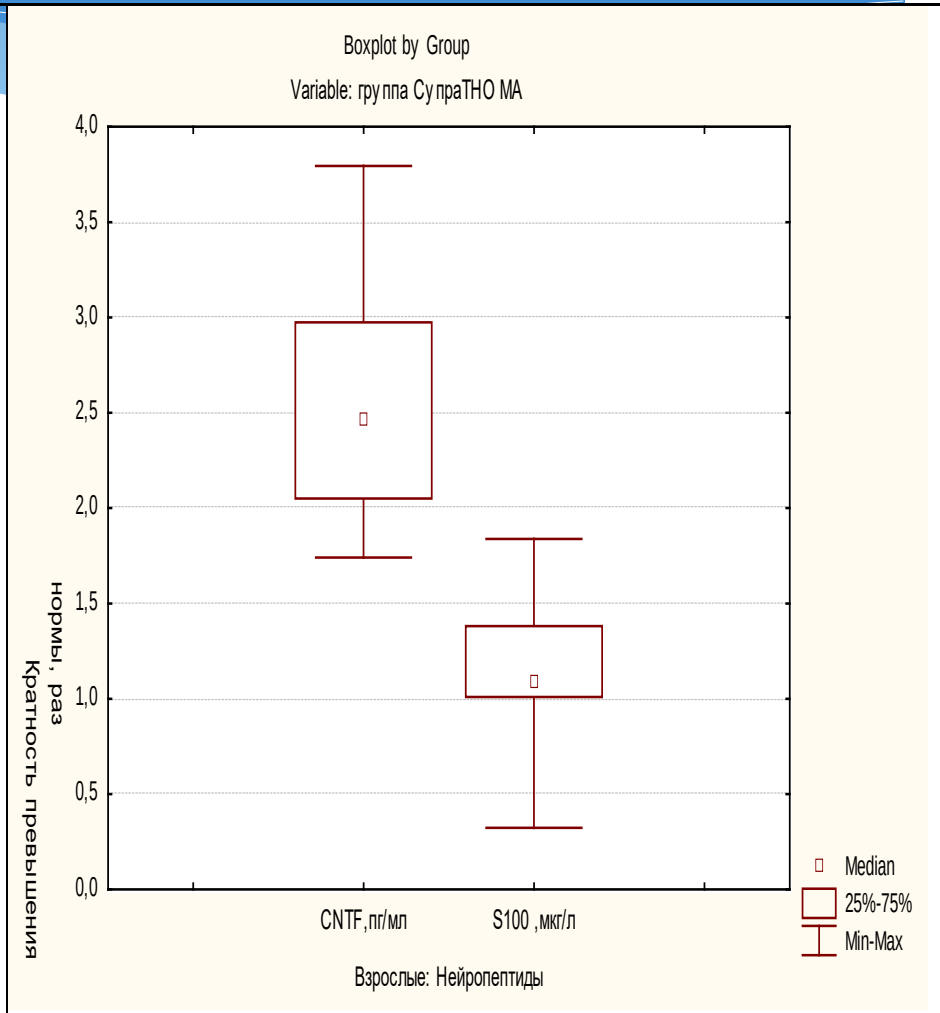


б.

Динамика изменения средних значений нейроспецифичных белков (уровня белка S100 (степень нейродегенерации) и CNTF (степень нейрорегенерации) у взрослых во всех группах исследования (а – после операции, стандартная анестезия, б – после операции, модифицированная анестезия, где 1 – средние значения нормальных показателей)

