

УДК 618.831-005.4-092.9-03:612.76

**ВЛИЯНИЕ ГЛИБЕНКЛАМИДА НА ЭЛЕКТРОЛИТНЫЙ
ГОМЕОСТАЗ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ЦЕРЕБРАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЯХ
В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОГОРЬЯ**

М.С. Шувалова, А.С. Шаназаров, М.В. Балыкин

После черепно-мозговой травмы и билатеральной окклюзии общих сонных артерий основной причиной гибели животных является отек головного мозга независимо от высоты проведения экспериментов. Отек головного мозга следует за нарушением функции ионных каналов, нейровоспаления, которые в значительной степени сопряжены с нарушением электролитного гомеостаза. Это выражается в накоплении Na⁺ в нейронах и нейроглиальных клетках, особенно в условиях высокогорья. Глибенкламид снимает нарушения электролитного гомеостаза головного мозга. При этом, эффект глибенкламида в условиях высокогорья выше, чем в низкогорье.

Ключевые слова: глибенкламид; электролитный гомеостаз; черепно-мозговая травма; инсульт; высокогорье.

**БИЙИК ТООЛУУ ШАРТТА ЦЕРЕБРАЛДЫК БУЗУЛУУЛАРДА ГЛИБЕНКЛАМИДДИН
МЭЭНИН ЭЛЕКТРОЛИТТИК ГОМЕОСТАЗЫНА ТИЙГИЗГЕН ТААСИРИ**

М.С. Шувалова, А.С. Шаназаров, М.В. Балыкин

Баш сөөк-мээ жаракатынан жана жалпы уйку артерияларынын эки тараптуу окклюзиясынан кийин, эксперимент жүргүзүү кандай бийиктикте өткөндүгүнө карабастан, жаныбарлардын өлүмүнүн негизги себеби мээнин шишиги болуп эсептелет. Электролиттик гомеостаздын бузулушу менен тыгыз байанышта болгон иондук каналдардын функциясынын бузулушунан, нейро сезгенүүлөрдөн кийин мээнин шишиги пайда болот. Бул нейрондордо жана нейроглиалдык клеткаларда, өзгөчө бийиу тоолуу шарттарда Na⁺тун топтолушу менен аныкталат. Глибенкламид мээнин электролиттик гомеостазынын бузулушун токтотот. Ошол эле учурда, жапыз жерлерге караганда бийик тоолуу шартта глибенкламиддин таасири жогору.

Түйүндүү сөздөр: глибенкламид; электролиттик гомеостаз; баш сөөк-мээ жаракаты; инсульт; бийик тоолуу шарт.

**EFFECT OF GLIBENCLAMIDE ON ELECTROLYTE HOMEOSTASIS
OF THE BRAIN IN CEREBRAL DISORDERS IN HIGH-ALTITUDE CONDITIONS**

M.S. Shuvalova, A.S. Shanazarov, M.V. Balykin

After traumatic brain injury and bilateral occlusion of the common carotid arteries, the main cause of death of animals is cerebral edema, regardless of the height of the experiments. Brain edema follows impaired ion channel function, neuroinflammation, which is largely associated with impaired electrolyte homeostasis. This is expressed in the accumulation of Na⁺ in neurocytes and neuroglial cells, especially in high-altitude conditions. Glibenclamide relieves disorders of electrolyte homeostasis of the brain. At the same time, the effect of glibenclamide in high-altitude conditions is higher than in low-altitude conditions.

Keywords: glibenclamide; electrolyte homeostasis; traumatic brain injury; stroke; highlands.

Актуальность. После черепно-мозговой травмы, как и после ишемии головного мозга, основной и непосредственной причиной смерти больных выступает отек головного мозга вследствие нарушения функции ионных каналов, нейрональной эксайтотоксичности, воспаления, окислительного стресса, апоптоза и деполяризации клеточных мембран [1, с. 88–93; 2]. На сегодняшний день ведутся активные поиски препаратов, которые смогли бы предотвратить перечисленные явления, однако пока безрезультатно. Одним из препаратов, способствующих снижению отечных явлений в головном мозге, на сегодняшний день рассматривают глибенкламид [2]. Однако данные о влиянии глибенкламида на состояние электролитного баланса у животных с церебральной патологией, возникшей в условиях высокогорья, практически в литературе нет.

