



# Effect of infusion solutions on the dynamics of neuronspecific enolase activity in patients with acute cerebral ischemia

Andrey Semenenko

National Pirogov Memorial Medical University of Vinnytsia, Department of Surgery №1, Vinnytsia Ukraine

## Abstract

**Objective:** To investigate the dynamics of NSE during treatment of isoosmolar 0.9% NaCl solution and the hyperosmolar mannitol solution in acute ischemic stroke.

**Methods:** It was studied 15 patients with acute ischemic stroke. The investigated isoosmolar 0.9% NaCl solution and the solution hyperosmolar mannitol administered intravenously in a conventionally effective dose (defined in the experiment) directly upon confirmation of the diagnosis of acute ischemic stroke and further every day, every 12 hours for 7 days. A control group were patients treated with infusion therapy only 0.9% NaCl solution, the comparison group were patients treated with 0.9% NaCl solution + mannitol. Blood sampling was conducted for determination of specific marker of cerebral ischemia the neuron-specific enolase (1st, 4th and 7th day of stroke).

**Results:** Treatment of patients with acute ischemic stroke with mannitol was accompanied by the dynamic growth of the test marker of neurodestruction from 17 to 23 nm / ml in all periods of observation with a statistically significant increase in the activity of NSE on the seventh day of stroke. A similar picture is viewed in the group with 0.9% NaCl solution.

**Conclusion:** infusion therapy with isoosmolar 0.9% NaCl solution + hyperosmolar mannitol with standard therapy was accompanied by a dynamic growth of NSE in patients with acute cerebrovascular accident on ischemic type as in the control group.

**Keywords:** acute disorder of cerebral circulation – 0.9% NaCl solution - mannitol.

*J Clin Med Kaz* 2015; 4(38):42-45

**Corresponding author:** Семененко Андрей Игоревич, к.м.н., доцент кафедры хирургии №1 курс анестезиологии, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, г. Винница, Украина, 21018. Тел.: (097) 354-16-64. E-mail: semenenko05@gmail.com.

## ЖЕДЕЛ ЦЕРЕБРАЛДЫ ИШЕМИЯСЫ БАР НАУҚАСТАРДАҒЫ НЕЙРОН-СПЕЦИФИКАЛЫҚ ЭНОЛАЗАНЫҢ ДЕҢГЕЙІНЕ ИНФУЗИЯЛЫҚ ЕРІТІНДІЛЕРДІҢ ӘСЕРІ

Семененко А.И.

М.И. Пирогов атындағы Винница ұлттық медициналық университеті, №1 хирургия кафедрасы, Винница Украина

### Тұжырымдама

**Зерттеудің мақсаты:** жедел ишемиялық инсульт кезінде NaCl изоосмолярлы 0,9% ерітіндісі мен гиперосмолярлы маннит ерітіндісін қолдану барысында NSE динамикасын зерттеу.

**Әдістері:** жедел ишемиялық инсульті бар 15 науқас зерттелді. Зерттелудегі NaCl изоосмолярлы 0,9% ерітіндісі мен гиперосмолярлы маннит ерітіндісін диагноз қойылғаннан соң бірден шартты әсерлі дозада қантамырға тамшылатып енгіздік. Әрі қарай 7 тәулік ішінде әрбір 12 сағат сайын осы ерітінділер енгізіліп отырды. Бақылау тобында инфузиялық терапия ретінде тек NaCl изоосмолярлы 0,9% ерітіндісі алған науқастар болса, салыстыру тобында NaCl изоосмолярлы 0,9% ерітіндісі және маннит қолданылды. Бас ми ишемиясының маркері нейрон-спецификалық энолазасы анықтауға қан анализі алынды (жедел ми қанайналымының бұзылысының 1-ші, 4-ші және 7-ші тәулігінде).

**Нәтижелері:** Маннит пайдаланылған науқастардағы нейродеструкция маркерінің көрсеткіші бақылау кезеңінде 17-ден 23 нм/мл дейін және инсульттің жетінші тәулігінде NSE белсенділігінің статистикалық нақты өскені анықталды. Ұқсас көрініс 0,9% NaCl қолданылған топта да байқалды.

**Қорытынды:** жедел ишемиялық инсульт кезінде NaCl изоосмолярлы 0,9% ерітіндісі мен гиперосмолярлы маннит ерітіндісін қолданып инфузиялық ем көрсету барысында NSE белсенділігінің өсуі негізгі топта да, салыстыру тобында да бірдей анықталды.