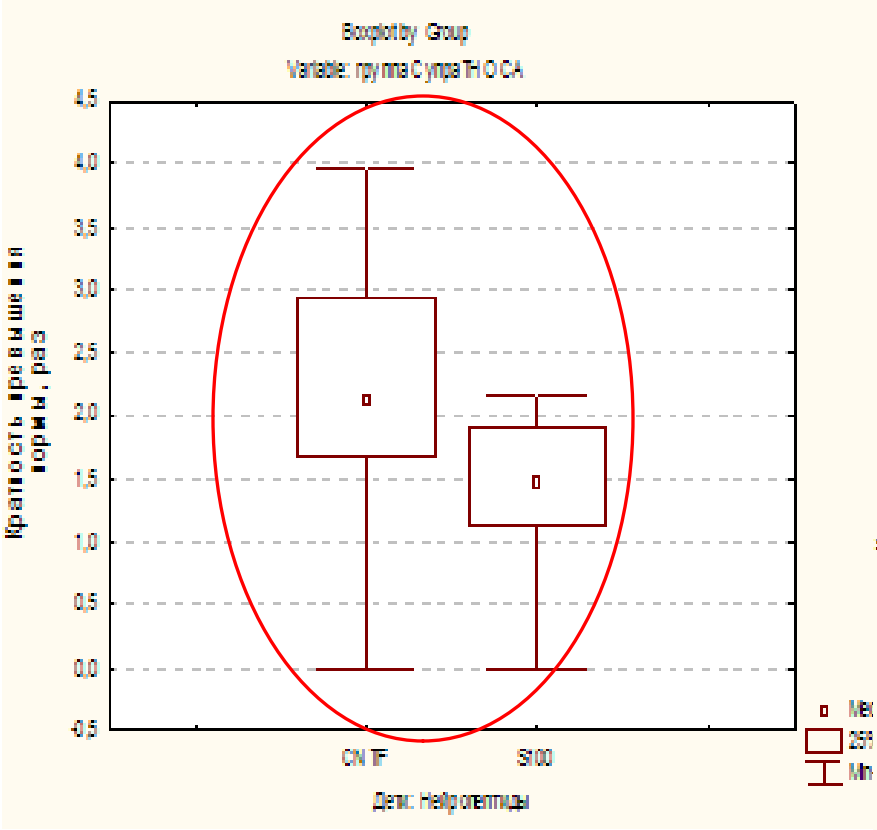


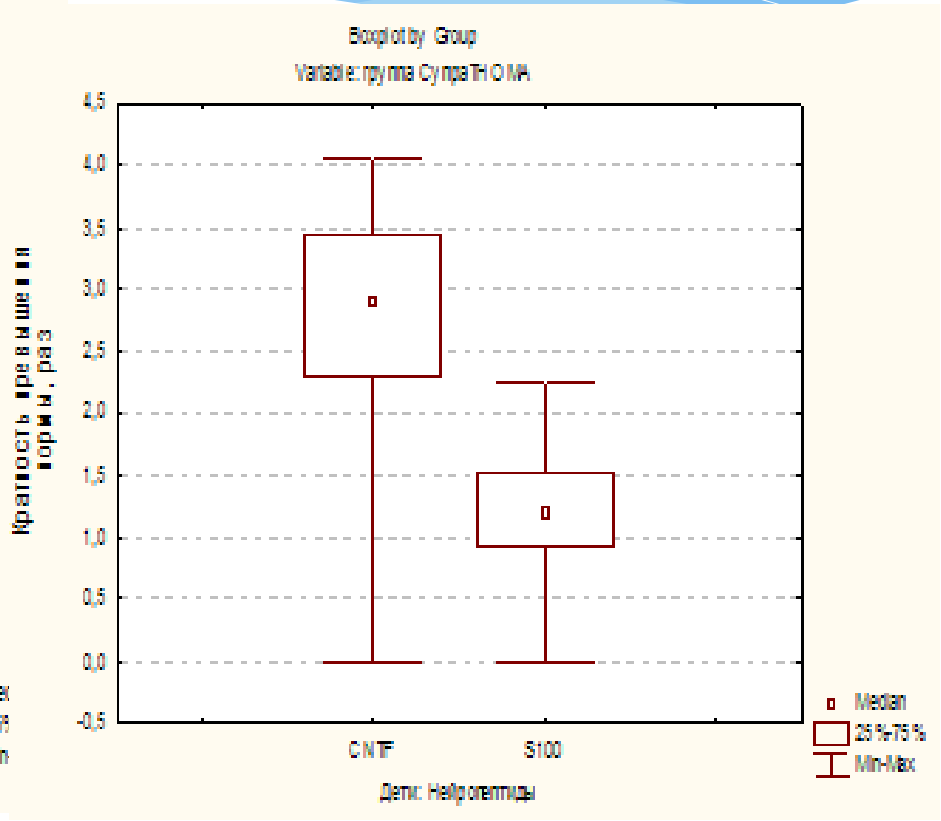
а.