Отсюда **целью** настоящего исследования является выявление действия глибенкламида на состояние электролитного баланса в животных с церебральной патологией, возникшей в высокогорье.

Материалы и методы. Работа выполнена на базе Лаборатории экспериментального моделирования патологических процессов (ЛЭМПП) (высота 760 м над ур. моря) и на высокогорной экспериментальной базе Института горной физиологии и медицины (перевал Туя-Ашуу, высота 3200 м над ур. моря). Объектом исследования послужили 106 белых беспородных лабораторных крыс-самцов весом 210–310 г, которые составили 2 блока: низкогорный и высокогорный по 5 серий опытов в каждом из них с соблюдением «Правил лабораторной практики в Российской Федерации» (Приказ МЗ РФ от 19 июня 2003 № 267). Протокол исследований одобрен локальным этическим комитетом при НПО «Профилактическая медицина» МЗ КР.

СИГМ моделировалась путем билатеральной окклюзии общих сонных артерий (БООСА) в условиях общего наркоза (Калипсол 0,6 мл в/м). Для воспроизведения черепно-мозговой травмы использовалась ударная модель ЧМТ «weight drop method» по Y. Tang (1997). Через 1 час после воспроизведения СИГМ оперированным животным вводили микронизированный глибенкламид в дозе 0,1 мг/кг *per os*.

Содержание Na^+ и K^+ в веществе мозга определяли на пламенном фотометре ПФП-УХЛ 4.2 методом, предложенным А.Г. Руммель и А.Ф. Баженовой.

Статистическая обработка полученных данных проводилась в программе SPSS 16.0.

Результаты и обсуждение. У здоровых животных, побывавших в высокогорье, по сравнению с данными, полученными у крыс, оставшихся в низкогорье, отмечается повышение содержания Na^+ в мозге в 1,6 раза, без изменения концентрации K^+ . В результате соотношение K/Na снижается с $3,2 \pm 0,7$ до $2,2 \pm 0,09$ (таблица 1).

Таблица 1 – Ремоделирование электролитного состава головного мозга с СИГМ и ЧМТ в низкогорье и высокогорье (ммоль/100 г)

Группа		Показатели	Na^+	K^+	K/Na
Низкогорье (760 м над ур. моря)	Контроль		$10,9 \pm 0,2$	$35,05 \pm 1,1$	$3,2 \pm 0,7$
	ИГМ		$23,2 \pm 1,7^{***}$	$38,4 \pm 1,5$	$1,7 \pm 0,1^{***}$
	ЧМТ		$22,8 \pm 0,7^{***}$	$38,9 \pm 1,8$	$1,7 \pm 0,6^{***}$
Высокогорье (3200 м над ур. моря)	Контроль		$16,4 \pm 0,6^{\wedge\wedge}$	$35,4 \pm 1,2$	$2,2 \pm 0,09^{\wedge\wedge}$
	ИГМ		$33,8 \pm 2,4^{***\wedge\wedge}$	$44,6 \pm 1,8^{***\wedge\wedge}$	$1,3 \pm 0,6^{***\wedge\wedge}$
	ЧМТ		$26,7 \pm 0,7^{***\wedge\wedge}$	$38,6 \pm 0,9$	$1,4 \pm 0,04^{***\wedge\wedge}$

Примечание. * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,001$; *** – $P < 0,001$. * – Значения достоверны между данными опытов с СИГМ и ЧМТ и здоровыми животными на разных горных высотах.

\wedge – $P < 0,05$; $\wedge\wedge$ – $P < 0,001$; $\wedge\wedge\wedge$ – $P < 0,001$. \wedge – Различия между показателями, полученными в высокогорных опытах по сравнению с низкогорными достоверны.

В ответ на БООСА в условиях низкогорья развивается циркуляторная гипоксия, которая сопровождается повышением Na^+ в тканях мозга с $10,9 \pm 0,2$ ммоль/100 г сухой массы в норме до $23,2 \pm 1,7$ ммоль/100 г ($P < 0,001$). При этом, содержание K^+ достоверно не меняется. Это привело к снижению К/Na-соотношения на 47 %.

Аналогичные изменения наблюдаются и при ЧМТ, когда уровень Na^+ в мозге составил $22,8 \pm 0,7$ ммоль/100 г против исходной $10,9 \pm 0,2$ ммоль/100 г ($P < 0,001$), К/Na-соотношение остается без достоверных колебаний. Дистаблизация электролитного гомеостаза привела к достоверному снижению К/Na-соотношения на 47 % ($P < 0,001$).