**Маңызды сөздер:** ми қанайналымының жедел бұзылуы - 0,9% NaCl ерітіндісі- маннит.

## ВЛИЯНИЕ ИНФУЗИОННЫХ РАСТВОРОВ НА УРОВЕНЬ НЕЙРОН-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЭНОЛАЗЫ У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИЕЙ

Семененко А.И.

Винницкий национальный медицинский университет им. М.И. Пирогова, кафедра хирургии №1, Украина

### Резюме

**Цель исследования:** исследовать динамику NSE на фоне применения изоосмолярного 0,9% раствора NaCl и гиперосмолярного раствора маннита при остром ишемическом инсульте.

**Методы:** исследовано 15 пациентов с острым ишемическим инсультом. Исследуемый изоосмолярный 0,9% раствор NaCl и гиперосмолярный раствор маннит вводили внутривенно капельно в условно эффективной дозе (определенной в эксперименте) сразу при подтверждении диагноза острый ишемический инсульт и дальше ежесуточно через каждые 12 ч в течение 7-ми суток. Контрольной группой брались пациенты, получавшие с инфузионной терапии только 0,9% NaCl, группа сравнения - пациенты, получавшие 0,9% раствор NaCl + маннит. Проводился забор крови для определения специфического маркера ишемии головного мозга — нейрон-специфической энолазы (1-е, 4-е и 7-е сутки ОНМК).

**Результаты:** терапия больных с острым ишемическим инсультом маннитом сопровождалась динамичным ростом исследуемого маркера нейродеструкции во все периоды наблюдения от 17 до 23 нм/мл со статистически достоверным повышением активности NSE на седьмые сутки инсульта. Аналогичная картина просматривалась в группе с 0,9% NaCl.

**Выводы:** инфузионная терапия пациентов с острым нарушением мозгового кровообращения по ишемическому типу изоосмолярным 0,9% раствором NaCl + гиперосмолярный маннит на фоне стандартной терапии сопровождалась динамичным ростом NSE, как и в контрольной группе.

**Ключевые слова:** острое нарушение мозгового кровообращения - 0,9% раствор NaCl - маннит.

## Введение

В мире ежегодно регистрируется более 15 млн инсультов и почти половина из них наблюдается в возрасте младше 70-75 лет, а в Украине в составе цереброваскулярной патологии острые мозговые инсульты составляют 70-85% случаев [3, 8]. Исследования последних лет значительно расширили представление о этиопатогенезе ишемических форм сосудистых нарушений головного мозга. В частности, было доказано важную роль изменений мозговой гемодинамики [4], осмолярности плазмы [1] и коагуляционных процессов [5] в нарушении мозгового кровообращения.

Улучшение мозгового кровообращения важно для улучшения исхода острого инсульта. В основном этого можно достичь за счет проведения адекватной инфузионной терапии. При этом, во внимание следует принимать много факторов, особенно нужно рационально подойти к выбору инфузионного раствора (физиологический раствор, раствор лактата Рингера или другие) [12].

Контроль динамики нейрональных маркеров (активность нейрон-специфической эналазы (NSE)) в условиях острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) позволяет оценить и исследовать глубину, степень церебральной ишемии, а также провести оценку эффективности проводимой терапии [2, 10].

Так как, по данным литературы [2, 7] активность NSE является ранним маркером повреждения нервной ткани и может выступать, как маркер интенсивности протекания деструктивных изменений в нейронах для определения наличия в инфузионных растворах протекторного действия на головной мозг при острой церебральной ишемии, представляло интерес исследовать их влияние при данной патологии по динамике активности NSE.

**Цель работы.** В рамках комплексного изучения влияния различных инфузионных средств на головной мозг при ОНМК по ишемическому типу целью этой работы является исследовать динамику NSE на фоне применения изоосмолярного 0,9% раствора NaCl и гиперосмолярного раствора маннита при остром ишемическом инсульте.