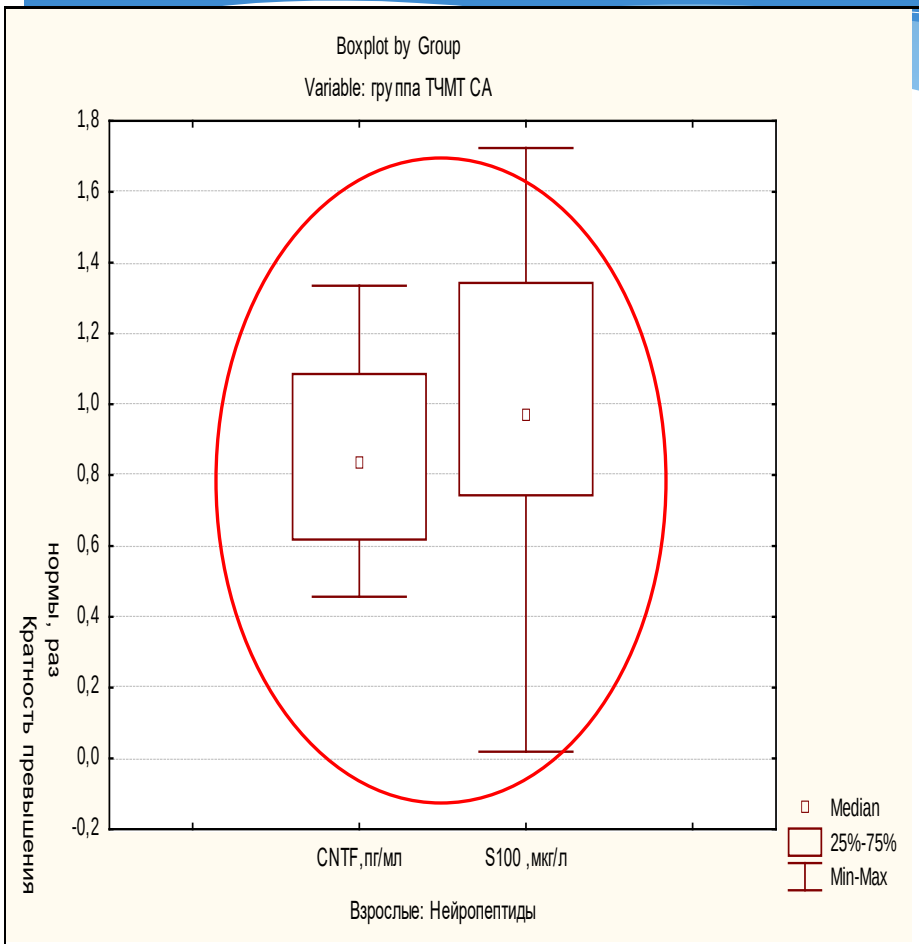
б.