Равнонаправленность (однотипность) ремоделирования содержания Na^+ , K^+ и К/Na-коэффициента при ЧМТ и СИГМ объясняется тем, что в обоих случаях развивается ишемический каскад [3], который «приводит к снижению утилизации глюкозы, накоплению лактата, уменьшению количества АТФ и снижению активности АТФ-зависимых ионных насосов, Ca^{2+} -индуцированной деполяризации, экситотоксичности и клеточной смерти [3; 4, с. 180–191], что наблюдается и на нашем материале.

В условиях высокогорья СИГМ (таблица 1) вызывает рост уровня Na^+ в 2 раза в сравнении с данными здоровых животных в горах составляет $33,8 \pm 2,4$ ммоль/100 г против $16,4 \pm 0,6$ ммоль/100 г ($P < 0,001$). Одновременно на 25 % возрастает уровень K^+ ($P < 0,001$), что приводит к снижению К/Na-соотношения на 40 % от исходных значений ($P < 0,001$).

ЧМТ, возникшая в горах (см. таблицу 1) вызвала повышение Na^+ на 21 % от исходных значений, что численно составило $26,7 \pm 0,7$ ммоль/100 г против $16,4 \pm 0,6$ ммоль/100 г ($P < 0,001$) и не сопровождалось достоверными колебаниями K^+ . В итоге соотношение К/Na в тканях мозга снизилось на 36 % от исходных значений ($P < 0,001$).

При ИГМ, возникшей в высокогорье, отмечаются более высокие показатели Na^+ , чем в одноименной группе низкогорных животных; численно они составили $33,8 \pm 2,4$ ммоль/100 г против $23,2 \pm 1,7$ ($P < 0,001$). Уровень K^+ при ИГМ в горах возрос на 16 % ($P < 0,001$), а К/Na-коэффициент достоверно снизился на 59 % в сравнении с группой ИГМ в низкогорье. Таким образом, содержание Na^+ , K^+ и К/Na-соотношение при СИГМ по сравнению с данными здоровых животных характеризуется однонаправленностью, а именно: отмечается увеличение концентрации в головном мозге Na^+ и K^+ и снижение К/Na независимо от места проведения эксперимента. Вместе с тем, у животных после проведения БООСА в высокогорье содержание Na^+ и K^+ превышает, а К/Na отношение – не достигает соответствующих величин, полученных в низкогорье.

Содержание Na^+ в тканях мозга у высокогорной серии при ЧМТ составило $26,7 \pm 0,7$ ммоль/100 г, против $22,8 \pm 0,7$ ммоль/100 г в низкогорной серии, иными словами, увеличение внутриклеточного Na^+ у крыс с ЧМТ в высокогорье достоверно увеличилось на 17 % ($P < 0,01$), при этом К/Na-соотношение уменьшилось на 17 % ($P < 0,01$).

Таким образом, у животных с ЧМТ, возникшей в высокогорье, имеется тенденция роста содержания Na^+ в головном мозге и снижения К/Na-коэффициента без изменения K^+ по сравнению с данными крыс низкогорья.

Зависимость влияния глибенкламида на содержание Na^+ , K^+ и К/Na в головном мозге при ИГМ и ЧМТ от высоты местности, где они были моделированы, отражены в таблице 2. Отсюда видно, что содержание Na^+ в головном мозге при его субтотальной ишемии на фоне применения глибенкламида достоверно ниже, чем без применения препарата независимо от того, где была произведена БООСА. Однако, при моделировании СИГМ в высокогорье уровень Na^+ в головном мозге снижается в большей мере (с $33,7 \pm 2,4$ до $11,09 \pm 0,5$ ммоль/100 г), чем в низкогорье (с $23,2 \pm 1,7$ до $11,01 \pm 0,4$ ммоль/100 г). Концентрация K^+ в головном мозге с СИГМ в низкогорье достоверно не меняется, а у животных с моделированием СИГМ в высокогорье достоверно снижается. К/Na-коэффициент в обеих группах животных возрастает.