## Материалы и методы

Дизайн исследования: проспективное рандомизированное контролируемое простое слепое исследование. В исследование было включено 15 пациентов с ОНМК по ишемическому типу. Критерии включения пациентов в исследование: мужчины и женщины, возраст от 18 до 85 лет; пациенты с ОНМК по ишемическому типу; сознание пациента по шкале ком Глазго ниже 12-13 баллов; способность пациента или его близких родственников к адекватному сотрудничеству в процессе исследования. Критерии не включения пациентов в исследование: беременность, лактация; гиперосмолярная кома; состояния, при которых показано введение больших объемов жидкости (травмы черепа, кровоизлияния в мозг, декомпенсированная сердечная недостаточность, олигурия и анурия вследствие органических заболеваний почек); наличие осложнений, которые вызывают необходимость в назначении дополнительной инфузионной терапии препаратами крови, парентерального питания; наличие сопутствующих декомпенсированных заболеваний (сахарный диабет, ХПН) или острых состояний, способных существенно повлиять на результаты исследований; участие в другом клиническом испытании. Диагноз острого ишемического

инсульта устанавливался на основе данных компьютерной томографии.

Протокол исследования соответствовал требованиям к биомедицинским исследованиям согласно к принципам Хельсинкской декларации прав человека и утверждался Комитетом по биоэтике Винницкого национального медицинского университета им. Н.И. Пирогова. Все исследования проводились с информированного согласия пациентов и/или их родственников.

Как исследуемые растворы были использованы: 0,9% раствор NaCl и маннит. 0,9% раствор NaCl - кристаллоидный изоосмолярный раствор, 1 мл раствора содержит натрия хлорида - 0,009 г, теоретическая осмолярность - около 308 мосмоль/л. Маннит 15%- кристаллоидный гиперосмолярный раствор, который содержит в 1000 мл раствора маннита 150 г, вспомогательные вещества: натрий хлорид - 9 г, вода для инъекций до 1 л, теоретическая осмолярность - около 1131 мосмоль/л.

Исследуемые пациенты были разделены на две группы: 1-я группа - 8 человек и 2-я группа - 7 человек.

1-я группа: больные с острым ишемическим инсультом, что дополнительно к стандартной терапии получают в острую фазу ОНМК изоосмолярный раствор 0,9% NaCl.

2-я группа: больные с острым ишемическим инсультом, что дополнительно к стандартной терапии получают в острую фазу ОНМК изоосмолярный раствор 0,9% NaCl + гиперосмолярный раствор маннит.

Исследуемый изоосмолярный 0,9% раствор NaCl и гиперосмолярный раствор маннит вводили внутривенно капельно в условно эффективной дозе (определенной в эксперименте) сразу при подтверждении диагноза и дальше ежедневно через каждые 12 ч в течение 7-ми суток. Контрольной группой брались пациенты, получавшие с инфузионной терапией только 0,9% NaCl, группа сравнения - пациенты, получавшие 0,9% раствор NaCl + маннит.

Для определения специфического маркера ишемии головного мозга - активности NSE - в соответствующие сроки (1-е, 4-е и 7-е сутки ОНМК) у пациентов путем пункции периферической вены проводили забор крови (2,5 -3,0 мл). Активность NSE в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с набором «NSE ELISA KIT» (Diagnostic Automation / Cortez Diagnostics (DACD), США) в соответствии с инструкцией фирмы-производителя.

Количественные данные обрабатывали с помощью программы статистической обработки StatPlus 2009. Использовали параметрический критерий t Стьюдента в случаях нормального распределения, непараметрический критерий W Уайта - при его отсутствии, парный критерий Т Вилкоксона - для определения изменений в динамике внутри группы. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты

У больных с ишемическим инсультом, которым в течение первых четырех суток сосудисто-мозговой катастрофы проводили курсовое введение 0,9% раствором NaCl, активность маркера нейродеструкции - нейронспецифической эналазы (NSE) колебалась в пределах 22-23 нм/мл (табл. 1).

Таблица 1

Динамика активности нейронспецифической энolahзы в сыворотке крови больных с ишемическим инсультом на фоне терапии различными инфузионными растворами, ( $M \pm m$ )

Инфузионные растворы	Продолжительность инфузионной терапии (сутки)		
	1	4	7
0,9 % раствор NaCl, (контрольная группа), n=8	22,888±2,02	22,429±1,75	34,425±4,74©#
0,9 % раствор NaCl+маннит, n=7	17,157±1,64*	19,186±1,92	23,057±4,71©*

Примечания:

- \* -  $p < 0,05$  относительно 0,9% раствора NaCl в соответствующий срок;
- © -  $p < 0,05$  относительно 1-х суток в соответствующий исследовательской группе;
- # -  $p < 0,05$  по сравнению с 4-ми сутками в соответствующий исследовательской группе

Терапия больных с ОНМК по ишемическому типу маннитом сопровождалась динамичным ростом исследуемого маркера нейродеструкции во все периоды наблюдения от 17 до 23 нм/мл со статистически достоверным повышением активности NSE на седьмые сутки инсульта (табл. 1). Подобная динамика NSE, как и в контрольной группе, указывает на тенденцию развития некробиотических процессов в ядре ишемии, что в итоге увеличивает массив некротизированной ткани, и, обязательно, находит свое отражение в росте летальности больных и ухудшении их неврологического статуса.