Динамика изменения средних значений нейроспецифичных белков (уровня белка S100 (степень нейродегенерации) и CNTF (степень нейрорегенерации) у детей во всех группах исследования (а – после операции, стандартная анестезия, б – после операции, модифицированная анестезия, где 1 – средние значения нормальных показателей)

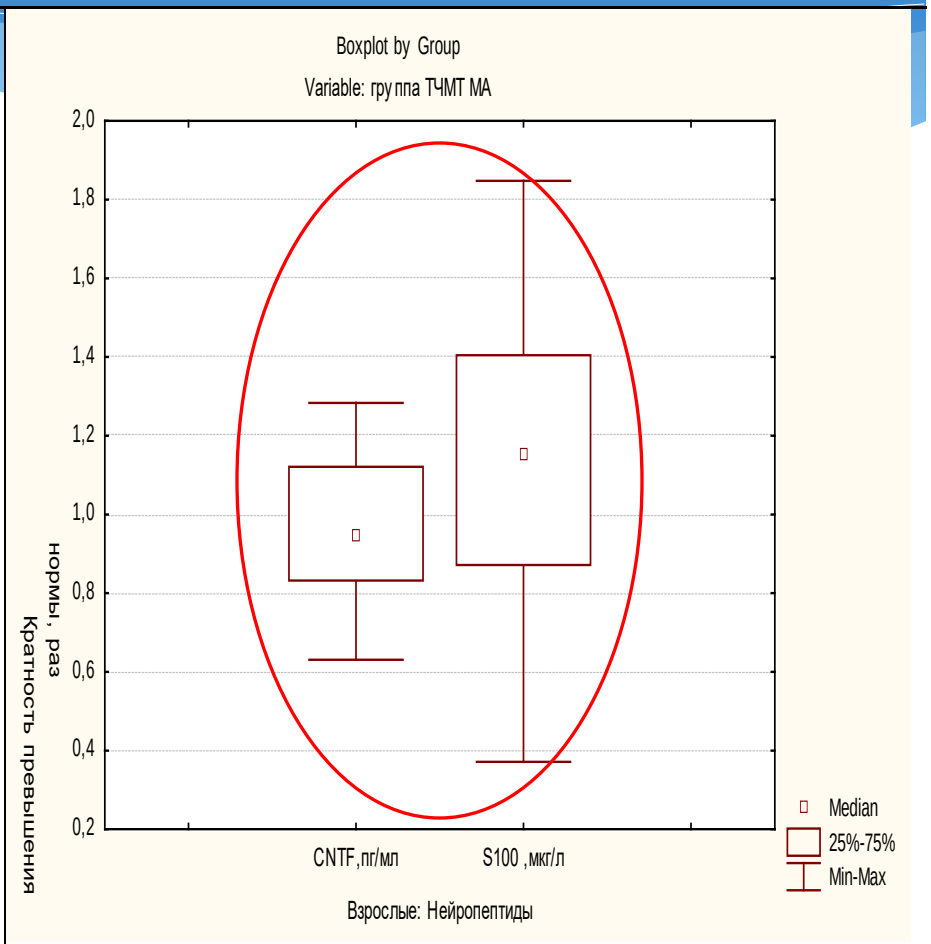




Динамика изменения средних значений нейроспецифичных белков (уровня белка S100 (степень нейродегенерации) и CNTF (степень нейрорегенерации) у взрослых во всех группах исследования (а – после операции, стандартная анестезия, б – после операции, модифицированная анестезия, где 1 – средние значения нормальных показателей)