Таблица 2 – Влияние глибенкламида на концентрацию Na⁺, K⁺ и K/Na-коэффициента в ткани головного мозга при церебральных нарушениях (M ± m)

А) после моделирования СИГМ

Показатель \ Группа	СИГМ			
	низкогорье		высокогорье	
	без коррекции	с коррекцией	без коррекции	с коррекцией
Na ⁺	23,2 ± 1,7	11,01 ± 0,4***	33,8 ± 2,4	11,09 ± 0,5***
K ⁺	38,4 ± 1,5	33,6 ± 3,07	44,6 ± 1,8	31,6 ± 1,7***
K/Na	1,7 ± 0,1	3,06 ± 0,2***	1,3 ± 0,6	2,9 ± 0,2***

Б) после моделирования ЧМТ

Показатель \ Группа	ЧМТ			
	низкогорье		высокогорье	
	без коррекции	с коррекцией	без коррекции	с коррекцией
Na ⁺	22,76 ± 0,7	18,9 ± 0,8**^^^	26,7 ± 0,7	25,4 ± 2,9^^^
K ⁺	38,9 ± 1,8	30,8 ± 0,8**	38,6 ± 0,9	39,3 ± 5,9
K/Na	1,7 ± 0,6	1,6 ± 0,05^^^	1,4 ± 0,04	1,5 ± 0,1^^^

Примечание. * – < 0,05; ** – P < 0,001; *** – P < 0,001. * – Различия достоверны между данными с применением и без применения глибенкламида.

^ – P < 0,05; ^^ – P < 0,001; ^^ ^ – P < 0,001. ^ – Различия достоверны между данными опытов с ЧМТ и СИГМ.

В высокогорье на содержании Na⁺, K⁺ и K/Na-отношение после ЧМТ глибенкламид не отражается. Поэтому содержание Na⁺ в головном мозге увеличено, а K/Na-соотношение снижено при ЧМТ, чем при СИГМ на фоне применения глибенкламида.

Таким образом, влияние глибенкламида на содержание Na⁺, K⁺ и K/Na отношения в головном мозге в высокогорье при СИГМ более выражены, чем при ЧМТ.

Полученные результаты вполне объяснимы. Так, на перевале Туя-Ашуу организм оказывается в условиях, когда атмосферное давление снижается до 525 мм рт. ст., парциальное давление O₂ – до 109 мм рт. ст., в альвеолярном воздухе – до 67 мм рт. ст., а насыщение гемоглобина кислородом – до 90 % [5, с. 57–65; 6]. В этих условиях, априори, можно было предполагать увеличение мозгового кровотока. Однако на самом деле наблюдается снижение кровотока до 63,6 ± 5,7 – в сером веществе, до 45,3 ± 3,2 мл/мин/100 г вместо 65,6 ± 6,3 и 53,5 ± 7,8 – в низкогорье, соответственно [7]. Иначе говоря, создаются предпосылки для развития гипоксии ЦНС, что приводит к раскрытию SUR1-TRPM4 и SUR1-Kir6.2-каналов и усилению поступления в клетки Na⁺. Надо полагать, что это имеет защитное значение, направленное на ограничение поступления Ca²⁺ в клетки и на предотвращение их повреждения. Таким образом, изменения электролитного баланса в ЦНС не выходит за пределы компенсаторно-приспособительных реакций и не переходит в разряд патологических состояний.

Нарушение эквивалентного обмена внутриклеточного калия на натрий является следствием замедления обмена веществ в головном мозге. Дело в том, что «в плазме и интерстициальной жидкости калий находится в ионизированной форме в то время, как большая часть внутриклеточного калия связана с белками (каждому грамму азота соответствует 2,8 мэкв, или 0,11 г калия), углеводами, креатинином и фтором. Эти связи калия весьма непрочны, что обеспечивает высвобождение внутриклеточного калия и выход его в интерстициальную жидкость при увеличении биологической активности клетки, сопровождающейся распадом гликогена и белка» [8, с. 376–427]. Отсюда вытекает, что при СИГМ и ЧМТ распад гликогена и белка в клетках головного мозга замедлен, а биологическая активность клеток снижена.