Таким образом, несмотря на рост нейромаркера, можно констатировать, что на фоне курсового применения маннита наблюдается похожая динамическая картина NSE, что и в контрольной группе.

## Обсуждение

Выделение NSE из нейронов в цереброспинальный ликвор и кровь является маркером повреждения нервной ткани. Уровень NSE в сыворотке крови пациентов с ОНМК по ишемическому типу коррелирует с величиной инфаркта головного мозга [2, 7].

Следует отдельно подчеркнуть, что активность NSE отражает в нейронах именно некротические изменения, которые имеют место в ядерной зоне (повреждение, деструкция мембран) и дает лишь косвенную информацию о ходе нейроапоптоза, который, в основном, происходит в пенумбре. С одной стороны, отсутствие положительной динамики активности NSE в течение первых четырех суток на фоне введения 0,9% раствора NaCl не говорит в пользу наличия нейропротективного эффекта в примененной терапии. Однако, с другой - стабильная, хотя и значительно повышенная активность нейромаркера, говорит о торможении деструктивных явлений в нейромембранах и ограничении экспансии ядра ишемии с сохранением функционально способной зоны ишемической полутени (пенумбры) [6, 9, 10].

Четырехдневная внутривенная (в/в) инфузия больным с ОНМК 0,9% раствора NaCl сопровождается стабильно повышенной активностью NSE, что указывает на постоянство некробиотических процессов в ядре ишемии. Подобное повышение активности исследуемого энзима, в десятки раз превышает предельно допустимые концентрации в сыворотке крови людей без патологии ЦНС, что свидетельствует о значительной нейродеструкции, а также активном процессе формирования ядра ишемического очага инфаркта головного мозга [6, 9, 10]. Данная терапия в означенный период не способствует реализации нейропротективных основ, а только локализует ишемический процесс, препятствуя неконтролируемой

экспансии некробиоза на участки пенумбры, в состав которой входят нейроны с потенциально обратными ишемическими повреждениями (находятся на разных этапах нейроапоптоза).

В/в инфузия 0,9% раствора NaCl в течение семи суток ОНМК способствует формированию скорее не нейропротективного эффекта как такового, а демонстрирует развитие распространенного воспалительного процесса в ЦНС и вторичной ишемии, с чем мы связываем статистически достоверное повышение активности NSE на седьмые сутки инсульта. Полученные данные свидетельствуют о том, что в конце острого периода ОНМК сама по себе гемодилюция 0,9% раствором NaCl, как моновектор, способствует распространению медиаторов воспаления. В итоге увеличивает массив некротизированной ткани и, обязательно, находит свое отражение в росте летальности больных и ухудшении их неврологического статуса.

Принимая во внимание данные предыдущих исследований [11], указывающих на более высокий уровень смертности среди пациентов с ОНМК, лечившихся маннитом. Также данные, указывающие на то, что уровень NSE в сыворотке крови пациентов с ОНМК коррелирует с величиной инфаркта головного мозга [2], можно утверждать, что увеличение летальности больных, получавших маннит, можно связать с увеличением зоны инфаркта головного мозга. Поэтому, по нашему мнению и по мнению других ученых, возможно, применение маннитола при ОНМК по ишемическому типу должно быть резко ограничено или даже полностью прекращено [12].

## Выводы

Семидневное применение изоосмолярного 0,9% раствора NaCl у больных с ОНМК по ишемическому типу дополнительно к стандартной терапии способствует статистически достоверному повышению активности NSE на седьмые сутки инсульта, что связано с увеличением некротизированной ткани в зоне ишемии головного мозга. Инфузионная терапия пациентов с ОНМК по ишемическому типу изоосмолярным 0,9% раствором NaCl + гиперосмолярный маннит на фоне стандартной терапии сопровождалась динамичным ростом NSE, как и в контрольной группе. Рост NSE в сыворотке крови пациентов с ОНМК коррелирует с объемом инфаркта головного мозга, поэтому, возможно, применение маннитола при ОНМК по ишемическому типу должно быть резко ограничено или даже полностью прекращено.