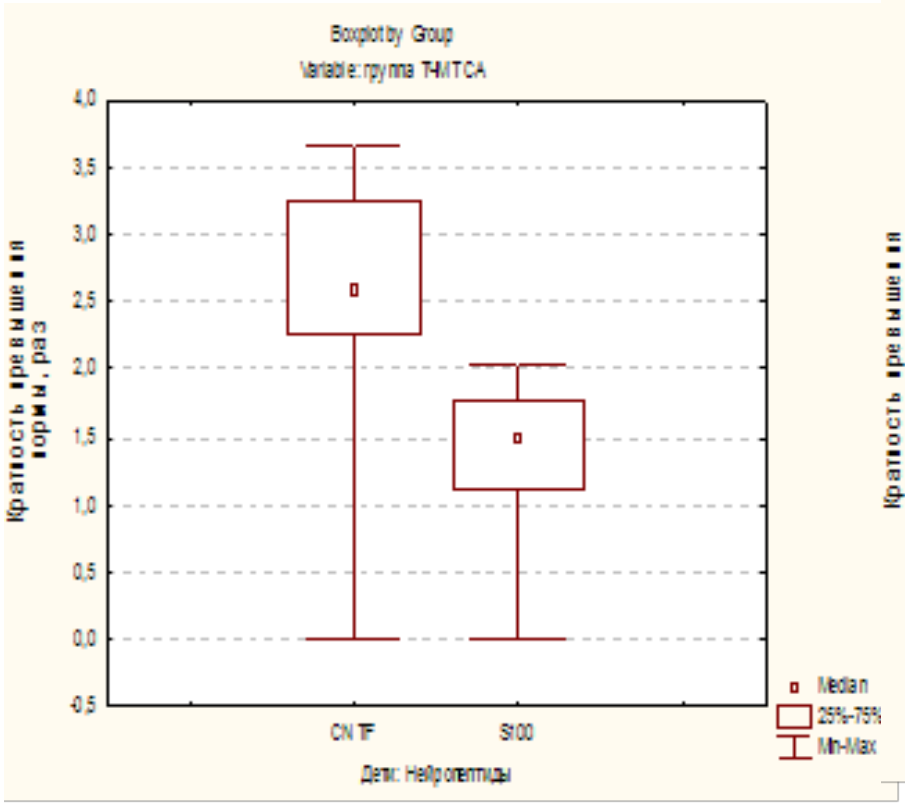


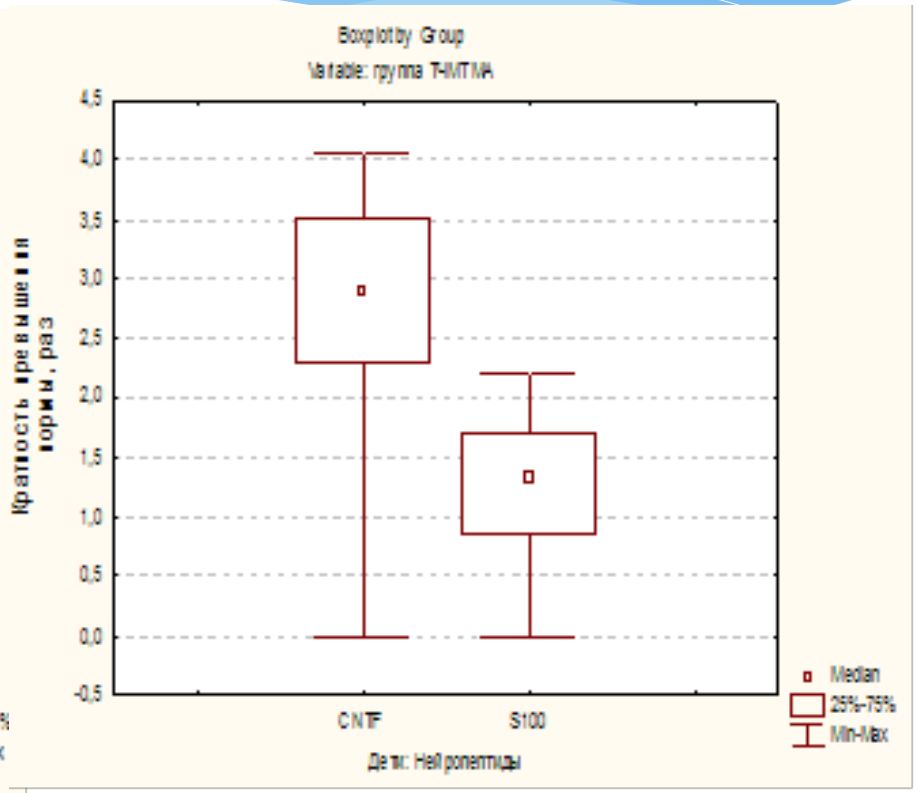
а.



б.