По данным [9, 10], «ингибирование эндотелиальных, нейрональных, астроцитарных и олигодендроцитарных рецепторов сульфонилмочевины 1 транзитный рецепторный потенциал меластанина

4 (SUR-TRPM4) каналов и, в некоторых случаях, микроглиальных каналов КАТР(SUR1-Kir6.2) с глибенкламидом является защитным в различных контекстах». Механизм защиты ЦНС при ИГМ и ЧМТ путем ингибирования SUR1-TRPM4 и SUR1-Kir6.2-каналов глибенкламидом основан на ограничении постоянного притока Na^+ в клетки мозга, «что приводит к онкотическому набуханию клеток (цитотоксическому отеку) и случайной некротической гибели их [11]. Иначе говоря, нейропротективный эффект препарата выражается в подавлении риска нарушения электролитного гомеостаза в эндотелиальных, нейрональных, астроцитарных и олигодендроглиальных клетках ЦНС. Это вполне согласуется с результатами наших экспериментов с моделированием СИГМ в низко- и высокогорье и ЧМТ – в высокогорье.

Выводы

В условиях высокогорья глибенкламид на содержание Na^+ , K^+ , отношение K/Na при ЧМТ отражается в значительно меньшей степени, чем при СИГМ, что, возможно, связано с разной чувствительностью SUR1 к препарату. Дело в том, что глибенкламид не накапливается в здоровых нервных клетках. ИГМ сопрягается с развитием молочнокислого ацидоза, а глибенкламид является слабой кислотой. Поэтому при низком pH препарат проникает через гематоэнцефалический барьер и всасывается в тканях мозга. Так как ишемический синдром при БООСА более выражен, чем при ЧМТ, эффект глибенкламида в высокогорье в первом случае значительно больше, чем во втором.

Литература

1. Царенко С.В. Глибенкламид – перспективное средство профилактики и лечения отека головного мозга / С.В. Царенко, А.М. Дзядзько, С.С. Рыбалко // Вопросы нейрохирургии. 2017. № 3.
2. Patel A.D., Gerzanich V., Geng Z., Simard J.M. Glibenclamide reduces hippocampal injury and preserves rapid spatial learning in a model of traumatic brain injury // J Neuropathol Exp Neurol. 2010; 69: 1177–90. DOI: 10.1097/NEN.0b013e3181fbf6d6.
3. Simard J.M., Woo S.K., Gerzanich V. Transient receptor potential melastatin 4 and cell death // Pflugers Arch. 2012; 464: 573–82. DOI: 10.1007/s00424-012-1166-z.
4. Дмитриенко Е.В. Поведенческие реакции животных после экспериментальной черепно-мозговой травмы: влияние препарата нуклеотидной природы / Е.В. Дмитриенко, Т.А. Филатенкова, Е.Г. Рыбакина, Е.А. Корнева // Вестник Санкт-Петербургского университета. 2014. Сер. 11. Вып. 3.
5. Дзяк Л.А. Интенсивная терапия повреждений мозга и ранняя нейрореабилитация при политравме с превалированием тяжелой черепно-мозговой травмы. Опыт применения оригинального амантадина сульфата (ПК-МЕРЦ, «Мерц форма ГМБХ и К / Л.А. Дзяк, Ю.Ю. Кобеляцкий, И.А. Йовенко, А.В. Царев // Медицина неотложных состояний. 2015. № 8 (71).
6. Миррахимов М.М. Высокогорная кардиология / М.М. Миррахимов, Т.С. Мейманалиев. М.; Фрунзе, 1984. 315 с.
7. Абдумаликова И.А. Горная микроангиология / И.А. Абдумаликова, М.В. Балыкин, Г.И. Горохова [и др.]; под ред. Ю.Х.-М. Шидакова. Бишкек: Изд-во КРСУ, 2019. 172 с.
8. Лосев Н.И. Физико-химический гомеостаз / Н.И. Лосев, В.А. Войнов // Гомеостаз / под ред. П.Д. Горизонтова. М.: Медицина, 1976.
9. Simard J.M., Kent T.A., Chen M., Tarasov K.V., Gerzanich V. Brain oedema in focal ischaemia: molecular pathophysiology and theoretical implications // Lancet Neurol. 2007; 6: 258–68. DOI: 10.1016/S1474-4422(07)70055-8.
10. Caffes N., Kurland D.B., Gerzanich V., Simard J.M. Glibenclamide for the treatment of ischemic and hemorrhagic stroke // IntJMolSci. 2015 Mar 4. 16 (3): 4973-84. DOI: 10.3390/ijms16034973.
11. Simard J.M., Woo S.K., Gerzanich V. Transient receptor potential melastatin 4 and cell death // Pflugers Arch. 2012; 464: 573–82. DOI: 10.1007/s00424-012-1166-z.