---

---

## Литература

1. Anisimova A.V., Krupatkin A.I., Sidorov V.V. et al. Osobennosti sostojanija mikrocirkuljacii v pacientov s ostrym ishemicheskogo insul'tom i hronicheskoj ishemiej golovnogogo mozga (Features of microcirculation in patients with acute ischemic stroke and chronic cerebral ischemia), *Zhurnal nevrologii i psichiatrii im. C.C. Korsakova*, 2015, No.3, pp.27-32. (in Russian)
2. Grigorev E. V., Vavin G. V., Grishanova T. G. et al. Neyronspetsificheskie belki - markeryi entsefalopatii pri tyazheloy sochetannoy travme (Neurospecific proteins are markers encephalopathy with severe concomitant injury), *Medsina neotlozhnyih sostojanij*, 2010, No.2 (27), pp.72-76. (in Ukraine)
3. Zozulja I. S., Zozulja A. I. Mozgovoj insul't: nastojashhee i perspektivy (Stroke: present and prospects) *Jekstrennaja medicina*, 2014, No.4 (12), pp.8-14.
4. Linskaja G. V. Kliniko-gemodinamicheskie osobennosti raznyh podtipov ishemicheskogo insul'ta v ostrom periode (Clinical and hemodynamic characteristics of different subtypes of ischemic stroke in the acute period), *Ukrainskij vestnik psihonevrologii*, 2015, Vol.23, No.2 (83), pp.6-12. (in Ukraine)
5. Maksimova M. Ju., Suslina Z. A., Ionova V. G. Gemoreologija i gemostaz v ostrejsšem periode lakunarnogo insul'ta (Hemorheology and hemostasis in acute period lacunar stroke), *Zhurnal nevrologii i psichiatrii im. S. S. Korsakova*, 2007, Vol.107, No.12, pp.4-7. (in Russian)
6. Petrik I. A., Hodakovskaja A. V., Shtrygol' S. Ju. et al. Modulirujushhee dejstvie proizvodnogo 3,2'-Spiro-pirrola-2-oksindola na formirovanie steroidnoj nejrotoksichnosti, kardiocerebral'noj disfunkcii i techenie nejroapoptoza v uslovijah jeksperimental'nogo ishemicheskogo insul'ta (Modulating effect derivative 3,2'-Spiro-pyrrole-2-oxindole formation steroid neurotoxicity cardiocerebral dysfunction and for neuroapoptoza in experimental ischemic stroke), *Vrach-aspirant*, 2014, No.6 (67), pp.44-53. (in Russian)
7. Piskunov A. K. Biomarkery nejrovospalenija (Biomarkers neuroinflammation), *Nejrohimiya*. 2010, Vol.27, No.1, pp.63-73. (in Russian)
8. Reven'ko I. L. Jepidemiologija insul'ta v Ukraine (Epidemiology of stroke in the Ukraine), *Zaporozhskij medicinskij zhurnal*, 2010, No.3 (12), pp.42-47. (in Ukraine)
9. Hodakovskij A. A. Nejromorfologicheskaja ocenka jeffektivnosti Ademola v ostrom periode model'nogo narushenija mozgovogo krovoobrashhenija (Neuromorphological evaluation Ademola of the effectiveness of the model in acute cerebrovascular accident), *Chelovek i ego zdorov'e*, 2013, No.1, pp.32-37. (in Russian)
10. Xodakovskij A.A. Ocenka vlijanija jeksperimental'noj terapii Ademola na intensivnost' protekanija destruktivnyh izmenenij v membranah nejronov v mongol'skih peschanok v uslovijah ostroj cerebral'noj ishemii (Assessing the impact of the experimental therapy Ademola on the intensity of the flow of destructive changes in the membranes of neurons in Mongolian gerbils in acute cerebral ischemia), *Vestnik morfologii*, 2011, Vol.17, No.1, pp. 62-65. (in Ukraine)
11. Nagaraja T. N., Keenan K. A., Aryal M. P. et al. Extravasation into brain and subsequent spread beyond the ischemic core of a magnetic resonance contrast agent following a step-down infusion protocol in acute cerebral ischemia, *Fluids Barriers CNS*, 2014, No.23, pp.11-21.
12. James D. Geyer, Camilo R. Gomez. Stroke. A practical approach, *Lippincott Williams & Wilkins*, 2009, 361 p.