Динамика изменения средних значений нейроспецифичных белков (уровня белка S100 (степень нейродегенерации) и CNTF (степень нейрорегенерации) у детей во всех группах исследования (а – после операции, стандартная анестезия, б – после операции, модифицированная анестезия, где 1 – средние значения нормальных показателей)





Способ оценки нейропротекции

* При оценке полученных данных выявлено, что если разделить средние значения CNTF на средние значения S100 и полученный результат разделить на 100 (для уравнивания значений «мкг» и «пг»), то полученная цифра может условно отражать коэффициент нейрорегенерации (КН).
* Для положительного прогноза течения процесса этот коэффициент должен быть равен 1 или выше, то есть регенерация должна быть равной или превышать дегенерацию.
* Расчет показателя КН в группе 10 здоровых детей в возрасте 10±2,0 года (мальчиков 5, девочек 5) дал показатель КН равный 1,08±0,33 Me 1,17 (0,75-1,41), принятый нами за референтную норму в данном исследовании.

Расчет коэффициента нейрорегенерации (КН) в группах детей

	БВЧГ	ГГС	СубТНО	СупраТНО	ТЧМТ
До	0,84	0,54*	0,7	1,08	0,78
МА	0,64	1,45	0,94	1,25	1,2
СА	0,47*	0,77	0,5*	0,7	0,9
норма		1,08±0,43 Me 1,17 (0,65-1,51) (n=10)			

Расчет коэффициента нейрорегенерации (КН) в группах взрослых

	БВЧГ	ГГС	СубТНО	СупраТНО	ТЧМТ
До	0,43*	1,18	0,65 *	1,19	0,54*
МА	0,6*	1,45	0,75*	1,75	0,86
СА	0,45*	1,07	0,5*	0,9	0,58*
норма		1,1±0,2 Me 1,1 (0,9-1,3)			

Выводы

* **Впервые представлены комплексные данные для взрослых и детей, характеризующие показатели нейроспецифических белков в предоперационном периоде и на фоне различных видов внутривенной анестезии**
* **Результатом проведенного исследования можно считать разработанный метод оценки нейропротекции, основанный на изменении нейроспецифических белков. Предложен коэффициент нейрорегенерации (КН)**
* **Проведенный расчет КН в группах наглядно продемонстрировал возможности объективизации оценки качества проводимой анестезии и методов интенсивной терапии, характеризуя возможности анестезиологии в стимуляции нейрорегенеративных процессов комбинациями препаратов для общей анестезии.**

Благодарю за внимание

Международный медицинский форум Донбасса
«НАУКА ПОБЕЖДАТЬ…БОЛЕЗНЬ»
ДОНЕЦК
15-16 ноября 2017

* **Место проведения**: г. Донецк, Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького, пр. Ильича 16. **Основными направлениями научно-практических секций являются:**
* **Актуальные вопросы внутренней медицины (I-й Съезд терапевтов);**
* **Вопросы экстренной клинической медицины у взрослых и детей;**
* **Актуальные аспекты онкологии, экстренной и плановой хирургии;**
* **Инновационные технологии в нейрохирургии, ортопедии и травматологии;**
* **Педиатрия, акушерство и гинекология;**
* **Актуальные проблемы эпидемиологии, инфекционных болезней, иммунологии и аллергологии;**
* **Перспективные направления подготовки научно-практических кадров – конкурс молодых ученых.**
* akolesnikov1972@gmail.com – выступления, публикации, гости

Донецкий национальный медицинский университет им.М.Горького

* В ДонНМУ работает 119 докторов наук (97 штатных и 22 внешних сотрудника), 440 кандидатов наук (395 штатных и 45 внештатных сотрудников).
* Научно-педагогический коллектив 770 преподавателей
* Обучается более 5000 студентов

Название	Специальность	Штатных должностей всего	Занятых должностей (с декрет.)	Вакантных должностей (гр.3-гр.4)	Физических лиц (с декрет.)	% укомп-лекто-ванности (гр.7/ гр.3*100)
1	2	3	4	5	6	7
Донецкая Народная Республика		**15328,25**	**11410,39**	**3917,86**	**9394**	**61**